

616.917.5

S 43

Constantin SPÎNU
Iurie PÎNZARU
Ștefan GHEORGHITĂ

GRIPA: MĂSURI DE SUPRAVEGHERE, CONTROL ȘI RĂSPUNS



CHIȘINĂU • 2018

MINISTERUL SĂNĂTĂȚII MUNCII ȘI PROTECȚIEI
SOCIALE AL REPUBLICII MOLDOVA
AGENȚIA NAȚIONALĂ
PENTRU SĂNĂTATE PUBLICĂ
IP UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ
ȘI FARMACIE „NICOLAE TESTEMIȚANU”

Constantin SPÎNU Iurie PÎNZARU
Ștefan GHEORGHITĂ

**GRIPA: MĂSURI DE SUPRAVEGHERE,
CONTROL ȘI RĂSPUNS**

Ediția a 2-a

772423

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie
„Nicolae Testemițanu”
**BIBLIOTECA
ȘTIINȚIFICĂ MEDICALĂ**

CHIȘINĂU, 2018

sl. 3 / D 22

Monografia a fost examinată și aprobată spre reeditare de Consiliul științific al ANSP (proces-verbal nr.01/1942 din 23.08.2018).

Autori:

- Spînu Constantin șef direcție cercetare și inovare, profesor universitar, dr.hab.șt.med. ANSP, Laureat al Premiului Național, Om Emerit al Republicii Moldova, membru titular al AȘ Medicale.
- Pînzaru Iurie șef direcție, conferențiar universitar, dr.șt.med., ANSP.
- Gheorghîță Ștefan șef secție ANSP.

Coautori:

- Spînu Igor conferențiar cercetător, dr.șt.med., șef laborator, ANSP.
- Donos Ala dr.hab.șt.med., prof. universitar, departamentul Pediatrie, IP USMF „Nicolae Testemițanu”.
- Scoferța Petru conferențiar cercetător, dr.șt.med., cercetător-coordonator, ANSP.
- Eder Veronica dr.șt.biol.
- Serbulenco Aliona secretar de stat, Ministerul Sănătății, Muncii și Protecției Sociale.
- Suveică Luminița dr.șt.med. conferențiar universitar, IP USMF „Nicolae Testemițanu”.
- Palanciuc Elena Director ANSP, dr.șt.med.
- Druc Alina medic epidemiolog, ANSP.
- Gostev Igor cercetător științific în medicină, ANSP.
- Pîrvu Oxana cercetător științific stagiar în medicină, ANSP.
- Apostol Mariana șef laborator, ANSP

Recenzenți:

- Valentin Gudumac profesor universitar, dr.hab.șt.med., IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”.
- Victoria Bucov profesor cercetător, dr.hab.șt.med., ANSP.

Monografia este destinată medicilor epidemiologi, virusologi, infecționiști, rezidenților microbiologi, studenților facultăților de medicină și biologie.

Descrierea CIP a Camerei Naționale a Cărții**Spînu, Constantin.**

Gripa: măsuri de supraveghere, control și răspuns: Monografie / Constantin Spînu, Iurie Pînzaru, Ștefan Gheorghîță ; coaut.: Spînu Igor [et al.] ; Agenția Naț. pentru Sănătate Publică, IP Univ. de Stat de Medicină și Farmacie «Nicolae Testemițanu». – Ed. a 2-a. – Chișinău : S. n., 2018 (Tipografia AȘM). – 320 p. : tab.

Prof. paral.: lb. rom., engl., rusă – Bibliogr.: p. 298-316 (194 tit.). – 200 ex.

ISBN 978-9975-62-419-0.

616.921.5.614.4

S 73

Știința...

în maxime, cugetări, reflecții și nu numai...

- Știința cere investiții, nu-s investiții, nu-i cercetare, nu-i cercetare nu-i prosperare... ceea ce în continuare conduce la degradare...
(C. Spînu)
- Trist este când teoria corespunde cu experimentul. Asta nu mai este descoperire, ci acoperire.
(P. L. Kapița)
- Dacă am putut vedea ceva mai departe decât alții se datorește faptului că m-am ridicat pe umerii unor giganți.
(Issac Newton)
- Oamenii care au o încredere excesivă în teoriile sau ideile lor nu numai că sunt prost pregătiți pentru a face descoperiri, dar și observațiile lor sunt de mică valoare.
(Claude Bernard)
- Cu cât o lucrare științifică e mai bună cu atât ea poate fi expusă mai scurt.
(P. L. Kapița)
- Cea mai importantă dintre descoperiri mi-a fost sugerată de propriile mele insuccese.
(Humphrey Davy)
- Cu cât stai un timp mai îndelungat în fața unei dificultăți, cu atât scad șansele de a putea s-o rezolvi.
(Nicolle)
- Trebuie să pornesc de la un bagaj solid de fapte și nu de la un principiu în care întotdeauna bănuiesc vreo eroare.
(Darwin)
- În știință nu trebuie, neapărat, să cauți noul. Acesta este generat nu de cel care cercetează, ci de cercetarea în sine.
(Ion Ionescu-Arges)
- Acolo unde se termină îndoiala se termină și știința.
(P.L. Kapița)

...Prezenta monografie se dedică Părinților, față de care suntem datori și recunoscători pentru totul ce au făcut pentru prosperarea noastră...

Se poate eradica gripa?

Nu. Actualmente nu putem vorbi despre o eradicare, combatere totală a gripei; deoarece virusurile gripale se modifică continuu, în fiecare sezon, ceea ce impune în permanență (anual) schimbarea componentei vaccinurilor.

Cu alte cuvinte:

„Cheia (vaccinul) cu care deschidem lacătul (imunizarea populației) în prezentul sezon nu poate fi folosită pentru lacătul sezonului viitor, se cere de a confecționa altă cheie (alt vaccin)”.

Prof. C. Spînu

CUPRINS

LISTA ABREVIERILOR	8
PREFAȚĂ	9
PREFACE	12
ПРЕДИСЛОВИЕ	15
INTRODUCERE	19
1. ASPECTE EPIDEMIOLOGICE ȘI ETIOLOGICE ALE INFECȚIILOR GRIPALE. EVOLUȚIA CAPACITĂȚILOR DE DIAGNOSTIC	23
1.1. Aspecte etiologice ale infecțiilor gripale și caracteristicile morfostructurale ale virusurilor gripale	23
1.2. Epidemiologie	31
1.3. Caracteristica fenotipică și genotipică a virusurilor gripale.....	46
1.4. Diagnosticul de laborator: tehnici clasice și de biologie moleculară de ultimă generație	58
2. STUDIAREA ȘI EVALUAREA SITUAȚIEI EPIDEMIOLOGICE PRIN GRIPĂ CU MONITORIZARE VIRUSOLOGICĂ ÎN PERIOADA PANDEMICĂ ÎN REPUBLICA MOLDOVA	66
2.1. Aspecte epidemiologice ale infecției gripale și IRVA în perioada pre-pandemică	66
2.2. Particularitățile etiologice ale gripei, IRVA și SARI în perioada pre-pandemică	67
2.3. Evaluarea particularităților antigenice ale virusurilor gripale	68
2.4. Evaluarea particularităților genotipice ale tulpinilor de virusuri gripale	71
2.5. Particularitățile fenotipice ale tulpinilor de virusuri gripale	76
2.6. Particularitățile epidemiologice ale infecției gripale, IRVA și SARI în perioada pandemică	76
2.7. Rezultatele determinării caracteristicilor etiologice ale gripei, IRVA și SARI în perioada pandemică	79
2.8. Determinarea particularităților antigenice ale virusurilor gripale ..	81
2.9. Evaluarea particularităților genotipice ale virusurilor gripale	84
2.10. Determinarea caracteristicilor fenotipice ale virusurilor gripale ..	91

2.11. Studiarea particularităților epidemiologice ale infecției gripale, IRVA și SARI în perioada post-pandemică	91
2.12. Rezultatele evaluării particularităților etiologice ale gripei, IRVA și SARI în sezonul 2010-2011	92
2.13. Particularitățile antigenice ale tulpinilor de virusuri gripale izolate și identificate în sezonul epidemic 2010-2011	94
2.14. Particularitățile genotipice ale tulpinilor de virusuri gripale	98
2.15. Rezultatele determinării particularităților fenotipice ale tulpinilor de virusuri gripale identificate în sezonul epidemic 2010-2011 ...	106
3. EVALUAREA PARTICULARITĂȚILOR EPIDEMIOLOGICE ȘI VIRUSOLOGICE ALE GRIPEI, IRVA ȘI SARI ÎN PERIOADA INTEREPIDEMICĂ ÎNTRU OPTIMIZAREA SISTEMULUI NAȚIONAL DE SUPRAVEGHERE ÎN REPUBLICA MOLDOVA.....	108
3.1. Particularitățile epidemiologice ale infecției gripale, IRVA și SARI în perioada interepidemică: sezonul 2011-2012	108
3.2. Rezultatele evaluării particularităților etiologice ale gripei, IRVA și SARI în sezonul 2011-2012.....	109
3.3. Rezultatele evaluării particularităților antigenice ale tulpinilor de virusuri gripale izolate și identificate în sezonul epidemic 2011-2012.....	110
3.4. Studiarea particularităților genotipice ale tulpinilor de virusuri gripale izolate și identificate în sezonul epidemic 2011-2012	113
3.5. Determinarea particularităților fenotipice ale tulpinilor de virusuri gripale izolate și identificate în sezonul epidemic 2011-2012	115
3.6. Evaluarea caracteristicilor epidemiologice ale infecției gripale, IRVA și SARI în sezonul epidemic 2012-2013	116
3.7. Rezultatele evaluării particularităților etiologice ale gripei, IRVA și SARI în sezonul 2012-2013	118
3.8. Evaluarea particularităților antigenice ale tulpinilor de virusuri gripale izolate și identificate în sezonul epidemic 2012-2013 ..	120
3.9. Studiarea particularităților genotipice ale tulpinilor de virusuri gripale izolate și identificate în sezonul epidemic 2012-2013.....	128
3.10. Evaluarea particularităților fenotipice ale tulpinilor de virusuri gripale identificate în sezonul epidemic 2012-2013..	136

3.11. Evaluarea particularităților epidemiologice ale gripei, IRVA și SARI în sezonul epidemic 2013-2014	138
3.12. Studiarea și evaluarea particularităților etiologice ale gripei, IRVA și SARI în sezonul epidemic 2013-2014	139
3.13. Particularitățile antigenice ale tulpinilor de virusuri gripale izolate și identificate în sezonul epidemic 2013-2014	140
3.14. Analiza caracteristicilor genotipice ale tulpinilor de virusuri gripale circulante în sezonul 2013-2014	143
3.15. Studiarea particularităților fenotipice ale tulpinilor de virusuri gripale identificate în sezonul epidemic 2013-2014	146
3.16. Evaluarea particularităților epidemiologice ale infecției gripale, IRVA și SARI în sezonul epidemic 2014-2015	148
3.17. Analiza particularităților etiologice ale gripei, IRVA și SARI în sezonul 2014-2015	152
3.18. Particularitățile antigenice și genetice ale tulpinilor de virusuri gripale A(H1N1)pdm09 în sezonul epidemic 2014-2015.....	153
3.19. Caracteristicile antigenice și filogenetice ale tulpinii de virusuri A(H3N2) în sezonul epidemic 2014-2015.....	158
3.20. Analiza particularităților antigenice și genetice ale tulpinilor de virusuri gripale de tip B (linia B/Victoria și linia B/Yamagata)	161
3.21. Valorificarea rezultatelor obținute întru optimizarea supravegherii epidemiologice și virusologice a gripei	169
3.22. Aspectele supravegherii epidemiologice și virusologice ale gripei, IACRS și SARI în anul 2016	175
3.23. Studiarea cu identificare particularităților clinico-epidemiologice și virusologice ale infecției gripale, IRVA și SARI în sezonul epidemic 2015-2016.....	183
3.24. Evaluarea particularităților epidemiologice ale gripei, IACRS și SARI în sezonul gripal 2016/2017.....	200
3.25. Rezultatele studiului privind evidențierea particularităților etiologice, antigenice și genetice ale gripei, IACRS și SARI în sezonul gripal 2016/2017.....	204
3.26. Evaluarea particularităților epidemiologice ale gripei, IACRS și SARI în sezonul gripal 2017/2018.....	213
3.27. Rezultatele analizei și evaluării particularităților etiologice ale gripei, IRVA și SARI în sezonul gripal 2017- 2018.....	217

3.28. Rezultatele analizei și evaluării particularităților antigenice și genetice ale virusurilor gripale identificate pe parcursul sezonului 2017/2018.....	219
3.29. Morbiditatea prin gripă, IRVI și SARI la întrprinderile de procesare a cărnii.....	228
4. GRIPA: PATOGENIE, IMUNOLOGIE, CLINICA ȘI TRATAMENTUL	239
5. PROFILAXIA GRIPEI	269
5.1. Elaborarea cu evaluarea unei metode originale de vaccinare contra gripei	278
6. CHIMIOPROFILAXIA GRIPEI.....	284
6.1. Utilizarea produsului autohton „Pacovirină” în profilaxia gripei.....	287
7. RECOMANDĂRI PENTRU ANUMITE GRUPE DE RISC PRIVIND PERICOLUL INFECȚIEI CU VIRUSUL GRIPAL	291
BIBLIOGRAFIE	298

LISTA ABREVIERILOR

- ADN** – acid dezoxiribonucleic
Ag – antigen
ARI – Acute Respiratory Infections
ARN – acid ribonucleic
CDC – Centers for Disease Control and Prevention
CNSP – Centrul Național de Sănătate Publică
CSP – Centru de Sănătate Publică
ECDC – European Centre for Disease Prevention and Control
FITC – izotiocianat de fluoresceină
GIHSN – Global Influenza Hospital Surveillance Network
GISN – Global Influenza Surveillance Network
GISRS – Global Influenza Surveillance and Response System
HA – hemaglutinină
HAU – unități de hemaglutinare
IACRS – infecții acute ale căilor respiratorii superioare
IMSP – Instituție Medico-Sanitară Publică
IRVA – infecții respiratorii virale acute
M, M1, M2 – proteine matrice
NA – neuraminidază
NAI – inhibitor al neuraminidazei
NEP – nuclear export protein
NP – nucleoproteină
NS1, NS2 – proteine nestructurale
OMS – Organizația Mondială a Sănătății
ORF – open reading frame
PA – proteaza acidă
PB1, PB2 – proteaze bazice
PBS – soluție-tampon fosfat salin
PCR – reacție de polimerizare în lanț (Polymerase Chain Reaction)
RHA – reacție de hemaglutinare
RHAI – reacție de inhibare a hemaglutinării
rRT-PCR – Real Time Revers Transcription Polimerase Chain Reaction
SARI – severe acute respiratory infections
SUA – Statele Unite ale Americii
WHO – World Health Organization

PREFAȚĂ

Anual pe lângă morbiditate și mortalitate sporită, gripa, infecțiile acute ale căilor respiratorii superioare (IACRS) și infecțiile respiratorii acute severe (SARI) generează importante pierderi economice (prin rata înaltă de îmbolnăviri, număr mare de spitalizări, exces de mortalitate în grupe specifice de vârstă și de risc), dimensiunea acestora la nivelul oricărei țări fiind comparabilă doar cu cea a afecțiunilor cardiovasculare. Infecțiile respiratorii virale acute ocupă primul loc în ceea ce privește incidența, reprezentând în unele țări până la 95% din bolile infecțioase. Așadar pe lângă impactul medical, în cazul infecțiilor respiratorii virale acute cu evoluții epidemice se înregistrează disrupții sociale cu disfuncționalități care afectează toate activitățile unei comunități dar și pagube economice considerabile. Specialiștii apreciază că într-un an costurile asociate cu infecțiile respiratorii acute la nivel mondial se ridică la cca 25 miliarde \$.

Din totalul infecțiilor acute respiratorii de până la 80-85% sunt de natură virală, inclusiv asociate cu cele de genă bacteriană. Actualmente se cunosc circa 200 de virusuri distincte antigenic din 10 genuri care pot determina boli acute respiratorii. Majoritatea acestor infecții virale afectează tractul respirator superior, dar poate fi afectat și tractul respirator inferior în special la copii și persoane în vârstă. Însă cei mai periculoși, cei mai studiați și, totodată, cei mai necunoscuți și imprezvizibili rămân a fi Virusurile Gripale.

În pofida faptului că există preparate medicamentoase specifice și vaccin contra gripei, variația antigenică a virusului gripal, reușește să fie, totuși cel mai periculos și imprezvizibil agent patogen; oamenii de știință neputând să-l supună unui control riguros și permanent. Evenimentele din ultimii ani, prin apariția și răspândirea tenace și persistentă a variantelor gripale A(H5N1); A(H7N9); A(H1N1) și A(H3N2) etc. determină ca virusurile gripale să rămână în continuare o problemă prioritară pentru sănătatea publică. Așadar datorită implicațiilor medicale, sociale, demografice și economice, gripa, IACRS și SARI pot fi considerate probleme majore de sănătate publică care necesită strategii de supraveghere, control și răspuns.

În ultimii ani, CDC-Atlanta a introdus în supravegherea infecțiilor acute respiratorii (unde gripa face obiectul unor programe internaționale regionale și naționale) supravegherea clinico-epidemiologică și diagnosticul de laborator viro-bacterian extins al infecțiilor respiratorii acute severe.

Având în vedere implicațiile acestora în morbiditate, mortalitate și economie, OMS și ECDC recomandă autorităților naționale de sănătate publică să implementeze supravegherea epidemiologică sentinelă a gripei, IACRS și SARI.

În acest context supravegherea epidemiologică cu investigațiile de laborator a infecțiilor respiratorii virale acute în special a gripei, prevenibile prin vaccinare susține mai mult ca oricând selecția tulpinilor vaccinale sezoniere (anuale), detecția precoce a tulpinilor cu potențial epidemic și pandemic și identificarea modificărilor genetice cu implicații în rezistența la antivirale și virulența virusurilor gripale.

Utilizarea cu rigurozitate a algoritmului privind supravegherea clinico-epidemiologică, definițiilor de caz, dar și a procedurilor diagnosticului de laborator va crește randamentul detecțiilor, reducând costurile relativ mari a probelor negative și va îmbunătăți semnificativ managementul gripei, IACRS și SARI.

Particularitățile clinico-epidemiologice, definițiile de caz și metodologia diagnosticului de laborator evoluează în pas cu variabilitatea virusului gripal, ceea ce impune ca medicii practicieni (infecționiști, medici de familie și alți specialiști de profil) epidemiologii, medicii virusologi, bacteriologi să cunoască actualizările făcute de OMS, ECDC și CDC-Atlanta referitoare la măsurile de supraveghere (control) și răspuns la gripă.

Monitorizarea circulației virusurilor gripale umane face parte din sistemul complex de supraveghere a gripei. Anual, OMS monitorizează circulația și profilul antigenic al virusurilor gripale, privind identificarea în timp real a variantelor cu potențial epidemic și pandemic, precum și a sensibilității lor la produsele medicamentoase antivirale, în special a celor de ultima generație (oseltamivir, zanamivir) și spectrul imunității antigripale a populației în scopul identificării formulei coctailului vaccinului gripal.

În Republica Moldova, gripa, IACRS și SARI se înregistrează în fiecare an, numărul cazurilor de îmbolnăviri variind de la an la an, reprezentând cel puțin 2/3 din numărul total de maladii infecțioase înregistrate pe parcursul anului. Apariția în anul 2009 a unui nou subtip de virus gripal A(H1N1) a cauzat pandemia de gripă la nivel global, resimțită și în Republica Moldova. Acest fapt a impus fortificarea sistemului de supraveghere epidemiologică și virusologică a gripei prin crearea strategiilor de preveni-

re și control permanent, inclusiv prin sistemele speciale de monitorizare a gripei, IACRS și SARI.

Prezenta monografie include rezultatele originale privind particularitățile fenotipice (antigenice) și genotipice ale virusurilor gripale circulante în perioada pandemică și interepidemică în Republica Moldova. Utilizarea de rând cu metodele clasice, a tehnicilor de biologie moleculară (rRT-PCR, genotipare, secvențiere) în studierea tulpinilor de virusuri gripale a permis de a aprecia și a evalua pozițiile acestor virusuri în arborii filogenetici globali pentru fiecare genă separat – circumstanțe extrem de importante pentru argumentarea formulei vaccinului gripal. Analiza și evaluarea susceptibilității virusurilor gripale circulante la produsele antivirale de ultima generație permite de a interveni prompt în vederea perfecționării realizării managementului măsurilor de control și răspuns, inclusiv, a tratamentului. Sunt prezentate studii originale privind evidențierea și evaluarea activității antigripale și imunomodulatoare a produsului medicamentos autohton Pacovirină la pacienți, inclusiv cu statut imunocompromis. Rezultatele obținute pe parcursul realizării acestui studiu au permis de a evidenția particularitățile clinico-epidemiologice și virusologice de evoluție a procesului epidemic prin gripă în perioadele pandemică și interepidemică – elemente importante, utilizate ulterior în perfecționarea sistemului național de supraveghere și răspuns la gripă, IACRS și SARI ajustat la exigențele OMS, CDC și ECDC. Grație optimizării, în corespundere cu strategiile organismelor internaționale nominalizate, sistemul de supraveghere autohton a fost integrat în rețelele de supraveghere european EuroFlu/TESSy și globale FluNet.

Autorii, coautorii monografiei aduc sincere mulțumiri specialiștilor de profil din CDC-Atlanta, SUA, Institutului de cercetări Francis-Krich, Londra, Regatul Unit pentru suportul metodologic acordat în realizarea și evaluarea rezultatelor obținute prin utilizarea tehnicilor avansate de biologie moleculară în studierea tulpinilor de virusuri gripale izolate și identificate în Republica Moldova.

PREFACE

Annually in addition to the morbidity and mortality increased, influenza, acute respiratory infections (ARI) and severe acute respiratory infections (SARI) generate significant economic loss (by the high rate of illness, number of hospitalizations, excess mortality in the specific groups by age and risk), their size at any country is comparable only to that of cardiovascular disease.

Acute viral respiratory infections rank first in terms of incidence, accounting in some countries up to 95% of infectious diseases. So, in addition to medical impact, in the case of acute viral respiratory infections with epidemic development is recording social disruptions affecting all community activities and considerable economic damage. Experts estimated that in one year costs associated with acute respiratory infections worldwide amounts to about \$ 25 billion.

Acute respiratory infections of the total of up to 80-85% are of viral nature, including associated with bacterial genesis. Currently known 200 viruses antigenically distinct of 10 genes that can cause acute respiratory diseases. Most of these viral infections affecting the upper respiratory tract, but may be affected and lower respiratory tract especially in children and the elderly. But the most dangerous, the most studied and also the unknown and unpredictable remain influenza viruses.

Despite the fact that there are specific medical products and vaccines against flu, antigenic variation of influenza virus is still the most dangerous and unpredictable pathogenic agent, scientists unable to undergo it a rigorous and permanent control. Events in recent years by the emergence and spread tenacious and persistent of variant influenza A (H5N1); A (H7N9); A (H1N1) and A (H3N2), etc. determine that the influenza viruses continue to be a permanent problem of public health in all countries, and efforts to prevent illness and spread to remain to be constant. So, due to medical, social, demographic and economic implications, influenza, ARI and SARI can be considered major public health problems that require surveillance, control and response strategies.

In recent years, CDC-Atlanta introduced in supervision of acute respiratory infections (where influenza is subject of international, regional and national programs) the clinical and epidemiological surveillance and extensive viro-bacterial laboratory diagnosis of severe acute respiratory

infections. Considering their implications in morbidity, mortality and economics, WHO and ECDC recommends national public health authorities to implement epidemiological surveillance sentinel of influenza, ARI and SARI.

In this context, epidemiological surveillance with laboratory investigations of acute viral respiratory infections particularly influenza, vaccine-preventable support more than ever selection of vaccine strains seasonal (annual), early detection of strains with epidemic and pandemic potential and identify genetic modifications with implications of antiviral resistance and virulence of the viruses of influenza.

Using rigorous algorithm on clinical and epidemiological surveillance, case definitions, and procedures of laboratory diagnosis will increase the yield of detections, reducing the relatively high costs of negative samples and will significantly improve management of influenza, ARI and SARI.

Clinical and epidemiological particularities, case definitions and methodology of laboratory diagnosis evolves in step with the variability of influenza virus, which requires medical practitioners (infectionists, family doctors and other relevant specialist) epidemiologists, virologists, bacteriologists to know the updates from WHO, ECDC and CDC Atlanta on supervisory (control) and response measures of influenza.

Monitoring the movement of human influenza viruses is part of the comprehensive influenza surveillance. Annually, WHO monitors the circulation and antigen profile of influenza viruses, regarding real-time identification of variants with epidemic and pandemic potentially, as well as their sensitivity to antiviral medicinal products, especially those of the last generation (oseltamivir, zanamivir) and spectrum of immunity of population against influenza in order to identify the formula of influenza vaccine cocktail.

In Republic of Moldova, influenza, ARI and SARI is recorded each year, cases of illness varying from year to year, representing at least 2/3 of the total number of registered infectious diseases during the year. The appearance in 2009 of a new subtype of influenza virus A (H1N1) caused the influenza pandemic at global level felt in Moldova as well. This fact imposed the system strengthening of epidemiological and virological surveillance of influenza by creating prevention strategies and permanent control, including special systems for monitoring influenza, ARI and SARI.

This monograph includes original results on phenotypic (antigenic) and genotypic particularities of influenza viruses circulating during the pandemic and interepidemic period in Republic of Moldova. The use of all the classical methods of molecular biology techniques (rRT-PCR, genotyping, sequencing) in the study of strains of influenza virus allowed to assess and evaluate the positions of these viruses in global phylogenetic trees for each gene separately - extremely important circumstances for the arguments of influenza vaccine formula. Analysis and evaluation of susceptibility of circulating influenza viruses to antiviral products of last generation allows to intervene promptly in order to improve the achievement of management control and response measures, including treatment. There are presented original studies on the detection and evaluation of the influenza and immunomodulatory activity of the medical product Pacovirin in patients, including immunocompromised status. The results obtained during the conduct of this study allowed to highlight the clinical, epidemiological and virological particularities of the evolution of epidemic process by influenza during the pandemic and interepidemic period - important elements used subsequently in improving the national surveillance and response system to influenza, ARI and SARI adjusted to the requirements of WHO, CDC and ECDC. Thanks to optimization in line with the strategies of international organizations nominated, the local surveillance system was integrated in European supervisory networks EuroFlu/TESSy and global FluNet.

The authors, co-authors sincerely thank monograph profile experts from CDC Atlanta, USA, Francis-Crick Research Institute, London, UK for methodological support for the development and evaluation of the results obtained through the use of advanced molecular biology techniques in the study of influenza virus strains isolated and identified in the Republic of Moldova.

ПРЕДИСЛОВИЕ

Ежегодно грипп, острые инфекции верхних дыхательных путей (ОИВДП) и тяжелые острые респираторные инфекции (ТОРИ) наряду с повышенными показателями заболеваемости и смертности наносят весомый экономический ущерб (вследствие большого числа заболевших, роста госпитализированных случаев, избыточности смертности в определенных возрастных категориях и среди лиц, входящих в группы риска), размер которого может быть сравним разве что с уровнем экономических потерь, вызванных сердечно-сосудистыми заболеваниями. Острые респираторные вирусные инфекции занимают первое место по уровню заболеваемости среди инфекционных болезней, достигая в некоторых странах 95%. Таким образом, помимо медицинского воздействия, в случае острых респираторных вирусных инфекций с эпидемическим течением регистрируются социальные сдвиги с дисфункциональностями, влияющие на все виды деятельности общины и вызывая значительный экономический ущерб. По оценкам экспертов годовые затраты, связанные с острыми респираторными инфекциями, во всем мире достигают около \$ 25 млрд.

Из общего числа острых респираторных инфекций 80-85% являются вирусного происхождения, в том числе ассоциированные с инфекциями бактериального генеза. В настоящее время известно около 200 вирусов, способных вызвать острые респираторные заболевания, различающихся по антигенным свойствам и принадлежащих к 10 родам. Большинство из этих вирусных инфекций поражают верхний дыхательный тракт, в то же время возможно и поражение нижних дыхательных путей, в особенности у детей и лиц пожилого возраста. Но самыми опасными, самыми изученными и, одновременно, самыми неизвестными и непредсказуемыми остаются Вирусы Гриппа.

Несмотря на существование специфических лекарственных препаратов и противогриппозной вакцины антигенная вариабильность вирусов гриппа остается одним из главных факторов способствующих тому чтобы они все же оставались самыми опасными и непредсказуемыми из патогенных возбудителей. Таким образом ученые не могут подвергнуть их строгому и постоянному контролю. Появление и неуклонное распространение в последние годы вариантов гриппа А(Н5N1); А(Н7N9); А(Н1N1) и А(Н3N2), и др. позволяют вирусам

гриппа оставаться в дальнейшем постоянной проблемой общественного здоровья во всех странах, а усилия по предупреждению случаев заболевания и их распространения остаются неизменными. Таким образом, из-за медицинского, социального, демографического и экономического влияния гриппа, ОИВДП и ТОРИ могут рассматриваться как важные проблемы общественного здоровья, нуждающиеся в разработке стратегии по развитию мер по надзору (контролю) и ответу.

На протяжении последних лет Центр по контролю и профилактике заболеваний США в Атланте (CDC-Atlanta) ввел в надзор острых респираторных инфекций (где грипп является объектом различных международных, региональных и национальных программ) клиничко-эпидемиологический надзор и расширенную вирусологическую лабораторную диагностику тяжелых острых респираторных инфекций. Принимая во внимание влияние гриппа, ОИВДП и ТОРИ на заболеваемость, смертность и экономику ВОЗ и Европейский Центр по контролю и профилактике заболеваний (ECDC) рекомендуют национальным структурам общественного здоровья внедрение дозорного эпидемиологического надзора за гриппом, ОРВИ и ТОРИ.

В этом контексте эпидемиологический надзор и лабораторные исследования острых респираторных вирусных заболеваний, особенно гриппа, как управляемых инфекций поддерживает как никогда выбор штаммов входящих в состав сезонной (годовой) вакцины, ранее выявление штаммов с эпидемическим и пандемическим потенциалом и определение генетических изменений влияющих на резистентность к противовирусным препаратам и вирулентность вирусов гриппа.

Строгое использование алгоритма по реализации клиничко-эпидемиологического надзора, определению стандартного случая, а также диагностических лабораторных исследований повысит эффективность обнаружения заболеваний и тем самым сократит относительно большие затраты на исследование отрицательных образцов (проб) и значительно улучшит менеджмент гриппа, ОИВДП и ТОРИ.

Клиничко-эпидемиологические особенности, стандартные определения случая и методология лабораторной диагностики развиваются одновременно с вариативностью вирусов гриппа, что требует от лечащих врачей (врачей инфекционных заболеваний, семейных врачей и других профильных специалистов), эпидемиологов, вирусологов,

бактериологов знаний о постоянных обновлениях, распространяемых ВОЗ, центрами по контролю и профилактике заболеваний из США и Европы (CDC и ECDC), относящихся к совершенствованию мер по надзору (контролю) и реагированию по гриппу.

Мониторинг циркуляции вирусов гриппа человека является частью комплексной системы по надзору за гриппом. Ежегодно ВОЗ контролирует циркуляцию и антигенный состав вирусов гриппа для определения в реальном времени штаммов с эпидемическим и пандемическим потенциалом, а также их чувствительности к противовирусным лекарственным препаратам, особенно последнего поколения (озельтамивир, занамивир) и спектра противогриппозного иммунитета населения с целью определения состава вакцины против гриппа.

В Республике Молдова грипп, ОИВДП и ТОРИ регистрируются ежегодно, число случаев заболевания варьирует из года в год, составляя 2/3 из общего числа инфекционных заболеваний, зарегистрированных в течение года. Появление в 2009 году нового подтипа вируса гриппа А(Н1N1) стало причиной пандемии гриппа во всем мире, которая затронула и Республику Молдова. Это обстоятельство подтолкнуло к необходимости усиления системы эпидемиологического и вирусологического надзора за гриппом путем разработки стратегий по постоянному предупреждению и контролю, в том числе с помощью специальных систем мониторинга гриппа, ОИВДП и ТОРИ.

Данная монография включает в себя исходные результаты исследований фенотипических (антигенных) и генотипических свойств циркулируемых вирусов гриппа в пандемический и межэпидемический периоды в Республике Молдова. Использование, наряду с классическими, молекулярно-биологических методов (ПЦР в реальном времени, генотипирование, секвенирование) в изучении штаммов вирусов гриппа позволило определить и оценить место исследованных вирусов в мировых филогенетических деревьях отдельно для каждого гена, что явилось очень важным обстоятельством в аргументировании состава противогриппозной вакцины. Анализ и оценка чувствительности циркулируемых вирусов гриппа к противовирусным препаратам последнего поколения позволяет оперативно вмешиваться с точки зрения улучшения менеджмента мер по контролю и ответу, в том числе и лечения. Представлены оригинальные исследования касаясь

выявления противогриппозных и иммуномодуляторных свойств, отечественного препарата Паковирин (Pacovirinã) при профилактики гриппа у людей в том числе у пациентов, с иммунно-компромиссным статусом. Проведенные исследования позволили выявить клинико-эпидемиологические и вирусологические особенности течения эпидемического процесса по гриппу в пандемический и межэпидемический периоды, что сыграло очень важную роль в дальнейшем усовершенствовании национальной системы по надзору и ответу за гриппом, ОИВДП и ТОРИ, адаптированной к требованиям ВОЗ, центров по контролю и профилактике заболеваний из США и Европы (CDC и ECDC). Благодаря оптимизации в соответствии со стратегиями вышеупомянутых международных организаций местная система надзора была интегрирована в европейскую сеть по надзору EuroFlu/TESSy и мировую FluNet.

Авторы и соавторы монографии выражают свою искреннюю благодарность профильным специалистам из Центра по контролю и профилактике заболеваний в Атланте, США и Научно-Исследовательского Института Франсиса Крика, Лондон, Великобритания за методологическую поддержку в реализации и оценке полученных результатов, путем использования современных методов молекулярной биологии в изучении штаммов вирусов гриппа идентифицированных и изолированных в Республике Молдова.

INTRODUCERE

Gripa și IACRS sunt maladii infecțioase cu impact global, ce evoluează în epidemii sau/și pandemii soldate cu mortalitate crescută.

Virusurile gripale reprezintă o problemă permanentă de sănătate publică pentru toate țările, iar eforturile de a preveni îmbolnăvirile și răspândirea acestora sunt constante, dar și considerabile.

Larg răspândite în întreaga lume, virusurile gripale infectează nu numai omul, ci și numeroase specii de animale domestice (cai, porci) și sălbatice (nurcă, focă, balenă etc.) sau păsări (rațe, pescăruși, curcani, găini etc.) [1-4].

Variația antigenică și circulația virusurilor gripale între specii sunt cauza izbucnirilor epidemice care au loc anual, îmbolnăvirile fiind favorizate de răspunsul imun neadecvat, chiar în acele segmente de populație care au fost anterior expuse infecției gripale [1-4].

Epidemiile de gripă se înregistrează în fiecare an datorită variației antigenice minore (antigenic drift). Acestea sunt mutații nesemnificative în genele care codifică HA și NA. Ele constau în apariția lentă de mutații punctiforme în HA și NA în rezultatul circulației continue a virusurilor gripale în populațiile parțial imunizate. Structurile antigenice existente suferă modificări de conformație spațială și/sau modificări în compoziția unor aminoacizi. Protecția imună față de contactele anterioare cu virusul gripal se menține, dar este insuficientă. Astfel, față de subtipurile existente ale virusurilor gripale, la om se reinstalează o susceptibilitate la reinfectări multiple. De regulă, astfel de succesiuni se produc în fiecare an [4-7].

De obicei, epidemiile de gripă apar în perioada rece a anului: în Emisfera de Nord în lunile noiembrie – martie, în Emisfera de Sud – lunile mai – august. În regiunile tropice gripa nu se manifestă sezonier, ci se înregistrează pe tot parcursul anului, fiind dependentă, totuși, de schimbările climatei [3-5].

În Republica Moldova cea mai înaltă morbiditate prin gripă se înregistrează, de obicei, în luna februarie, însă au fost cazuri când cel mai înalt nivel de morbiditate prin gripă s-a înregistrat în lunile decembrie, ianuarie și martie [2, 3, 6, 8].

Durata epidemiei este de regulă 1-2 luni (4-8 săptămâni), după care virusurile dispar. Una din enigmele principale ale virusului gripal este faptul că în cea mai mare parte a anului ele lipsesc în circulația populației umane și nu se cunoaște unde circulă în perioada interepidemică, cum și unde se

produc modificările antigenice (*drift* antigen). Se presupune că virusurile ar circula și s-ar modifica în regiunile ecuatoriale, pe motiv că îmbolnăvirile prin gripă aici se înregistrează pe toată perioada anului [1, 3-5].

Totodată, pe lângă variația antigenică minoră, există și variație antigenică majoră (antigenic shift), ce se întâlnește doar la virusul gripal de tip A. Mutațiile de tip *shift* reprezintă o formă mult mai brutală de schimbări în virusul gripal A, ceea ce duce la apariția unui nou virus gripal cu o nouă combinație a proteinelor HA și NA, care anterior nu a existat mult timp sau niciodată în populația umană. Dacă acest virus apare în populația umană, unde majoritatea este lipsită de protecție sau există o protecție nesemnificativă față de această variantă, virusul obținând abilitatea de a se transmite de la om la om, atunci aceste circumstanțe pot conduce la apariția de pandemii de proporții. Important este faptul, că modificările în structura antigenică nu pot fi previzibile. Virusurile cu deosebiri genotipice și fenotipice semnificative față de cele anterioare apar la intervale neregulate de timp (10-40 de ani). Aceste modificări sunt responsabile de apariția marilor pandemii de gripă [1, 3-5].

Pe parcursul a ultimilor 300 de ani s-au înregistrat 10 pandemii de gripă, din care 4 au avut loc în secolul XX [3-5, 9, 10]. **Pandemia „spaniolă” din 1918** – a fost una din cea mai severă dintre pandemiile cunoscute și descrise vreodată. Gripa „spaniolă” a afectat peste 20,0% din populația globului având o evoluție foarte rapidă. Timp de 10 luni gripa s-a răspândit în întreaga lume. În această perioadă au fost afectate peste 400 milioane de persoane. Valuri repetate de îmbolnăviri prin gripă s-au înregistrat și în anii 1918-1919 și 1919-1920 cu o intensitate mai mică. Atunci s-au îmbolnăvit cei care nu au suferit în primul val. Pandemia „spaniolă” a fost cauzată de un nou virus gripal A(H1N1), genomul căruia conținea porțiuni de gene ale virusurilor gripale aviare și porcine. Cei mai afectați au fost tinerii, bătrânii și persoanele imunocompromise. Într-un singur an gripa „spaniolă” a făcut mai multe victime decât ciuma bubonică în patru ani (1347-1351) și decât Primul Război Mondial, numărând de la 50 la 100 milioane de decese. Cea mai înaltă mortalitate s-a înregistrat la persoanele cu vârsta cuprinsă între 20 și 40 ani, rata mortalității fiind de 259 ori mai mare decât în cazul unei gripe obișnuite. Referitor la locul și debutul pandemiei sunt două ipoteze: prima – pandemia a debutat în februarie-martie 1918 în SUA cu transmiterea ulterioară de către trupele americane în Europa, a doua ipoteză – pandemia a debutat în ianuarie 1918 în China cu răspândirea ulterioară la Apus

[3-5, 9, 10]. **Gripa „asiatică”** – a avut loc în 1957-1958 și a fost cauzată de virusul gripal A(H2N2), pandemia fiind de intensitate mai mică decât cea din 1918. Pandemia a început în februarie 1957 în Orientul Îndepărtat și s-a răspândit rapid în întreaga lume înregistrând 2 miliarde de bolnavi și 1 milion de decese [3-5, 9, 10]. **Gripa „Hong Kong”** – în 1968-1969 a apărut gripa de tip „Hong Kong” cauzată de virusul gripal A(H3N2). Pandemia având severitate medie, a afectat, în special, persoanele cu vârsta de 65 de ani, înregistrându-se peste 1 milion de decese [3-5, 9, 10]. **Gripa „Rusească”** – în 1977-1978 a avut loc o epidemie relativ ușoară cauzată de virusul gripal A(H1N1) – agent etiologic implicat în epidemia din 1950, astfel au avut de suferit în primul rând persoanele născute după acest an [3, 4, 10].

Apariția virusului gripal A(H5N1) în 1997 în Hong Kong, care a cauzat o epizootie masivă printre păsările domestice afectând concomitent 18 persoane cu moartea a 6 dintre ele, a servit ca un semnal de apariție a unei noi pandemii de gripă. Distrugerea la acel moment a cca 1,5 milioane de păsări a stopat răspândirea virusului A(H5N1) printre păsările domestice și populația umană. Virusul gripal aviar A(H5N1) a reapărut printre păsările domestice în anul 2003 într-un șir de țări asiatice: Cambodjia, China, Indonezia, Japonia, Laos, Thailanda, Vietnam, Coreea. În 2004 din nou s-au înregistrat îmbolnăviri printre oameni. Distrugerea a peste 160 milioane de păsări a contribuit la reducerea răspândirii infecției cu virusul gripal A(H5N1). În pofida faptului că acest virus a trecut bariera de specie cu afectarea nu numai a păsărilor, dar și a unor specii de mamifere (tigri, câini, pisici), totuși transmiterea lui de la om la om a fost limitată. Persoanele care s-au îmbolnăvit de gripă cauzată de virusul A(H5N1) au avut contact direct și nemijlocit cu păsările bolnave [3-5, 9, 10].

Cu apariția virusului gripal aviar A(H5N1) în 2003 a persistat pericolul declanșării unei noi pandemii de gripă. Dacă la începutul anului 2004 se credea, că noua epidemie va fi cauzată de virusul gripal A(H5N1), atunci evenimentele din 2009 au demonstrat, că îngrijorările specialiștilor în domeniu nu au fost în zădar [3-5, 9, 10].

Noua epidemie de gripă, prima din secolul XXI, a debutat în aprilie 2009 în SUA (California de Sud și Texas), fiind cauzată de virusul gripal de tip nou A(H1N1) numit „triplu reasortant”, deoarece genomul său conține gene ale virusurilor gripale porcine, umane și aviare. Virusul de tip nou a apărut brusc, fiind detectat concomitent în alte 2 țări: Mexic și Canada.

Procesul epidemic prin infecția cu virusul gripal de tip nou A(H1N1) a evoluat foarte repede, afectând într-un timp scurt un număr mare de oameni de pe toate continentele. Aceste evenimente au impus OMS să ridice la 11 iunie 2009 nivelul de alertă pandemică de la faza 5 la faza 6, ceea ce a însemnat începutul primei pandemii de gripă din secolul XXI. Totodată OMS a subliniat, că severitatea pandemiei date a fost moderată. Majoritatea persoanelor infectate s-au recuperat și s-au însănătoșit fără a necesita spitalizare sau tratament medical specific, iar numărul cazurilor cu complicații și decese a fost similar epidemiilor gripale sezoniere [3-6, 8-12].

În Republica Moldova, gripa și IACRS se înregistrează în fiecare an, numărul cazurilor de îmbolnăviri variind de la an la an și reprezintă 2/3 din numărul total de maladii infecțioase înregistrate pe parcursul anului. Apariția în anul 2009 a unui nou subtip de virus gripal A(H1N1) a cauzat pandemia de gripă la nivel global, resimțită și în Republica Moldova. Acest fapt a impus fortificarea sistemului de supraveghere epidemiologică a gripei prin crearea strategiilor de prevenire și control permanent, inclusiv prin sisteme speciale de monitorizare a gripei, IACRS și SARI [3, 6, 8].

Monitorizarea circulației virusurilor gripale umane face parte din sistemul complex de supraveghere a gripei. Anual, OMS monitorizează circulația și profilul antigenic al virusurilor gripale în vederea descifrării în timp real a variantelor cu potențial epidemic și pandemic, precum și a sensibilității lor la produsele medicamentoase cu acțiune antivirală, în special, a celor de ultimă generație (oseltamivir, zanamivir) și profilul imunității antigripale a populației cu scopul preparării vaccinului antigripal potrivit sezonului curent.

În contextul premiselor expuse, prezintă un deosebit interes științifico-practic pentru virusologia medicală studierea potențialului epidemic (pandemic) ale anumitor tipuri/subtipuri de virusuri gripale, răspândirii geografice, intensității și tendinței procesului epidemic, susceptibilității virusurilor gripale față de remediile antivirale oseltamivir și zanamivir, inclusiv a impactului socio-economic al acestora asupra sistemului de sănătate. Aceste circumstanțe au servit drept obiective de bază a prezentei lucrări.

I. ASPECTE EPIDEMIOLOGICE ȘI ETIOLOGICE ALE INFECȚIILOR GRIPALE. EVOLUȚIA CAPACITĂȚILOR DE DIAGNOSTIC

1.1. Aspecte etiologice ale infecțiilor gripale și caracteristicile morfostructurale ale virusurilor gripale

Infecțiile gripale, ce se declanșează regulat și sezonier prin epidemii și periodic (la diferit interval de timp: 10-40 ani) prin pandemii, au un impact negativ atât asupra sănătății publice, sistemului de sănătate, cât și asupra economiei naționale, și astfel, impun eforturi considerabile de control și răspuns.

Gripa este provocată de virusurile gripale din *familia Orthomyxoviridae*, *genul Influenza virus*, care include virusurile gripale de tip A, B și C cu genom ARN, monocatenar, segmentat, de sens negativ.

Virusul gripal A pentru prima dată a fost izolat în 1930 de la porci, de către virusologul american Richard Shope, însă primul caz de infectare a omului cu gripă porcină a fost atestat cu trei ani mai înainte [1-3]. De la oameni, virusul a fost izolat în 1933, de un grup de cercetători englezi Wilson Smith, Cristofer Andrews și Patrick Laidlow. Virusul gripal A este unul din cele mai cunoscute și mai înfricoșătoare dintre virusurile gripale, cauzând cele mai serioase epidemii și pandemii în istoria omenirii cu o rată extrem de înaltă de spitalizări și decese [6, 15-18].

Virusul gripal B, a fost descoperit în 1940 de către virusologul american Thomas Francis-Junior. După gradul de virulență, contagiozitate și semnificație epidemică, virusul gripal B, mereu a cedat în fața virusului gripal A. Acest virus nu cauzează pandemii, însă este un agent patogen al focarelor epidemice moderate, soldate uneori cu spitalizări și cazuri de deces [6, 15-18].

Virusul gripal C a fost izolat pentru prima dată în 1947 de către virusologul american Richard Taylor. Spre deosebire de virusurile gripale A și B, virusul gripal C cauzează infecții respiratorii ușoare, similare răcelilor banale, însă la copiii mici poate evolua destul de grav. Pentru virusul gripal C este caracteristică o stabilitate majoră a proprietăților antigenice și biologice comparativ cu virusurile A și B. De obicei nu cauzează epidemii, poate doar să însoțească epidemiile de gripă A și B și nu are impact sever asupra sănătății publice [6, 15-18].

Genomul virusurilor gripale este de tip ARN monocatenar, de sens negativ, segmentat. Numărul de segmente diferă în funcție de tipul viral: virusurile gripale A și B au genomul constituit din 8 segmente, iar virusul gripal C – din 7 segmente. De asemenea, aranjarea anumitor fragmente/segmente de ARN în virion pentru fiecare tulpină de virus gripal în parte, poartă un caracter individual [1, 5]. Cercetările din mijlocul sec. XX au stabilit că ARN virusurilor gripale este segmentat datorită proprietăților lor deosebite: rata înaltă de recombinare; participarea la reactivări multiple și încrucișate; reasortarea care are loc în natură, ceea ce sporește diversitatea genetică a virusului; precum și inactivarea diverselor funcții ale virusului gripal cu anumiți agenți chimici și raze UV [5, 6, 16, 18].

Din cele 8 fragmente ale ARN viral – 7 codifică proteinele structurale și doar un singur fragment (segmentul 8) – proteinele nestructurale (NS1 și NS2), funcțiile cărora sunt legate de reproducerea virusului gripal. În general, genomul virusului gripal codifică cel puțin 12 (cunoscute în prezent) proteine virale, majoritatea dintre ele sunt necesare pentru replicarea eficientă a virusului în celula-gazdă și la structurarea virionilor [5, 6, 18, 19].

Genomul viral împreună cu proteinele virale: proteaza acidă (PA), proteazele bazice (PB1 și PB2) și nucleoproteina (NP) formează nucleocapsida. Cea din urmă fiind protejată de către învelișul viral, derivat, de facto, din membrana celulei-gazdă în timpul exocitozei (fig. 1.1).

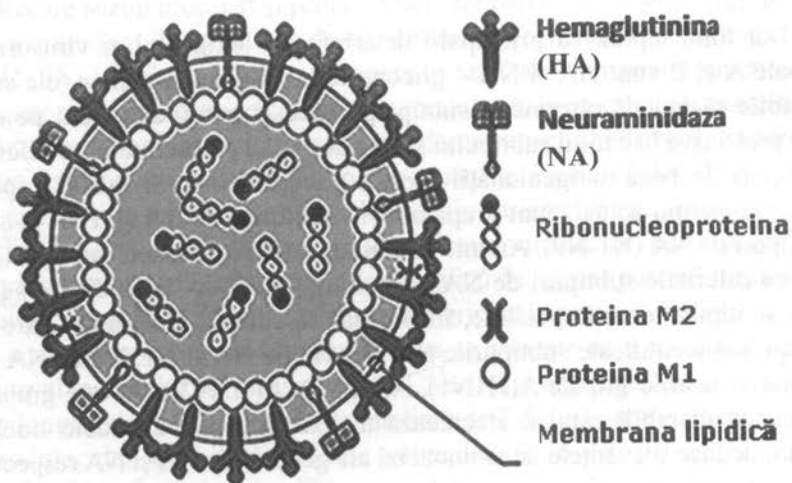


Fig. 1.1. Structura virusului gripal [19].

Învelișul viral este compus predominant din proteinele de suprafață hemaglutinina (HA), neuraminidaza (NA) și proteinele matriță (M: M1 și M2). HA este responsabilă de atașarea particulei virale la receptorii celulei-gază (acidul sialic) și de pătrunderea virusului în celulă, în special, în procesul contopirii membranei virale cu cea celulară. NA înlătură acidul sialic de la HA pentru a-i facilita pătrunderea în celulă și participarea în următoarele etape de reproducere a virusului. Totodată, NA conduce la eliberarea particulelor virale de pe suprafața celulei și răspândirea virusului în tractusul respirator [5, 6, 19, 20].

Proteinele matriță (M: M1 și M2) sunt componente ale stratului lipidic intern al învelișului viral, fapt ce rezultă în interacțiunea proteinei M cu HA și NA. Proteina M1 – este mediatorul aranjamentului dintre nucleocapsida helicoidală și învelișul viral, astfel participând la structurarea virionului. Pe când, proteina M2 (prezentă doar în virusurile gripale de tip A) reprezintă, de fapt, un canal ionic, care reglează pH în procesul „dezbrăcării” virusului în endosomi și în aparatul Golgi, unde și are loc sinteza HA. În acest caz, crearea unui pH acid este o condiție absolut necesară în procesul de eliberare a virusului și stabilizare a conformării HA în timpul transportului lui intracelular, asigurând astfel, existența mecanismului de interacțiune cooperativă a structurilor interne cu glicoproteinele externe și canalele ionice ale membranei lipidice a virusului gripal (fig. 1.1) [5, 6, 11, 19-22].

Dat fiind faptul, că principalii determinanți antigenici ai virusurilor gripale A și B sunt HA și NA – glicoproteine transmembranare, ele sunt capabile să inducă răspunsuri subtîp-specifice și imun, care sunt pe deplin protective în cadrul subtîpului și numai parțial protective între diferitele subtîpuri. În baza antigenicității acestor glicoproteine, virusurile gripale A, la momentul actual, sunt grupate în 16 subtîpuri de HA (H1-H16) și 9 subtîpuri de NA (N1-N9). Aname combinația dintre diferitele subtîpuri de HA cu diferitele subtîpuri de NA și se numește subtîp viral: din 144 (16 x 9) subtîpuri teoretic posibile, în prezent se cunosc 115, dintre care la om au fost identificate subtîpurile H1, H2, H3 de HA și N1, N2 de NA (și anume virusurile gripale A(H1N1), A(H2N2), A(H3N2)). Aceste grupări devin considerabile când se efectuează analiza filogenetică a nucleotidelor și sunt deduse secvențele de aminoacizi ale genelor de HA și NA respectiv [5, 6, 16-19].

Nomenclatura convențională a tulpinilor de virusuri gripale este folo-

sită pentru codarea lor și necesită conotarea tipului de virus gripal, specia gazdei (omisă în cazul originii umane a virusului), originea geografică, numărul de serie și anul izolării, și numai pentru virusul gripal A în paranteze se indică subtipurile de HA și NA – ex. A/HongKong/156/97 (H5N1) – tulpină de virus gripal de tip A, izolată de la om, originea geografică – Hong Kong, din proba nr. 156, în anul 1997, cu subtipul H5N1 [5, 6, 15-18].

Variația antigenică și circulația virusurilor gripale între specii sunt cauza izbucnirilor epidemice care au loc anual, îmbolnăvirile fiind favorizate de răspunsul imun neadecvat, chiar în acele segmente de populație care au fost anterior expuse infecției gripale. Variația antigenică este particularitatea fundamentală a virusurilor gripale A și B, care are loc la nivelul antigenelor de suprafață HA și NA, reprezentând astfel, un mecanism evolutiv de adaptare a virusurilor pentru asigurarea supraviețuirii lor ca specie [5, 6, 9, 15-18, 20, 22, 23].

Se cunosc două mecanisme ale variației antigenice: minoră (antigenic drift) și majoră (antigenic shift). Variația antigenică minoră se întâlnește la toate tipurile de virusuri gripale, însă totuși, se presupune că virusul gripal C nu se supune drift-ului antigenic, deoarece mutațiile în gena HA nu poartă caracter consecvent. Totodată, atât variația antigenică minoră – drift-ul antigenic, cât și cea majoră – shift-ul antigenic se întâlnesc la virusul gripal de tip A. Acest fapt poate fi explicat prin numeroasele epidemii, care au loc în fiecare sezon rece, cât și prin cunoscutele pandemii de gripă descrise în baza investigațiilor efectuate de către numeroși cercetători virusologi [5, 6, 9, 15, 18, 24]. Drift-ul antigenic apare în rezultatul mutațiilor punctiforme în genomul viral, ceea ce conduce, la rândul său, la modificarea proteinelor determinanților antigenici până la pierderea capacității de recunoaștere de către sistemul imun al gazdei. Anume mutațiile, inclusiv înlocuirile, delețiile și inserțiile sunt responsabile de apariția variantelor antigenice noi. Sub acțiunea imunității colective are loc selecția virusurilor, ce se deosebesc după caracteristicile antigenelor de suprafață de tulpina paternă inițială. Cu toate acestea, gene aparte ale virusurilor gripale umane acumulează mutații cu o viteză aproximativ constantă, ceea ce permite de a menționa despre „timpul molecular” al virusului gripal. Variațiile antigenice (drift) ale virusurilor gripale A și B apar și domină timp de 2-5 ani și numai după aceasta sunt înlocuite cu o altă diversitate antigenică [6, 16, 18, 20].

Până la sfârșitul anilor '70 ai sec. XX era recunoscută ideea că subtipurile virusului gripal A se schimbă reciproc în mod consecutiv. În aceeași

perioadă savantul virusolog E. Kilbourn a atestat faptul, că „fiecare serotip al virusurilor gripale A umane imediat îl înlocuiește pe predecesorul său și singur va fi înlocuit de următorul”. Însă, cercetările și studiile ulterioare ale agenților patogeni ai sezoadelor epidemice au demonstrat că lucrurile nu stau așa după cum se menționase. Astfel, particularitățile etiologice ale gripei contemporane sunt prezentate de cocirculația a două subtipururi de virus gripal A: A(H1N1) și A(H3N2), precum și a virusului gripal de tip B, având, însă, fiecare din ele semnificație epidemică diferită [15, 18, 25, 26].

În contrast, shift-ul antigenic, denotă o schimbare momentană și profundă în determinanții antigenici, cu alte cuvinte, o înlocuire a ambilor sau a unuia din subtipururile de HA și NA, într-un singur ciclu de replicare. Aceasta are loc în celula care este infectată simultan cu două sau mai multe virusuri gripale de tip A de diferite subtipururi. Odată ce distribuția segmentelor replicate ai genomului viral în interiorul virionului nou format are loc independent de originea subtipurului fiecărui segment, atunci poate să apară un așa virion, capabil deja de replicare, care va purta informația genetică a diferitor virusuri parentale (așa-numiții reasortanți) [5, 6, 9, 15-18, 23, 26].

În general, numeroasele teorii despre apariția variantelor pandemice a virusurilor gripale pot fi divizate în ipotezele antropozică și zooantropozică. Se presupune, că una din modalitățile de menținere a virusului gripal A în populația umană este persistența lui în organismul uman. Asemenea presupunere a fost bazată pe cercetările care au stabilit, că după încheierea ciclului pandemic virusul gripal foarte repede dispărea din circulație. Conform ipotezei date, virusul gripal în organismul uman trecea într-o formă inactivă, care, însă, peste mai multe luni sau chiar ani, el putea să se reactiveze. Reiese, că prezența infecției latente și persistente poate explica mecanismul shift-ului antigenic și includerile repetate în circulație a principalelor subtipururi ai virusului gripal de tip A [5, 6, 15, 26].

Urmărind istoria ciclurilor pandemice ale virusului gripal A, a putut fi confirmată ipoteza persistenței virusurilor gripale prin reapariții repetate la diferit interval de timp, fapt ce nu exclude posibilitatea persistenței lui în rezervorul animal. Pe de altă parte, există date veridice, că virusurile de origine aviară, umană și porcină clasică au un strămoș comun – și anume virusul gripal de origine aviară. Unii cercetători presupun, că anume virusul gripal aviar trece bariera de specie, infectând la început porcii, apoi după o anumită adaptare, alte mamifere, și ulterior, nimereste în populația umană. Acest fapt, a putut fi urmărit în 1918, când a apărut pandemia de

gripă „spaniolă”, determinată de virusurile gripale ale mamiferelor, HA căroră era strâns legată de varianta HA aviare [4-7, 9, 15-18, 20, 22, 23, 25, 27-29].

Modalitatea cu care virusul gripal este capabil să treacă periodic bariera de specie poate explica ipoteza despre prezența în una din genele polimerazice a mutației care duce la sporirea gradului de variabilitate a agentului, la apariția a unui număr considerabil de variante și la crearea unor condiții mai bune pentru adaptarea în organismul diferitor specii de animale și păsări. Întru confirmarea ipotezei date au fost aduse dovezi, care au demonstrat că HA virusurilor gripale A(H1N1) izolate de la porcinele bolnave din Europa de Nord a fost înrudită antigenic și genetic cu HA aviară. Apoi, aceste virusuri porcine noi au putut din nou să treacă bariera de specie și să provoace o epizootie la curcani fără producerea de variații genetice. Acești agenți se caracterizau printr-o instabilitate extremă, variabilitate și viteză de evoluție înalte. Faptul dat ar putea explica fenomenul istoric de trecere a barierei de specie a virusului gripal aviari, astfel făcând posibilă apariția unei linii clasice stabile de virus gripal porcini în SUA [5, 18, 24, 30].

Un alt mecanism posibil al shift-ului antigenic, în rezultatul căruia au apărut două tulpini pandemice de virusuri gripale – este reasortarea genelor virale. În prezent sunt dovezi convingătoare asupra faptului, că tulpinile pandemice – asiatică A(H2N2) (1957) și de Hong Kong A(H3N2) (1968) – au apărut în rezultatul reasortării virusurilor umane și aviare; genele HA, NA și a unei proteine din complexul polimerazic având origine aviară. Alte gene ale acestor tulpini pandemice sunt similare cu genele analoage ale virusurilor gripale umane anterioare A(H1N1) și A(H3N2). Cu toate acestea, porcinele fiind sensibile atât față de virusurile gripale umane, cât și față de cele aviare, au putut fi gazde intermediare pentru formarea variantelor shift (fig. 1.2) [5, 18, 21, 24].

Astfel, similaritatea genofondului virusurilor gripale de tip A umane și ale altor specii de mamifere în biosferă acordă o actualitate deosebită fenomenului de participare a virusurilor gripale animale și aviare în formarea variantelor pandemice. Totodată, trebuie de menționat, că semnificație epidemică considerabilă pentru umanitate, pe parcursul studierii virusurilor gripale au avut doar 3 subtipuri de virusuri gripale A: A(H1N1), A(H2N2) și A(H3N2) [18, 23].

Schimbarea genetică care permite trecerea unei tulpini de virus gripal de la o specie la alta, inclusiv la om, se numește „SHIFT ANTIGENIC”. Shift-ul antigenic poate avea loc pe trei căi:

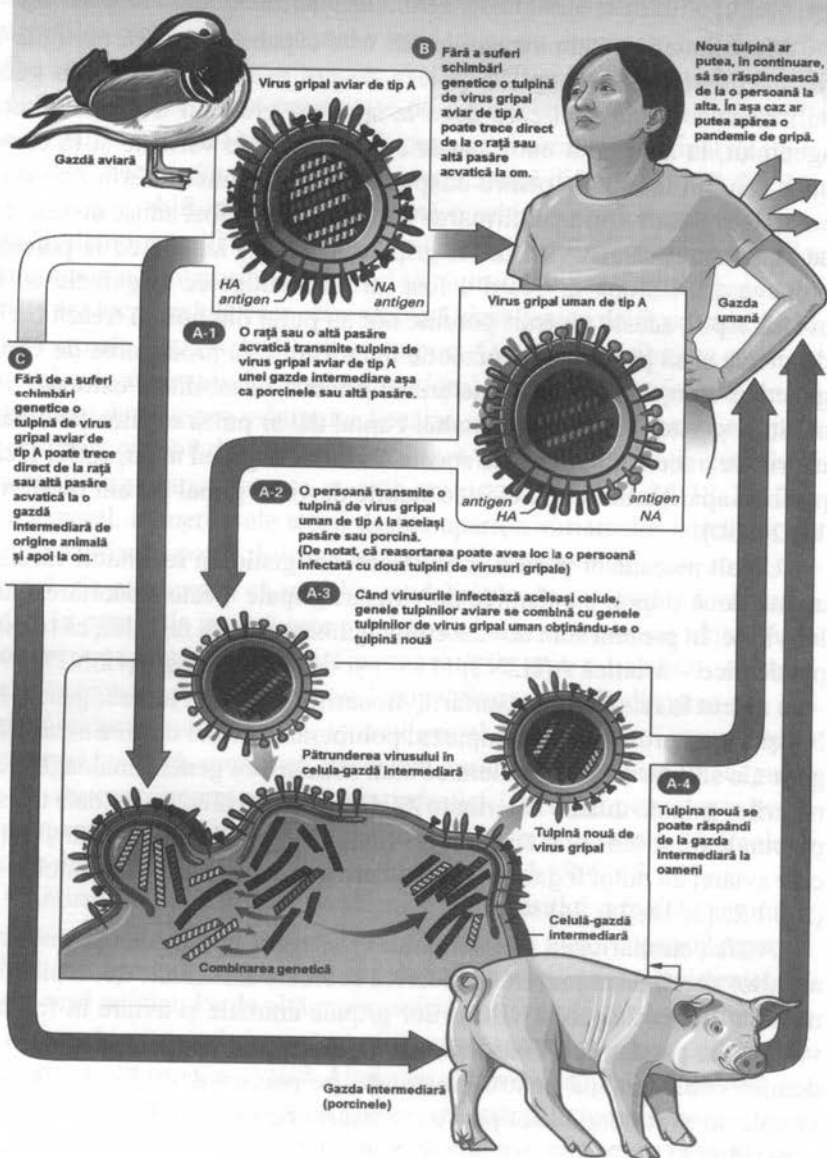


Fig. 1.2. Mecanismul shift-ului antigenic [6].

Așa dar, pandemiile de gripă au loc atunci, când își face apariția un nou virus gripal, la care marea majoritate a populației umane de pe glob nu are protecție imună sau aceasta este foarte slabă, care are un potențial înalt de infectare a oamenilor provocând cazuri clinice de boală și cu o transmisibilitate înaltă de la persoană la persoană. Aceste particularități rezultă într-un impact de talie globală a infecției gripale ce afectează un procent considerabil de persoane și cauzează o sporire a nivelului de mortalitate [1, 4, 6, 9, 16-18, 20, 23-36].

Practic, întru confirmarea celor expuse mai sus poate fi adus exemplul ultimei pandemii din șirul istoric care și a avut loc în 2009-2010 – prima pandemie a sec. XXI. Această pandemie, de o severitate moderată, a fost provocată de un nou virus gripal reasortant A(H1N1)pdm0909. Analiza genetică a acestui virus pandemic a dezvăluit o nouă combinație a genelor virusurilor umane, porcine și aviare eurasiatice. Virusul conține genele HA, NP și NS ale virusului clasic de origine porcină, genele PB2 și PA ale virusurilor aviare nord americane, gena PB1 a virusurilor H3N2 de origine umană și genele NA și M ale virusurilor porcine eurasiatice similare celor aviare. Nu se exclude probabilitatea, că acest virus provine de la virusurile porcine triplu reasortante circulante la porcine în perioada anilor 1997-1998 conținând genele HA, NA și PB1 similare virusurilor umane și genele interne PB2 și PA de origine aviară [4, 7, 15, 16, 20, 23, 30, 37, 38]. Cercetările, însă, au demonstrat că aceste virusuri sunt sărace în determinanți moleculari specifici pentru adaptarea la gazda umană, astfel sugerând un rol încă necunoscut/nedocumentat a markerilor moleculari asociat transmisiei umane [7, 11, 20, 28, 30, 38-51]. Aceste virusuri, în consecință, nu posedă markeri asociați cu virulența înaltă sau patogenitatea care au fost observate la virusul H1N1 din 1918 sau patogenitatea înaltă a virusurilor H5N1 [12, 21, 30, 42].

Totodată, analiza filogenetică a demonstrat că secvența de HA a tulpinii de virus gripal A(H1N1)pdm09 09 cel mai mult se aseamănă cu cea a tulpinii din 1918 și a fost antigenic distinctă de virusurile H1N1 umane recente, precum și de componentii vaccinurilor. Antigenic, însă, virusurile A(H1N1)pdm0909 sunt omogene și printre tulpinile istorice de virusuri gripale, sunt cele mai similare cu virusurile gripale porcine A(H1N1) clasice (triplu reasortant) [20, 21, 23, 28, 30, 42, 52].

Printre virusurile A(H1N1)pdm0909 analizate au existat doar câteva substituții de aminoacizi la nivel de HA, și nici una din ele nu au avut efect

antigenic. Deci, variația antigenică printre virusurile A(H1N1)pdm0909 circulante în populația umană este la moment mai mică față de cea observată în timpul unui sezon gripal tipic [15, 20, 23].

Cu toate acestea, s-a atestat că virusul A(H1N1)pdm0909 posedă o transmisibilitate înaltă și are un avantaj biologic distinct în replicare, transmisie, tropism și patogeneză în comparație cu ambele virusuri sezoniere reprezentative A(H1N1) și A(H3N2). Similaritatea în manifestările epidemiologice ale acestei tulpini de virus gripal a fost observată în populație atât în emisfera nordică, cât și în cea sudică [15, 21, 30, 42, 48, 53-55].

Astfel, pe măsură ce cunoaștem mai mult despre virusurile gripale, un efort considerabil este necesar pentru a răspunde la întrebările: care sunt factorii determinanți în transmisia virusului de la o specie la alta; care sunt factorii ce determină reasortarea virusurilor, – factori critici în apariția unor noi virusuri pandemice. La nivel global, însă, există posibilitatea de a urmări evoluția virusurilor gripale, practic în timp real, ceea ce ne poate asigura cu informații inestimabile întru stabilirea factorilor ce determină patogenitatea și/sau transmisibilitatea lor.

1.2. Epidemiologie

Scurt istoric

• Primele atestări ale prezenței gripei datează cu multe secole în urmă. Descrierea unei boli cu simptomatologie asemănătoare a fost făcută încă de Hipocrate în anul 412 î. Chr., cu referință la o epidemie de gripă ce a afectat toată Grecia, de unde s-a extins în Europa (prima mențiune din istoria gripei).

• Epidemii de asemenea proporții au existat și în Evul Mediu, însă primele rapoarte ce conțin o descriere mai exactă a maladiei sunt din 1510 (Tabelul nr. 1).

• Între 1889 și 1891 a avut loc o epidemie cu severitate medie, produsă de virusul gripal A(H3N2), care a fost descrisă detaliat în literatură.

În secolul XX au avut loc 3 mari pandemii de gripă:

- Gripa „spaniolă”: 1918-1920.
- Gripa „asiatică”: 1957-1958.
- Gripa „Hong Kong”: 1968.
- Gripa „rusească”: 1977-1978.

Cele mai importante evenimente descrise în diferite surse de literatură cu referință la gripa umană asociate simultan cu infecții la animale, păsări

Anii	Sezonul	Răspândirea	Infecții temporar asociate la animale	Simptomele
1510	–	Pandemie	Pesta vitelor cornute mari	Afecțiuni gastrice
1557	Toamna	Pandemie	–	Febra dublă terțiană
1580	Toamna	Europa	Pesta vitelor	Inflamarea parotidei
1658	Primăvara	Europa, Anglia	–	Afecțiuni cefalice
1675	Toamna	Europa	–	–
1688	–	Dublin	Eliminări nazale la cai	–
1693	Toamna	Europa, Anglia	Eliminări nazale la cai	–
1710	Primăvara	Europa, Anglia	–	Puls accelerat, mărit
1729	Iarna	Europa, Anglia	–	–
1732/33	Primăvara-iarna	Pandemie	Tusea la cai	Inflamarea parotidei
1737/38	Toamna	Europa, Anglia, America de Nord	îmbolnăvirea cailor	–
1743	Primăvara	Europa, Anglia	Tusea la cai	–
1758	Toamna	Europa, Anglia, America de Nord	–	–
1762	Toamna	Europa, Anglia	Semne de răceală la cai	Mortalitate variabilă
1767	Vara	Europa, Anglia, America de Nord	Cîini, cai, răceala cailor	–
1775	Toamna	Pandemie	Răceala la cîini, cai...	Prurigo, erizipel
1782	Primăvara	Pandemie	–	–
1802/03	Primăvara	Europa, Anglia	Vitele cornute mari și animalele domestice	Schimbare variabil cu scarlatina
1833		Pandemie	îmbolnăvirea cailor	–
1836/37	Iarna	Pandemie	–	–
1847/48	Toamna		Pandemie	–
1889/90	Iarna	Pandemie		Exces de mortalitate la persoanele de vîrsta 20-40 ani

Gripa „Spaniolă”

Gripa „spaniolă”, cauzată de virusul A(H1N1), a avut loc în anii 1918-1920. Aceasta a fost cea mai severă dintre pandemiile cunoscute și descrise vreodată. Gripa „spaniolă” a afectat peste 20% din populația globului,

având o evoluție foarte rapidă. Se presupune că primele cazuri de gripă au apărut în China, dar documentar acestea au fost descrise și confirmate în martie 1918 în SUA (Boston), Sierra Leone (Freetown) și în aprilie 1918 în Franța, Italia și Spania.

Spaniolii, nefiind implicați în conflagrația mondială, fiind o țară neutră, au mediatizat primii și intens în presă flagelul gripal, care s-a extins rapid în Europa, Asia, Africa și în cele două continente americane. Chiar dacă primele cazuri de gripă nu s-au înregistrat în Spania, dar, datorită funcționării „cenzurii de război” – în țările participante la I război mondial era interzisă abordarea în presă a subiectului apariției și extinderii gripei - ulterior, cea mai gravă pandemie de gripă a fost numită „gripa spaniolă”.

Consecințele:

- Timp de 10 luni, gripa s-a răspândit în întreaga lume. În această perioadă au fost infectate peste 400 milioane de persoane.

- În Spania, în mai 1918 au murit 8 milioane de oameni.

- 675.000 americani au decedat în urma acestei pandemii, dintre care 200.000 – în octombrie 1918. Jumătate dintre soldații americani, care au murit în Europa, în timpul I război mondial, au fost uciși de gripă și nu de combatanții inamici.

- În Statele Unite, speranța de viață a scăzut, brusc, cu 10 ani.

- Orașe întregi au rămas practic depopulate. Cel mai puternic au fost afectați tinerii, bătrânii și persoanele cu imunodeficiențe.

- Într-un singur an, gripa spaniolă a făcut mai multe victime decât ciurma bubonică în patru ani (1347-1351) și decât I război mondial.

- Decesele se atestau la numai câteva zile de la infectare, uneori la câteva ore de la contact. Acestea survineau, în special, din cauza complicațiilor pulmonare letale (pneumonie virală primară).

- Cea mai ridicată mortalitate s-a înregistrat la persoanele cu vârste cuprinse între 20 și 40 de ani, anterior sănătoși. Rata mortalității a fost de 250 de ori mai mare decât în cazul unei gripe obișnuite.

- Valuri repetate de îmbolnăviri prin gripă s-au înregistrat și în anii 1918- 1919 și 1919-1920 cu o intensitate mai mică. Atunci s-au îmbolnăvit cei care nu au suferit în primul val.

În total, din cauza pandemiei de gripă „spaniolă”, în lume au decedat circa 20-50 milioane de persoane.

- Cercetătorii americani au reușit să reconstituie și să readucă la viață virusul „gripei spaniole” din 1918, pentru a-i descoperi și analiza virulența, în speranța că vor contribui, astfel, la combaterea unei potențiale pandemii de gripă, care ne amenință prin apariția variantelor înalt patogene.

- Pentru reanimarea virusului, cercetătorii de la CDC Atlanta din SUA (Centrul de Control al Maladiilor) au mers în Alaska pentru a exhuma trupul unei femei îngropate în noiembrie 1918 în permafrost (stratul de sol înghețat permanent) pentru a-i preleva mostre de țesut (cunoscându-se că virusul gripal poate supraviețui la -70°C zeci de ani). De asemenea, pentru a reconstitui codul genetic al acestui virus, au mai fost cercetate țesuturi pulmonare provenite de la victimele gripei „spaniole”, conservate în formol.

- Conform studiului, s-a demonstrat că, virusul din 1918, identificat ca A(H1N1) avea la origine un virus gripal aviar, care a reușit să se adapteze la om. Efectele sale au fost studiate pe șoareci, embrioni de păsări și pe celulele pulmonare umane.

- Ca și varianta sa originală, virusul gripei „spaniole”, reactivat în calculator, s-a dovedit a fi mortal, ucigând în doar câteva zile cobaii pe care a fost testat, cât și embrionii de pasăre.

Gripa „Asiatică”

În 1957-1958 a avut loc o pandemie care a fost botezată „gripa asiatică”, cauzată de virusul A(H2N2) de o intensitate mult mai mică decât cea din 1918. Pandemia a început în februarie 1957, în Orientul îndepărtat și s-a răspândit rapid în întreaga lume. Numai în SUA, în timpul acestei pandemii, au murit peste 70.000 de oameni. În lume, s-au înregistrat 2 miliarde de bolnavi și 1 milion de decese.

Gripa „Hong Kong”

În 1968-1969 a apărut gripa de tip „Hong Kong”, cauzată de virusul A(H3N2). Pandemia, având severitate medie de evoluție, a afectat, în special, oamenii în vârstă de peste 65 de ani. S-au înregistrat peste 1 milion de decese.

Gripa „Rusească”

În 1977-1978 a avut loc o pandemie relativ ușoară, numită „gripa rusească”, cauzată de virusul gripei A(H1N1). Agentul etiologic al acestei pandemii a fost implicat în epidemia din 1950, astfel, au avut de suferit, în primul rând, persoanele născute după acest an.

Gripa de tip nou A(H1N1): 2009 – prezent

În aprilie 2009, în SUA (California de Sud și Texas), au fost înregistrate cazuri de boală respiratorie acută, extrem de contagioasă, cauzată de virusul gripal de tip nou A(H1N1), neîntâlnit anterior în populația umană. Virusul de tip nou a apărut brusc, fiind detectat concomitent în alte 2 țări, Mexic și Canada. Situația prin infecția cu virusul gripal nou A(H1N1) a evoluat foarte rapid, afectând într-un timp scurt un număr mare de oameni pe toate continentele. Aceste evenimente au impus Organizația Mondială a Sănătății să ridice la 11 iunie 2009 nivelul de alertă pandemică de la faza 5 la faza 6, ceea ce a însemnat începutul primei pandemii de gripă în secolul XXI. Totodată, OMS a subliniat faptul, că severitatea pandemiei actuale este moderată. Majoritatea persoanelor infectate se recuperează și se vindecă fără a necesita spitalizare sau tratament medical specific, iar numărul cazurilor cu complicații și decese este similar epidemiilor gripale sezoniere.

Concluzii:

- Virusul A(H1N1) din 1918 era unul de origine aviară, care a reușit să spargă bariera de specie și s-a adaptat apoi la om.
- Tulpinile virusurilor gripale din pandemiile anilor 1957 și 1968 au reprezentat un amalgam genetic (reasortant) între virusuri de origine aviară și virusuri care circulară deja ca virusuri gripale umane.
- Deși, virusurile gripale au fost studiate foarte intens în ultimii 60 de ani, totuși, foarte multă informație rămâne necunoscută și urmează a fi studiată și de alte generații de savanți.
- Toate aceste pagini de istorie trebuie să amintească oamenilor de importanța profilaxiei și controlului continuu al gripei. Astfel că, după 2500 de ani, gripa rămâne în continuare o problemă deschisă.

Manifestarea procesului epidemic în gripă

Virusurile gripale reprezintă agenți etiologici ai unor infecții respiratorii acute, grave, cu impact global, ce pot evolua în pandemii, epidemii și sporadic soldate cu număr înalt de îmbolnăviri, complicații severe, număr crescut de spitalizări și mortalitate înaltă, în special în rândul contingentelor cu risc precum sunt copiii, bătrânii, persoanele cu boli cronice, imunosupresie etc.

De asemenea, acestea pot evolua și sub formă de epizootii – îmbolnăviri masive ale păsărilor pe teritoriul extinse.

Răspândirea virusurilor gripale

Larg răspândite în întreaga lume, virusurile gripale infectează nu numai omul, ci și numeroase specii de animale domestice (cai, porci, pisici, câini) și sălbatice (nurci, foci, balene, tigri etc.) sau păsări sălbatice și/sau domestice (rațe, pescăruși, găini, curcani etc.).

Printre oameni, preponderent circulă subtipurile A(H1N1), A(H2N2), A(H3N2) și B.

Variația antigenică și circulația virusurilor gripale între multiple specii îi conferă virusului gripal un succes înalt de supraviețuire.

Gripa este unică în abilitatea sa de a cauza izbucniri sub formă de:

- epidemii recurente – care au loc anual și
- pandemii extinse la diferite perioade de timp.

Aspecte epidemiologice

➤ Surse de infecție sunt:

• Bolnavii cu forme tipică și atipică sunt contagioși înainte de debutul clinic cu 1-3 zile, în perioadele de prodrom și de stare, timp de 3-5 zile în gripa sezonieră și până la 7 zile în gripa pandemică.

• Persoanele infectate, fără manifestări clinice.

➤ Rezervorul de virus pot fi și unele animale (cai, porci, păsări etc.) în organismul cărora are loc reasortarea și apariția unor tulpini noi de virus gripal cu potențial de virulență sporit.

➤ Rata de atac: variază de la 10-15% până la 50-70%.

➤ Căile de transmitere:

• Aeriană, prin picături.

• Indirectă, prin obiecte contaminate recent cu secreții respiratorii (rar, datorită rezistenței mici a virusului în mediul ambiant).

➤ Receptivitatea populației este generală, mai înaltă – la copii, bătrâni și persoane cu boli cronice.

➤ Imunitatea:

• Post infecțioasă, este de 1-2 ani pentru infecția cu virusul gripei A și de 3-5 ani pentru virusul gripal B.

• Postvaccinală, cu durată de 1-2 ani pentru tulpinile componente a vaccinului.

➤ Factorii care pot influența evoluția procesului epidemic:

• Naturali de mediu: schimbările bruște de presiune, temperatură, umiditatea crescută etc.

• Economico-sociali: deficiențele de igienă, aglomerația, carențele în

alimentație, condițiile de muncă, mediul, densitatea înaltă și migrația populației, gradul de dezvoltare a sistemului de sănătate etc.

Epidemii

Sezonalitatea

Gripa este o infecție sezonieră, înregistrată în anumite perioade a anului. Epidemiile, de regulă, apar în perioada rece a anului: în Emisfera de Nord (lunile noiembrie-martie), în Emisfera de Sud (mai-august). În regiunile tropice, gripa nu se manifestă sezonier, ea se înregistrează pe tot parcursul anului, schimbările pot surveni în urma unor modificări de climă.

În Moldova, epidemiile apar, de regulă, în luna februarie. Au fost, însă, înregistrate epidemii (foarte rar) și în lunile decembrie, ianuarie și martie. Durata epidemiei este de regulă 1-2 luni (3-6 săptămâni), apoi circulația virusurilor gripale se diminuează. Una dintre enigmaticele principale ale virusului gripal este faptul că în cea mai mare parte a anului nu se atestă circulația în populația umană.

Se presupune că virusurile ar circula și s-ar modifica în regiunile ecuatoriale, pe motiv că îmbolnăvirile prin gripă aici se înregistrează pe toată perioada anului.

Apariția epidemiei prin creșterea numărului de îmbolnăviri în perioada rece a anului ar fi legată de supraaglomerarea populației în colective mari și încăperi închise în timpul rece și umed al anului, fiind favorizată și de un răspuns imun scăzut al organismului, chiar și în acele grupuri de populație care au fost anterior expuse infecției gripale sau vaccinate în sezonul precedent.

Consecințele epidemiilor gripale

- rată înaltă de infectare la copii și adulți >60 ani;
- rată înaltă de complicații severe postgripale;
- rată înaltă de spitalizări cu supraîncărcarea serviciului medical prin consultații medicale, vizite la domiciliu, chemări de ambulanță ș.a.;
- absenteism școlar, industrial;
- pierderi economice individuale și statale.

Morbiditate

Orice persoană, anual, se poate infecta cu virusuri gripale sezoniere. În timpul unei epidemii se poate îmbolnăvi circa 10-20% din populația unei țări.

Statistica morbidității și mortalității anuale prin gripă în unele țări

Țara	Nr. total al populației (mln.)	Nr. de îmbolnăviri prin gripă	Nr. spitalizărilor	Nr. deceselor
USA	250	15 mln. - 30 mln.	175.000-4.000.000	12.500-37.500
Austria	8	480.000-960.000	5.600- 12.800	400 - 1.200
Belgia	10	600.000- 1,2 mln.	7.000- 16.000	500- 1.500
Franța	56	3,36 mln. - 6,72 mln.	39.200-89.600	2.800-8.400
Germania	77	4,62 mln. - 9,24 mln.	53.900- 123.200	3.850- 11.550
Italia	55	3,3 mln. - 6,6 mln.	38.500-88.000	2.750-8.250
Portugalia	10	60.000- 120.000	7.000- 16.000	500- 1.500
Spania	40	2,4 mln. - 4,8 mln.	28.000-64.000	2.000-6.000
Elveția	7	420.000-840.000	4.900- 11.200	350- 1.050
Olanda	15	0,9 mln. - 1,8 mln.	10.500-24.000	750-2.250
Anglia	56	3,36 mln. - 6,72 mln.	39.200-89.600	2.800 - 8.400

Spitalizare

În timpul epidemiilor cu rata de atac 10-15%, circa 1-5% din cei bolnavi necesită spitalizare. Crește practic de 2-5 ori numărul spitalizărilor, reieșind din grupurile de vârstă, în special, numărul înalt de spitalizări se înregistrează la copii (până la 5 ani) și adulți peste 65 ani. Se estimează următorii indici de spitalizare:

Tabelul 1.3

Numărul estimativ de cazuri de gripă în diferite grupuri de populație ce vor necesita spitalizarea (la 100.000 populație)

Grupuri de vârstă	Cazuri cu risc sporit de complicații postgripale	Cazuri fără risc de complicații postgripale
0-4 ani	500	200
5-14 ani	200	20
15-44 ani	40-60	20-30
44 - 64 ani	80-400	20-40
> de 65 ani	200-1000	200-1000

Decese

Orice epidemie gripală este soldată cu un număr crescut de decese în populația generală, circa 0,01-0,2% anual în întreagă lume, cu variații în funcție de grupurile de vârstă și starea de sănătate. În special, indici mai mari de mortalitate postgripală se atestă la copiii până la 2 ani și adulții peste 65 ani. Dacă indicii medii de letalitate printre persoanele 5-19 ani este de 0,9 la 100.000 populație, atunci la persoanele > 65 ani trece de 103,5 la 100.000 populație.

Totuși, cota cea mai mare de decese postgripale din toate grupurile de vârstă o reprezintă persoanele cu anumite afecțiuni cronice (afecțiuni cardiovasculare, bronhopulmonare, metabolice și combinațiile lor).

Impactul economic. Costul gripei

În decursul ultimilor ani se observă o creștere continuă a cheltuielilor legate de sănătate. Această creștere este condiționată și de o serie de factori: îmbătrânirea populației, creșterea incidenței anumitor boli, crearea de noi tehnologii, cerințele tot mai mari ale pacienților legate de calitatea serviciilor medicale. Gripa și afecțiunile respiratorii generează anual importante pierderi economice. Costul asociat al gripei se referă în special la costul îngrijirilor medicale și pierderea capacității temporare de muncă pe perioada îmbolnăvirii persoanei adulte sau pentru îngrijirea copilului bolnav.

Cea mai mare parte a costurilor de îngrijire medicală o constituie costurile de spitalizare. În perioada epidemică, rata de spitalizare crește de 2-5 ori pentru pacienții din grupurile cu risc sporit, ceea ce înseamnă o creștere a numărului de internări cu 1.600 la 1 milion de locuitori, ca rezultat al complicațiilor severe ale gripei: pneumonia și/sau alte infecții bacteriene secundare sau exacerbarea bolilor cronice (diabet, boli cardiovasculare, astm bronșic etc.). Pentru tratarea gripei și a complicațiilor ei, în fiecare an, în lume se cheltuiesc aproximativ 14,6 mlrd \$. Fiecare persoană, la rândul său, din cauza infecției gripale poate cheltui echivalentul de la 30 până la 100 \$, doar pentru acoperirea tratamentului infecției gripale, nu și a complicațiilor post-gripale, care ridică costul gripei la sute de dolari SUA.

Costul vaccinului gripal sezonier constituie 10-12\$. Astfel, ca și în cazul multor infecții, prevenirea infecției (vaccinarea) costă mult mai puțin decât tratarea ei.

Gripa are repercusiuni importante și la nivel social; costurile pe care aceasta le implică se referă la absenteismul de la locul de muncă și produc-

tivitatea redusă a angajaților bolnavi (în cazul în care angajații bolnavi continuă să lucreze sau se întorc la lucru înainte de dispariția simptomelor), plata orelor suplimentare și angajarea de personal temporar.

Pandemii

Pandemia reprezintă infectarea simultană a unui număr mare de oameni din mai multe țări și continente. Circa 20-50% din populația globului poate fi afectată în timpul pandemiilor de gripă.

Pandemiile gripale sunt:

- imprevizibile;
- apar la fiecare 10-40 ani;
- acțiunea asupra oamenilor poate fi foarte variată: de la scenarii cu rata de atac de 40-50% (pandemia din 1918) sau rata de atac de 20-30% (pandemiile din 1958, 1968).

Pentru declanșarea unei pandemii sunt necesare întrunirea a 3 condiții:

1. Apariția unui virus gripal nou, care nu a circulat anterior în populația umană, față de care oamenii nu au imunitate și este foarte receptivă.
2. Capacitatea virusului de a infecta direct omul (fie de la păsări sau de la animale) și cauza infecții severe la om.
3. Transmiterea ușoară și rapidă a virusului de la o persoană la alta, răspândindu-se de la o regiune la alta.

Virusurile gripale A(H3N2), A(H1N1) circula mai mult de 35 de ani în populația umană. De aceea experții consideră că:

- apariția pandemiilor este inevitabilă;
- nimeni nu poate prezice timpul și locul apariției unei pandemii noi;
- la moment, pericolul evoluției unei pandemii este mare, ținând cont de apariția și răspândirea insistentă a variantei A(H1N1) noul subtip, care, întrunește toate caracteristicile pentru o variantă de virus pandemic;
 - nu este exclusă apariția, între timp, și a altor variante de virus gripal (H7, H9) cu potențial pandemic, capabile să declanșeze o pandemie;
 - ținând cont de condițiile actuale (urbanizarea înaltă, transportul aerian intens, migrația intensă, dezastrele naturale și tehnogene) se estimează că răspândirea unei pandemii ar fi foarte rapidă.

Evitarea transformării acestui scenariu sumbru în realitate este posibil prin:

- Depistarea și supravegherea focarelor cu virusuri gripale noi la păsări și animale.

- Identificarea și limitarea sursei de infecție (păsări, animale bolnave).
- Depistarea precoce a eventualelor bolnavi cu virusuri gripale noi, izolarea, tratamentul și supravegherea lor.
- Acoperirea vaccinală cât mai extinsă a populației contra gripei sezoniere, în primul rând, a grupurilor cu risc.
- Cooperarea rețelelor naționale de supraveghere pentru monitorizarea regională și globală a tulpinilor circulante de virus gripal pentru prepararea la timp și în cantități suficiente de vaccin gripal eficient.

Sistemele de supraveghere a gripei

Apariția treptată, imprevizibilă la anumite perioade de timp a unor pandemii devastatoare cu pierderi dezastruoase medicale și economice, iar anual – al epidemiilor, ce provoacă morbiditate sezonieră înaltă prin infecții respiratorii de tip gripal, impune crearea strategiilor de prevenire și control permanent, atât la nivel național, regional, cât și internațional prin sisteme speciale de supraveghere a gripei.

Programul global de supraveghere epidemiologică a gripei în lume este unul dintre cele mai vechi programe de supraveghere elaborate de Organizația Mondială a Sănătății. Supravegherea gripei a fost inițiată și organizată de către OMS încă din 1947 prin crearea de centre naționale și laboratoare internaționale de referință, cu elaborarea unei metodologii speciale de organizare. Timp de 4 ani, în rețea au fost incluse mai mult de 60 de laboratoare din 40 de țări. Din momentul creării acestui program, a fost elaborat și un model de colaborare științific internațional operațional pentru toți participanții și beneficiarii: tulpinile virusurilor gripale izolate puteau fi disponibile și pentru alte laboratoare, producători de vaccinuri, îndată ce se depistau particularități noi.

Anual, OMS monitorizează circulația și variabilitatea antigenică al virusurilor gripale, precum și profilul imunității antigripale al populației, în vederea descoperirii la timp a variantelor cu potențial pandemic și epidemic și cu scopul preparării vaccinului antigripal potrivit sezonului curent.

Obiectivele supravegherii gripei se referă la:

- Monitorizarea circulației virusurilor umane și animale.
- Supravegherea evoluției unor indicatori specifici și nespecifici ai infecției gripale.

Monitorizarea circulației virusurilor umane și animale.

Această activitate permite depistarea precoce a tulpinilor cu potențial

epidemigen (modificări antigenice minore de tip „drift”) și pandemigen (modificări antigenice majore de tip „shift”). La moment, funcționează o rețea care numără peste 128 de centre naționale de gripă din 99 de țări și 4 centre regionale de referință din Londra (Marea Britanie), Atlanta (SUA), Tokyo (Japonia) și Melbourne (Australia). Al cincilea centru se află în Memfis (SUA), care se specializează doar pe virusurile gripale animaliere.

Programul funcționează în modul următor: centrele naționale de gripă din fiecare țară colectează diverse tulpini de virus gripal care circulă la moment în populația umană de pe tot globul (prin izolarea lor în culturi celulare sau ouă embrionate de găină) și le transmit în cele 4 centre regionale de referință pentru gripă pentru confirmare și studiu aprofundat. Anual, se colectează și se transmit în jur de 150.000-200.000 de probe.

La rândul său, cele 4 centre regionale de referință (Londra, Atlanta, Tokyo și Melbourne) conduc și desfășoară analize moleculare și antigenice detaliate la toate variantele gripale din toată lumea prin metode RT-PCR, secvențiere. Se studiază nivelul modificărilor survenite la nivel genetic și direcția în care aceste modificări ar putea evolua, fapt ce permite obținerea unui tablou reprezentativ despre circulația tulpinilor gripale sezoniere în lume, cât și discutarea de către OMS, de două ori pe an, a problemei legate de vaccinurile gripale: ce tulpini cu potențial major de circulație în sezonul următor se vor alege și vor fi incluse în vaccinul antigripal din sezonul următor pentru cele două emisfere (de Sud și de Nord). Acest moment este unul foarte important. E nevoie de ales anume acele tulpini care au cea mai mare probabilitate de circulație în sezonul viitor pentru a produce un răspuns imun eficient la oameni. Adicional analizei antigenice a virusurilor gripale, centrele regionale de referință a OMS colaborează cu centrele naționale de gripă din diverse țări privind studierea eficacității vaccinărilor antigripale anuale în populația umană.

În același timp, laboratoarele specializate elaborează sisteme, truse de diagnostic, care ar permite rețelei de laboratoare naționale să determine virusurile gripale circulante. De altfel, toate tulpinile noi detectate se păstrează în arhive de microorganisme pentru o comparație retrospectivă.

Apariția și implementarea tehnicilor de diagnostic rapid al gripei a optimizat și a sporit randamentul procesului de izolare a virusurilor și a scurtat intervalul de timp pentru caracterizarea izolatelor. Unele teste de biologie moleculară (RT-PCR) furnizează informații rapide, în decurs de 1 zi, privind tipul, subtipul tulpinilor gripale și permit monitorizarea eficien-

tă a tulpinilor epidemigene sau pandemigene cu prepararea în timp optim a unor vaccinuri corespunzătoare.

Supravegherea evoluției unor indicatori nespecifici ai infecției gripale.

Urmărirea indicatorilor nespecifici furnizează informații utile privind impactul medical, social și economic al gripei și oferă suport pentru elaborarea unor măsuri eficiente, altele decât vaccinarea. Astfel, în scopul supravegherii epidemiologice și asigurării depistării la timp, monitorizării sistematice a gripei sunt implementate:

- Sistemul operativ de supraveghere a cazurilor de gripă, infecții acute a căilor respiratorii superioare și infecții respiratorii acute severe (pneumoniile acute și bronșiolitele la copii și sugari).

- Sistemul sentinelă de supraveghere a gripei și infecțiilor acute a căilor respiratorii superioare și infecțiilor respiratorii acute severe.

Obiectivele funcționării Sistemului operativ și Sistemului sentinelă de supraveghere a gripei includ:

- Depistarea precoce a cazurilor de gripă, investigarea și evaluarea riscurilor.

- Monitorizarea virusologică și epidemiologică continuă a activității gripale sezoniere și pandemice.

- Investigarea modificărilor referitoare la caracteristicile evoluției pandemiei, precum creșterea severității bolii, a numărului de decese.

De asemenea, pentru aprecierea indicatorilor calitativi ai evoluției procesului epidemic la gripă Sistemul sentinelă presupune funcționarea unei rețele cu implicarea medicilor de familie din centrele de sănătate raionale și AMT, inclusiv a medicilor de familie din localitățile rurale, spitale/secții de boli infecțioase, stațiile de asistență medicală de urgență, farmaciile, grădinițele, instituțiile școlare, întreprinderi industriale, unități departamentale (militare, penitenciare etc.).

Indicatorii calitativi monitorizați includ date despre:

- răspândirea geografică a morbidității;
- evoluția manifestării, tendința și intensitatea procesului epidemic;
- impactul asupra serviciilor de sănătate (adresări la medicul de familie, vizite la domiciliu, chemări de ambulanță, internări în staționar etc.).

Principalul indicator de supraveghere utilizat de majoritatea țărilor este monitorizarea numărului de persoane cu diagnoza clinică de infecție respi-

ratorie (variante - infecție respiratorie virală acută (IRVA), infecție acută a căilor - respiratorii superioare (IACRS), infecții nongripale ș.a.) și/sau diagnoza de gripă (variante - infecții de tip gripal (ILI) bazată pe definiție de caz standard clinic, epidemiologic și de laborator, ce poate fi diferită de la țară la țară).

În prezent, funcționează cu deosebit succes două sisteme: unul internațional (WHO Global Influenza Surveillance Network) și altul regional (European Influenza Surveillance Network) care urmăresc evoluția gripei interactiv prin conectarea centrelor naționale de gripă, a centrelor regionale de referință și a altor instituții implicate în supravegherea gripei prin INTERNET.

Principalele sisteme existente de supraveghere a gripei în ordinea apariției lor:

1. Who global Influenza Surveillance Network (flunet) a devenit operațional în anul 1995, dar s-a dezvoltat pe o structură existentă încă din anul 1947. Cuprinde o rețea de 128 de centre naționale (acreditate național și de către OMS) din 99 de țări și 4 centre regionale de referință (Londra, Atlanta, Tokyo, Melbourne). Se introduc într-un site securizat, dedicat fiecărei țări, date epidemiologice (morbiditate și mortalitate pe grupuri de vârstă) și de laborator (izolare și identificare de virusuri gripale). Rezultatele caracterizării virusurilor gripale izolate într-un sezon la centrele regionale de referință sunt comunicate în rapoarte anuale și sunt folosite la reuniunile OMS pentru stabilirea formulei vaccinale (septembrie – pentru emisfera sudică și februarie – pentru emisfera nordică).

În perspectivă, această rețea tinde spre o extindere și antrenarea rețelelor naționale de supraveghere în toată lumea. Creșterea disponibilității accesării și utilizării electronice permite raportarea datelor de supraveghere epidemiologică și virusologică în timp real, cu detectarea la timp a tulpinilor de virus gripal cu potențial endemic și pandemic. Aceasta va facilita supravegherea infecției, va îmbunătăți metodele de răspuns regionale și globale pentru a limita răspândirea și de a minimaliza consecințele infecției date.

2. European Influenza Surveillance NetWork este la moment un sistem regional de supraveghere a gripei. A început să funcționeze din 1997, număra inițial 7 state vest-europene și s-a extins ulterior ajungând în prezent la 26 de țări participante permanente și 12 țări asociate. Sistemul funcționează pe baza activității rețelelor sentinelă din fiecare țară. Repre-

zintă un sistem electronic care operează în baza unor parametri de supraveghere bine stabiliți și comuni pentru toți participanții. În site-ul dedicat fiecărei țări se introduc săptămânal: date clinice (nr. consultații/IRA sau ILI raportate la 4 grupuri de vârstă) și date de laborator (nr. izolări/detecții cu caracterizarea antigenică de tip/subtip/variantă și numărul de probe serologice pozitive). Sistemul folosește o metodologie proprie în prelucrarea datelor care se referă la aprecieri de activitate și evoluție epidemică a gripei, raportând în orice situație indicatorul specific (izolările de virusuri) la indicatorul nespecific (morbiditate, mortalitate, spitalizări pe grupuri de vârstă).

Sistemele de supraveghere au evoluat în decursul anilor de la raportări de focare și episoade epidemice cu investigare de laborator limitată la o depistare activă a cazurilor de gripă pe parcursul anului, practic la nivel global, cu un diagnostic de laborator performant la nivel național și posibilitatea de caracterizare aprofundată a izolatelor la centrele regionale de referință prin analiză antigenică și genetică. O etapă importantă în perfectarea sistemelor de supraveghere a constituit informatizarea acestora și, mai ales, folosirea INTERNET-ului în comunicarea între diferitele organizații (naționale, regionale și internaționale), cu mass-media și cu publicul larg.

Rețele de supraveghere s-au dovedit a fi eficiente și pot fi utilizate în supravegherea altor infecții. În mod practic, în baza Rețelei Globale de Supraveghere a Gripei în lume a fost inițiată supravegherea focarelor cu pneumonia atipică cu sindrom respirator acut sever (SRAS) din anul 2002-2003 (modul de raportare, schimbul de date, colectarea materialului patologic).

Sistemul de supraveghere a gripei în Republica Moldova

În Republica Moldova, în 2003, prin Ordinul Ministrului Sănătății a fost creat Centrul Național de Supraveghere Epidemiologică a Gripei și a Infecțiilor Respiratorii Virale în baza Laboratorului Infecții Respiratorii Virale din cadrul Centrului Național Științifico-Practic de Medicină Preventivă, în 2009, au fost ajustate cerințele către rețeaua națională de supraveghere la gripă în contextul apariției și evoluției pandemiei de gripă cauzată de subtipul nou A(H1N1). Supravegherea epidemiologică la gripă prevede monitorizarea situației în cadrul Sistemului operativ de supraveghere a cazurilor de gripă, infecțiilor acute a căilor respiratorii superioare și infecțiilor respiratorii acute severe (pneumopatiile acute și bronșiolitele la copii și sugari) în baza definițiilor de caz standard și Sistemului sentinelă

de supraveghere a gripei și infecțiilor acute a căilor respiratorii superioare și infecțiilor respiratorii acute severe.

1.3. Caracteristica fenotipică și genotipică a virusurilor gripale

Virusurile gripale se caracterizează printr-o structură unică a genomului, dar și prin instabilitate genetică, fapt datorat mutațiilor punctiforme și evenimentelor de reasortare, ceea ce contribuie la apariția noilor variante sau tulpini de virusuri gripale cu potențial epidemic sau pandemic. Atât epidemiile, cât și pandemiile au un impact economic substanțial datorită costurilor profilaxiei și tratamentului, absenteismului, vizitelor la medic, precum și excesul de spitalizări. Prin urmare, este necesară o înțelegere detaliată a mecanismelor ce determină patogenitatea și transmisia virusurilor gripale între specii, combinată cu disponibilitatea măsurilor efective de prevenție și tratament întru realizarea măsurilor de control și răspuns al infecțiilor gripale [23].

În timp ce persoanele dezvoltă imunitate de lungă durată la o anumită tulpină de virus gripal, mutațiile antigenice față de genomul virusului gripal rezultă în proteine ce sunt recunoscute într-o măsură mai mică de către sistemul imun uman, lăsând persoanele susceptibile în viitor la infectare. Evoluția fenotipului antigenic apare punctiform cu episoade de înnoire intercalate de perioade de stază, în timp ce evoluția genetică pare mai continuă, ceea ce sugerează că un număr relativ mic de modificări genetice sau combinații de modificări genetice pot conduce la apariția modificărilor la nivelul fenotipului antigenic. Populația de virusuri gripale evoluează continuu în fenotip antigenic în așa-numitul proces de drift antigenic care se realizează prin intermediul antigenelor de suprafață HA și NA. Aceste două proteine sunt codate de segmentele 4 și 6 ale genomului viral (constituit în general din 8 segmente), localizate pe suprafața virionului, ele sunt prima țintă pentru răspunsul imun al gazdei. Celelalte șase segmente sunt codificate de către proteinele: PB2 (segmentul 1), PB1 (segmentul 2), PA (segmentul 3), NP (segmentul 5), M1 și M2 (segmentul 7), NS1 și NS2/NEP (nuclear export protein) (segmentul 8). O proteină-accesoriu, suplimentară, PB1-F2 poate fi codată de segmentul 2 și ea poate conferi proprietăți de virulență virusurilor care o expresează prin faptul, că ea se asociază cu proteinele mitocondriale inducând procesul de apoptoză în celulele imune. Acest factor de virulență a fost identificat printre virusurile gripale de tip A, stabilindu-se, totodată, asocierea lui cu patogenitatea spo-

rită a virusului gripal înalt patogen A(H5N1), precum și a virusului gripal pandemic din 1918. Proteina fragmentată PB1-F2 cu fragment deschis pentru citire (PB1-F2 ORF – open reading frame) s-a dovedit a fi legată de replicarea virală continuă, inclusiv și de răspunsul proinflamator sporit. Totodată, proteina nestructurală NS1 suprimă expresia genelor antivirale în celulele-gazdă. Markerii virulenței precum și factorii ce contribuie la transmisia între specii au fost identificați în proteina PB2, pe când determinanții rezistenței antivirale au fost depistați în proteinele NA și M [56-61].

Din momentul izolării pentru prima dată în 1930 a virusului gripal A(H1N1) de la porcine – antigenic foarte asemănător virusului gripal uman reconstruit A(H1N1) din 1918, ele împărtășesc, probabil, un strămoș comun și până la sfârșitul anilor '90 ai secolului XX acest virus gripal „clasic porcin” a circulat în populația porcinelor și a fost antigenic relativ stabil. În anul 1998, sau mai înainte, acest virus gripal clasic porcin a reasortat cu virusul gripal uman contemporan A(H3N2) și cu un virus aviar de linie americană cu subtip necunoscut, rezultând în apariția în populația porcină nord-americană și mai târziu în populația porcină asiatică a virusului gripal porcin triplu reasortant H3N2 (rH3N2). Cercetările au demonstrat că acest virus rH3N2 posedă genele HA, NA și PB1 de la virusurile gripale umane, genele PA și PB2 de la virusurile gripale aviare și genele interne NP, M și NS de la virusurile gripale porcine [36, 42, 56, 58]. Datorită diferențelor intrinsece dintre gazde (ex. receptorii celulari) și ale apărării selective (sistemele umoral și celular de apărare înăscute și dobândite), diferite modificări în structura antigenică a virusurilor gripale sunt provocate mai mult în populația porcină decât în cea umană. Drept consecință, drift-ul antigenic al virusurilor gripale urmează căi diferite la porcine comparativ cu populația umană. Precum drift-ul antigenic în virusurile gripale umane A(H3N2) este, de obicei, atribuit apărării imune stabilite în populația umană ca urmare a infecțiilor precedente cu variantele anterioare de virusuri gripale, tot așa potențialul comun al mutațiilor de diferențiere a cluster-elor pot sugera că modificările antigenice în virusurile gripale porcine, de asemenea, sunt urmare ale apărării imune. Periodic, aceste mutații ar putea fi selectate în ambele gazde în baza avantajelor diferite față de evaziunea imună sau ar putea fi sporadic cuplate cu alte mutații cu același efect [36, 42, 62-65].

Totodată, virusul gripal A(H1N1) din 1918 a circulat în populația umană până la declanșarea în 1957 a pandemiei de gripă provocată de virusul

gripal A(H2N2) ("gripa asiatică"). În această perioadă s-a constatat un drift antigenic substanțial al virusului gripal A(H1N1) departe de virusul din 1918. De la începutul anilor 1950 virusul gripal A(H1N1) a reapărut în populația umană în 1977, iar din 1977 până în 2009 a fost o evoluție antigenică substanțială, fapt ce a determinat reînnoirea de 8 ori a componentului H1 al vaccinului antigripal [36, 42, 56-64].

Staza antigenică relativă a virusului gripal clasic H1N1 în populația porcină s-a estimat până în 1998, în același timp, observându-se drift-ul antigenic substanțial al virusului gripal H1N1 în populația umană, în cele din urmă, acestea au condus la crearea unui decalaj antigenic esențial între virusurile gripale clasice porcine A(H1N1) și virusurile gripale umane A(H1N1). De asemenea, cercetările au demonstrat, că din 2005, izolatele virusurilor gripale umane H1N1 de origine porcină au manifestat cel mai înalt grad de similaritate cu virusurile porcine H1 circulante în Asia și SUA și că proteina N1 are legătură cu virusurile porcine circulante în Europa [41]. Se consideră că porcinele joacă un rol vital în transmisia între specii a virusurilor gripale prin faptul că ele poartă receptori atât pentru tulpinile de virus gripal aviar, cât și pentru tulpinile de virus gripal uman. Aceasta a pus în evidență porcinele drept „vas de amestec” în care materialul genetic poate fi schimbat cu un potențial de a rezulta într-un nou progenitor viral la care populația umană este înalt susceptibilă și nu posedă imunitate. Astfel, populația porcină a devenit un rezervor pentru virusurile gripale H1N1 cu potențial de cauzare a unor epidemii majore sau posibile pandemii în populația umană [36, 42, 58-64].

Caracteristica unui șir de virusuri gripale A(H1N1)pdm09 pentru determinarea proprietăților antigenice, în prima jumătate a anului 2009, a pus în evidență faptul că antigenic aceste virusuri sunt omogene și printre virusurile istorice, ele sunt antigenic similare cu virusurile clasice porcine A(H1N1), precum și virusurile triplu reasortate A(H1N1) ale liniei nord-americane care au circulat în populația porcină în ultimii 10 ani în SUA, și care ocazional au infectat populația umană în aceeași perioadă. Analiza antigenică a virusurilor A(H1N1)pdm09 izolate în perioada nominalizată a demonstrat prezența doar a câteva substituții ale aminoacizilor în gena HA, însă niciuna nu s-a dovedit a avea vre-un efect antigenic. Variația antigenică printre aceste virusuri s-a constatat a fi, la acel moment, mai mică decât variația antigenică observată în populația umană în timpul unui sezon tipic/epidemic de gripă [42].

Cu toate acestea, sezonul epidemic 2008-2009 s-a caracterizat prin circulația atât a virusurilor sezoniere clasice cunoscute A(H1N1), A(H3N2) și B, cât și a virusurilor A(H1N1)pdm09. Caracteristica antigenică a acestor virusuri gripale a demonstrat că virusurile gripale A(H1N1) au fost asociate cu tulpina A/Brisbane/59/2007-like; virusurile A(H3N2) au fost similare tulpinii A/Brisbane/10/2007-like, ambele tulpini fiind componente ale vaccinului antigripal recomandat de OMS pentru sezonul epidemic 2008-2009. Virusurile gripale de tip B circulante în sezonul respectiv s-au divizat în două linii distincte reprezentate de tulpinile B/Yamagata/16/88 și B/Victoria/02/87. Virusurile gripale de tip B care au corespuns liniei B/Yamagata au fost analoage tulpinii B/Florida/04/2006, de asemenea, component al vaccinului antigripal din sezonul nominalizat. Însă, paralel cu virusurile enumerate, au fost izolate și tulpini de virusuri gripale de tip B care aparțineau liniei B/Victoria, care la acel moment nu au fost componente ale vaccinului antigripal recomandat pentru sezonul epidemic 2008-2009. În acest context, este necesar de interpretat cu precauție rezultatele caracterizării antigenice, deoarece aceste rezultate s-au bazat, de facto, pe reacția de hemaglutinoinhibare (RHAi) folosind un panel de seruri de referință existente în acea perioadă, și care puteau să nu corespundă protecției clinice împotriva virusurilor circulante asigurate de vaccinul antigripal [66-68].

Vaccinarea antigripală anuală presupune asigurarea unei protecții maxime împotriva acelor tulpini de virusuri gripale care coincid cu virusurile vaccinale, însă o protecție limitată sau, în general, lipsa ei poate fi observată atunci, când tulpinile de virus gripal vaccinal și cele circulante sunt așa de diferite, încât să fie din linii diferite așa cum a putut fi observat cu liniile de virus gripal de tip B (linia B/Yamagata și linia B/Victoria - una fiind component al vaccinului nu poate asigura protecție împotriva celeilalte). Așadar, caracteristica antigenică a tulpinilor de virusuri gripale A(H1N1)pdm09 a demonstrat că aceste virusuri au fost și sunt antigenic și genetic diferite de tulpinile A(H1N1), fapt ce a sugerat lipsa protecției în urma vaccinării cu vaccinul trivalent recomandat pentru sezonul epidemic 2008-2009 față de virusul gripal nou A(H1N1)pdm09 [66].

Apariția recentă a virusului pandemic (H1N1)2009, cunoscut anterior ca virus gripal de tip A de origine porcină, a condus la infectarea până la mijlocul anului 2009 peste 296 mii de persoane pe întreg globul pământesc cauzând în perioada menționată cca 3486 cazuri de deces. Analiza

mutațiilor de adaptare a virusului gripal de tip nou A(H1N1)2009 a devenit o prioritate pentru cercetători care au putut evalua probabilitatea că virusurile de la alte specii non-umane se vor adapta la populația umană. Virusul gripal pandemic constă din mai multe gene virale reasortate de diferită origine. Două gene polimerazice din cele 8 ale ARN genomic segmentat, și anume PB2 și PA, au fost de origine aviară aparținând liniei nord americane și au fost introduse în populația porcineă aproximativ în anul 1998. Altă genă polimerazică, PB1, de asemenea, a evoluat recent din virusul gripal uman sezonier A(H3N2) practic în același an. În particular, această genă PB1 a virusului A(H3N2), este cunoscut că, ar fi provenit de la virusul gripal aviar care a intrat în populația umană în anul 1968. Totuși, genele proteice HA, NP și NS ale virusului gripal pandemic (H1N1) 2009 se trag direct de la virusul gripal A clasic porcine al liniei nord americane care poate fi urmărit pornind de la virusul gripal din anul 1918. Alte două gene NA și M, având originea de la virusul gripal porcine eurasiatic, au fost introduse de la păsări aproximativ în anul 1979. Cu toate că a fost determinată originea segmentelor genelor virusului gripal pandemic (H1N1) 2009, nu este clar mecanismul de transformare a semnelor aminoacizilor gazdă-specifice, deoarece genele virusului gripal de tip nou au evoluat după introducerea lor în circulație în populația porcineă câțiva ani în urmă [30, 31]. Totodată, interesant este faptul, că în populația porcineă au fost observate aceleași substituții care au avut loc la nivelul genelor HA1 (substituția S203T) și NA (substituțiile V106I și N248D) ale virusurilor gripale A(H1N1)pdm09 circulante în populația umană. Sistemul imun de apărare al gazdei este considerat a fi principala forță motrice selectivă a substituțiilor de aminoacizi, care pot conduce la apariția drift-ului antigenic, iar HA este ținta principală a anticorpilor neutralizanți. Diversitatea genetică a HA este mult mai înaltă față de gena NA atât în populația porcineă, cât și în populația umană. Genele HA și NA ale izolatelor virusurilor gripale A(H1N1)pdm09 din părți distincte ale lumii sunt legate unele de altele cu o distanță relativ mică și au o singură origine comună, cum era de așteptat pentru un focar pandemic. Remarcarea faptului că majoritatea izolatelor derivate din populațiile umană și porcineă par să fi provenit din izolatele derivate din populația umană, și este, de asemenea, în concordanță cu o frecvență mai mare de transmisie de la om la om și de la om la porcine în comparație cu transmisia zoonotică de la porcine la om. Într-adevăr, rapoarte cu privire la izbucnirea gripei sugerează că virusul a evoluat în tăcere la porcine până

la introducerea sa în populația umană, după care s-a răspândit rapid printre oameni și frecvent s-a retransmis de la oameni la porci. S-a demonstrat că virusul gripal A(H1N1)pdm09 a evoluat și s-a transferat (shift antigenic) de la o cladă prototip inițial amestecată la clada prototip 7 predominantă. Selecția și evoluția ulterioară a cladei 7 a rezultat în apariția în circulație a variantelor cu mutațiile genetice D222G/N sau E. Mutația D222G în proteina genei HA ce conduce la lărgirea specificității receptorilor s-a demonstrat a corela cu debutul clinic al bolii și frecvent detectată în cazurile severe/fatale ale gripei pandemice la oameni [32-34]. De asemenea, s-a atestat că substituția D222N este mai frecventă în cazurile fatale ale bolii la oameni, pe când aceleași substituții observate în izolatele virusurilor gripale A(H1N1)pdm09 de la porcine nu provoacă semne clinice severe de boală [58-64, 69-73].

Caracteristica genotipică a virusurilor gripale A(H1N1)pdm09 a atestat că în cadrul fiecărui segment de gene există o congruență înaltă printre virusurile gripale pandemice secvențiate până la mijlocul anului 2009, fapt ce a sugerat că introducerea cross-specifică în populația umană a fost un singur eveniment sau mai multe evenimente ale virusurilor genetice similare. Analiza genoamelor virusurilor A(H1N1)pdm09 din Mexic și SUA, la acel moment, a evidențiat 5 variante genomice mici: secvența consensus; mutația T373I în gena NP pereche cu mutația M582L în gena PA; substituțiile aminoacizilor V106I și N247D în gena NA pereche cu substituția V100I în gena NP; substituțiile aminoacizilor S206T în gena HA1 grupându-se cu ambele substituții V106I și N247D din gena NA, substituțiile V100I din gena NP și cu substituția I123V din gena NS1; substituțiile aminoacizilor S91P, V323I împreună cu substituția S224P din gena PA [42-44]. Includerea izolatelor din Mexic sau alte state vecine printre aceste 5 variante genomice reflectă probabilitatea că aceste variante genomice timpurii au reprezentat introducerea inițială independentă în SUA din Mexic. Datorită intervalului scurt de timp de la detecția pentru prima dată a virusului gripal A(H1N1)pdm09, nu era clar ce efect, dacă era în general, au putut avea aceste variații genomice asupra caracteristicilor virale, precum transmisibilitate sau patogeneza. Analiza de secvențiere, însă, nu a identificat caracteristici moleculare deosebite anterior, în cercetări ai altor virusuri gripale de tip A, presupuse că ar conferi transmisibilitate sporită sau virulență [38, 42, 45-46]. Cunoscutul receptor al locusului de legare a proteinei hemaglutinina H1 s-a dovedit a fi tipic multor altor virusuri gri-

pale clasice porcine H1N1 izolate în SUA în perioada nominalizată. Totuși, au fost atestate unele mutații detectate în gena HA a virusurilor gripale A(H1N1) 2009 ce se deosebeau de secvența consensus a virusurilor clasice porcine, niciuna însă, nu a fost identificată în locusul funcțional semnificativ al receptorului de legare cunoscut. După cum a fost de așteptat, multe din virusurile A(H1N1) 2009 conțineau substituții de aminoacizi la locusul antigenic presupus în comparație cu gena HA a virusurilor gripale H1 sezoniere [38-42, 58, 61].

Analiza de secvențiere, de asemenea, a pus în evidență prezența substituțiilor de aminoacizi în gena HA a virusurilor gripale A(H1N1)pdm09 în pozițiile S220T, D239G/N/S, Y247H, E252K, M247V, Q310H și E391K. S-a observat o predominanță a mutației D239G în unele țări în cazurile soldate cu deces, similar cu substituția D222G, dar care, probabil a fost în concordanță cu vârsta pacienților, factorii de risc, manifestarea și progresarea bolii [73, 77, 78].

Un interes aparte prezintă particularitățile specifice, individuale ale structurii locusului de legare a HA virusului gripal A(H1N1)pdm09, și anume, mutațiile D94N, N125D și V250A. Substituțiile perechi în pozițiile 94 și 250 (D94N și V250A) sunt similare în baza structurii situsului de legare cu acizii sialici cu tipul receptorului caracteristic pentru țesuturile umane. Cu toate acestea, substituția V30A, identificată în structura virusului gripal A(H1N1)pdm09, poate compensa acțiunea substituției N125D, fapt care poate fi urmărit la prezența concomitentă a substituțiilor D94N și V250A, când schimbul Valinei în poziția 250 cu Alanina influențează semnificativ manifestarea substituției D94N. În special, este stabilit, că substituțiile 30A și 125N sporesc afinitatea HA față de receptorii sialici de tip uman. Mai mult ca atât, combinația 94D, 125N și 250V este caracteristică pentru izolatele de virus A(H1N1) din 1918, iar combinația 94N, 125D și 250A conduce la creșterea afinității HA către receptorii virusurilor gripale aviare. Pentru virusul gripal A(H1N1)pdm09 este caracteristică combinația 94D, 125N și 250V care completamente corespunde cu reziduurile aminoacidice în pozițiile respective ale virusului gripal care a cauzat pandemia „spaniolă” din 1918. Este necesar de subliniat, că combinația de substituții E190D, Q226L și G228S în hemaglutininele H1, H2 și H3 conduce la trecerea ambiguă a HA de pe receptorii de tip aviar spre receptorii celulelor umane, fapt ce se realizează parțial [50, 73, 77, 78].

Secvențierea unor tulpini de virusuri gripale A(H3N2) a atestat că în

toate secvențele genei M1 a fost detectată substituția K174R, la nivel de gena HA a fost caracteristică substituția K29R, iar pentru gena NA au fost caracteristice două substituții sinonimice 351 A>G (în codonul T117) și 408 G>A (în codonul Q136). Acestea, posibil, au indicat la faptul că tulpinile de virusuri gripale A(H3N2) din sezonul 2008-2009 au prezentat o continuitate evoluționistă a tulpinilor de virusuri gripale A(H3N2) din sezonul 2007-2008 [74-76]. Este necesar de menționat, că în secvențele genelor NA ale virusurilor gripale A(H3N2) din sezonul 2008-2009 a fost detectată substituția D147N în locusul de glicozilare. Se cunoaște, însă, că glicozilarea în locusul 130 N1 (ce corespunde locusului 146 în N2) a tulpinii A/Wisconsin/33 (H1N1) dereglează interacțiunea dintre NA și plasminogenul, ceea ce conduce la diminuarea patogenității virusului [73, 74-76].

Marea majoritate din tulpinile gripale A(H3N2) cercetate în perioada nominalizată au purtat în secvența domeniului cu terminația C a proteinei M1 substituția K174R, care sporește tendința sectorului dat al lanțului proteic spre formarea α -spiralei. Proteina M2 s-a dovedit a conține substituția S31N care este caracteristică rezistenței la remantadină. Cea mai importantă consecință a substituțiilor de aminoacizi ce rezultă în descreșterea afinității pentru receptori este efectul lor asupra eficienței infecției și transmisiei [73, 79]. A fost remarcat faptul, că în sezonul 2009-2010 virusurile gripale A(H3N2) practic nu au participat în procesul epidemic, iar în sezonul 2010-2011 aceste virusuri nu au avut semnificație epidemică [73, 79, 80].

Comparația hărților genetice și antigenice ale virusului gripal A(H3N2) a atestat că impactul antigenic a modificărilor genetice variază în dependență de natura substituțiilor de aminoacizi, poziționarea lor structurală și interacțiunea epistatică cu alte situsuri [75].

Sezoanele epidemice 2008-2009, 2009-2010 și 2010-2011 s-au caracterizat prin reapariția în circulație a virusurilor gripale de tip B aparținente liniei B/Victoria în care au avut loc schimbări semnificative ale proprietăților antigenice – izolatele au fost similare unei tulpini etalon noi, și anume B/Brisbane/60/2008. Analiza genetică a tulpinilor de virusuri gripale de tip B, izolate în perioada anilor 2009-2011, a demonstrat că aceste tulpini au aparținut liniei B/Victoria, în special cladei I11-ii, sau tulpinii similare B/Brisbane/60/2008 cu substituții caracteristice de aminoacizi (V146I, N165K) în gena HA, afectând regiunile antigenice (buclele 150

și 160). Indiferent de faptul că timp de două sezoane epidemice (2009-2010 și 2010-2011) în lume a circulat și a dominat virusul gripal pandemic A/H1N1/pdm09, virusurile gripale de tip B nu au fost eliminate din circulație, însă rata lor în sezonul 2009-2010 a fost foarte joasă, iar în sezonul 2010-2011 – moderată [81-83].

În acest context, spre deosebire de sezonul 2008-2009, în sezonul epidemic 2009-2010 s-a intensificat circulația tulpinilor de virusuri gripale de tip B aparținente liniei B/Victoria, iar circulația virusurilor gripale B/Yamagata a diminuat. Astfel, componenta ce ține de tulpina virusului gripal B din vaccinul antigripal pentru sezonul nominalizat s-a schimbat, tulpina B/Florida/04/2006-like linia B/Yamagata a fost înlocuită cu tulpina B/Brisbane/60/2008-like linia B/Victoria [66, 67, 81-84].

Comparația filogenetică a tulpinilor de virusuri gripale de tip B linia B/Victoria a demonstrat că substituțiile de aminoacizi N75K, N165K, și S172P în regiunea de codificare HA1 a genei HA definesc clada genetică B/Brisbane/60/2008. Toate virusurile gripale de tip B aparținente liniei B/Victoria circulante în sezonul 2010-2011 au făcut parte din clada menționată. De asemenea, s-a atestat că majoritatea acestor virusuri au purtat substituția de aminoacizi I146V în gena HA comparativ cu virusul vaccinal B/Brisbane/60/2008 și multe virusuri au purtat și substituția L58P, însă nici-una din ele nu s-a dovedit a avea efect antigenic [84].

Arborele filogenetic construit în baza regiunii de codificare HA1 a genei HA a tulpinilor de virusuri gripale de tip B aparținente liniei B/Yamagata, care a reapărut în circulație în sezonul 2012-2013, a pus în evidență prezența substituțiilor de aminoacizi S150I, N165Y, G229D care definesc grupul genetic B/Bangladesh/3333/2007. Însă o parte din virusuri (grupul de virusuri din Suedia, Finlanda și Estonia) s-au plasat în grupul genetic distinct reprezentat de tulpina B/Brisbane/3/2007 – virus prototip al acestui grup. Gena HA a tulpinii de virus gripal B/Athens/9784/2011, ce a prezentat un model distinct în reacția HAI, s-a plasat în grupul genetic B/Bangladesh/3333/2007 codificând, însă, substituțiile V29A, L172Q și M251V comparativ cu virusurile de referință [84].

Este cunoscut faptul că reasortarea – rearanjarea segmentelor genelor virale în celulele-gazdă infectate cu două sau mai multe virusuri gripale – reprezintă un mecanism important în evoluția virusurilor gripale. Infecțiile mixte cu multiple tipuri/subtipuri de virusuri gripale pot conduce la apariția de reasortări. Un aspect substanțial al reasortării este generarea

unor noi tulpini de virusuri gripale cu potențial pandemic, unde virusurile gripale umane obțin un subtip nou de HA și/sau NA de la virusurile gripale aviare și/sau porcine. Reasortarea, de asemenea, facilitează apariția de fenotipuri mai virulente prin permiterea virusurilor de a căpăta segmente cu markeri pentru virulență. Prin reasortare virusurile gripale au obținut gene cu mutații ce țin de rezistența la remediile antivirale și aceste virusuri rezistente se pot replica tot așa de eficient ca și cele sensibile și, de asemenea, pot avea o capacitate de transmisie înaltă [85].

Vaccinurile curente contra gripei sezoniere sunt destinate pentru asigurarea protecției specifice în dependență de tulpină contra două subtipuri ai virusului gripal de tip A circulante (H1N1 și H3N2) și contra unui virus gripal de tip B. Ținta principală a acestor vaccinuri este HA care deține rolul de mediere a pătrunderii în celula-gazdă. Astfel, anticorpii neutralizanți induși de vaccin blochează pătrunderea virusului în celulă sau prin prevenirea atașării virusului de receptorii ce conțin acid sialic de pe suprafața celulei-gazdă sau prin interferența cu fuziunea virală mediată de HA [85].

Substituțiile de aminoacizi S31N, V27A, A30V, G34E și L26F reprezintă mutațiile ce induc rezistența la adamantane (amantadina și remantadina) în virusurile gripale [73, 85, 86]. Ținta adamantanelor este proteina M2 a virusurilor gripale, care funcționează drept canal ionic activat de acizi și este necesară pentru eliberarea nucleoproteinei după fuziunea cu membrana endosomală. Adamantanele inhibă replicarea virală prin prevenirea deschiderii canalului ionic M2, interferând astfel cu „dezbrăcarea” virusului în timpul endocitozei [87-90]. Cea mai frecventă substituție ce caracterizează rezistența față de adamantane este substituția S31N, care predomină în 98-100% din tulpinile transmisibile rezistente la amantadină H1N1, H5N1 și H3N2 izolate de la oameni, păsări și porcine în ultimii zece ani, pe când mutațiile V27A și L26F sunt mai puțin frecvente [87-89]. Fiecare mutație rezultă sau în legarea redusă a remediului antiviral de ligandul M2 sau în extensia canalului ionic M2 și ambele permit canalului să-și exercite funcția în prezența antiviralelor [87-89, 91-93]. Cercetarea mutațiilor punctiforme la nivelul reziduurilor căptușelii porilor canalului M2 a estimat numărul mic de variante naturale [87, 90, 91]. Astfel, numeroși mutanți în capătul N-terminal apos al porului rețin abilitatea de a conduce selectiv protonii asupra altor ioni, deși dependența de magnitudine și pH ai conductibilității lor variază. Totuși, doar câteva mutații V27A,

S31N și L26F au proprietăți similare cu canalul ionic M2 la cele mai distale locusuri [87-89, 91-93].

Rezistența la amantadină a evoluat rapid *in vivo* din momentul administrării ei pacienților cu infecție gripală. Baza genetică a rezistenței față de amantadină este asociată cu substituțiile de aminoacizi, după cum s-a menționat, în regiunea transmembrana a genei M2. Cercetătorii au atestat o incidență înaltă de izolate de virus gripal A(H3N2) rezistente la amantadină, care în gena M2 posedă mutația Ser-31-Asn și o schimbare dublă în gena HA la reziduurile din pozițiile 193 și 225 (clada liniei N). Totuși, puțin se cunoaște despre faptul, dacă modificările la nivelul genei HA au fost sinergice cu modificările care au avut loc în gena M2 ca răspuns la presiunea selectivă a medicamentului sau au avut loc separat și s-au asociat randomizat cu mutațiile de îmbunătățire a afinității [87-89, 91-93].

O altă clasă de remedii antivirale este reprezentată de inhibitorii neuraminidazei (NAI): oseltamivir (Tamiflu) și zanamivir (Relenza) [94]. Ținta NAI este proteina NA a virusurilor gripale care este responsabilă de clivajul reziduurilor acidului sialic al celulelor-gazdă permițând, prin aceasta, eliberarea virionilor aflați în maturizare. NA, de asemenea, are importanță în stabilirea infecțiilor respiratorii la nivelul căilor respiratorii superioare, deoarece clivarea acidului sialic pe suprafața mucoasei expune celulele epiteliale la acțiunea virusului. NAI previn eliberarea virionilor din celulele infectate și, astfel, reduce atât infecțiile căilor respiratorii superioare, cât și durata simptomelor [87, 95, 96]. La nivelul genei NA au fost observate substituțiile de aminoacizi H274Y, E119V, N294S și R292K, substituții care s-a dovedit a conferi virusurilor gripale rezistență la NAI. Mutația H274Y s-a estimat ca cea mai frecventă și pare a fi exclusiv limitată la gena N1 atât în virusurile gripale sezoniere, cât și în cele pandemice în populația umană și pot avea loc spontan fără presiunea aparentă a antiviralelor sau reasortare [87, 95-100]. Totuși, un număr foarte mic de mutații N294S au fost detectate în virusurile A(H1N1)pdm09, mai general, însă, toate cele patru mutații s-a stabilit că există în gena N1. În plus la aceasta, deși virusurile gripale A(H3N2) sunt dominate de substituțiile E119V și R292K, substituția H274Y nu a fost niciodată identificată în gena N2 [87, 97]. S-a stabilit că o nouă substituție I223R cauzează o rezistență modestă la NAI, însă, în combinație cu substituția H274Y rezistența la oseltamivir crește semnificativ, pe când rezistența la zanamivir rămâne la nivel scăzut. O altă combinație a două mutații în gena NA, Q313R și I427T, de aseme-

nea cauzează rezistență la ambele remedii NAI: oseltamivir și zanamivir [101, 102-104].

Evoluția rezistenței la oseltamivir în virusurile gripale A(H1N1) pandemice se poate datora mutațiilor punctiforme în orice regiune a genelor NA sau evenimentului de reasortare. Rezistența la oseltamivir în tulpinile de virusuri gripale A(H1N1) pandemice pot apărea în diverse forme: o evoluție sporadică la un pacient infectat drept răspuns la tratament; evoluția rezistenței la oseltamivir la un pacient infectat și transmisia tulpinii date contactilor; menținerea genotipului ce conferă rezistență la oseltamivir într-o linie virală datorită presiunii de selecție și/sau evenimentului de reasortare dintre tulpinile A(H1N1) sezoniere rezistente la oseltamivir și tulpinile A(H1N1) pandemice. Acest eveniment poate oferi un segment al NA posesor a unui genotip ce conferă rezistență la oseltamivir virusurilor A(H1N1) pandemice [105-112].

Analiza de secvențiere a genelor NA și HA virusurilor gripale rezistente a permis de a identifica mutațiile asociate cu rezistența. Așa mutații deseori conduc la substituții în reziduurile conservate în locusurile enzimatic-active ale NA cu sau fără mutații compensatorii în glicoproteinele genelor HA. Acest tip de mutație reduce afinitatea de legare a oseltamivirului de locusul activ cu un efect de reducere semnificativă a sensibilității remediei antiviral [35, 114].

Evaluarea riscurilor de sănătate publică ale virusurilor gripale cu o susceptibilitate redusă față de NAI necesită identificarea lor exactă în baza markerilor rezistenței în genomul viral (la nivel de NA) și/sau investigații funcționale. Analiza virusurilor izolate din populația cu risc sporit, așa ca copiii mici și pacienții imunocompromiși care elimină virusul o perioadă îndelungată de timp, oferă o oportunitate întru îmbunătățirea înțelegerii mecanismelor rezistenței față de NAI și întru a perfecționa criteriile de diagnosticare a rezistenței [103].

Supravegherea virusurilor gripale aflate în circulație reprezintă veriga esențială în monitorizarea infecțiilor gripale, în special în populația umană. Caracteristica antigenică și genotipică a tulpinilor de virusuri gripale, prin posibilitatea detectării diferitor mutații genetice cu diverse efecte antigenice, cu efecte asupra proprietăților de transmisie inter- și intraspecifice, cu efecte asupra sensibilității la antivirale - prezintă mecanismele de bază ale evoluției virusurilor gripale. Astfel, monitorizarea variațiilor antigenice și genetice acumulate în virusurile gripale circulante aduce un

aport semnificativ în prognozarea epidemiilor, severității lor, în utilizarea remediilor antivirale specifice sau necesitatea formulării unor remedii noi în dependență de creșterea numărului de tulpini rezistente la preparatele antivirale antigripale aflate în uz, precum și în formularea cocktailurilor de vaccinuri antigripale, care și ele în dependență de variațiile antigenice și genetice necesită a fi periodic reînnoite.

1.4. Diagnosticul de laborator: tehnici clasice și de biologie moleculară de ultimă generație

Gripa este o infecție respiratorie contagioasă responsabilă de apariția periodică a pandemiilor, precum și a epidemiilor sezoniere și prin aceasta impune o povară economică considerabilă prin pierderi de productivitate și costuri esențiale asociate cu tratamentele medicale [2, 4, 5, 18, 23, 25, 26, 28, 35, 38, 53, 54, 73, 115].

Virusurile gripale sunt foarte dinamice și datorită naturii genomului lor ele își pot schimba segmente de gene în celulele coinfectate generând, astfel, progenitori cu noi genotipuri. Aceste evenimente de reasortări genetice joacă un rol primordial în evoluția virusurilor gripale de tip A și au un impact direct asupra sănătății publice [56, 73, 79-81, 115].

Supravegherea regulată și sistematică a gripei este esențială pentru a asigura un tablou comprehensiv al virusurilor gripale prevalente. Informația despre supraveghere și investigațiile de laborator la gripă oferă clinicienilor instrumente suplimentare în determinarea deciziilor de tratament. Precizia diagnosticului clinic de gripă doar în baza simptomelor este limitată deoarece simptomele maladiilor cauzate de alți patogeni pot interfera considerabil cu gripa. Diagnosticul timpuriu al gripei poate reduce esențial utilizarea inadecvată și irațională a antibioticilor și oferă posibilitatea utilizării tratamentului antiviral specific [53, 54, 115, 116].

Există metode clasice, rapide și tehnici de biologie moleculară pentru diagnosticul gripei și fiecare din metodele folosite depinde de resursele și contextul disponibil. Diagnosticul de laborator disponibil pentru gripă include cercetările pe culturi celulare, serologia, testul antigenic rapid, analiza imunofluorescentă și reacția de polimerizare în lanț. Sensibilitatea și specificitatea oricărui tip de testare la gripă poate varia în dependență de capacitatea de performanță a laboratorului, tipul investigației, dar și de tipul probei testate. Printre eșantioanele respiratorii pentru izolarea virusurilor gripale pe culturi celulare sau detecția rapidă, exsudatele nazo-farin-

giene reprezintă varianta optimă, deoarece sunt mult mai efective și mai informative față de frotiurile faringiene. Indiferent de modul de investigare și testele folosite, este necesar ca rezultatele să fie evaluate în contextul datelor clinico-epidemiologice disponibile [53, 115-117].

Testele comerciale de diagnostic rapid al gripei disponibile permit detectarea virusurilor timp de 15 minute. Așa tip de teste rapide diferă prin tipul virusurilor ce pot fi detectate și de posibilitatea de a diferenția tipurile de virusuri gripale. Unele pot detecta doar virusul gripal de tip A, altele pot detecta separat virusul gripa A și aparte B, iar alt tip de teste de diagnostic rapid pot identifica prezența virusurilor gripale în materialul biologic cercetat, însă fără de a le diferenția. Totodată, niciunul din aceste teste nu poate detecta subtipurile virusurilor gripale A. Specificitatea acestor teste, în special, sensibilitatea testelor rapide este mai joasă comparativ cu culturile celulare și variază în dependență de test [118-123]. Datorită sensibilității joase (50-70%) a testelor de diagnostic rapid, întru a se asigura de prezența/lipsa rezultatelor fals-pozitive (în perioada unei activități gripale joase) și fals-negative (în special, când are loc o creștere a activității gripale) este necesar de a se efectua testări adăugătoare confirmatoare ale rezultatelor primare prin orice altă metodă disponibilă în laboratoare [116-123].

Metodele serologice, inclusiv neutralizarea virusului, RHAI, fixarea complementului, analiza imuno-enzimatică, precum și analiza prin microscopie imunofluorescentă indirectă – sunt bazate pe prezența anticorpilor specifici la acțiunea virusurilor gripale care apar întâi după două săptămâni de la îmbolnăvirea inițială și care ating apogeul la 4-6 săptămâni după infectare. După unii autori, aceste teste nu sunt disponibile pe larg și rar sunt folosite în managementul pacientului, însă pot fi indicate pentru un diagnostic retrospectiv sau/și supravegherea bolii. O creștere de 4 ori a titrului de anticorpi la virusurile gripale observată între probele de seruri colectate de la pacienți în faza acută și reconvalescentă (3-4 săptămâni după infectare) a bolii reprezintă diagnosticul infecției. La adulții care au suportat multiple infectări cu diferite tipuri/subtipuri de virusuri gripale, creșterea titrului de anticorpi specifici unei tulpini este necesar de a fi interpretată cu precauție, deoarece răspunsul la tulpina ce a infectat poate fi acompaniat de un răspuns paralel la infecțiile anterioare cu alte tulpini de virusuri gripale. Și, în sfârșit, testele serologice permit cuantificarea răspunsului imun la vaccinarea antigripală, chiar dacă aceste răspunsuri deseori nu sunt așa de viguroase ca răspunsurile rezultate din infecțiile gripale propriu-zise.

Această metodă nu asigură clinicienii cu un rezultat important în luarea deciziei de tratament și este disponibilă practic în laboratoarele de cercetare. Testarea serologică a unui specimen de ser nu este interpretativă și nu se recomandă [115, 120-123].

Alți autori, însă, susțin că testele serologice pot juca un rol important în anumite situații. Acestea pot fi: a) în absența unei vaccinări anterioare sau infectarea cu un virus particular, cum ar fi atunci când un virus nou apare, la care nu există imunitate cros-reactivă preexistentă, un singur specimen cu un titru pozitiv este diagnostic și b) testele serologice pot ajuta la stabilirea diagnosticului infecțiilor gripale cu un nou virus sau cu un virus sezonier mai înainte de a obține rezultatele pozitive pe culturi celulare și/sau în testele moleculare PCR. Astfel, la pacienții cu un istoric de maladie compatibilă cu afecțiunile gripale, dar care a încetat să elimine virusul sau la pacienții cu manifestare asimptomatică a bolii, testele serologice pot fi unica opțiune disponibilă pentru stabilirea diagnosticului [124, 125].

Serologia, de fapt, reprezintă un instrument de valoare în realizarea studiilor seroepidemiologice, fiind esențială în estimarea erupțiilor reale ale infecțiilor cu o tulpină antigenic nouă. Unele cercetări de acest gen care au fost efectuate în perioada pandemică (sezonul 2009-2010) au permis atât de a preciza extinderea geografică și spectrul epidemiologic ale noului virus gripal după apariția lui, cât și de a elucida alte aspecte importante ale virusului, cum ar fi imunitatea cros-reactivă preexistentă la persoanele în etate. Aceste aspecte au fost relevante pentru recomandările de sănătate publică privind prioritizarea vaccinului antigripal [124-126]. Cercetările serologice au fost de o importanță majoră în evaluarea imunogenicității vaccinului gripal A(H1N1)pdm092009 având un efect semnificativ în formularea recomandărilor privind dozajul pentru diferite grupe de vârstă. Investigațiile serologice au fost și continuă să fie utile în caracterizarea antigenică a virusurilor gripale circulante întru determinarea drift-urilor și shift-urilor antigenice, precum și în formularea recomandărilor privind vaccinul antigripal pe parcursul atât a epidemiilor anuale, cât și a pandemiilor. Astfel, serologia reprezintă un component de valoare în ceea ce privește pregătirea activităților de răspuns în caz de pandemie [124-126].

Metoda imunofluorescență de detecție a antigenilor virali reprezintă un test cu o sensibilitate și specificitate înaltă de diagnostic calitativ și diferențiat al infecțiilor respiratorii virale. Acest tip de testare este recomandat pentru investigarea probelor colectate de la pacienți la stadiile

incipiente ale infecției (primele 3 zile) cu scopul indicării la momentul oportun a terapiei specifice antivirale și desfășurarea măsurilor profilactice corespunzătoare [123, 124]. Eficacitatea acestei metode depinde, în mare măsură, de calitatea materialului biologic, respectarea regulilor de păstrare și transportare, a procesării ulterioare, precum și de calitatea reactivilor. Metoda imunofluorescență permite de a identifica *in situ* antigenele virusurilor gripale și ale altor agenți patogeni ale infecțiilor respiratorii virale în celulele infectate în baza localizării lor caracteristice ce se detectează în rezultatul interacțiunii antigenelor virale cu anticorpii antivirali marcați cu izotiocianat de fluoresceină (FITC). Unul din avantajele acestei metode este simplitatea exclusivă și posibilitatea de a analiza rapid (1-2 ore) materialul clinic cu detectarea unui șir de agenți patogeni, inclusiv virusurile gripale, paragripale, a virusului respirator sincițial, coronavirusurile, adenovirusurile, etc. Însă, dacă este vorba despre investigarea a unui număr mare de probe clinice durata investigației crește respectiv. Cu toate acestea, metoda imunofluorescență, fiind un test de diagnostic de valoare în infecțiile gripale, deoarece asigură rezultate rapide și relativ exacte, este și o alegere excelentă în cazul confirmării rezultatelor obținute în testul de detecție rapidă a antigenelor gripale [123, 127-130].

Izolarea virusurilor gripale pe culturi celulare este una din metodele istorice clasice și la momentul actual rămâne un instrument important necesar de a fi menținut și disponibil în laboratoarele de referință pentru caracterizarea virusurilor gripale circulante și a tulpinilor noi. Propagarea virusurilor pe culturi celulare, de asemenea, este necesară pentru testarea sensibilității la remediile antivirale folosind analiza NAI, care, la rândul ei, are o importanță semnificativă în confirmarea fenotipică a rezistenței și în validarea noilor markeri ai rezistenței identificați prin analiza de secvențiere [123, 124, 128, 129].

Cu toate că izolarea virusurilor gripale pe culturi celulare (cu identificarea ulterioară a virusurilor prin tehnici imunologice, serologice sau genetice) tradițional considerată drept standard de aur în diagnosticul viral, există câțiva factori necesari de a fi luați în considerație. Fiecare linie de celule de mamifere disponibilă susține replicarea a unui număr limitat de virusuri respiratorii cu valoare clinică [123, 124, 128-130]. Este necesar ca în laborator să fie menținute câteva linii celulare cu scop de a detecta diverși patogeni respiratorii. În baza informațiilor clinico-epidemiologice se selectează o linie celulară specifică pentru fiecare probă în parte. Linia

celulară Madin-Darby canine kidney (MDCK), de obicei, este linia de celule preferată pentru cultivarea virusurilor gripale [83]. Izolarea virusurilor gripale pe culturi celulare este una din cele mai sensibile metode, însă, disponibilitatea și eliberarea rezultatelor necesită câteva (4-5) zile și mai mult (14 zile), deoarece, această metodă prevede monitorizarea dezvoltării efectului citopatic (CPE), determinarea titrului hemaglutinant prin reacția de hemaglutinare (RHA) și apoi identificarea virusurilor prin reacțiile serologice (RHAI). Dezvoltarea CPE, totuși, poate fi cauzată de un șir de virusuri respiratorii și efectul citopatic caracteristic virusurilor gripale nu totdeauna poate fi observat în linia de celule infectate, însă, rezultatul poate fi confirmat sau infirmat prin RHAI folosind hematii de cobai [115, 123, 130].

Cuantificarea fenotipurilor antigenice ale virusurilor gripale se efectuează prin RHAI, care măsoară capacitatea unui antiser de a inhiba aglutinarea hematiilor de către antigenul viral. Cartografia antigenică generează ulterior o reprezentare exactă dimensională profundă a distanțelor antigenice dintre perechile antigen-antiser. În cazul detecției unui nou tip antigenic cu o pondere sporită, compoziția vaccinului, care constă din două tulpini de virus gripal de tip A (H3N2 și H1N1) și o tulpină de tip B, este revăzută pentru a include combinația antigenică respectivă [115, 123, 130].

Unii cercetători au atestat că izolarea virusurilor gripale pe culturi celulare este de o valoare înaltă în anumite situații clinice, cum ar fi: a) caracterizarea ulterioară a tulpinilor de virusuri gripale izolate de la pacienții cu evoluție atipică sau severă a bolii; b) secvențierea tulpinilor cu mutații (de ex.: cu profiluri de topire/melting deplasate) în analizele moleculare; c) confirmarea pe culturi celulare a rezultatelor fals-pozitive suspectate în PCR; d) confirmarea pe culturi celulare a rezultatelor pozitive din PCR pentru localizările neordinare (materialul cadaveric – miocardul, creierul sau alte tipuri de specimene) pentru investigarea cărora metoda moleculară nu este, de obicei, validată și e) diferențierea dintre eliminarea prelungită a acidului nucleic viral și replicarea virală propriu-zisă [124].

Izolarea virusurilor gripale, de asemenea, poate fi realizată pe ouă embrionate (10-11 zile) de găină, în cavitațile alantoică și amniotică, care permite obținerea de tulpini cu un titru mai înalt decât pe culturile celulare. Această metodă de izolare a virusurilor gripale având o sensibilitate și o specificitate înalte, la momentul actual, se folosește în laboratoarele de referință ale OMS, în special, pentru prepararea vaccinurilor antigripale,

precum și pentru obținerea de virusuri de referință pentru caracterizarea antigenică a tulpinilor de virusuri gripale circulante [123, 124, 128-130].

Tehnicile de biologie moleculară. Culturile celulare tot mai mult sunt înlocuite de către tehnicile moleculare ca modalitate de alegere pentru diagnosticul de laborator al gripei în majoritatea laboratoarelor clinice [123, 124, 128-135]. Astfel, analizele moleculare tot mai mult sunt acceptate drept standard de aur ca metodă de diagnostic pentru detecția virusurilor gripale, datorită vitezei, disponibilității, precum și a versatilității. Cu toate că există mai multe metode de amplificare, majoritatea din analizele moleculare existente, în special, analizele utilizate în laboratoarele clinice, se bazează pe formatul reacției de amplificare PCR. Avantajele reacției PCR față de mai multe metode convenționale de diagnostic pentru gripă bazate pe culturile celulare includ sensibilitatea semnificativ mai înaltă a kit-urilor și timpul de obținere a rezultatelor esențial mai scurt [123, 124, 128-139].

Dezvoltarea analizei moleculare PCR în 1985 a făcut posibil diagnosticul infecțiilor virale prin detecție sensibilă și specifică a acizilor nucleici virali [136]. Tehnicile PCR au fost dezvoltate pentru detecția și subtiparea virusurilor gripale întru obținerea rapidă a rezultatelor diagnosticului. În acest tip de analiză, ARN viral purificat din supernatantul de pe culturile celulare sau din probele clinice este, pentru început, revers transcris în cADN, atât prin intermediul revers transcriptazelor virusului mieloblastozei aviare sau a virusului leucemiei murine Moloney, folosind hexanucleotide randomizate, primeri universali complementar capătului 3' al tuturor vARN gripali sau o secvență specifică de primeri. Utilizarea hexanucleotidelor randomizate sau a primeri-lor universali, în schimbul secvențelor țintă ale primeri-lor specifici are avantajul caracterizat prin sintetizarea cADN din ambele transcripte ARN genomic viral și mARN, crescând, astfel, numărul regiunilor țintă care pot fi amplificate prin PCR. Poate fi utilizată doar o singură rundă de amplificare și specificitatea reacției poate fi confirmată prin hibridizarea cu sonde de produse specifice. Alternativ, setul nested-primer poate fi utilizat pentru amplificarea regiunii țintă [136, 140].

Alegerea genelor țintă este influențată de aplicarea prospectivă a acestei analize. Pentru diagnosticul specific tipului de infecție gripală A, B sau C se aleg, de obicei, genele interne cum ar fi nucleoproteina (NP) și genele matrix (M), deoarece ele sunt înalt conservate în cadrul tipurilor de gripă. Când este necesară informația despre subtipul virusului gripal, atunci

devin țintă genele ce codifică antigenele de suprafață. Utilizarea reacției PCR multisegmentate folosind primeri complementar capătului 5' terminal a 13 nucleotide conservate și capătului 3' terminal a 12 nucleotide permite detecția tuturor segmentelor într-o singură reacție. Mai mult ca atât, seturile de primeri bazat pe secvențele terminale a 15 și 21 de nucleotide permit amplificarea specifică a fiecărui segment ARN din cele 8, precum și analiza ulterioară a celor 16 subtipuri de HA și 9 subtipuri de NA ale virusului gripal A. Majoritatea testelor de diagnostic molecular existente pentru virusurile gripale A se bazează pe detecția și tipizarea exclusiv a genelor HA cu posibilitatea efectuării doar în anumite laboratoare a analizei antigenice și genetice a genei NA [123, 124, 132-136, 140, 141].

Testele moleculare au mai multe avantaje importante față de culturile celulare. Unul din cele mai importante avantaje este viteza. Majoritatea testelor moleculare pot fi efectuate foarte rapid și clinicienii deseori pot pune diagnosticul timp de 2-24 ore de la colectarea probei biologice. Acest timp rapid de procesare al eșantionului este mult mai probabil să fie util în direcționarea terapiei aplicate pacientului față de testul pe culturile celulare în care rezultatul poate să nu fie cunoscut practic până la însănătoșire. Un alt avantaj este sensibilitatea, multe metode moleculare pot detecta fragmente de ARN/ADN ale agenților patogeni țintă de mărimi de câteva ori mai mici față de agenții patogeni ce pot fi detectați pe culturile celulare. În plus, se poate menționa faptul că o creștere semnificativă a sensibilității poate aduce după sine și anumite dezavantaje [132, 136, 137, 138].

Alte caracteristici suplimentare valoroase ale analizei moleculare bazate pe reacția PCR includ: a) posibilitatea de testare concomitentă a mai multor gene țintă și astfel asigurând cu informație ce ține de tipul și subtipul virusului gripal, detecția altor virusuri respiratorii ce se suprapun sezonului epidemic de gripă, precum și detecția coinfecțiilor cu virusuri gripale; b) posibilitatea de implementare a platformelor automate și de transfer înalt ce au un potențial de testare a unui număr mare de probe clinice și necesită mai puțin timp și c) posibilitatea de a fi adaptată pentru detecția unor noi gene țintă. Aceste caracteristici, de facto, au jucat un rol impunător în timpul declanșării pandemiei din 2009. Totuși, pandemia recentă poate servi drept o oportunitate pentru reexaminarea rezervelor față de analiza PCR și a platformelor existente la moment și pentru revizuirea schimbărilor ce necesită a fi efectuate întru implementarea acestei metode într-un număr mai mare de laboratoare, precum și un alt potențial local de utilizare cu di-

ferit nivel de aptitudini tehnice, fapt ce poate duce ulterior la îmbunătățirea tehnologiei, fapt care va facilita sporirea utilizării analizei moleculare, în special, în epidemii și pandemii [124, 139].

Pandemia de gripă cu noul virus gripal A(H1N1)pdm0909 a introdus modificări semnificative în prezentarea aspectelor atât clinice, cât și epidemiologice ale infecțiilor respiratorii virale [115, 142]. În acest context, anume aplicarea acestor tehnici de ultimă generație: PCR cu revers transcriere, PCR cu revers transcriere în timp real, precum și alte metode de amplificare bazate pe secvențierea acizilor nucleici au sporit enorm capacitatea de supraveghere și, inclusiv, de caracterizare a virusurilor gripale aflate în circulație [143-145].

Investigația de laborator are o importanță deosebită în gripă, dat fiind variabilitatea redutabilă a virusurilor gripale și implicația acesteia în severitatea infecției și mai ales în manifestările ei epidemice și pandemice.

Obiectivele diagnosticului de laborator al gripei constau în: detecția precoce a variantelor cu potențial epidemic și pandemic; intervenția eficientă în regim de urgență în focare cu potențial de dezvoltare epidemică și/sau pandemică (izolare/internare); instituirea în timp util (48 ore) a unui tratament antiviral la cazurile severe și instituirea chimioprofilaxiei la contactii acestora; selectarea tulpinilor pentru prepararea unor vaccinuri eficiente în concordanță cu evoluția virusurilor gripale la antivirale; urmărirea eficienței vaccinării antigripale și a strategiilor vaccinale populaționale, precum și dezvoltarea de noi vaccinuri și antivirale.

2. STUDIAREA ȘI EVALUAREA SITUAȚIEI EPIDEMIOLOGICE PRIN GRIPĂ CU MONITORIZARE VIRUSOLOGICĂ ÎN PERIOADA PANDEMICĂ ÎN REPUBLICA MOLDOVA

Pentru evidențierea evoluției tulpinilor de virusuri gripale studiul realizat a inclus cercetările efectuate în perioadele pre-pandemică (sezonul epidemic 2008-2009), pandemică (sezonul 2009-2010) și post-pandemică (sezonul epidemic 2010-2011).

2.1. Aspecte epidemiologice ale infecției gripale și IRVA în perioada pre-pandemică

În conformitate cu datele din literatura de specialitate, pandemiile de gripă apar la fiecare 10-40 ani și sunt practic imprevizibile. Odată cu declanșarea pandemiei de gripă din sec. XXI în perioada 2009-2010, sezonul epidemic 2008-2009 poate fi considerat drept perioadă pre-pandemică [4-6, 9, 15-18, 20, 22, 23, 25-29, 157, 163].

În perioada pre-pandemică, morbiditatea prin gripă s-a caracterizat printr-o răspândire geografică sporadică, cu o intensitate și tendință scăzută a procesului epidemic și un impact nesemnificativ asupra sistemului de sănătate. Astfel, s-a atestat o reducere a morbidității prin gripă de 4,5 ori în sezonul 2008 (octombrie) – 2009 (februarie, $53,79^{0/0000}$), însă din luna martie înregistrându-se două valuri de sporire – în martie ($22,54^{0/0000}$) și aprilie ($31,06^{0/0000}$), comparativ cu sezonul 2007-2008 ($240,16^{0/0000}$). Nivelul morbidității prin gripă la copii a fost practic de 3,5 ori mai înalt față de cel la adulți atât în sezonul 2007-2008 (adulți – $181,18^{0/0000}$ copii – $645,97^{0/0000}$), cât și în sezonul 2008-2009 (adulți – $40,73^{0/0000}$ copii – $141,12^{0/0000}$).

Morbiditatea prin IRVA, în perioada nominalizată, s-a redus de 1,5 ori de la $6122,06^{0/0000}$ în sezonul 2007-2008 până la $5365,44^{0/0000}$ în sezonul 2008-2009. La copii nivelul morbidității prin IRVA a fost de 5,8 ori mai mare în sezonul 2008-2009 ($16151,96^{0/0000}$) față de nivelul la adulți ($2780,46^{0/0000}$) practic similar cu datele din sezonul 2007-2008 când nivelul morbidității a fost de 5,4 ori mai mare la copii ($19814,30^{0/0000}$) față de cel la adulți ($3680,65^{0/0000}$). Aceasta denotă faptul, că copiii constituie pătura cea mai receptivă și vulnerabilă atât față de infecția gripală, cât și față de IRVA.

2.2. Particularitățile etiologice ale gripei, IRVA și SARI în perioada pre-pandemică

Analiza rezultatelor investigațiilor acestui studiu a demonstrat că gripa, în sezonul epidemic 2008-2009, a fost etiologic cauzată de virusurile gripale A(H3N2), A(H1N1) și B. Astfel, virusul gripal A(H3N2) a fost detectat în 20 (16,1%) de probe cu material biologic și virusul gripal de tip B în 9 (7,3%) probe din totalul de specimene, codificate, cu material biologic colectate la persoanele cu diagnosticul clinic „Gripă” (124/27,2%) (tab. 2.1).

Tabelul 2.1

Rezultatele identificării antigenelor virusurilor gripale prin imunofluorescență în dependență de diagnosticul clinic, sezonul 2008-2009

Spectrul virusurilor detectate	Numărul probelor investigate											
	Gripă			IRVA			SARI			Total		
	invest.	Pozitive		invest.	Pozitive		invest.	Pozitive		invest.	Pozitive	
		abs.	%		abs.	%		abs.	%		abs.	%
A(H1N1)	124	-	-	324	2	0,6	8	-	-	456	2	0,4
A(H3N2)	124	20	16,1	324	9	2,8	8	1	12,5	456	30	6,6
B	124	9	7,3	324	6	1,8	8	-	-	456	15	3,3
Total	124	29	23,4	324	17	5,2	8	1	12,5	456	47	10,3

De la persoanele cu diagnosticul clinic IRVA au fost colectate 324 (71,0%) probe, din care 2 (0,6%) – au fost pozitive la prezența antigenelor virusului gripal A(H1N1), 9 (2,8%) – pozitive la prezența antigenelor virusului gripal A(H3N2) și 6 (1,8%) – pozitive la prezența antigenelor virusului gripal de tip B. La persoanele cu diagnosticul clinic SARI a fost identificat doar antigenul virusului gripal A(H3N2) în 1 (12,5%) probă din totalul de 8 (1,8%) specimene cu material biologic (tab. 2.1). Virusurile gripale identificate în perioada nominalizată au avut o pondere de: 63,8% pentru A(H3N2), 32,0% - virusurile gripale de tip B și doar 4,2 % iau revenit virusurilor gripale A(H1N1) sezoniere (fig. 2.1).

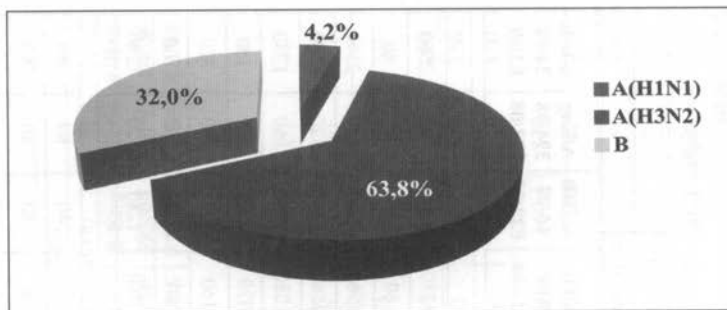


Fig. 2.1. Ponderea virusurilor gripale din totalul de probe pozitive detectate în sezonul epidemic 2008-2009

2.3. Evaluarea particularităților antigenice ale virusurilor gripale

În perioada nominalizată în culturi celulare MDCK (Madin-Darby Canine Kidney) au fost izolate 16 tulpini de virusuri gripale A(H3N2), care au avut o reactivitate slabă practic cu toate antiserurile de referință A/Wisconsin/67/2005, A/Trieste/25c/2007, A/Wisconsin/3/2007, A/Brisbane/10/2007, A/Uruguay/716/2007, A/Finland/9/2008, A/Johannesburg/15/2008, A/England/394/2008, A/Brisbane/24/2008. Acest fapt a fost similar tulpinilor virale de referință cu replicare pe MDCK așa ca: A/Trieste/25c/07 și A/Johannesburg/15/08. O reactivitate moderată, tulpinile de virusuri gripale A(H3N2), au prezentat cu antiserul A/Brisbane/10/2007 – tulpină de referință inclusă în coctailul vaccinului antigripal recomandat de OMS pentru sezonul 2009-2010 (tab. 2.2). Rezultate similare au fost identificate și pentru alte numeroase tulpini de virus gripal A(H3N2) izolate și identificate în diverse țări ale lumii în această perioadă [157, 164].

În aceeași perioadă, au fost izolate 4 tulpini de virus gripal de tip B, aparținând liniei B/Victoria, care au fost testate cu panelul de seruri de referință B/Shandong/7/97, B/Brisbane/32/2002, B/Hong Kong/45/2005, B/Malaysia/2506/2004, B/Victoria/304/2006, B/England/393/2008, B/Brisbane/33/2008, B/Brisbane/60/2008. Rezultatele testării au atestat că tulpinile izolate antigenic au fost similare cu tulpina B/Shandong/7/97 și cu tulpina virală B/Brisbane/60/08 – tulpină de referință, de asemenea, inclusă în formularea vaccinului antigripal pentru sezonul viitor. Tulpinile de virus gripal B izolate și identificate în Republica Moldova au fost practic similare cu majoritatea tulpinilor de virusuri gripale de tip B izolate în perioada pre-pandemică în diferite părți ale lumii (tab. 2.3).

Tabelul 2.2

Analiza antigenică a virusurilor gripale A(H3N2) identificate în sezonul epidemic 2008-2009

Virusuri	Data colectării probei	Istoricul pasajelor	Titrul de inhibare a Hemaglutinării									
			Seruri de referință (seruri de dihoze)									
			A/Wis 67/05 F18/08	A/ Trieste 25c/07 F5/07	A/Wis 3/07 F15/07	A/Bris 10/07 F29/08	A/Uru 716/07 F26/08	A/Fin 9/08 F12/08	A/JHB 15/08 F22/08	A/Eng 394/08 F32/08	A/Bris 24/08 F3/09	
Virusuri de referință												
A/Wisconsin/67/2005	8/31/2005	SpfCk3E3\3	2560	2560	640	1280	5120	1280	1280	160	2560	
A/Trieste/25c/2007	Jan-07	MDCKx2	<	80	160	160	160	160	80	80	80	
A/Wisconsin/3/2007	1/21/2007	Ex2	5120	2560	2560	5120	5120	2560	2560	640	2560	
A/Brisbane/10/2007	2/6/2007	E2\3	1280	2560	640	1280	2560	2560	1280	320	1280	
A/Uruguay/716/2007	6/21/2007	spfck1, 3\1	1280	1280	640	2560	5120	1280	1280	160	1280	
A/Finland/9/2008	1/7/2008	MDCK2\1	80	160	160	160	160	320	160	80	160	
A/Johannesburg/15/2008	25/06/2008	MDCKx2	80	160	160	160	320	160	160	160	320	
A/England/394/2008	9/22/2008	MDCK2\7	80	80	160	160	160	80	160	160	160	
A/Brisbane/24/2008	6/23/2008	E5\1	1280	2560	640	640	2560	1280	1280	320	1280	
Virusuri testate												
A/Moldova/166/2009	3/4/2009	MDCK2\1	<	<	80	80	80	80	<	40	80	
A/Moldova/167/2009	3/4/2009	MDCK2\1	80	80	80	160	160	80	80	80	80	
A/Moldova/169/2009	3/4/2009	MDCK2\1	80	80	160	320	160	160	160	160	160	

1. < = <40

Analiza antigenică a virusurilor gripale tip B (linia Victoria) identificate în perioada pre-pandemică (sezonul 2008-2009)

Virusuri	Data colectării probei	Istoricul pasajelor	Titrul de inhibare a Hemaglutinării ¹														
			Seruri de referință (seruri de dihoire)														
			B/Shan 7/97	B/Bris 32/02	B/HK 45/05	B/Mal 2506/04	B/Vic 304/06	B/Eng 393/08	B/Bris 33/08	B/Bris 60/08	F12/02	F2/03	F15/05	F28/05	F16/06	F31/08	F1/09
Virusuri de referință																	
B/Shandong/7/97		Ex	640	160	80	80	80	80	80	80	40	40	20	80	40	20	80
B/Brisbane/32/2002	7/2/2002	E2\6	640	80	160	80	160	80	160	80	40	40	20	80	40	20	40
B/HK/45/2005	2/7/2005	MDCK2\4	640	160	80	160	80	160	320	80	20	20	20	40	20	20	40
B/Malaysia/2506/2004	12/6/2004	E3\3	320	160	160	80	160	80	160	80	40	40	20	80	40	20	80
B/Victoria/304/2006	6/6/2006	E2\2	320	80	80	80	80	80	160	160	40	40	40	160	40	40	160
B/England/393/2008	29/08/2008	E1\2	160	40	80	<	80	<	80	80	160	160	320	320	160	320	320
B/Brisbane/33/2008	13/07/2008	E3\1	160	80	80	<	80	<	80	160	160	160	320	320	160	320	320
B/Brisbane/60/2008	04/08/2008	E4\1	160	80	80	<	160	<	160	160	160	160	320	320	160	320	320
Virusuri testate																	
B/Moldova/168/2009	3/4/2009	MDCK2\1	320	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<	320
B/Moldova/173/2009	3/4/2009	MDCK2\1	320	<	<	<	<	<	10	<	<	<	<	<	<	<	320
B/Moldova/174/2009	3/4/2009	MDCK2\1	320	<	<	<	<	<	10	<	<	<	<	<	<	<	320
B/Moldova/175/2009	3/5/2009	MDCK2\1	320	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<	<	320

1. < = <10; 2. Ser hiperimun de oi

În baza rezultatelor obținute în studiu, atât prin detecția antigenelor virusurilor gripale, cât și prin izolarea, identificarea și caracterizarea antigenică a tulpinilor de virusuri gripale circulante în Republica Moldova, se poate menționa că gripa, în perioada pre-pandemică a fost etiologic cauzată de virusurile gripale A(H3N2), A(H1N1) și B, cu predominarea virusului A(H3N2), tulpinile virale fiind similare cu tulpinile circulante în lume precum și cu variantele de tulpini gripale incluse în componența vaccinului antigripal polivalent recomandat de OMS pentru sezonul 2008-2009.

2.4. Evaluarea particularităților genotipice ale tulpinilor de virusuri gripale

Comparația filogenetică a tulpinilor de virusuri gripale izolate și identificate în Republica Moldova în perioada pre-pandemică, în baza arborilor filogenetici globali, a prezentat o similaritate atât antigenică, cât și genetică cu tulpina A/Brisbane/10/2007 – tulpină vaccinală, comparativ cu unele virusuri gripale izolate în alte țări ale lumii care nu au prezentat similaritate tulpinii nominalizate [157, 164].

Astfel, se poate menționa că virusurile gripale A(H3N2), circulante în Republica Moldova în perioada estimată, se includ în grupul genetic atribuit cladei 10 a tulpinii virale A/Brisbane (fig. 2.2). Clada 10 a fost formată, la rândul ei, de secvențele genei HA caracterizate de substituțiile aminoacizilor E62K, N144K, K158N, substituții cu efecte antigenice nesemnificative (fig. 2.3).

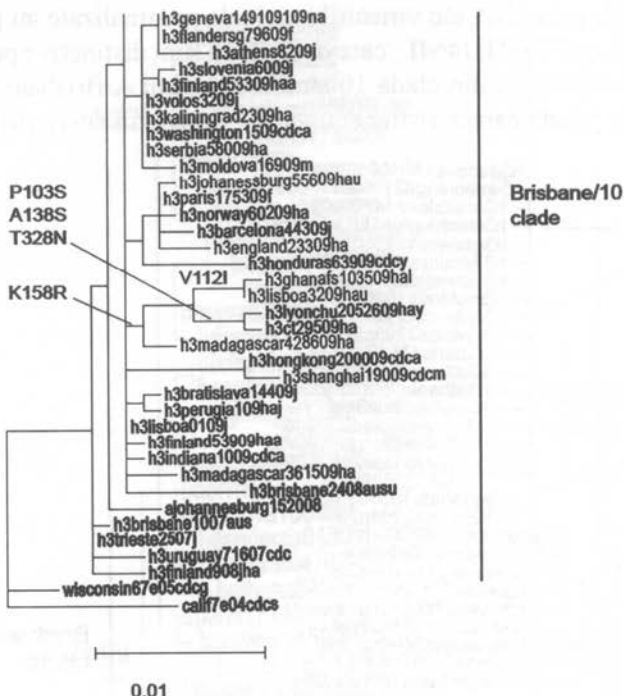


Fig. 2.2. Fragment din comparația filogenetică a virusurilor gripale A(H3N2), gena HA, sezonul epidemic 2008-2009 [164]

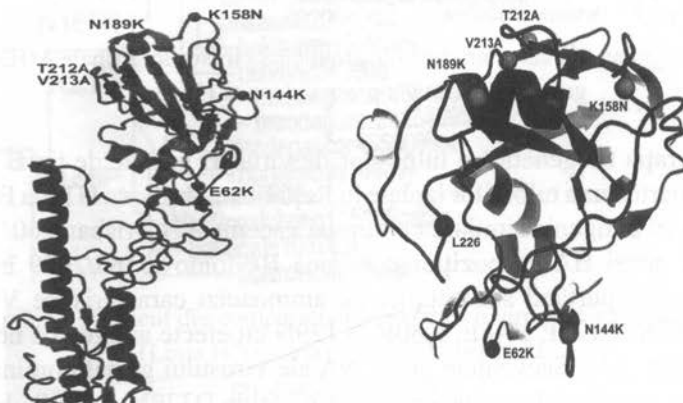


Fig. 2.3. Locațiile caracteristice substituțiilor de aminoacizi în gena HA H3 ale virusurilor gripale A(H3N2) [164]

Secvențele genei NA ale virusurilor gripale nominalizate au prezentat așa substituții ca P386H, I464L, care de fapt, nu sunt distinctive pentru a le diferenția de virusurile din clada 10 similare tulpinii A/Brisbane/10/2007 și, ca urmare, poartă caracteristici antigenice ne semnificative (fig. 2.4).

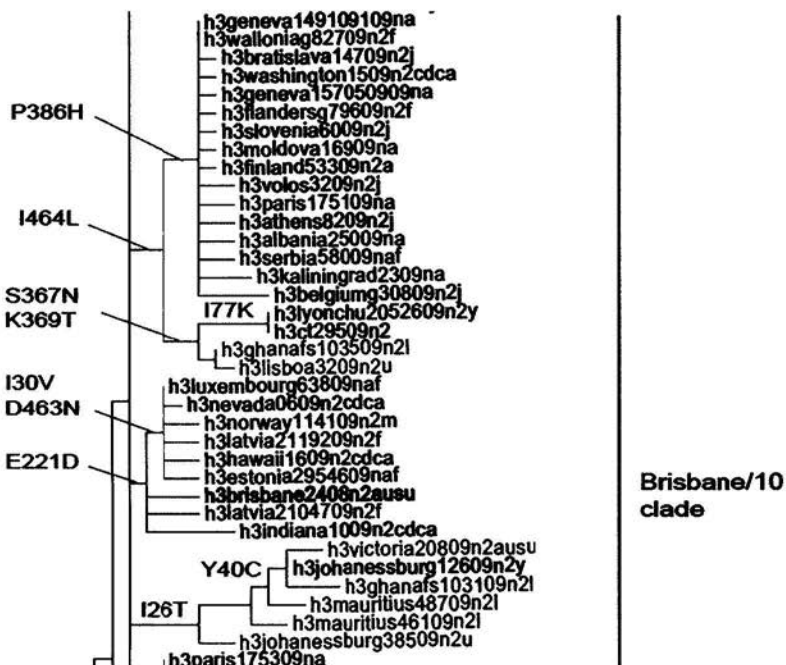


Fig. 2.4. Fragment din caracteristica filogenetică a virusurilor gripale A(H3N2), gena NA, perioada pre-pandemică [164]

Comparația filogenetică a tulpinilor de virusuri gripale de tip B a demonstrat apartenența tulpinilor izolate în Republica Moldova la linia B/Victoria, virusuri antigenic similare cu tulpina vaccinală B/Brisbane/60/2008. Secvențele genei HA au poziționat tulpina B/Moldova/168/2009 în clada Brisbane/60 purtând substituțiile de aminoacizi caracteristice V146I, N75K, N165K, S172P, K48E, K80R, K129N cu efecte antigenice ne semnificative (fig. 2.5). Secvențele genei NA ale virusului gripal nominalizat au prezentat substituțiile aminoacizilor în pozițiile D329N, A358E, de asemenea, cu efecte antigenice minore, relevând apartenența acestui tip virus gripal la linia B/Victoria/2/87 (fig. 2.6).

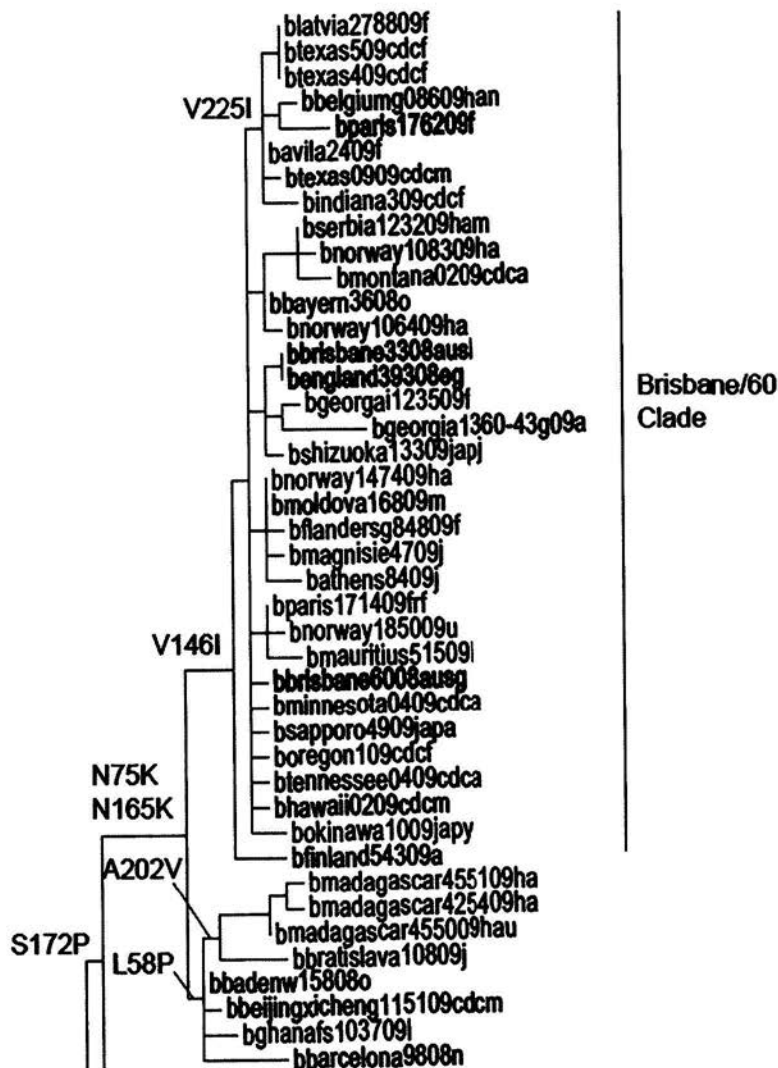


Fig. 2.5. Fragment din comparația filogenetică a virusurilor gripale B (Linia B/Victoria), gena HA, perioada pre-pandemică [164]

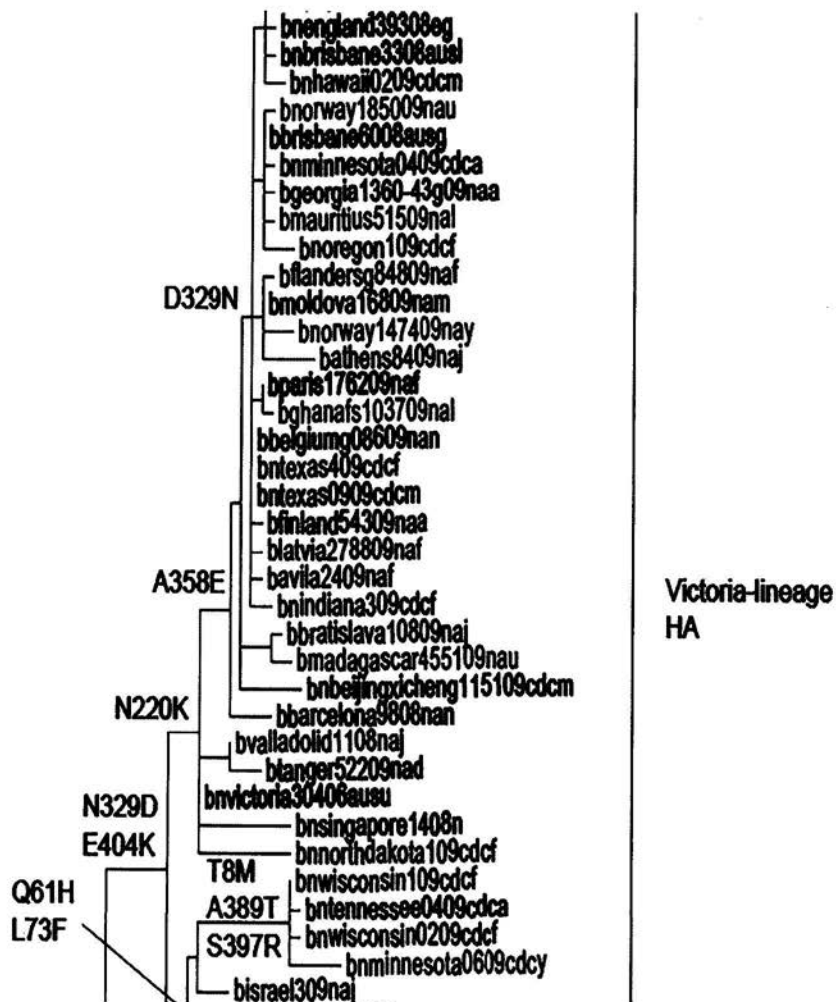


Fig. 2.6. Fragment din comparația filogenetică a virusurilor gripale B (Linia B/Victoria), gena NA, perioada pre-pandemică [164]

2.5. Particularitățile fenotipice ale tulpinilor de virusuri gripale

Studierea particularităților fenotipice ale virusurilor gripale în perioada nominalizată a atestat faptul, că tulpinile de virusuri gripale A(H3N2) posedă aminoacidul asparagina în poziția 31 a genei M2, ceea ce conferă rezistență virusurilor la remediile antivirale amantadina și remantadina. Totodată aceste virusuri nu au fost rezistente la inhibitorii NA care sunt remedii antivirale de ultimă generație oseltamivir și zanamivir. Virusurile gripale de tip B, de asemenea, au fost sensibile la inhibitorii NA, demonstrat prin lipsa mutațiilor responsabile de rezistență (fig. 2.5 și 2.6).

Prin urmare, se poate de menționat că tulpinile de virusuri gripale A(H3N2) și B izolate, identificate și caracterizate în acest studiu au fost similare tulpinilor de virusuri de o importanță globală, cum au fost tulpinile A/Brisbane/10/2007 și B/Brisbane/60/2008, incluse în componența vaccinului antigripal recomandat de OMS până la declanșarea pandemiei.

2.6. Particularitățile epidemiologice ale infecției gripale, IRVA și SARI în perioada pandemică

Detectarea în sezoanele epidemice a variantelor, precum și a subtipurilor principal noi de virusuri gripale cu modificări permanente a structurii genetice demonstrează că virusurile gripale au capacitatea de a evolua pe calea reasortării segmentelor genomice ale diverselor tulpini. La 11 iunie 2009 OMS a declarat începutul primei pandemii moderate de gripă în sec. XXI, care a fost provocată de noul virus gripal A(H1N1)pdm09. Analiza genetică a acestui virus pandemic a dezvăluit o nouă combinație a genelor virusurilor gripale umane, porcine și aviare. Această combinație complexă a fragmentelor genomice, indiscutabil a condus la apariția unui nou fenotip, care s-a reflectat în tabloul clinic al infecțiilor compatibile cu gripa prin proprietăți biologice noi, exprimate în caracteristicile de detecție, izolare și identificare ale acestui virus [16, 26, 27, 157, 158].

Perioada pandemică, în Republica Moldova, s-a caracterizat prin răspândire geografică extinsă a morbidității prin gripă, intensitate foarte înaltă și tendință sporită a procesului epidemic, fapt care a avut un impact esențial asupra sistemului de sănătate, cu înregistrarea a 43 cazuri de deces în urma complicațiilor postgripale [157, 158].

Primul caz de gripă pandemică confirmat prin teste de laborator în Republica Moldova a fost înregistrat la 27 iulie 2009 la o persoană sosită de peste hotarele țării. Ulterior, gripa pandemică s-a răspândit pe întreg teritoriul republicii.

Din luna iulie numărul cazurilor de gripă pandemică s-a aflat în creștere, atingând apogeul în luna noiembrie, când au fost confirmate 1906 cazuri, ceea ce a reprezentat 68,9% din numărul total de cazuri confirmate pe parcursul anilor 2009-2010. În luna decembrie 2009 morbiditatea prin gripa pandemică a intrat în faza de descendență cu reducerea semnificativă a numărului de cazuri confirmate în lunile ianuarie - martie 2010.

Trebuie de menționat, că cazuri de gripă pandemică A(H1N1) au fost înregistrate la populația umană din toate teritoriile administrative ale Republicii Moldova, inclusiv în raioanele de Est. Cu toate acestea, la începutul anului 2010 numărul cazurilor de gripă pandemică s-a aflat într-o descreștere succesivă, iar începând cu sfârșitul lunii martie cazuri noi nu au fost înregistrate, fapt ce constată, că la moment situația epidemiologică prin gripa pandemică este stabilă.

În rezultatul analizei detaliate a buletinelor de trimitere în laborator pentru testarea la gripa pandemică s-a dovedit că: cea mai înaltă pondere de îmbolnăvire (61,5%) a fost înregistrată la persoanele cu vârsta între 15 și 64 ani, copiii (0-14 ani) constituind 1/3 din toate persoanele bolnave. De asemenea, există o variație nesemnificativă de îmbolnăvire între bărbați și femei: ponderea cazurilor pozitive confirmate constituind 47% la femei și 52% la bărbați.

Inițial, în primele luni (iulie – august) ale anului 2009 de la confirmarea primului caz de gripă pandemică în Republica Moldova ponderea cazurilor de import constituia 12%, însă în lunile următoare această sursă de infectare a descrescut, în final constituind doar 8% din numărul total de probe pozitive, restul 92,0% – cazuri comunitare. Evaluarea anamnezei epidemiologice a persoanelor bolnave de gripa pandemică de import demonstrează că ponderea celor sosite în ultimele 7 zile înaintea debutului maladiei din Rusia a constituit 58,0%, urmată de Ucraina (33%), România (21%), Italia (13%), Turcia (8%) și Bulgaria (5%). Celelalte țări, precum Spania, Portugalia, Polonia, Kazahstan, Israel, Germania, Elveția, Cehia, Belgia, Azerbaidjan, Austria au fost menționate ocazional ca țară vizitată înainte de debutul bolii.

Referitor la diagnosticul primar stabilit la prima vizită a pacientului în instituția medicală există o mare varietate de nozologii, fiind menționat ca diagnostic unic de „Gripă”, „IRVA”, „Pneumonie” sau în asociație. Preponderent, a prevalat diagnosticul clinic de „Gripă” (în 40,8%), urmat de „IRVA” (11.8%). În calitate de diagnostic asociat a prevalat „Gripa” și

„IRVA” în 6,4%, „Gripa” și „Pneumonia” în 6,1% de cazuri. Pneumonia ca diagnostic primar unic a fost stabilit în 3,3%, în asociație cu gripa sau IRVA a constituit 7,9%, pe când ca complicație - în 11.1%. Datele cumulative demonstrează, că pneumonia ca diagnostic primar unic, asociat și ca complicație a fost stabilită în 12,4% din totalul persoanelor confirmate de gripă pandemică de tip nou A(H1N1).

Referitor la semnele clinice primare la debutul infecției cu virus gripal pandemic de tip nou A(H1N1) s-a demonstrat că gripa pandemică în Republica Moldova a debutat cu semne clinice specifice infecției, bine stabilite anterior. Semnele clinice cu o frecvență majoră la debutul bolii au fost: febra – 95,8%, tuse – 80,4%, cefalee – 78,0%, debut brusc – 75,6%, astenie – 64,2%, mialgie – 57,4%; semnele cu o frecvență medie: faringită – 36,4%, rinită – 27,8%, dispnee – 17,4%, tuse cu expectorație – 14,1%; simptome cu o frecvență minoră – globalgii – 0,6%, frisoane – 0,6%, artralгии – 0,2%.

Spre regret, în perioada octombrie 2009 – martie 2010 în RM au fost înregistrate 43 de decese la persoanele cu bronhopneumonie bilaterală la care a fost detectat virusul gripal de tip nou A(H1N1), inclusiv 31 femei și 12 bărbați. Majoritatea decedaților erau adulți de vârstă tânără (18-45 ani – 25 persoane) și de vârstă înaintată (46-65 ani) – 16 persoane. În aceeași perioadă au decedat doi copii (cu vârsta de cinci și unsprezece ani) și patru femei însărcinate (sarcină cu termen de 30-31 săptămâni din raionul Sângerei; de 25-26 săptămâni din mun. Chișinău, de 24-25 săptămâni din raionul Vulcănești și de 35-36 săptămâni din raionul Soroca).

Cazurile de deces au fost semnalate în 22 teritorii administrative al Republicii Moldova, cele mai multe fiind în Chișinău – 12, Anenii-Noi – 3, Soroca – 3, inclusiv în 4 teritorii din partea de Est a Moldovei (6 cazuri) (fig. 3.7). Majoritatea cazurilor de deces (31 din 43) s-au înregistrat în lunile noiembrie – ianuarie.

La toate persoanele gripa a debutat rapid, în multe cazuri cu asocierea din primele zile ale bolii a sindromului respirator acut sever. În 13 cazuri pacienții s-au adresat pentru asistență medicală în primele 3 zile ale bolii, în peste jumătate (25) din cazuri – la a 4-7 zi de boală. Tratatamentul antiviral cu oseltamivir a fost indicat la prima adresare pentru asistență medicală în 8 cazuri, în celelalte cazuri inițial s-au indicat preparate antibacteriene, tratament patogenetic și simptomatic. Circa 1/3 din pacienți au refuzat tratamentul în staționar după prima adresare la medic.

În primele trei zile ale bolii s-au spitalizat 4 bolnavi; la a 4-5 zi de boală

– 11, la a 6-10 zi – 15, peste 11 zile – 2 bolnavi. Diagnosticul prezumtiv la internare în 31 cazuri a fost de gripă (sezonieră sau suspecție la gripa pandemică); 43 persoane erau diagnosticate cu bronhopneumonie bilaterală; în 17 cazuri s-au înregistrat și patologii asociate, care probabil au influențat negativ evoluția bolii. Tratamentul antiviral cu oseltamivir în spital a fost administrat la 22 pacienți, inclusiv din 1-3 zi de boală – la 3; la a 4-5 – a zi de boală – la 5 și după a 6-7 zi – la 13 pacienți.

Decesul a survenit la mai mult de jumătate (26) din bolnavi la a 6-10 zi de boală, în 17 cazuri – după a 11-16 zi de boală.

Astfel, cauzele principale ale deceselor în urma complicațiilor postgripale provocate de virusul gripal de tip nou A(H1N1) înregistrate în RM în perioada octombrie 2009 – martie 2010 au fost evoluția severă cu dezvoltarea detresiei respiratorii, manifestare clinică necaracteristică gripei, adresa tardivă a bolnavilor după asistență medicală și, respectiv, indicarea în termeni tardivi a tratamentului antiviral.

Morbiditatea prin IRVA, în sezonul 2009-2010, a sporit semnificativ începând cu spt. 45/2009, atingând apogeul în spt. 49/2009 constituind 19364/542,8^{0/0000} cazuri, atestându-se apoi o reducere succesivă a numărului de cazuri până la 2435/68,3^{0/0000} cazuri în spt. 20/2010. În total, incidența prin IRVA a constituit 214548/6014,2^{0/0000} cazuri, ceea ce reprezintă o sporire de 1,1 ori față de sezonul anterior, afectând preponderent copiii cu vârsta cuprinsă între 0-14 ani (117033/19204,0^{0/0000} cazuri), prezentând o sporire de 1,2 ori comparativ cu sezonul precedent.

Incidența prin SARI în perioada respectivă a constituit 22582/633,0^{0/0000}, afectând preponderent copiii de 0-14 ani (12524/2055,1^{0/0000} cazuri), comparativ cu populația ≥ 65 ani – 1955/534,8^{0/0000} cazuri și populația cu vârsta cuprinsă între 15-64 ani – 8103/312,5^{0/0000} cazuri. Aceste date denotă faptul, că copiii constituie pătura cea mai receptivă și vulnerabilă atât față de IRVA, cât și față de SARI.

2.7. Rezultatele determinării caracteristicilor etiologice ale gripei, IRVA și SARI în perioada pandemică

Astfel, în perioada pandemică (perioada anilor 2009-2010), prin tehnici de biologie moleculară în timp real (rRT-PCR) – metodă de bază, recomandată de OMS, pentru detectarea ARN virusului gripal de tip nou A(H1N1) – tulpină, numită ulterior pandemică – A(H1N1)pdm09 – au fost investigate 6818 probe (tab. 2.4).

Rezultatele identificării virusurilor gripale prin rRT-PCR în dependență de diagnosticul clinic prezumtiv în anii 2009-2010

Spectrul virusurilor detectate		Numărul probelor investigate prin rRT-PCR, pe cauze:													
		Gripă				IRVA				SARI				Total	
		invest.	Pozitive		invest.	Pozitive		invest.	Pozitive		invest.	Pozitive		abs.	%
abs.	%		abs.	%		abs.	%								
A(H1N1) pdm09	4295	1629	37,9	955	489	51,2	1568	596	38,0	6818	2714	39,8			
A(H3N2)	4295	-	-	955	-	-	1568	1	0,06	6818	1	0,01			
B	4295	-	-	955	-	-	1568	1	0,06	6818	1	0,01			
Total	4295	1629	37,9	955	489	51,2	1568	598	38,1	6818	2716	39,8			

Virusul gripal A(H1N1)pdm09 a fost detectat în 1629 (37,9%) de specimene, codificate, cu material biologic colectate la persoanele cu diagnosticul clinic „Gripă” (4295/63,0%). De la persoanele cu diagnosticul clinic IRVA au fost colectate 955 (14,0%) probe, din care 489 (51,2%) – au fost pozitive la prezența ARN virusului gripal A(H1N1)pdm09. La persoanele cu diagnosticul clinic prezumtiv SARI a fost identificat ARN virusului gripal A(H1N1)pdm09 în 596 (38,0%) probe, 1 (0,06%) – pozitivă la prezența ARN virusului gripal A(H3N2) și 1 (0,06%) – pozitivă la prezența ARN virusului gripal de tip B din totalul de 1568 (23,0%) specimene cu material biologic (tab. 2.4, fig. 2.7).

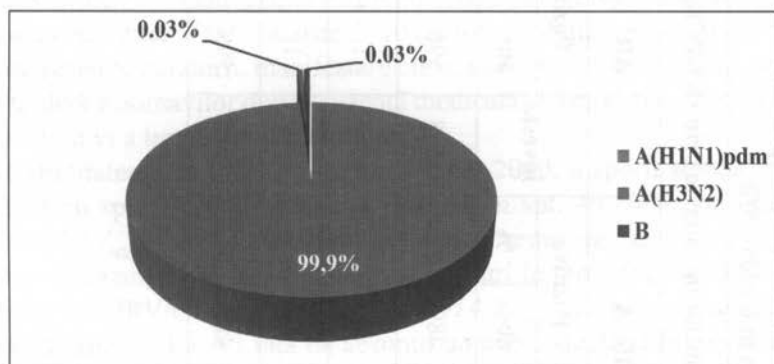


Fig. 2.7. Ponderea virusurilor gripale identificate prin rRT-PCR în perioada pandemică, anii 2009-2010

2.8. Determinarea particularităților antigenice ale virusurilor gripale

Analiza antigenică a tulpinilor de virusuri gripale A(H1N1)pdm09, izolate pe cultura de celule MDCK și identificate la începutul perioadei pandemice, a fost efectuată cu utilizarea panelului de seruri de referință A/New Jersey/8/76, A/California/4/2009, A/California/7/2009, A/England/195/2009, A/Auckland/3/2009. Majoritatea tulpinilor de virusuri gripale au prezentat reactivitate înaltă cu serurile de referință din panel, însă tulpinile A/Moldova/G-182/2009, A/Moldova/G-157/2009 au manifestat reactivitate nesemnificativă, iar tulpina A/Moldova/G-140/2009 – foarte slabă față de serul de referință A/New Jersey/8/76 (tab. 2.5).

**Analiza antigenică a tulpinilor de virusuri gripale A(H1N1)pdm09 identificate
la începutul pandemiei în anul 2009.**

Virusuri	Data colectării probei	Istoricul pasajelor	Titrul de inhibare a Hemaglutinării ¹						
			Seruri de referință (seruri de dihoze)						
			A/NJ ² 8/76 R15/79	A/NJ 8/76 F34/82	A/Cal 4/09 C4/F14/09	A/Cal 7/09 C4/31/09	A/Eng 195/09 NIBSC F18/09	A/Auck 3/09 C4/17/09	
Virusuri de referință									
A/New Jersey/8/76		Ex	>5120	640	160	160	160	320	320
A/California/4/2009		C1,E2	2560	160	1280	2560	2560	2560	2560
A/California/7/2009		E5	5120	320	2560	2560	2560	2560	5120
A/England/195/2009		MDCK4	2560	160	1280	2560	2560	2560	2560
A/Auckland/3/2009		Ex+2	5120	640	2560	5120	5120	5120	5120
Virusuri testate									
A/Moldova/G-57/2009	7/31/2009	MDCK2	5120	320	2560	5120	5120	5120	5120
A/Moldova/G-63/2009	8/11/2009	MDCK2	5120	320	2560	2560	2560	2560	5120
A/Moldova/G-85/2009	8/20/2009	MDCK2	2560	160	2560	2560	2560	2560	5120
A/Moldova/G-104/2009	8/29/2009	MDCK2	2560	160	1280	1280	1280	2560	2560

A/Moldova/G-120/2009	9/6/2009	MDCK2	5120	320	2560	2560	2560	2560	5120
A/Moldova/G-162/2009	10/28/2009	MDCK2	2560	160	1280	2560	2560	2560	5120
A/Moldova/G-168/2009	10/30/2009	MDCK2	2560	160	1280	1280	2560	2560	2560
A/Moldova/G-170/2009	10/31/2009	MDCK2	5120	320	1280	1280	2560	2560	2560
A/Moldova/G-174/2009	10/30/2009	MDCK2	2560	320	1280	2560	2560	2560	5120
A/Moldova/G-176/2009	10/31/2009	MDCK2	2560	160	1280	1280	2560	1280	2560
A/Moldova/G-181/2009	10/31/2009	MDCK2	2560	160	1280	2560	2560	2560	5120
A/Moldova/G-182/2009	10/31/2009	MDCK2	1280	80	640	1280	1280	1280	1280
A/Moldova/G-185/2009	11/1/2009	MDCK2	2560	160	1280	2560	2560	1280	2560
A/Moldova/G-186/2009	11/1/2009	MDCK2	2560	160	1280	2560	2560	2560	5120
A/Moldova/G-62/2009	8/12/2009	MDCK3	2560	320	2560	2560	2560	2560	5120
A/Moldova/G-65/2009	8/12/2009	MDCK3	2560	160	1280	2560	2560	1280	2560
A/Moldova/G-72/2009	8/13/2009	MDCK3	2560	160	2560	2560	2560	2560	5120
A/Moldova/G-157/2009	10/26/2009	MDCK3	2560	80	1280	1280	2560	1280	2560
A/Moldova/G-188/2009	11/1/2009	MDCK3	5120	320	2560	2560	2560	5120	5120
A/Moldova/G-140/2009	9/28/2009	MDCK2	1280	<	640	1280	1280	320	640

I. < = <10; 2. Ser hiperimun de iepure

Determinarea particularităților antigenice ale tulpinilor de virus gripal A(H1N1)pdm09 izolate în cultura de celule MDCK-SIAT1 și identificate pe parcursul și spre finele pandemiei a fost realizată prin utilizarea panelului de seruri de referință A/California/4/2009, A/California/7/2009, A/England/195/2009, A/Auckland/3/2009, A/Bayern/69/2009 și A/Lviv/N6/2009 [157, 158].

Trei tulpini de virus gripal (A/Moldova/3958/2009, A/Moldova/30/2010, A/Moldova/398/2010) au manifestat o reactivitate redusă, dar similară cu reactivitatea virusului de referință A/Lviv/N6/2009, însă, mai mare decât a virusului de referință A/Bayern/69/09 cu reactivitate joasă (tab. 2.6). Reactivitatea alterată a acestor trei virusuri pare a fi asociată cu schimbările la reziduurile de aminoacizi în pozițiile 154-156 ale genei HA. Ambele virusuri au câte o modificare în poziția 155, iar virusul A/Lviv/N6/2009 prezintă o schimbare adițională la nivelul 222 D spre G [157, 158].

Particularitățile antigenice ale tulpinilor de virusuri gripale A(H1N1)pdm09 izolate și identificate în Republica Moldova în perioada pandemică au fost similare cu caracteristicile antigenice ale tulpinilor de virusuri gripale izolate la nivel global, fapt confirmat prin analogia lor cu prototipul A/California/4/2009 și, respectiv, cu virusul vaccinal A/California/7/2009, component al vaccinului monovalent recomandat de către OMS pentru anii 2009-2010 – în pandemie [157, 158, 165].

2.9. Evaluarea particularităților genotipice ale virusurilor gripale

Analiza genotipică a fost efectuată la două loturi prin metoda de secvențiere a genelor HA și NA virusurilor gripale A(H1N1)pdm09. În primul lot s-a efectuat secvențierea genelor de HA a 24 izolate de virus gripal și secvențierea genelor de NA a 17 izolate de virusuri gripale A(H1N1)pdm09 identificate la începutul pandemiei. Din comparația filogenetică a genelor de HA s-a observat că unele tulpini au avut substituția aminoacidului în poziția D222E (fig. 2.9). Această poziție s-a dovedit a fi similară cu poziția glicinei în unele virusuri identificate în cazuri soldate cu deces, însă nu s-a găsit nici un argument întru susținerea ideii că aceasta este asociată cu virulența sporită a virusului A(H1N1)pdm09, deși este foarte aproape de substituția D222G [157, 158]. Substituția dată pare a avea un efect neînsemnat asupra antigenicității, fapt ce poate fi observat în interpretarea rezultatelor analizei antigenice (tab. 2.5).

Analiza antigenică a tulpinilor de virusuri gripale A(H1N1)pdm09 identificate pe parcursul și spre finele pandemiei.

Virusuri	Data colectării probei	Istoricul pasajelor	Titrul de inhibare a Hemaglutinării ¹					
			A/Cal 4/09 C4/F14/09	A/Cal 7/09 C4/31/09	A/Eng 195/09 NIBSC F18/09	A/Auck 3/09 C4/17/09	A/Bayern 69/09 C4/33/09	A/Lviv N6/2009 C4/34/09
Virusuri de referință								
A/California/4/2009		C1,E2	1280	1280	1280	1280	640	1280
A/California/7/2009		E6	1280	1280	1280	1280	640	1280
A/England/195/2009		MDCK5	1280	1280	1280	1280	1280	1280
A/Auckland/3/2009		Ex+3	1280	1280	1280	2560	640	1280
A/Bayern/69/2009		MDCK4/SIAT1	80	160	80	80	320	320
A/Lviv/N6/2009		MDCK4/SIAT1	320	640	320	160	1280	1280
Virusuri testate								
A/Moldova/8/2010	1/2/2010	SIAT3	2560	2560	2560	2560	1280	2560
A/Moldova/14/2010	10/1/2010	SIAT3	2560	2560	2560	2560	2560	2560
A/Moldova/63/2010	1/4/2010	SIAT2	2560	5120	2560	2560	2560	2560
A/Moldova/66/2010	1/3/2010	SIAT3	2560	2560	2560	2560	1280	2560
A/Moldova/112/2010	1/5/2010	SIAT2	2560	2560	2560	2560	1280	2560
A/Moldova/226/2010	1/11/2010	SIAT2	1280	1280	1280	2560	640	1280
A/Moldova/379/2010	1/20/2010	SIAT3	1280	640	1280	2560	640	1280
A/Moldova/3958/2009	11/30/2009	SIAT3	640	640	640	1280	320	640
A/Moldova/5278/2009	12/16/2009	SIAT3	1280	1280	1280	1280	640	1280
A/Moldova/5565/2009	12/24/2009	SIAT3	1280	1280	1280	1280	640	1280
A/Moldova/5572/2009	12/25/2009	SIAT4	1280	1280	1280	2560	640	1280
A/Moldova/30/2010	1/2/2010	SIAT3	320	640	320	320	640	640
A/Moldova/398/2010	1/21/2010	SIAT4	640	640	640	640	640	640

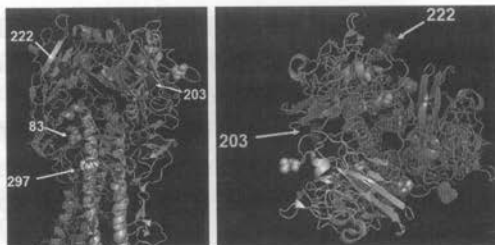


Fig. 2.8. Pozițiile substituțiilor de aminoacizi în gena HA, A(H1N1)pdm09 [165]

De asemenea, comparația filogenetică a tulpinilor de virus gripal nominalizat au prezentat și alte substituții de aminoacizii, cum ar fi: V321I, D274N, S203T, T120A, D187N, K211E, substituții care au plasat diferit tulpinile de virusuri gripale la construirea arborelui filogenetic, prezentând astfel diferențe minore comparativ cu virusul vaccinal A/California/7/2009 (fig. 2.8, 2.9 și 2.10).

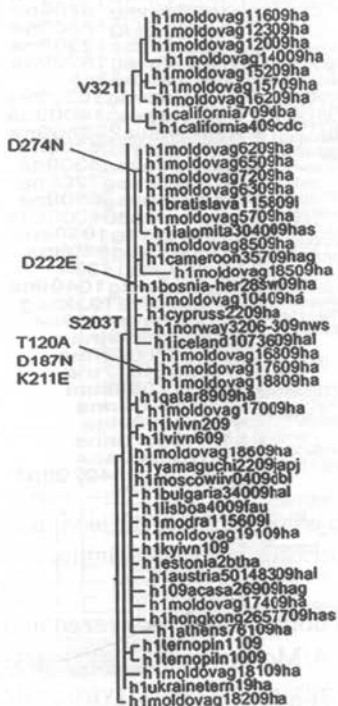


Fig. 2.9. Fragment al comparației filogenetice a virusurilor gripale A(H1N1) pdm09, gena HA, perioada pandemică (mijlocul anului 2009) [165]

În al doilea lot s-a efectuat secvențierea genelor de HA și NA a 32 de izolate de virus gripal A(H1N1)pdm09 identificate la finele pandemiei. În arborii filogenetici atât a genei HA, cât și a genei NA s-a observat că unele virusuri s-au aranjat în grup, pe când altele au fost dispersate, în dependență de substituțiile de aminoacizi codificate de anumite secvențe ale acestor gene, ceea ce poate indica la semnificația epidemiologică a acestor virusuri. Similar lotului anterior, au fost observate virusuri ce prezentau schimbări la nivelul aminoacidului 222 în HA.

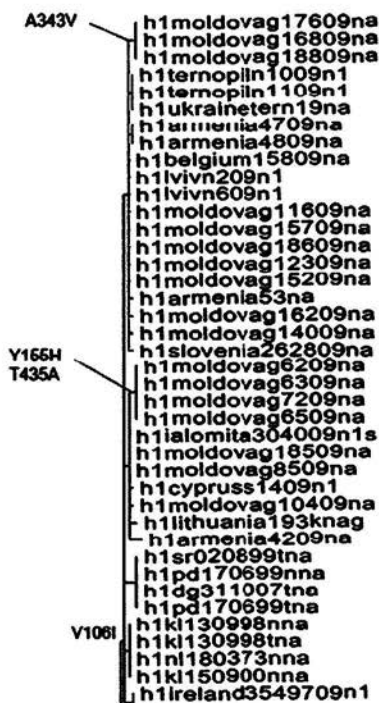


Fig. 2.10. Fragment din arborele filogenetic al virusurilor gripale A(H1N1)pdm09, gena NA, perioada pandemică (mijlocul anului 2009) [165]

La nivelul genei HA două virusuri au prezentat o substituție clară la nivelul D222G (virusurile A/Moldova/3163/2009 și A/Moldova/3245/2009), iar altele două conțineau mixul sau D sau G (virusurile A/Moldova/351/2010 și A/Moldova/5053/2009). Interesant este faptul, că aceste probe au fost colectate de la cazurile de deces. Cu toate acestea, nu toate probele co-

lectate de la cazurile de deces au prezentat substituția G în poziția 222 (4 din 9 au prezentat semne de glicină – 2 prezentând predominant glicina) și niciuna din celelalte probe nu au prezentat urme semnificative ale glicinei în analiza de secvențiere. Substituția observată la nivelul 277 în HA în unul din grupurile de virusuri a fost localizată aparte de capătul HA și aparte de site-ul de legare a receptorilor, de asemenea având un efect ne semnificativ (fig. 2.11) [157, 158].

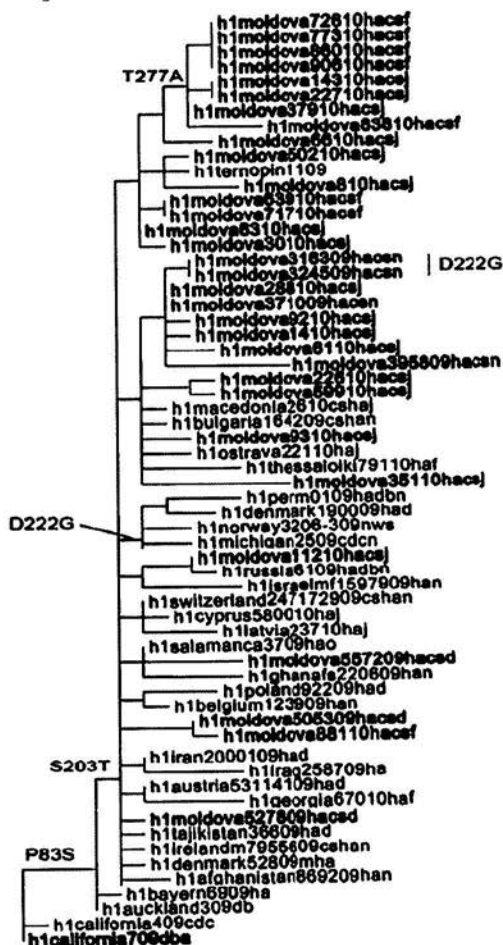


Fig. 2.11. Fragment din arborele filogenetic al virusurilor gripale A(H1N1) pdm09, gena HA, perioada pandemică (sf. an. 2009 – înc. an. 2010) [165]

Semnificația substituției D222G a fost și este discutată de către cercetători [157, 158, 166, 167]. Astfel, substituția D222G în gena HA poate fi primul "marker al virulenței" identificat la virusul A(H1N1)pdm09, care, însă, a fost detectat în unele țări, în special, în numeroase cazuri cu evoluție severă și fatale. Această substituție s-a dovedit a fi cauza extinderii specificității receptorice către acidul α 2-3 sialic (similar celui aviar) exprimate de celulele epiteliale ale tractului respirator inferior [33, 169, 170]. Și anume, atașamentul abundent al D222G al virusului A(H1N1)pdm09 de macrofagii localizați în alveolele pulmonare poate implica mecanisme de sporire a patogenității acestuia, ceea ce poate conduce, ulterior, la multiplicarea virusului la acest nivel, manifestată prin afectarea funcției celulelor, inclusiv, prin perturbarea procesului de reparare a epiteliului după afectarea alveolelor, dereglarea transportului ionic și producerea anormală de substanțe tensioactive [33]. Totodată, este necesar de menționat, că substituția D222G nu afectează proprietățile antigenice ale virusului A(H1N1)pdm09, fapt care a fost stabilit prin RHAI cu seruri de referință atât de dihoare, cât și de iepure [166-169].

De asemenea, în analizele antigenică și de secvențiere s-a demonstrat faptul, că virusurile gripale A(H1N1)pdm09 care posedă substituția D222G sunt antigenic similare cu virusul A/California/7/2009 (H1N1) – tulpină recomandată de OMS pentru formula vaccinului gripal [157, 169-171]. Aceste date sugerează că vaccinurile antigripale actuale pot asigura protecție atât contra virusurilor gripale care conțin substituția D222G, cât și contra celor ce nu o conțin, fapt prin care vaccinarea ar putea limita impactul virusurilor cu substituția D222G în viitor.

Totodată, analiza genetică a genei NA a atestat că un grup de izolate de virus gripal A(H1N1)pdm09 au prezentat o substituție la nivelul aminoacidului 386 (N s-a schimbat cu K) și această substituție putea rezulta în pierderea site-ului de glicozilare în tetramerul de NA, aparte de locusul enzimatic activ (fig. 2.12).

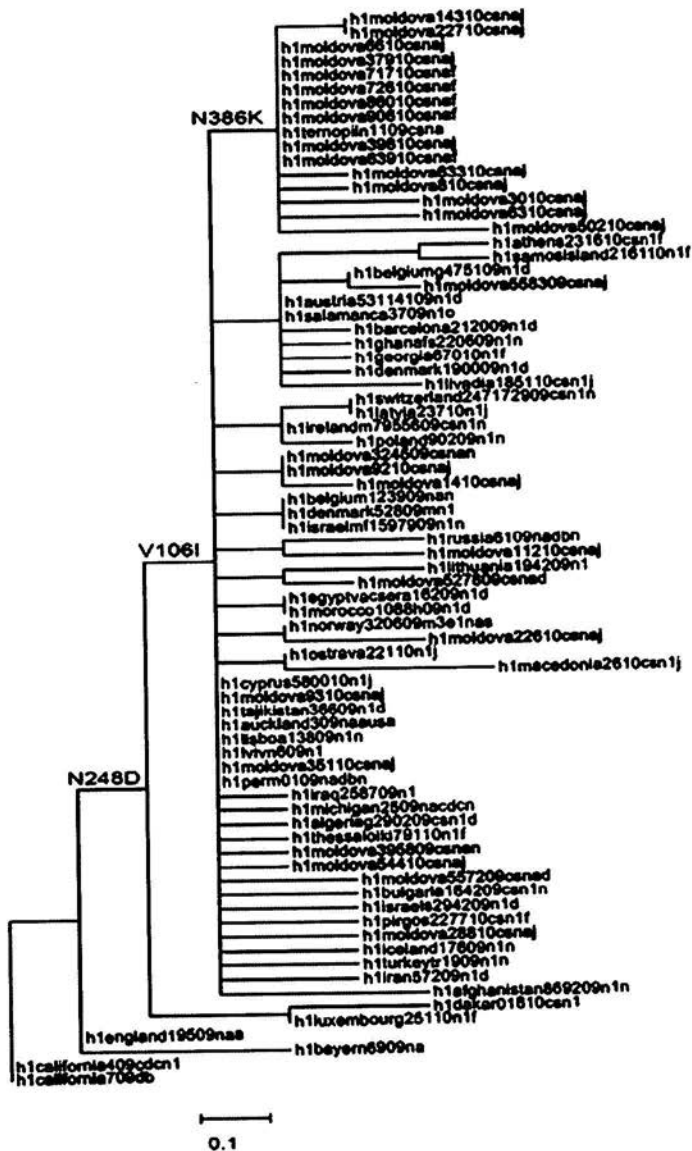


Fig. 2.12. Comparația filogenetică a virusurilor gripale A(H1N1)pdm09, gena NA, perioada pandemică (sf. an. 2009 – înc. an. 2010) [165]

2.10. Determinarea caracteristicilor fenotipice ale virusurilor gripale

Comparația filogenetică a genelor NA ale virusurilor gripale analizate în perioada pandemică nu a prezentat substituția de aminoacizi H - Y în poziția 275 – asociată cu rezistența virusurilor la preparatul antiviral oseltamivir, în același timp, substituția dată nu induce rezistență la remediul antiviral zanamivir. Rezistența antivirală, în special la oseltamivir, nu se asociază cu nici una din cladele genetice ale genei HA, însă mutația care induce rezistență prin substituția H275Y în gena NA este suficientă pentru a asocia virusurile rezistente la oseltamivir într-o mică cladă genetică [157, 172].

Evaluarea caracteristicilor fenotipice ale virusurilor gripale a fost realizată în reacția de inhibarea a neuraminidazei (vezi capitolul 2) și a pus în evidență sensibilitatea tulpinilor de virusuri gripale, izolate și identificate în Republica Moldova în perioada nominalizată, la remediile antivirale de ultimă generație oseltamivir și zanamivir [157, 158].

Așa dar, rezultatele studiului au demonstrat, că în perioada pandemică infecțiile gripale etiologic au fost cauzate de tulpinile virusului gripal A(H1N1)pdm09 circulante în Republica Moldova, care din punct de vedere antigenic, fenotipic și genotipic au fost similare tulpinii prototip A/California/4/2009 și tulpinii vaccinale A/California/7/2009 – inclusă în componența vaccinului antigripal monovalent recomandat de OMS pentru vaccinare în perioada anilor 2009-2010.

2.11. Studiarea particularităților epidemiologice ale infecției gripale, IRVA și SARI în perioada post-pandemică

La 10 august 2010, Directorul General al OMS a anunțat trecerea la perioada post-pandemică: perioadă, când nivelele gripei pandemice în majoritatea țărilor cu supraveghere adecvată au revenit la nivelele înregistrate în cazul gripei sezoniere [158, 171, 172].

Studiarea particularităților epidemiologice și etiologice ale gripei, IRVA și SARI în perioada post-pandemică, inclusă în acest studiu, a cuprins cercetările din sezonul epidemic 2010-2011.

Astfel, sezonul epidemic 2010-2011 s-a caracterizat printr-un pattern sporit cu o răspândire geografică extinsă, intensitate înaltă și o tendință în creștere a procesului epidemic, fapt ce a condus la un impact semnificativ asupra sistemului de sănătate cu înregistrarea a 7 cazuri de deces prin SARI asociate cu gripa [155-157, 161, 172].

În perioada nominalizată în Republica Moldova au fost înregistrate 4467/125,5⁰/₀₀₀₀ cazuri de gripă (în aceeași perioadă a sezonului precedent – 14089/395,3⁰/₀₀₀₀ cazuri) și 260384/7313,3⁰/₀₀₀₀ cazuri de IRVA (în aceeași perioadă a sezonului 2009-2010 – 214548/6020,4⁰/₀₀₀₀ cazuri), atestându-se o reducere a morbidității prin gripă de 3,2 ori și o sporire de 1,2 ori a incidenței prin IRVA comparativ cu sezonul precedent. Reducerea morbidității prin gripă poate fi explicată prin realizarea măsurilor specifice (vaccinarea a 828286 de persoane cu risc sporit de îmbolnăvire în perioada decembrie 2009 – octombrie 2010) și nespecifice (depistarea activă a persoanelor bolnave cu izolarea lor și spitalizarea la necesitate, informarea permanentă a populației despre măsurile de profilaxie și combatere a gripei, etc.). ponderea morbidității prin gripă la copii (0-14 ani) în sezonul 2010-2011 a constituit 35,5% față de 25,2% în sezonul epidemic 2009-2010, pe când ponderea incidenței prin IRVA la copii s-a aflat practic la același nivel în sezoanele nominalizate. Morbiditatea prin gripă și IRVA la populația urbană a fost de 2,4 și 2,2 ori, respectiv, mai înaltă decât la cea rurală.

Incidența prin SARI, în perioada nominalizată, a constituit 21817/612,8⁰/₀₀₀₀ cazuri comparativ cu sezonul epidemic 2009-2010 când s-au înregistrat 22582/633,0⁰/₀₀₀₀ cazuri, ceea ce reprezintă o reducere neesențială de 0,97 ori. SARI s-au înregistrat la copii în proporție de 51,9%, iar la adulți – în 48,1% cazuri.

2.12. Rezultatele evaluării particularităților etiologice ale gripei, IRVA și SARI în sezonul 2010-2011

În sezonul epidemic 2010-2011, prin metoda rRT-PCR au fost investigate 1045 probe, codificate, colectate de la persoanele cu diagnosticul clinic prezumtiv „Gripă”, „IRVA” și „SARI”. La persoanele cu diagnosticul clinic prezumtiv „Gripă” din 552 (52,8%) specimene ARN virusului gripal A(H1N1)pdm09 a fost detectat în 200 (36,2%) probe, ARN virusului gripal A(H3N2) detectat în 52 (9,4%) probe, ARN virusului gripal B a fost detectat în 102 (18,5%) probe, iar prezența ARN virusurilor gripale A(H1N1)pdm09 + B a fost detectată în 4 (0,7%) probe. ARN virusurilor gripale au fost detectate la pacienții cu diagnosticul clinic prezumtiv

„IRVA”, după cum urmează: ARN virusului gripal A(H1N1)pdm09 – în 86 (28,6%) probe, ARN virusului gripal A(H3N2) – în 20 (6,6%) probe, ARN virusului gripal B – în 37 (12,3%) probe din totalul de 301 (28,8%) probe. Din 192 (18,4%) probe colectate de la pacienții cu diagnosticul prezumtiv „SARI” în 76 (39,6%) probe s-a detectat ARN virusului gripal A(H1N1)pdm09, în 13 (6,8%) probe a fost detectat ARN virusului A(H3N2) și în 16 (8,3%) probe s-a detectat ARN virusului gripal de tip B (tab. 2.7). Așa dar, gripa în perioada post-pandemică, sezonul epidemic 2010-2011, a fost cauzată de trei virusuri gripale cu predominarea virusului gripal A(H1N1)pdm09 cu o pondere de 34,6%, virusului gripal de tip B – 14,8%, virusului gripal de tip A cu subtipul H3N2 – 8,1%, iar cea mai mică pondere a fost stabilită în cazul coinfecției cu virusurile gripale de tip A(H1N1)pdm09 și de tip B doar de 0,4% (fig. 2.13). O situație similară în perioada post-pandemică s-a atestat în majoritatea țărilor din Europa [155-157, 161, 172].

Tabelul 2.7

Rezultatele identificării virusurilor gripale prin rRT-PCR în dependență de diagnosticul clinic prezumtiv în sezonul 2010-2011

Spectrul virusurilor detectate	Numărul probelor investigate prin rRT-PCR											
	Gripă			IRVA			SARI			Total		
	in-vest.	Pozitive		in-vest.	Pozitive		in-vest.	Pozitive		in-vest.	Pozitive	
		abs.	%		abs.	%		abs.	%		abs.	%
A(H1N1)pdm09	552	200	36,2	301	86	28,6	192	76	39,6	1045	362	34,6
A(H3N2)	552	52	9,4	301	20	6,6	192	13	6,8	1045	85	8,1
B	552	102	18,5	301	37	12,3	192	16	8,3	1045	155	14,8
A(H1N1)pdm09 + B	552	4	0,7	301	-	-	192	-	-	1045	4	0,4
Total	552	358	64,8	301	143	47,5	192	105	54,7	1045	606	57,9

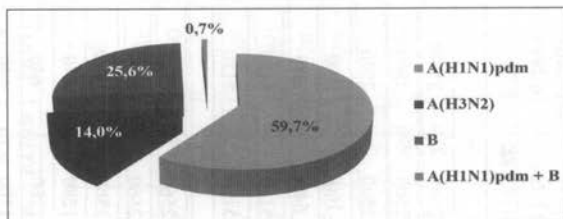


Fig. 2.13. Ponderea virusurilor gripale identificate prin rRT-PCR în perioada post-pandemică, sezonul epidemic 2010-2011

2.13. Particularitățile antigenice ale tulpinilor de virusuri gripale izolate și identificate în sezonul epidemic 2010-2011

În culturile celulare MDCK și MDCK-SIAT1 au fost investigate 220 din 606 probe pozitive la diferite tipuri/subtipuri ale virusurilor gripale prin rRT-PCR. Din ele au fost izolate 31 tulpini de virusuri gripale, care în RHA1 au fost identificate 10 tulpini de virus gripal A(H1N1)pdm09, 15 tulpini de virus gripal A(H3N2) și 6 tulpini de virus gripal tip B.

Rezultatele obținute demonstrează că tulpinile izolate de virus gripal A(H1N1)pdm09 din Republica Moldova totalmente reacționează cu serurile standard A/California/7/2009, A/England/195/2009, A/Auckland/3/2009, A/Bayern/69/2009, A/Lviv/N6/2009, A/Hong Kong/2212/2010, A/Christchurch/16/2010, ceea ce reprezintă o caracteristică comparabilă cu tulpinile din alte țări izolate, identificate și caracterizate din perioada nominalizată, deși tulpina virală A/Moldova/448/2011 a prezentat o activitate ușor redusă în RHA1, în special, cu serurile de referință A/California/7/2009, A/Auckland/3/2009, A/Bayern/69/2009 și A/Christchurch/16/2010 (tab. 2.8) [156, 157].

Analiza antigenică a virusurilor gripale A(H3N2) reprezintă un pattern similar de reactivitate cu panelul de seruri de referință A/Wisconsin/67/2005, A/Brisbane/10/2007, A/Perth/16/2009, A/Wisconsin/15/2009, A/Victoria/208/2009, A/Victoria/210/2009, A/Alabama/5/2010, A/Perth/10/2010. Important este faptul, că aceste virusuri au fost reactive cu serurile specifice standard față de tulpinile virale A/Wisconsin/15/2009, A/Alabama/5/2010 și A/Perth/10/2010, însă, o reactivitate redusă le-au avut cu serul specific față de virusul A/Perth/16/2009 inclus în componența coctailului vaccinal recomandat de OMS pentru sezonul respectiv, aceste variații fiind neesențiale (tab. 2.9) [157, 173].

Rezultatele analizei antigenice a virusurilor gripale A(H1N1)pdm09 identificate în sezonul epidemic 2010-2011

Virusuri	Data colectării probei	Istoricul pasajelor	Titrul de inhibare a Hemaglutinării ¹									
			Seruri de referință (seruri de dihoze)									
			A/Cal 7/09 C4/31/09	A/Eng 195/09 NIBSC F18/09	A/Auck 3/09 C4/17/09	A/Bayern 69/09 C4/33/09	A/Lviv N6/2009 C4/34/09	A/HK 2212/2010 F21/10 Egg	A/C' church 16/2010 F30/10			
Virusuri de referință												
A/California/7/2009	4/9/2009	E2/E4	5120	2560	5120	1280	2560	2560	2560	2560	2560	2560
A/England/195/2009	4/28/2009	MDCK1/MDCK2	2560	2560	2560	1280	2560	2560	2560	2560	2560	2560
A/Auckland/3/2009	4/25/2009	Ex/E3	2560	2560	5120	1280	2560	2560	2560	2560	2560	2560
A/Bayern/69/2009	7/1/2009	MDCK4/MDCK1	320	160	80	640	320	320	160	160	160	160
A/Lviv/N6/2009	10/27/2009	MDCK5	1280	160	160	2560	2560	2560	640	640	640	640
A/HK/2212/2010	7/16/2010	E3	5120	5120	5120	2560	2560	5120	5120	5120	5120	5120
A/Christchurch/16/2010	7/12/2010	E2/E1	5120	5120	5120	2560	2560	5120	5120	5120	5120	5120
Virusuri testate												
A/Moldova/124/2011	1/24/2011	MDCK3	2560	2560	2560	1280	1280	2560	2560	2560	2560	2560
A/Moldova/291/2011	2/2/2011	MDCK3	2560	2560	1280	640	640	1280	1280	2560	1280	1280
A/Moldova/338/2011	2/3/2011	MDCK3	2560	2560	1280	640	640	1280	1280	2560	1280	1280
A/Moldova/366/2011	2/7/2011	MDCK3	1280	1280	1280	640	640	1280	1280	1280	640	640
A/Moldova/399/2011	2/9/2011	MDCK3	1280	1280	1280	320	320	1280	1280	1280	640	640
A/Moldova/414/2011	2/7/2011	MDCK2	1280	1280	1280	640	640	1280	1280	1280	640	640
A/Moldova/448/2011	2/7/2011	MDCK2	640	1280	320	640	640	1280	1280	1280	640	640
A/Moldova/74/2011	1/19/2011	MDCK2	1280	2560	2560	1280	1280	2560	1280	2560	1280	1280
A/Moldova/114/2011	1/24/2011	MDCK2	1280	1280	1280	640	640	1280	1280	1280	640	640

Caracteristica antigenică a virusurilor gripale A(H3N2) identificate în sezonul epidemic 2010-2011

Virusuri	Data colectării probei	Istoricul pasajelor	Titrul de inhibare a Hemaglutinării									
			Seruri de referință (seruri de dîhore)									
			A/Wis 67/05 F18/08	A/Bris 10/07 F29/09	A/Perth 16/09 F30/09	A/Wis 15/09 F24/09	A/Vic 208/09 F7/10	A/Vic 210/09 F11/10	A/Ala 5/10 F27/10	A/Perth 10/10 F03/11		
Virusuri de referință												
A/Wisconsin/67/2005	2005-08-31	SpfCk3E3/ E11	1280	640	<	<	160	<	<	80		
A/Brisbane/10/2007	2007-02-06	E2/E4	5120	5120	40	40	320	160	40	160		
A/Perth/16/2009	2009-07-04	E3/E3	40	80	1280	640	1280	1280	640	2560		
A/Wisconsin/15/2009	2009-07-06	E2/E3	40	<	640	320	40	160	640	320		
A/Victoria/208/2009	2009-06-02	E3/E2	160	160	640	640	5120	5120	1280	2560		
A/Victoria/210/2009	2009-06-02	E2/E3	160	320	1280	1280	2560	5120	320	2560		
A/Alabama/5/2010	2010-07-13	MK1/M2/S3	<	<	80	40	40	40	160	320		
A/Perth/10/2010	2010-05-25	E2/E2	<	<	160	40	40	40	160	320		
Virusuri testate												
A/Moldova/96/2011	1/21/2011	SIAT4	40	40	320	320	320	320	640	1280		
A/Moldova/145/2011	1/24/2011	SIAT4	40	40	320	160	320	320	320	640		
A/Moldova/161/2011	1/25/2011	SIAT4	40	40	320	640	320	320	640	1280		
A/Moldova/176/2011	1/26/2011	SIAT2	40	40	320	320	320	320	640	1280		
A/Moldova/176/2011	1/26/2011	SIAT3	40	40	320	320	320	320	640	1280		
A/Moldova/214/2011	1/28/2011	SIAT2	40	40	320	320	320	320	640	1280		
A/Moldova/214/2011	1/28/2011	SIAT3	40	40	320	320	160	160	640	1280		
A/Moldova/224/2011	1/28/2011	SIAT4	40	40	320	320	320	160	640	1280		
A/Moldova/225/2011	1/28/2011	SIAT2	40	40	320	320	160	160	640	1280		

A./Moldova/225/2011	1/28/2011	SIAT3	40	40	320	320	320	320	320	320	640	1280
A./Moldova/252/2011	1/31/2011	SIAT4	80	40	640	640	320	320	320	320	1280	1280
A./Moldova/317/2011	2/4/2011	SIAT3	40	80	320	640	320	320	320	320	640	1280
A./Moldova/278/2011	2/2/2011	SIAT4	40	80	640	640	320	320	320	320	640	1280
A./Moldova/375/2011	2/7/2011	SIAT4	40	80	640	640	320	320	320	320	640	1280
A./Moldova/378/2011	2/8/2011	SIAT3	40	80	320	320	320	320	320	160	640	1280
A./Moldova/113/2011	1/23/2011	SIAT4	40	40	320	320	320	160	320	320	640	1280
A./Moldova/594/2011	2/18/2011	SIAT4	40	40	320	320	320	320	160	640	640	1280
A./Moldova/601/2011	2/18/2011	SIAT3	40	40	320	320	320	320	320	320	640	1280

1. < = <40

Pentru a caracteriza din punct de vedere antigenic tulpinile de virus gripal de tip B au fost utilizate serurile de referință B/Malaysia/2506/2004, B/England/393/2008, B/Brisbane/60/2008, B/Paris/1762/2008, B/Hong Kong/514/2009, B/Odessa/3886/2010. Rezultatele analizei antigenice au atestat că tulpinile de virus gripal B, izolate și identificate în Republica Moldova, au prezentat același model general de reactivitate, demonstrând o reactivitate înaltă cu serurile specifice față de virusurile străns legate genetic de tulpina vaccinală B/Brisbane/60/2008 (tab. 2.10).

2.14. Particularitățile genotipice ale tulpinilor de virusuri gripale

Secvențierea genelor HA și NA efectuată pentru virusurile gripale A(H1N1)pdm09 izolate a atestat două virusuri care s-au aranjat diferit în cluster-ele din analiza filogenetică a fiecărei gene. Secvențele genei HA a tulpinii A/Moldova/338/2011 au poziționat-o în subgrupele genetice definite de substituțiile aminoacizilor S185T și D97N, făcând parte din grupul genetic 6, iar tulpina A/Moldova/448/2011 s-a amplasat în subgrupul definit de substituțiile aminoacizilor A134T și S183P, grupul genetic 3 (fig. 2.14, 2.15 și 2.16). Recent, au fost recunoscute cinci clase genetice emergente ale genei HA de virusuri H1N1: 1) grupul Emisferei Sudice (SH) (modificările-cheie N125D, altele cu V250A); 2) grupul Hong Kong (modificările-cheie S128P, V199A, I295V, K163T și P271S), 3) un grup definit de aminoacizii A134T, S183P – observat în cel puțin șase țări, 4) un grup definit de aminoacizii R205K, I216V, V249L – observat în cel puțin trei țări; 5) S185T – grupul cu cea mai mare expansiune și răspândire geografică, multe cu substituția D97N [157]. Virusurile în fiecare grup genetic sunt considerate antigenic similare.

Rezultatele analizei antigenice a virusurilor gripale de tip B identificate în sezonul epidemic 2010-2011

Virusuri	Data colectării probei	Istoricul pasajelor	Titrul de inhibare a Hemaglutinării ¹							
			B/Bris ² 60/08 Sh 524	B/Mal 2506/04 F28/05	B/England 393/08 F31/08	B/Bris 60/08 F25/10	B/Paris 1762/08 F11/09	B/HK 514/09 F13/10	B/Odessa 3886/10 F17/10	
Virusuri de referință										
B/Malaysia/2506/2004	2004-12-06	E3/E3	640	640	160	80	<	<	<	<
B/England/393/2008	2008-08-29	E1/E6	640	160	320	320	40	40	40	40
B/Brisbane/60/2008	2008-08-04	E4/E4	640	160	160	320	40	20	40	40
B/Paris/1762/2008	2009-02-09	C2/MDCK4	640	10	<	20	80	160	80	80
B/Hong Kong/514/2009	2009-10-11	MDCK1/ MDCK1	640	<	<	20	80	160	80	80
B/Odessa/3886/2010	2010-03-19	C2/MDCK3	640	10	<	40	80	320	160	160
Virusuri testate										
B/Moldova/141/2011	2011-01-25	MDCK2	640	20	<	40	160	320	160	160
B/Moldova/284/2011	2011-02-02	MDCK3	640	10	<	40	160	160	160	160

1. < = <10; 2. Ser hiperimun de oi

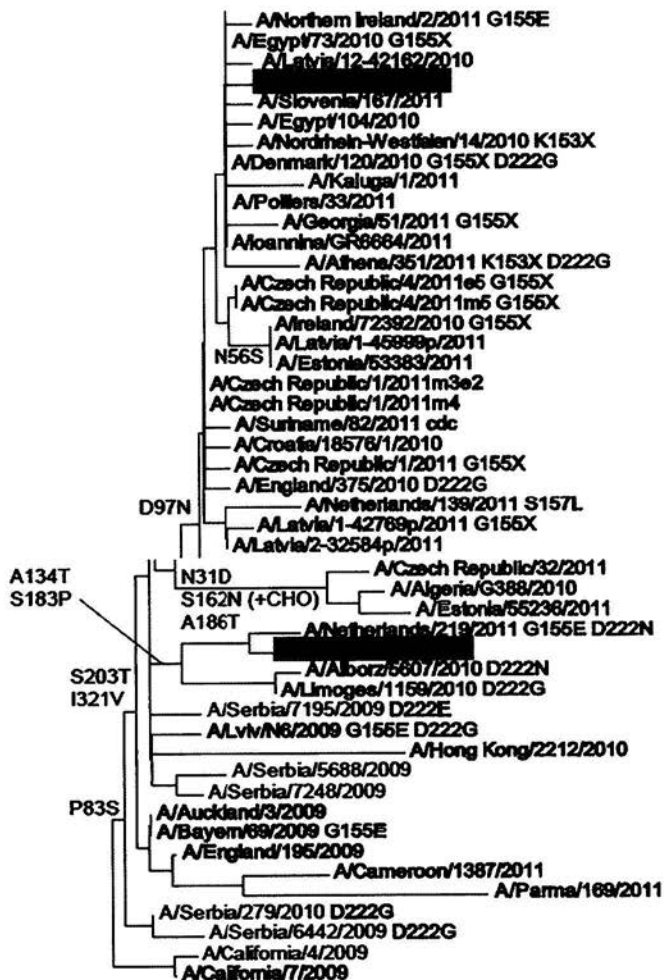


Fig. 2.14. Fragmente ale comparației filogenetice a virusurilor gripale A(H1N1) pdm09, gena HA (regiunea HA1), sezonul 2010 – 2011 [172]

Evaluarea rezultatelor analizei genetice ale tulpinilor de virusuri gripale A(H1N1)pdm09 – A/Moldova/338/2011 și A/Moldova/448/2011 a atestat că secvențele genei NA poartă substituțiile specifice grupelor genetice 3 (V241I, N369K) și 6 (R220K, I389K, Q313R, V394I, V106I și N248D), respectiv pentru fiecare virus în parte (fig. 2.17).

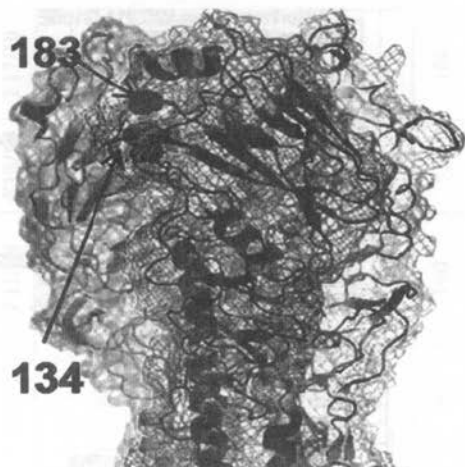


Fig. 2.15. Locațiile substituiilor specifice grupului genetic 3 a genei HA-H1: S183P și A134T [172]

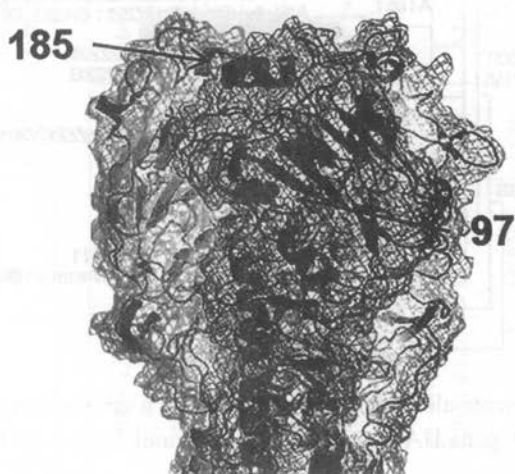


Fig. 2.16. Locațiile substituiilor specifice grupului genetic 6 a genei HA-H1: S185T și D97N [172]

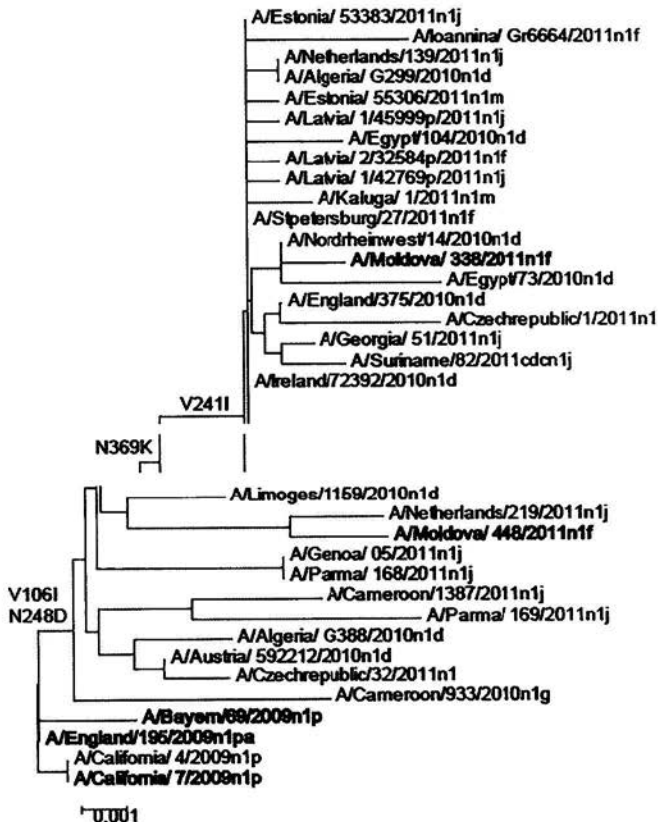


Fig. 2.17. Fragmente din evaluarea filogenetică a virusurilor gripale A(H1N1)pdm09, gena NA, sezonul epidemic 2010 – 2011 [172]

Astfel, din comparația filogenetică efectuată în baza arborelui filogenetic global, reiese că tulpinile de virusuri gripale A(H1N1)pdm09, izolate și identificate în Republica Moldova, din grupurile genetice nominalizate au fost similare la nivelul genelor HA și NA cu tulpina de referință A/California/7/2009 H1N1pdm – tulpină de referință, componentă a coc-tailului vaccinal antigripal recomandat de OMS pentru vaccinare în sezonul 2011-2012.

Rezultatele analizei secvențelor nucleotidice ale genei HA ale tulpinilor de virusuri gripale A(H3N2) au atestat prezența substituțiilor de

aminoacizi D53N, Y94H, I230V, E280A și D97N. Aceste substituții au poziționat tulpinile A/Moldova/601/2011, A/Moldova/176/2011, A/Moldova/317/2011, A/Moldova/278/2011, A/Moldova/378/2011, A/Moldova/225/2011, A/Moldova/161/2011 și A/Moldova/113/2011 în grupul genetic 5, clada Victoria/208 (grupul Perth/10) (fig. 2.18 și 2.19).

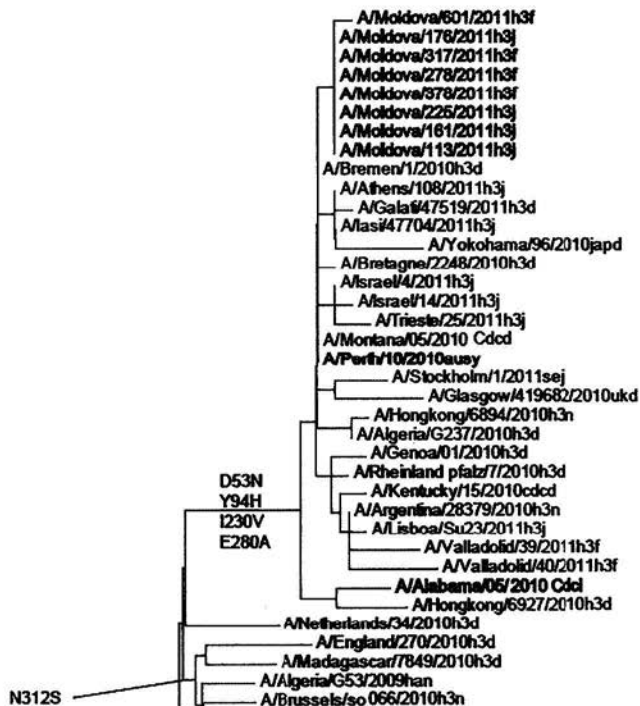


Fig. 2.18. Fragment al arborelui filogenetic al virusurilor gripale A(H3N2), gena HA (regiunea HA1), sezonul epidemic 2010 – 2011 [172]

Tulpinile de referință A/Alabama/5/2010 și A/Perth/10/2010, din panelul de seruri standard utilizate pentru caracterizarea antigenică a tulpinilor de virus gripal A(H3N2) din Republica Moldova (tab. 2.9), de asemenea, s-au încadrat în această grupă genetică.

De menționat, că grupa genetică 5, clada Victoria/208 nu s-a deosebit antigenic semnificativ de virusul vaccinal A/Perth/16/2009, luat ca bază la construcția arborelui filogenetic pentru efectuarea comparației filogenetice în baza genei HA.

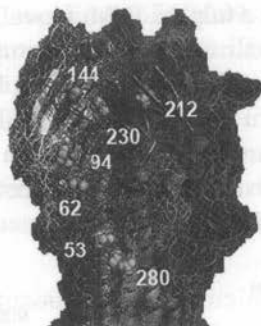


Fig. 2.19. Locațiile substituțiilor specifice grupului genetic 5 a genei HA a virusurilor gripale A(H3N2): D53N, Y94H, I230V și D97N [172]

Rezultatele secvențierii genei NA a virusurilor gripale A(H3N2), izolate și identificate în Republica Moldova, au atestat prezența substituțiilor de aminoacizi S367N, K369T și I464L specifice grupurilor genetice 5 și 6, care se includ în clada Victoria/208 al grupului Perth/10 (fig. 2.20).

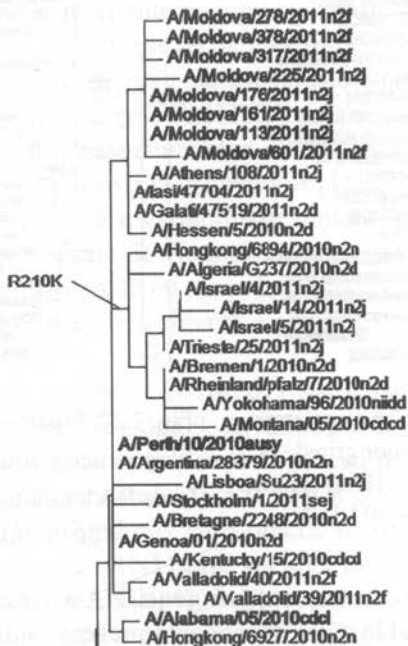


Fig. 2.20. Fragment al analizei filogenetice comparative a virusurilor gripale A(H3N2), gena NA, sezonul epidemic 2010 – 2011 [172]

Analiza de secvențiere a tulpinii B/Moldova/284/2011 pentru gena HA a demonstrat că virusul analizat posedă substituțiile de aminoacizi L-P în poziția 58, N-K în poziția 75, N-K în poziția 165 și S-P în poziția 172 – substituții comune pentru o bună parte din tulpinile de virusuri gripale izolate în diferite țări ale lumii și care se referă la clada genetică 1 „Brisbane/60”, fiind stabilit că aceste substituții nu afectează antigenicitatea virusurilor (fig. 2.21) [157, 161].

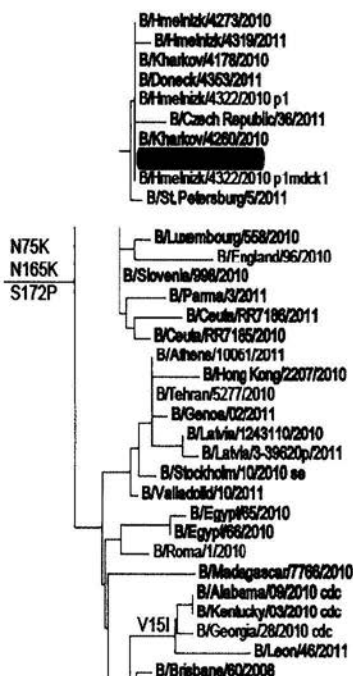


Fig. 2.21. Fragment al comparației filogenetice a virusurilor gripale B (Linia B/Victoria), gena HA (regiunea H1), sezonul 2010-2011 [172]

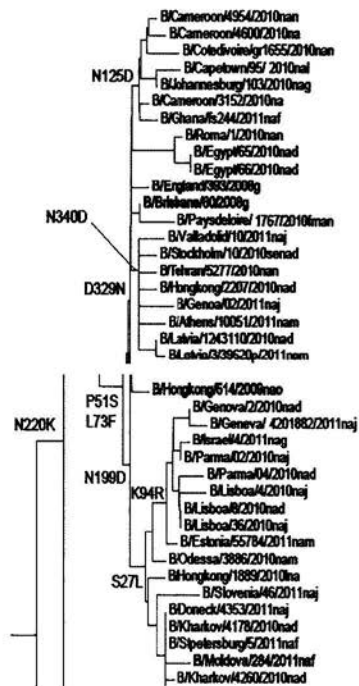


Fig. 2.22. Fragment al comparației filogenetice a virusurilor gripale B (Linia B/Victoria), gena NA, sezonul 2010-2011 [172]

Evaluarea rezultatelor secvențierii genei NA a virusului gripal de tip B (B/Moldova/284/2011) a pus în evidență prezența substituțiilor de aminoacizi S27L, P51S, L73F și N199D, care au poziționat această tulpină de virus gripal în clada 1 „Brisbane/60”, de rând cu tulpinile de referință

B/Odessa/3886/2010, B/Hong Kong/514/2009, B/Paris/1762/2009, B/England/393/2008 și, respectiv, cu tulpina B/Brisbane/60/2008 – component al coctailului vaccinal antigripal recomandat de OMS pentru vaccinare în sezonul 2011-2012 (fig. 2.22) [157, 172].

2.15. Rezultatele determinării particularităților fenotipice ale tulpinilor de virusuri gripale identificate în sezonul epidemic 2010-2011

Analiza sensibilității fenotipice la antivirale (oseltamivir și zanamivir) a virusurilor gripale A și B, izolate și identificate în Republica Moldova în perioada nominalizată, cu un nivel suficient de activitate a sialidazei a fost efectuat în testul de inhibare a neuraminidazei. Tulpinile de virusuri gripale A(H1N1)pdm09, A(H3N2) și B, testate, au fost totalmente sensibile la ambii inhibitori. În pofida faptului că inhibitorii neuraminidazei au fost utilizați pe scară largă atât cu scop de profilaxie, cât și de tratament pe parcursul perioadelor nominalizate, rezistența la oseltamivir a fost identificată sporadic, iar virusurile rezistente nu aveau potențial eficient de transmisie în comunitate. Totuși, cercetările au demonstrat că virusul gripal A(H1N1)pdm09, având un potențial înalt de transmisie și o virulență mai înaltă comparativ cu virusurile gripale A(H3N2) și B a fost totalmente rezistent la antiviralele din grupa adamantanelor, dar susceptibil la ambii inhibitori ai neuraminidazei – zanamivir și oseltamivir [157, 161, 172].

Monitorizarea continuă a variabilității mutaționale prin analiza genotipică a tulpinilor circulante de virusuri gripale deține un rol important în selectarea tulpinilor vaccinale cu scop de profilaxie specifică a infecțiilor gripale, dar și pentru alegerea corectă a remediilor antivirale cu scop de tratament.

Așa dar, sezonul epidemic 2010-2011 s-a caracterizat prin circulația virusurilor gripale A(H1N1)pdm09, A(H3N2) și B. În comparație cu sezoanele epidemice de până la declanșarea primei pandemii a sec. XXI, în această perioadă (post-pandemică) s-a observat circulația preponderentă a virusului gripal A(H1N1)pdm09 care practic totalmente l-a substituit pe virusul gripal sezonier A(H1N1) care s-a aflat în circulație de aproape un secol sau și mai mult [102, 110, 112]. Caracteristica genotipică a virusurilor gripale A(H1N1)pdm09 identificate atât în Republica Moldova, cât și în alte țări ale lumii a atestat circulația în continuare a virusurilor ce conțineau substituția D222G, care tot mai des se detecta în virusurile identificate în

probele colectate de la pacienții cu evoluție severă a bolii [102, 110]. Cu toate acestea, este necesar de menționat că toate tipurile de virusuri gripale identificate în Republica Moldova au făcut parte din cladele virusurilor vaccinale, după cum urmează: virusul A(H1N1)pdm09 – clada virusului A/California/7/2009, virusul A(H3N2) – clada virusului A/Perth/16/2009 și virusul gripal de tip B – clada virusului B/Brisbane/60/2008 (linia B/Victoria) – grupare caracteristică majorității virusurilor gripale circulante în țările europene.

3. EVALUAREA PARTICULARITĂȚILOR EPIDEMIOLOGICE ȘI VIRUSOLOGICE ALE GRIPEI, IRVA ȘI SARI ÎN PERIOADA INTEREPIDEMICĂ ÎNTRU OPTIMIZAREA SISTEMULUI NAȚIONAL DE SUPRAVEGHERE ÎN REPUBLICA MOLDOVA

Evaluarea particularităților tulpinilor de virusuri gripale în perioada interepidemică, inclusă în acest studiu, a cuprins cercetările din următoarele sezoane epidemice: sezonul 2011-2012, 2012-2013 și sezonul 2013-2014.

3.1. Particularitățile epidemiologice ale infecției gripale, IRVA și SARI în perioada interepidemică: sezonul 2011-2012

Sezonul epidemic 2011-2012 s-a caracterizat printr-un pattern scăzut cu o răspândire geografică regională, intensitate joasă și o tendință în descreștere a procesului epidemic, fapt ce a avut un impact nesemnificativ asupra sistemului de sănătate [174-176].

În sezonul epidemic săptămâna 40/2011 – săptămâna 20/2012 în Republica Moldova au fost înregistrate cazuri de gripă în 10 teritorii administrative cauzate de virusurile gripale A(H3N2) și B cu predominarea agentului gripal A(H3N2), cu o intensitate scăzută a procesului epidemic și cu un impact minim asupra serviciilor medicale. În total pe parcursul sezonului nominalizat, s-au înregistrat $327/9,2^{0/0000}$ cazuri de gripă, ceea ce constituie o reducere a morbidității de 13,7 ori față de aceeași perioadă a sezonului precedent ($4467/125,5^{0/0000}$ cazuri). Majoritatea cazurilor de gripă – 87,23% s-au înregistrat la copiii cu vârsta 0-14 ani, iar la adulți doar 12,76%. Morbiditatea prin gripă la populația urbană a fost de 1,4 ori mai înaltă decât la cea rurală.

În sezonul nominalizat în Republica Moldova au fost înregistrate $241692/6790,1^{0/0000}$ cazuri de IRVA, ceea ce reprezintă o reducere a morbidității de 1,1 ori față de sezonul precedent. Cazuri de IRVA s-au înregistrat în toate teritoriile administrative ale Republicii Moldova. Morbiditatea prin IRVA pe parcursul sezonului dat a variat de la $50,4^{0/0000}$ (săptămâna 52/2011) până la $179,3^{0/0000}$ (săptămâna 11/2012), aflându-se sub pragul epidemic ($187,0^{0/0000}$), atingând apogeul ($201,9^{0/0000}$) în săptămâna 12/2012. Începând cu săptămâna 13/2012 morbiditatea prin IRVA s-a aflat într-o descreștere succesivă, reducându-se până la $77,03^{0/0000}$ în săptămâna 20/2012.

IRVA au afectat atât copiii, cât și adulții, însă ponderea morbidității

prin IRVA la copii a constituit 63,5% (în sezonul precedent – 58,9%). Cea mai înaltă morbiditate prin IRVA s-a înregistrat la copiii cu vârsta 0-4 ani (216,5⁰/₀₀). Morbiditatea prin IRVA la populația urbană a fost de 2,3 ori mai înaltă decât la cea rurală (în sezonul precedent de 2,2 ori).

În sezonul nominalizat au fost înregistrate 38788/1089,0⁰/₀₀₀₀ cazuri de SARI (bronhopneumonii, pneumonii severe și bronșiolite acute), ceea ce constituie o sporire a morbidității de 1,8 ori față de sezonul precedent (21817/612,8⁰/₀₀₀₀ cazuri). Morbiditatea prin SARI a variat de la 10,8⁰/₀₀₀₀ (săptămâna 40/2011) până la 48,3⁰/₀₀₀₀ (săptămâna 03/2012), descrescând succesiv și prin urmare reducându-se în săptămâna 20/2012 până la 26,41 cazuri la 100 000 de populație.

3.2. Rezultatele evaluării particularităților etiologice ale gripei, IRVA și SARI în sezonul 2011-2012

Cercetările efectuate în acest studiu, în perioada sezonului epidemic 2011-2012, s-au realizat prin testarea a unui eșantion de 214 specimene codificate cu material biologic în rRT-PCR. Rezultatele investigațiilor au pus în evidență circulația virusurilor gripale A(H3N2) și B. Virusul gripal A(H3N2) a fost detectat în 15 (65,2%) din 23 (10,7%) probe colectate de la persoanele cu diagnosticul prezumtiv „Gripă”, în 27 (16,1%) din 168 (78,5%) mostre cu material biologic prelevat de la persoanele cu diagnosticul prezumtiv „IRVA” și în 3 (13,0%) din 23 (10,7%) specimene colectate de la pacienții cu diagnosticul prezumtiv „SARI”. Totodată, ARN virusului gripal de tip B a fost detectat doar în 2 cazuri: 1 caz – persoană cu diagnosticul clinic prezumtiv „Gripă” (4,3%) și 1 caz – „IRVA” (0,6%) (tab. 3.1).

Tabelul 3.1

Rezultatele identificării virusurilor gripale prin rRT-PCR în dependență de diagnosticul clinic prezumtiv în sezonul 2011-2012

Spectrul virusurilor detectate	Numărul probelor investigate prin rRT-PCR											
	Gripă			IRVA			SARI			Total		
	in-vest.	Pozitive		in-vest.	Pozitive		in-vest.	Pozitive		in-vest.	Pozitive	
		abs.	%		abs.	%		abs.	%		abs.	%
A(H1N1) pdm	23	-	-	168	-	-	23	-	-	214	-	-
A(H3N2)	23	15	65,2	168	27	16,1	23	3	13,0	214	45	21
B	23	1	4,3	168	1	0,6	23	-	-	214	2	0,9
Total	23	16	69,5	168	28	16,7	23	3	13,0	214	47	21,9

Ponderea virusurilor gripale detectate în perioada nominalizată a constituit 96% pentru virusul gripal A(H3N2), identificată ca tulpină dominantă în sezonul nominalizat și 4% pentru virusul gripal de tip B (fig. 3.1).

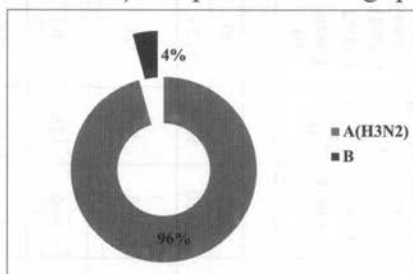


Fig. 3.1. Ponderea virusurilor gripale detectate în sezonul epidemic 2011-2012

3.3. Rezultatele evaluării particularităților antigenice ale tulpinilor de virusuri gripale izolate și identificate în sezonul epidemic 2011-2012

Tulpinile de virusuri gripale A(H3N2) izolate și identificate în Republica Moldova în sezonul epidemic 2011-2012, pentru determinarea particularităților antigenice, au fost testate cu panelul de seruri de referință A/Perth/16/2009, A/Victoria/208/2009, A/Alabama/5/2010, A/Hong Kong/3969/2011, A/Stockholm/18/2011, A/Iowa/19/2010, A/Finland/190/2011, A/Norway/1789/2011, A/Victoria/361/2011. Rezultatele obținute au demonstrat că unele tulpini (A/Moldova/99/2012, A/Moldova/94/2012 și A/Moldova/101/2012) au manifestat o reactivitate medie cu tulpinile de referință A/Hong Kong/3969/2011, A/Finland/190/2011 și A/Victoria/361/2011, pe când cu celelalte virusuri de referință reactivitatea a fost nesemnificativă. Acest fapt se poate datora, cel mai mult probabil, apartenenței virusurilor gripale testate grupului genetic respectiv tulpinilor de referință (grupul genetic 3C). Mai mult ca atât, tulpinile A/Moldova/99/2012, A/Moldova/94/2012 și A/Moldova/101/2012 au fost antigenic similare cu tulpina de referință A/Victoria/361/2011, parte componentă a grupului genetic 3C și, de asemenea, componentă a cocktailului vaccinal antigripal recomandat de OMS pentru vaccinare în sezonul 2012-2013, comparativ cu vaccinul antigripal recomandat de OMS pentru sezonul precedent, 2011-2012, în care componenta A(H3N2) a fost prezentată de tulpina A/Perth/16/2009. Din tulpinile de virusuri gripale testate, doar A/Moldova/78/2012 a avut o reactivitate redusă cu panelul de seruri de referință (tab. 3.2) [174-177].

Tabelul 3.2

Particularitățile antigenice ale virusurilor gripale A(H3N2) identificate în perioada post-pandemică, sezonul epidemic 2011-2012

Virusuri	Grupul genetic	Data colectării probei	Istoricul pasajelor	Titrul de inhibare a Hemaglutinării*									
				Seruri de referință (seruri de dihoze)									
				A/Perth 16/09 F35/11	A/Vic 208/09 F7/10	A/Ala 5/10 F27/10 group 5	A/HK 3969/11 F27/11 group 3C	A/ Stock 18/11 F28/11 group 3A	A/Iowa 19/2010 F15/11 group 6	A/Fin 190/11 F01/12 group 3C	A/ Norway 1789/11 F03/12 group 3B	A/Vic 361/11 F05/12 group 3C	
Virusuri de referință													
A/Perth/16/2009		2009-07-04	E3/E1	1280	80	160	640	160	160	160	320	640	160
A/Victoria/208/2009		2009-06-02	E3/E1	1280	5120	1280	2560	2560	5120	5120	5120	5120	2560
A/Alabama/5/2010		2010-07-13	MK1/ M2/ SIAT1	40	40	160	320	160	160	160	160	320	80
A/Hong Kong/3969/2011		2011-05-19	MDCK3	160	320	320	1280	640	640	640	1280	1280	640
A/Stockholm/18/2011		2011-03-28	MDCK2/ SIAT2	80	160	160	640	640	160	160	320	640	640
A/Iowa/19/2010		2010-12-30	E3/E1	640	5120	1280	2560	2560	5120	5120	2560	5120	2560
A/Finland/190/2011		2011-11-25	Cx/ SIAT3	160	320	320	640	640	640	640	1280	1280	640
A/Norway/1789/2011		2011-08-02	Cx/ SIAT3	160	320	320	640	640	640	640	1280	1280	640
A/Victoria/361/2011		2011-10-24	E3/E1	320	640	640	1280	160	1280	1280	1280	1280	5120

Virusuri testate		Vaccine										
A/Moldova/99/2012	3C	2012-03-21	MDCK2/ SIAT1	80	80	40	160	80	80	320	160	320
A/Moldova/94/2012	3C	2012-03-14	MDCK2/ SIAT1	80	80	40	320	80	80	320	80	320
A/Moldova/78/2012	3C	2012-03-06	MDCK2/ SIAT3	40	<	<	80	80	40	80	80	80
A/Moldova/101/2012	3C	2012-03-21	MDCK2/ SIAT3	80	80	40	160	80	80	320	160	320
I. < = <40												

3.4. Studiarea particularităților genotipice ale tulpinilor de virusuri gripale izolate și identificate în sezonul epidemic 2011-2012

Secvențierea genei HA a tulpinilor de virus gripal A(H3N2) a pus în evidență prezența substituțiilor de aminoacizi T212A, N312S, A198S, V223I, S45N, T48I, Q33R, N278K, stabilindu-se faptul că substituția S45N conduce la obținerea unui situs de glicozilare, însă fără de efecte antigenice semnificative. Aceste substituții sunt caracteristice cladei genetice Victoria/208, însă din această cladă genetică fac parte grupurile genetice 3A, 3B, 3C, 4, 5 și 6. Din analiza arborelui filogenetic reiese, că substituțiile nominalizate sunt comune cladei genetice Victoria/208 și diferite substituții corespund diferitor grupuri genetice. Astfel, tulpina A/Moldova/99/2012 posedă substituțiile Q33R și N278K specifice grupului genetic 3C și în același timp posedă și substituțiile specifice cladei genetice Victoria/208 (fig. 3.2).

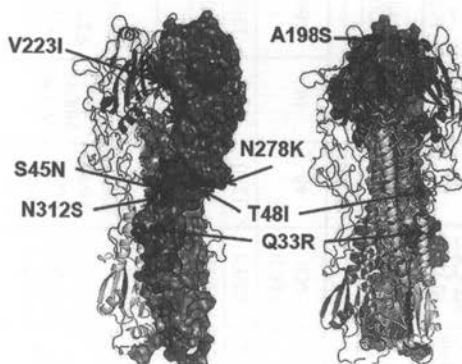


Fig. 3.2. Locațiile substituțiilor caracteristice grupului genetic 3C, clada Victoria/208 caracteristice virusurilor gripale A(H3N2)

Totodată, din grupul genetic 3C fac parte și tulpinile de referință A/Norway/1789/2011, A/Hong Kong/3969/2011 și respectiv tulpina vacinială A/Victoria/361/2011 componente în panelul serurilor de referință la evaluarea particularităților antigenice ale tulpinilor de virusuri gripale identificate în Republica Moldova (fig. 3.3, tab. 3.2).

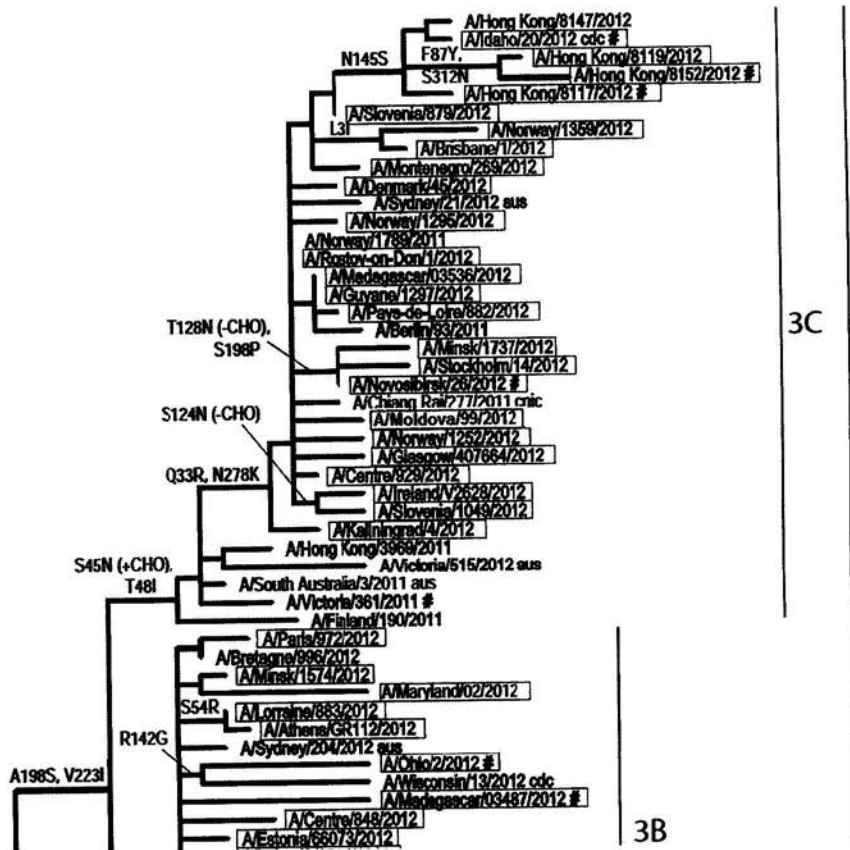


Fig. 3.3. Fragment al comparației filogenetice a virusurilor gripale A(H3N2), gena HA (regiunea HA2), sezonul epidemic 2011 – 2012 [177]

Analiza rezultatelor comparației filogenetice efectuate în baza arborilor filogenetici globali a atestat că secvențele genei NA a virusurilor gripale A(H3N2) posedă substituțiile de aminoacizi T9S, D97N, E258K și N329T – specifice grupului genetic 3C, clada genetică Victoria/208 și respectiv tulpinii de virus gripal A/Moldova/99/2012 (fig. 3.4). Substituțiile nominalizate atât la nivelul genei HA, cât și la nivelul genei NA nu poartă semnificație antigenică semnificativă, fapt dovedit și prin analiza antigenică ale tulpinilor de virusuri gripale studiate.

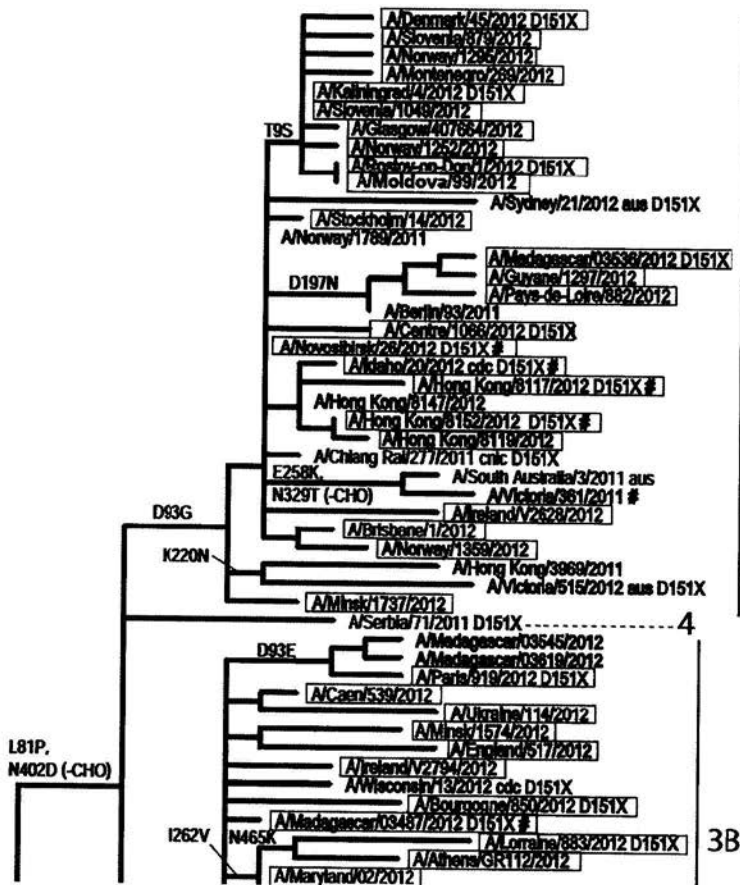


Fig. 3.4. Fragment din arborele filogenetic al virusurilor gripale A(H3N2), gena NA (regiunea HA2), perioada post-pandemică (2011 – 2012) [177]

3.5. Determinarea particularităților fenotipice ale tulpinilor de virusuri gripale izolate și identificate în sezonul epidemic 2011-2012

Rezultatele determinării particularităților fenotipice au scos în evidență faptul, că tulpinile de virusuri gripale izolate și identificate în Republica Moldova posedă substituția S31N în proteina M2 (reprezintă un canal ionic ce participă la reglarea pH în procesul „dezbrăcării” virusului

în endosomi și în aparatul Golgi, unde are loc sinteza HA), fapt stabilit la secvențierea genei M ale acestor tulpini, substituție responsabilă de inducerea rezistenței față de adamantane: amantadina și remantadina. Totodată, a fost stabilit că tulpinile de virusuri gripale A(H3N2) au prezentat un fenotip sensibil față de inhibitorii neuraminidazei: oseltamivir și zanamivir [174-176].

Prin urmare, sezonul epidemic 2011-2012 s-a caracterizat prin circulația virusurilor gripale A(H3N2) și B, cu predominarea tulpinii de virus gripal A(H3N2). Rezultatele evaluării particularităților antigenice și genotipice au pus în evidență faptul apartenenței virusului gripal A(H3N2) la grupul genetic 3C, clada Victoria/208, din care a făcut parte și tulpina A/Victoria/361/2011, componentă a vaccinului antigripal recomandat de OMS pentru sezonul viitor. Cu toate acestea, la nivel fenotipic s-a detectat mutația S31N responsabilă de inducerea rezistenței virusurilor gripale A(H3N2) la adamantane, însă față de remediile antivirale de ultimă generație: oseltamivir și zanamivir, aceste tulpini de virusuri gripale au fost sensibile. O situație similară privind caracteristicile antigenice, genotipice și fenotipice ale virusurilor gripale A(H3N2) s-a observat în majoritatea țărilor din Europa [174-177].

3.6. Evaluarea caracteristicilor epidemiologice ale infecției gripale, IRVA și SARI în sezonul epidemic 2012-2013

Sezonul epidemic 2012-2013 s-a caracterizat printr-un pattern sporit cu o răspândire geografică extinsă, intensitate înaltă și o tendință în creștere a procesului epidemic, fapt ce a condus la un impact semnificativ asupra sistemului de sănătate cu înregistrarea a 12 cazuri de deces prin SARI asociate cu gripa [178-180].

Primele două cazuri de gripă clinică în sezonul săptămâna 40/2012-săptămâna 20/2013 au fost înregistrate în raionul Dondușeni, (la un copil cu vârsta 5-14 ani și un alt caz la o persoană mai mare de 65 ani). În săptămâna 02/2013 a fost înregistrat un caz de gripă clinică, care prin teste de laborator (rRT-PCR) s-a confirmat ca gripă de tip B. În săptămâna 03/2013 au fost înregistrate două cazuri de gripă clinică (un caz în mun. Chișinău și altul în raionul Comrat), confirmate ca gripă de tip A (H1N1) pdm și B. Din săptămâna 04/2013 morbiditatea prin gripă s-a aflat în creștere, atingând apogeul ($12,8^{0/}_{0000}$), în săptămâna a 08/2013 după ce morbiditatea s-a aflat într-o descreștere succesivă, reducându-se în săptămâna a 16/2013 până la $0,6^{0/}_{0000}$ cazuri.

Pe parcursul perioadei nominalizate în Republica Moldova au fost înregistrate 2495/70,1^{0/0000} cazuri de gripă clinică comparativ cu aceeași perioadă a sezonului precedent 327/9,2^{0/0000} cazuri, ceea ce constituie o sporire a morbidității de 7,6 ori. Gripa, în sezonul nominalizat, a afectat preponderent persoanele cu vârsta între 15-64 ani (62,7%), copiii (0-14 ani) 32,9%, iar persoanele ≥ 65 ani constituind doar 4,5% din numărul total de cazuri de gripă clinică înregistrată. În 11 raioane (Basarabeasca, Briceni, Căușeni, Cimișlia, Criuleni, Drochia, Leova, Ocnița, Rîșcani, Șoldănești, și Vulcănești) ale Republicii Moldova cazuri de gripă clinică nu au fost înregistrate. În sezonul săptămâna 40/2012 – săptămâna 20/2013, morbiditatea prin gripă s-a majorat de 7,5 ori față de aceeași perioadă a sezonului precedent.

Printre persoanele care au avut gripă în sezonul 2012-2013 se numără și 46 femei însărcinate (37 cu vârsta 18-30 ani și 9 cu vârsta 30-37 ani). La examinarea materialului patologic (lavaje nazofaringiene) colectat de la femeile însărcinate, în 30 probe s-a detectat ARN virusului gripal A(H1N1) pdm09, în 13 – ARN virusului gripal B și în 3 probe ARN virusului gripal A(H3N2). Ponderea probelor pozitive de la femeile însărcinate din numărul total de probe examinate (662) a constituit 7,2%, iar din numărul total de bolnavi de gripă confirmată prin RT-PCR – 19,6%.

În sezonul epidemic 2012-2013 în Republica Moldova s-au înregistrat 12 cazuri de deces prin SARI asociate cu gripa. La 11 pacienți decedați, în materialul patologic recoltat s-a detectat ARN virusului gripal A(H1N1) pdm09 și la o persoană ARN-ul virusului gripal A(H3N2).

În noiembrie 2012, conform ordinului MS nr. 1088 din 30.10.2012, a fost organizată și realizată campania de vaccinare a contingentelor cu risc sporit de infectare (copiii și adulții cu afecțiuni cronice și tuberculoză, copiii din focarele cu tuberculoză, gravidele, lucrătorii instituțiilor medico-sanitare publice, efectivul MAI „Trupelor de Carabinieri și Serviciului Situații Excepționale”, efectivului Serviciului de Grăniceri și Vamal, efectivul Armatei Naționale, personalul instituțiilor de asistență socială, copiii și personalul orfelinelor, caselor și școlilor internat pentru copii, bătrânii, invalizii și personalul azililor pentru bătrâni și invalizi etc). Au fost utilizate 100 000 doze de vaccin antigripal recomandat de OMS pentru sezonul 2012-2013.

Morbiditatea prin IRVA din săptămâna 40/2012 s-a aflat într-o creștere succesivă, reducându-se neesențial în săptămâna 01/2013, după care

din nou s-a aflat în sporire, atingând apogeul ($468,6\%_{0000}$) în săptămâna a 08/2013 după care a urmat o reducere treptată.

IRVA s-au înregistrat în toate teritoriile administrative ale Republicii Moldova, însă intensitatea procesului epidemic la nivel de localități a variat. Cea mai înaltă morbiditate prin IRVA s-a înregistrat în municipiul Bălți ($11857,8\%_{0000}$), iar cea mai joasă în raionul Briceni ($682,1\%_{0000}$). Preponderent IRVA au afectat copiii (0-14 ani), ponderea cărora în săptămânile 40-52/2012 a constituit în mediu 63,0%, iar în săptămânile 01-20/2013 – 56,8%. Morbiditatea prin IRVA a depășit pragul epidemic ($189,17\%_{0000}$) în săptămânile 05-14/2013 majorându-se de 1,5 ori față de aceeași perioadă a sezonului precedent.

Incidența prin SARI din săptămâna 40/2012 s-a aflat în creștere cu o reducere neesențială în săptămâna 52/2012, după ce din nou s-a aflat în creștere, atingând apogeul ($76,6\%_{0000}$) în săptămâna 08/2013. În următoarele săptămâni, morbiditatea prin SARI s-a aflat într-o descreștere succesivă, reducându-se în săptămâna 20/2013 până la $24,9\%_{0000}$ cazuri.

SARI s-au înregistrat în toate teritoriile administrative afectând atât adulții, cât și copiii (0-14 ani), însă ponderea morbidității la copii în săptămânile 40-52/2012 a constituit în mediu 60,5%, iar în săptămânile 01-16/2013 – 51,9%. Ponderea morbidității prin SARI la persoanele cu vârsta ≥ 65 ani în săptămânile 40-52/2012 a constituit în mediu 6,7%, iar în săptămânile 01-16/2013 – 7,7%. Nivelul morbidității prin SARI în perioada evaluată s-a majorat de 1,3 ori față de aceeași perioadă a sezonului 2011-2012.

3.7. Rezultatele evaluării particularităților etiologice ale gripei, IRVA și SARI în sezonul 2012-2013

În sezonul epidemic 2012-2013, au fost investigate 662 specimene cu material biologic colectat de la persoanele cu diagnosticul clinic prezumtiv „Gripă”, „IRVA” și „SARI”. La persoanele cu diagnosticul clinic prezumtiv „Gripă” din 144 ($21,8\%$) de specimene ARN virusului gripal A(H1N1)pdm09 a fost detectat în 40 ($27,8\%$), ARN virusului gripal A(H3N2) detectat în 7 ($4,9\%$) mostre cu material biologic, ARN virusului gripal B a fost detectat în 46 ($31,9\%$), iar prezența ARN virusurilor gripale

A(H1N1)pdm09 + B a fost detectată în 1 (0,7%) probă. La pacienții cu diagnosticul clinic prezumtiv „IRVA” ARN virusurilor gripale au fost detectate, după cum urmează: ARN virusului gripal A(H1N1)pdm09 – în 36 (10,2%) cazuri, ARN virusului gripal A(H3N2) – în 10 (2,8%), ARN virusului gripal B – în 30 (8,5%) și prezența ARN virusurilor gripale A(H1N1)pdm09 + B a fost detectată în 1 (0,3%) probă din totalul de 353 (53,3%) probe. Din eșantionul de 165 (24,9%) mostre cu material biologic colectat de la pacienții cu diagnosticul prezumtiv „SARI” în 36 (21,8%) probe s-a detectat ARN virusului gripal A(H1N1)pdm09, în 5 (3,0%) – a fost detectat ARN virusului A(H3N2), în 19 (11,5%) – ARN virusului gripal de tip B și în 2 (1,2%) – s-au detectat virusurile gripale A(H1N1)pdm09 + B (tab. 3.3).

Tabelul 3.3

Rezultatele identificării virusurilor gripale prin rRT-PCR în dependență de diagnosticul clinic prezumtiv în sezonul 2012-2013

Spectrul virusurilor detectate	Numărul probelor investigate prin rRT-PCR											
	Gripă			IRVA			SARI			Total		
	in-vest.	Pozitive		in-vest.	Pozitive		in-vest.	Pozitive		in-vest.	Pozitive	
	abs.	%		abs.	%		abs.	%		abs.	%	
A(H1N1)pdm	144	40	27,8	353	36	10,2	165	36	21,8	662	112	16,9
A(H3N2)	144	7	4,9	353	10	2,8	165	5	3,0	662	22	3,3
B	144	46	31,9	353	30	8,5	165	19	11,5	662	95	14,4
A(H1N1)pdm + B	144	1	0,7	353	1	0,3	165	2	1,2	662	4	0,6
Total	144	94	65,3	353	77	21,8	165	62	37,5	662	233	35,2

Astfel, gripa în sezonul 2012-2013 a fost etiologic cauzată de trei virusuri gripale cu predominarea virusului gripal A(H1N1)pdm09 cu o pondere de 48,1%, codominarea virusului gripal de tip B – 40,8%, ponderea virusului gripal A(H3N2) a constituit 9,4%, iar cea mai mică pondere a fost stabilită în cazul prezenței ARN virusurilor gripale A(H1N1)pdm09 și B doar de 1,7% (fig. 3.5). O situație similară în perioada nominalizată s-a atestat în majoritatea țărilor din Europa [178-182].

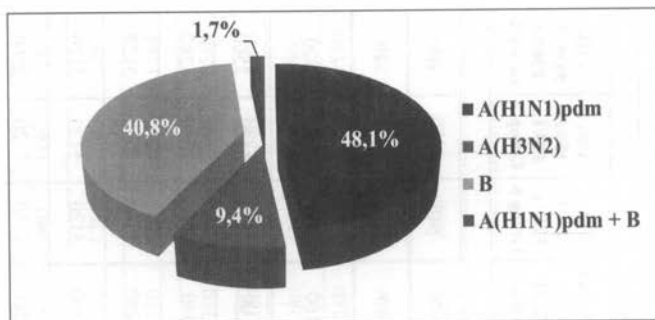


Fig. 3.5. Ponderea virusurilor gripale identificate prin rRT-PCR în perioada post-pandemică, sezonul epidemic 2012-2013

3.8. Evaluarea particularităților antigenice ale tulpinilor de virusuri gripale izolate și identificate în sezonul epidemic 2012-2013

În perioada sezonului rece 2012-2013 a fost pusă în evidență cocirculația a trei tulpini de virusuri gripale A(H1N1)pdm09, A(H3N2) și B. Evaluarea rezultatelor privind particularitățile antigenice ale virusurilor gripale circulante în Republica Moldova a fost efectuată cu utilizarea diferitor panee de seruri standard specifice fiecărui tip/subtip de virus gripal, produse de Centrul Colaborativ pentru Gripă al OMS, Institutul Național de Cercetări în Medicină, Londra, Marea Britanie.

Astfel, particularitățile antigenice ale virusurilor gripale A(H1N1)pdm09 au fost evaluate prin utilizarea panelului de seruri de referință A/California/7/2009, A/Bayern/69/2009, A/Lviv/N6/2009, A/Christchurch/16/2010, A/Hong Kong/3934/2011, A/Astrakhan/1/2011, A/St. Petersburg/27/2011, A/St. Petersburg/100/2011, A/Hong Kong/5659/2012. În linii generale, toate tulpinile de virus gripal testate au reacționat cu panelul prezentat. Însă, tulpina A/Moldova/335/2013 a avut o reactivitate redusă cu tulpina vaccinală A/California/7/2009 și A/Bayern/69/2009, comparativ cu celelalte tulpini de virusuri gripale testate. De asemenea, cu serul de referință A/Bayern/69/2009 o reactivitate redusă au prezentat și tulpinile A/Moldova/258/2013, A/Moldova/294/2013 și A/Moldova/179/2013. Acest fapt, s-a datorat, probabil, apartenenței virusurilor testate la grupul genetic 6C, iar tulpina A/Bayern/69/2009 nu face parte din acest grup genetic, cu toate că, este antigenic similară tulpinii vaccinale A/California/7/2009 (tab. 3.4) [180-185].

Tabulul 3.4
Particularitățile antigenice ale virusurilor gripale A(H1N1)pdm09 identificate în perioada post-pandemică, sezonul epidemic 2012-2013

Virusuri	Data colectării probei	Istoricul pasajelor	Titrul de inhibare a Hemaglutinării ¹									
			Seruri de referință (seruri de dihoze)									
			A/Cal 7/09 F30/11	A/Bayern 69/09 F11/11	A/Lviv N6/09 C4/09/34	A/Chech 16/2010 F30/10 Group 4	A/HK 3934/11 F21/11 Group 3	A/Astrak 1/11 F22/11 Group 5	A/St. P 27/11 F23/11 Group 6	A/St. P 100/11 F24/11 Group 7	A/HK 5659/11 F30/12 Group 6	
Virusuri de referință												
A/California/7/2009	2009-04-09	E1/E2	1280	1280	1280	640	1280	640	1280	640	1280	640
A/Bayern/69/2009	2009-07-01	MDCK5/ MDCK1	160	320	160	80	40	80	80	80	80	40
A/Lviv/N6/2009	2009-10-27	MDCK4/ S1/ MDCK3	640	1280	640	320	160	160	160	160	160	320
A/Christchurch/16/2010	2010-07-12	E2/E2	1280	1280	2560	5120	2560	2560	2560	2560	5120	2560
A/Hong Kong/3934/2011	2011-03-29	MDCK2/ MDCK4	640	160	640	640	1280	640	640	640	1280	1280
A/Astrakhan/1/2011	2011-02-28	MDCK1/ MDCK5	1280	640	1280	1280	1280	1280	1280	1280	2560	5120
A/St. Petersburg/27/2011	2011-02-14	E1/E3	2560	2560	2560	1280	2560	2560	2560	2560	5120	5120
A/St. Petersburg/100/2011	2011-03-14	E1/E2	1280	640	1280	1280	2560	2560	2560	2560	5120	2560
A/Hong Kong/5659/2012	2012-05-21	MDCK4/ MDCK1	1280	640	2560	1280	1280	1280	1280	1280	5120	2560

Virusuri testate Gr. gen.		2013-03-05	MDCK2	320	320	640	640	640	1280	640	640	1280	1280
A/Moldova/335/2013	6C	2013-03-05	MDCK2	320	320	640	640	640	1280	640	640	1280	1280
A/Moldova/317/2013	6C	2013-03-04	MDCK1/ MDCK1	640	1280	1280	640	640	1280	640	640	1280	1280
A/Moldova/258/2013	6C	2013-02-27	MDCK3	640	320	640	640	640	1280	1280	1280	2560	1280
A/Moldova/294/2013	6C	2013-03-01	MDCK2	640	320	640	640	640	1280	1280	1280	2560	1280
A/Moldova/157/2013	6C	2013-02-12	MDCK3	1280	640	1280	1280	1280	2560	1280	2560	2560	2560
A/Moldova/158/2013	6C	2013-02-12	MDCK3	1280	640	1280	640	640	2560	1280	1280	2560	2560
A/Moldova/179/2013	6C	2013-02-15	MDCK3	640	320	640	640	640	1280	1280	1280	2560	2560
A/Moldova/216/2013	6C	2013-02-20	MDCK3	1280	640	1280	640	640	1280	1280	2560	5120	2560
A/Moldova/229/2013	6C	2013-02-18	MDCK3	1280	640	1280	640	640	2560	1280	2560	2560	2560
A/Moldova/433/2013	6C	2013-03-29	MDCK3	1280	640	1280	640	640	2560	1280	2560	5120	5120

I. < = <40

Tulpinile de virus gripal A(H3N2) au fost caracterizate antigenic cu utilizarea a două paneluri de seruri de referință. Prin urmare, particularitățile antigenice ale tulpinilor de virus gripal A(H3N2) – A/Moldova/326/2013, A/Moldova/242/2013 și A/Moldova/235/2013 au fost evaluate cu utilizarea panelului de seruri standard A/Perth/16/2009, A/Victoria/208/2009, A/Alabama/5/2010, A/Stockholm/18/2011, A/Iowa/19/2010, A/Victoria/361/2011, A/Berlin/93/2011, A/Victoria/361/2011, A/Athens/112/2012, A/Texas/50/2012, A/Hawaii/22/2012 – prezentând o reactivitate ușor redusă. Totodată, s-a observat că o reactivitate moderată au avut tulpinile de virusuri testate față de tulpina vaccinală A/Victoria/361/2011 și alte tulpini antigenic similare care fac parte din același grup genetic 3C (tab. 3.5).

Evaluarea particularităților antigenice ale tulpinilor de virusuri gripale A/Moldova/440/2013, A/Moldova/368/2013 și A/Moldova/262/2013 s-a realizat prin utilizarea panelului de seruri de referință A/Perth/16/2009, A/Alabama/5/2010, A/Stockholm/18/2011, A/Iowa/19/2010, A/Victoria/361/2011, A/Berlin/93/2011, A/Victoria/361/2011, A/Athens/112/2012, A/Texas/50/2012, A/Samara/73/2013 – observându-se, de asemenea, o reactivitate ușor redusă. Rezultatele obținute demonstrează că tulpinile de virus gripal testate sunt antigenic similare cu tulpinile de virus gripal care fac parte din grupul genetic 3C, inclusiv subgrupul 3 (tab. 3.6) [180-185].

Particularitățile antigenice ale virusurilor gripale de tip B, izolate și identificate în Republica Moldova în sezonul epidemic 2012-2013 au fost studiate în reacția RHAI cu utilizarea panelului de seruri de referință B/Florida/4/2006, B/Brisbane/3/2007, B/Wisconsin/1/2010, B/Stockholm/12/2011, B/Estonia/55669/2011, B/Novosibirsk/1/2012, B/Hong Kong/3577/2012, B/Massachusetts/02/2012, prezentând o reactivitate redusă față de tulpina vaccinală B/Wisconsin/1/2010 care aparține liniei B/Victoria/2/1987 (B/Victoria). În același timp, tulpinile de virus gripal testate au prezentat o reactivitate moderată față de tulpina B/Massachusetts/02/2012 – tulpină care a fost recomandată de OMS pentru a fi introdusă în componența vaccinului antigripal trivalent pentru sezonul viitor [182-184]. Rezultatele caracterizării antigenice au demonstrat că tulpinile de virus gripal testate au fost antigenic similare cu tulpinile de referință aparținente liniei B/Yamagata/16/1988 (B/Yamagata) și care fac parte din grupul genetic 2, frecvent întâlnit la virusurile gripale de tip B circulante în sezonul 2012-2013 în alte țări ale Europei (tab. 3.7) [182].

Tabelul 3.5
Caracteristica antigenică a virusurilor gripale A(H3N2) identificate în perioada post-pandemică, sezonul epidemic 2012-2013

Virusuri	Data colectării probei	Istoricul pasajelor	Titlul de inhibare a Hemaglutinării ¹									
			Seruri de referință (seruri de dihoze)									
Grupul genetic	A/ Perth 16/09 F17/11	A/Vic 208/09 F7/10	A/Ala 5/10 F27/10 Group 5	A/Stock 18/11 F28/11 Group 3A	A/ Iowa 19/10 F15/11 Group 6	A/Vic 361/11 Egg F3/5/12 Group 3C	A/Berlin 93/11 T/C F11/12 Group 3C	A/Vic 361/11 T/C F14/12 Group 3C	A/ Athens 112/12 F16/12 Group 3B	A/Texas 50/12 F36/12 Group 3C	A/Hawai 22/12 F37/12 Group 3C	
Virusuri de referință												
A/Perth/16/2009	2009-07-04	E3/E2	640	40	160	160	80	160	320	320	320	80
A/Victoria/208/2009	2009-06-02	E3/E2	640	2560	640	1280	1280	1280	2560	1280	1280	2560
A/Alabama/5/2010	2010-07-13	MK1/C2/ SIAT5	<	<	40	80	80	80	160	160	160	40
A/Stockholm/18/2011	2011-03-28	SIAT5	40	80	40	320	80	80	320	160	320	160
A/Iowa/19/2010	2010-12-30	E3/E2	320	640	320	640	640	640	1280	1280	1280	640
A/Victoria/361/2011	2011-10-24	E3/E2	320	320	160	160	320	1280	640	320	160	640
A/Berlin/93/2011	2011-12-07	NVD3/ SIAT5	160	160	160	320	160	320	1280	640	640	320
A/Victoria/361/2011	2011-10-24	MDCK2 /SIAT2	40	80	80	160	80	80	640	320	320	160
A/Athens/112/2012	2012-02-01	SIAT6	160	160	320	640	320	320	1280	1280	1280	640
A/Texas/50/2012	2012-04-15	E5/E1	320	640	320	640	640	640	1280	1280	1280	1280
A/Hawaii/22/2012	2012-07-09	E4/E1	320	640	320	640	640	640	1280	640	1280	2560
Virusuri testate												
A/Moldova/326/2013	2013-03-07	MDCK2/ SIAT1	<	80	40	160	80	80	320	320	160	320
A/Moldova/242/2013	2013-02-22	MDCK2/ SIAT1	40	80	40	320	80	80	320	320	320	160
A/Moldova/235/2013	2013-02-21	MDCK2/ SIAT3	<	<	<	160	80	160	640	640	640	320

1. < = <40

Caracteristica antigenică a virusurilor gripale A(H3N2) identificate în perioada post-pandemică, sezonul epidemic 2012-2013

Virusuri	Grup genetic	Data colectării probei	Istoricul pasajelor	Titrul de inhibare a Hemaglutinării ¹										
				Seruri de referință (seruri de dihoze)										
				A/Perth 16/09 F35/11	A/Ala 5/10 F27/10 5	A/Stock 18/11 F28/11 3A	A/Iowa 19/10 F15/11 6	A/Vic 361/11 Egg F/35/12 3C	A/Berlin 93/11 T/C F11/12 3C.1	A/Vic 361/11 T/C F34/12 3C.1	A/ Athens 112/12 F16/12 3B	A/Texas 50/12 Egg F36/12 3C.1	A/ Samara 73/13 F24/13 3C.3	
Virusuri de referință														
A/Perth/16/2009		2009-07-04	E3/E2	1280	320	320	320	160	640	320	640	640	640	320
A/Alabama/5/2010	5	2010-07-13	MK1/C1/ SIAT2	<	80	80	80	80	160	160	160	160	160	160
A/Stockholm/18/2011	3A	2011-03-28	SIAT4	160	160	640	320	160	640	640	640	640	1280	640
A/Iowa/19/2010	6	2010-12-30	E3/E2	320	640	1280	2560	640	1280	1280	1280	1280	2560	1280
A/Victoria/361/2011	3C	2011-10-24	E3/E2	320	320	320	640	2560	1280	640	320	2560	640	640
A/Berlin/93/2011	3C.1	2011-12-07	NVD3/ SIAT4	160	320	320	320	320	1280	640	1280	1280	1280	1280
A/Victoria/361/2011	3C.1	2011-10-24	MDCK2/ SIAT5	160	320	320	320	160	1280	640	1280	1280	1280	640
A/Athens/112/2012	3B	2012-02-01	SIAT7	80	160	320	160	160	640	320	640	640	640	640
A/Texas/50/2012	3C.1	2012-04-15	E5/E2	640	640	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	5120	1280
A/Samara/73/2013	3C.3	2013-03-12	C1/ SIAT2	160	320	640	640	320	1280	1280	1280	1280	2560	1280
Virusuri testate														
A/Moldova/440/2013	3C.3	2013-04-02	SIAT2	<	40	40	40	80	320	320	320	320	640	640
A/Moldova/368/2013	3C.3	2013-03-14	SIAT2	<	40	160	160	160	640	320	320	320	640	640
A/Moldova/262/2013	3C.3	2013-02-27	SIAT2	<	80	160	80	160	640	320	320	320	640	640

1. < = <40

Particularitățile antigenice ale virusurilor gripale de tip B identificate în perioada post-pandemică, sezonul epidemic 2012-2013

Virusuri	Gru- pul gene- tic	Data colectării probei	Istoricul pasaajelor	Titlul de inhibare a Hemaglutinării ¹									
				Seruri de referință (seruri de dihoze)									
				B/Fl ³ 4/06 SH479	B/Fl ¹ 4/06 F1/10	B/Bris ² 3/07 F21/12	B/Wis ² 1/10 F24/12	B/Stock ² 12/11 F34/11	B/Eston ² 55669/11 F26/11	B/Novo ² 1/12 F31/12	B/HK ² 3577/12 F33/12	B/ Mass ² 2/12 T/C F15/13	
Virusuri de referință													
B/Florida/4/2006	1	2006-12-15	E7/E1	5120	640	1280	320	640	320	40	320	1280	320
B/Brisbane/3/2007	2	2007-09-03	E2/E2	5120	1280	1280	320	640	320	40	640	1280	320
B/Wisconsin/1/2010	3	2007-08-07	E3/E2	640	320	160	320	320	10	40	40	320	80
B/Stockholm/12/2011	3	2007-08-07	E4/E1	1280	320	160	160	320	10	40	40	320	40
B/Estonia/55669/2011	2	2011-03-14	MDCK2/ MDCK3	1280	160	160	80	320	640	40	640	160	640
B/Novosibirsk/1/2012	3	2012-02-14	C2/ MDCK2	640	160	80	160	320	80	160	160	160	160
B/Hong Kong/3577/2012	2	2012-06-13	MDCK4	1280	160	160	80	320	1280	80	640	160	640
B/Massachusetts/02/2012	2	2012-03-13	E3/E3	2560	640	640	160	320	160	40	320	640	160
B/Massachusetts/02/2012	2	2012-03-13	MDCK1/ C2/ MDCK3	5120	640	320	160	320	640	80	640	640	640

Virusuri testate															
B/Moldo- va/130/2013	2	2013-02-11	MDCK1/ MDCK1	2560	160	160	160	160	160	320	640	80	640	320	640
B/Moldo- va/366/2013	2	2013-03-13	MDCK2	1280	80	160	80	80	320	320	640	40	640	160	320
B/Moldo- va/395/2013		2013-03-21	MDCK2	1280	160	160	80	80	320	640	640	40	640	320	320
B/Moldo- va/431/2013	2	2013-03-27	MDCK2	320	40	80	40	40	320	640	640	20	320	160	640
B/Moldo- va/458/2013	2	2013-04-07	MDCK2	320	20	80	40	40	160	640	640	40	640	160	640
B/Moldo- va/459/2013		2013-04-08	MDCK2	160	20	80	80	80	320	40	40	80	80	160	160
B/Moldo- va/462/2013	2	2013-04-10	MDCK2	160	20	80	40	40	160	640	640	40	320	160	320
B/Moldo- va/279/2013	2	2013-02-26	MDCK3	640	80	80	40	40	160	320	320	20	320	160	320

I. < = <40

3.9. Studiarea particularităților genotipice ale tulpinilor de virusuri gripale izolate și identificate în sezonul epidemic 2012-2013

Studierea particularităților genotipice ale tulpinilor de virusuri gripale A(H1N1)pdm09 izolate și identificate în Republica Moldova în sezonul epidemic 2012-2013 a fost efectuată prin comparația filogenetică a tulpinilor de virusuri gripale circulante la nivel de mapamond în baza arborelui filogenetic global (fig. 3.6).

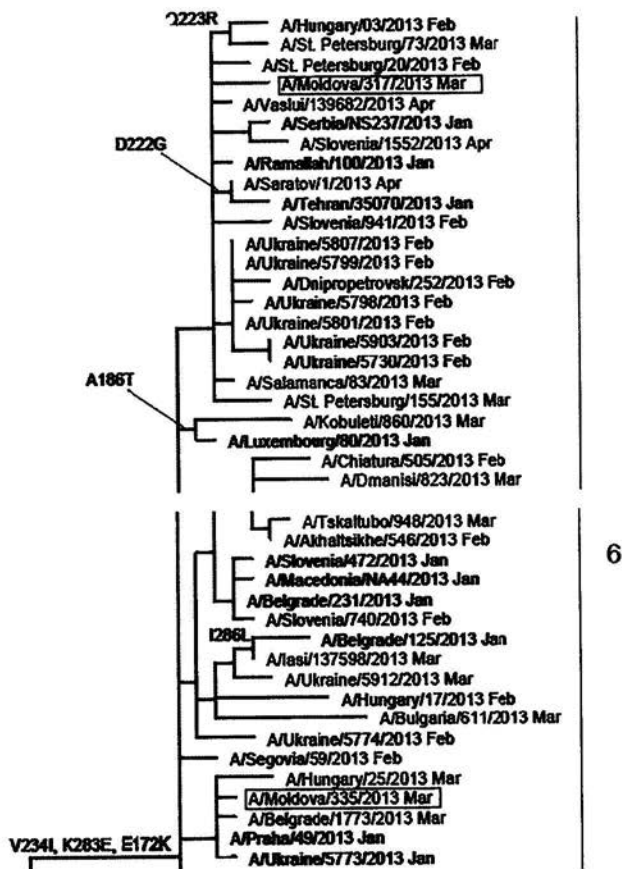


Fig. 3.6. Fragment al analizei filogenetice a virusurilor gripale A(H1N1)pdm09, gena HA, sezonul epidemic 2012 – 2013 [185]

Astfel, secvențierea genei HA a tulpinilor de virusuri gripale nominalizate a demonstrat prezența substituțiilor comune de aminoacizi S203T, D97N în gena HA1 și E47K, S124N în gena HA2, precum și prezența substituțiilor specifice de aminoacizi V234I și K283E în gena HA1 și E172K în gena HA2. Prezența acestor substituții specifice au poziționat tulpinile de virus gripal A(H1N1)pdm09 circulante în Republica Moldova în grupul genetic 6 (în baza substituțiilor comune) subgrupul genetic C (prezența substituțiilor specifice) (fig. 3.7).

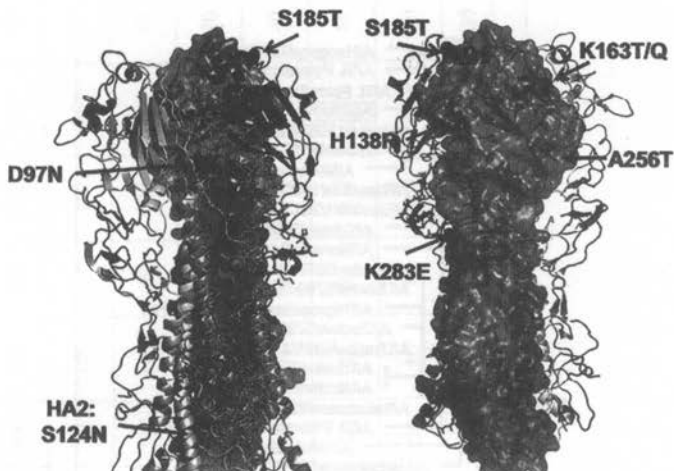


Fig. 3.7. Locusurile substituțiilor caracteristice genei HA H1 din grupul genetic 6 ale virusurilor gripale A(H1N1)pdm09 din sezonul 2012-2013 [185]

Rezultatele secvențierii genei NA a tulpinilor de virus gripal A(H1N1)pdm09 nominalizate au atestat prezența substituțiilor comune de aminoacizi N248D, V106I, V241I, N369K, N44S – caracteristice grupului genetic 6 și a substituțiilor specifice I106V, N200S, V83A și R220K – caracteristice pentru subgrupul genetic C (fig. 3.8).

Așadar, aceste rezultate atestă că tulpinile de virus gripal A(H1N1)pdm09 fac parte din grupul genetic 6C, totodată, fiind antigenic similare cu tulpina vaccinală A/California/7/2009 și, respectiv, cu alte tulpini de referință care fac parte din grupul genetic 6 (tab. 3.4). Interesant este faptul, că majoritatea tulpinilor de virus gripal A(H1N1)pdm09 circulante în diferite țări ale lumii în perioada nominalizată, s-au poziționat în grupurile genetice 6 și 7 (fig. 3.6 și 3.8) [182, 185].



Fig. 3.8. Fragment din arborele filogenetic al virusurilor gripale A(H1N1)pdm09, gena NA, sezonul 2012 – 2013 [185].

Analiza particularităților genotipice la nivelul genei HA a tulpinilor de virus gripal A(H3N2) izolate și identificate în Republica Moldova a pus în evidență, de asemenea, prezența substituțiilor comune de aminoacizi N145S, V223I, D158N, A198S, N312S, S45N (+CHO), T48I, S145N, G186V – caracteristice pentru toate tulpinile de virus gripal A(H3N2) și, în mod special, pentru virusurile de referință A/Perth/16/2009, A/Iowa/19/2010, A/Stockholm/18/2011 și A/Athens/112/2012 utilizate în panelul de seruri standard la caracterizarea antigenică a tulpinilor de virus gripal A(H3N2). Prezența substituțiilor specifice s-a caracterizat prin substituțiile de aminoacizi Q33R, N278K, V186G, N145S, T128A (-CHO), N312S care sunt tipice atât virusurilor de referință A/Victoria/361/2011, A/Berlin/93/2011 și A/Samara/73/2013 utilizate în panelul de seruri standard la analiza antigenică, cât și tulpinilor de virus gripal A(H3N2)

A/Moldova/262/2013, A/Moldova/368/2013, A/Moldova/326/2013 și A/Moldova/440/2013. Însă, tulpina A/Moldova/440/2013, concomitent cu substituțiile enumerate, mai posedă și substituția V18M la nivelul genei HA2 (fig. 3.9).

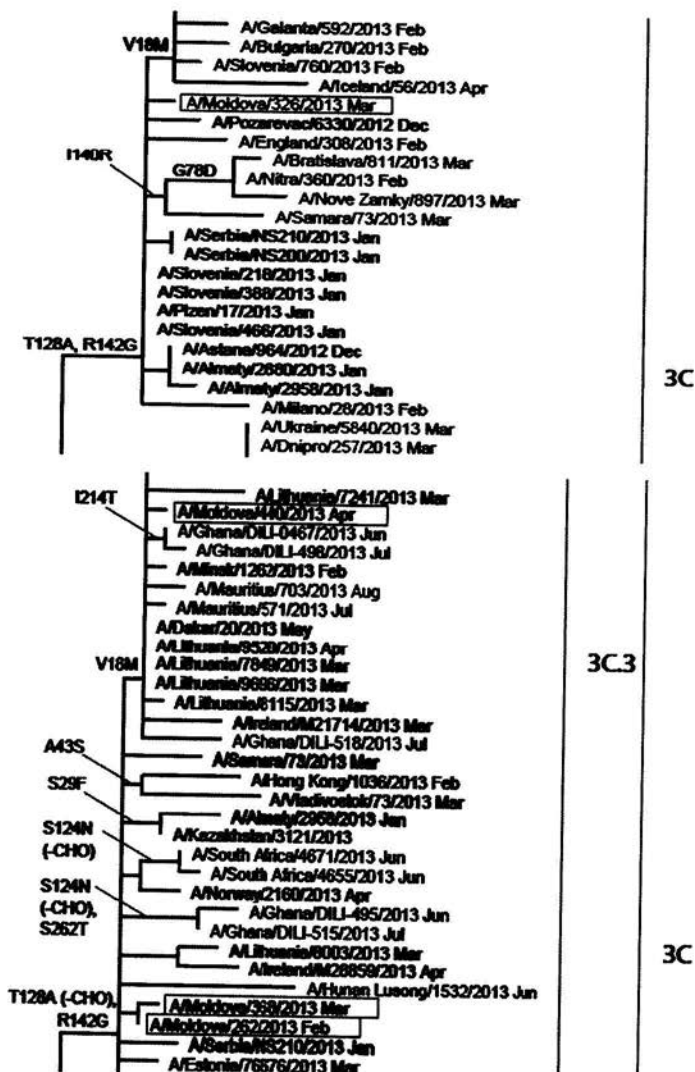


Fig. 3.9. Fragmente din comparația filogenetică a virusurilor gripale A(H3N2), gena HA, sezonul epidemic 2012 – 2013 [185]

Este necesar de menționat, că substituția comună S45N (+CHO) conduce la obținerea unui situs de glicozilare în plus, iar substituția specifică T128A (-CHO) conduce la pierderea unui situs de glicozilare la nivelul genei HA a tulpinilor de virus gripal A(H3N2) din grupul genetic 3C.3 (fig. 3.10).

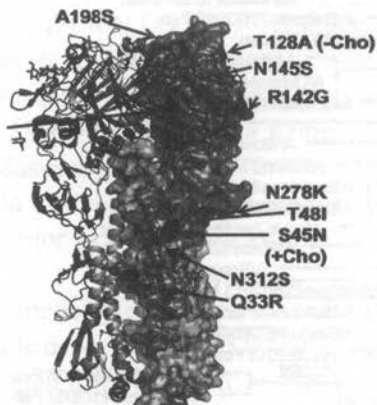


Fig. 3.10. Locusurile substituțiilor caracteristice genei HA H3 din grupul genetic 3C.3 ale virusurilor gripale A(H3N2) din sezonul 2012-2013

Secvențele genei NA ale virusurilor gripale A(H3N2) luate în acest studiu grupează diferit aceste tulpini de virus gripal comparativ cu poziționarea lor la nivelul grupului genetic 3C în arborele filogenetic în baza genei HA. Este de remarcat faptul, că virusurile din grupul genetic 3C poartă substituții duble S367N și K369T în gena NA, care are ca rezultat adăugarea unui situs de glicozilare la reziduul 367. Majoritatea tulpinilor de virus gripal A(H3N2) circulante în perioada nominalizată au pierdut un situs potențial de glicozilare la reziduul 402. Totodată, analiza secvențelor genei NA N2 a demonstrat că tulpina de virus gripal A/Moldova/326/2013 nu posedă substituții de aminoacizi în pozițiile 148 și 151 care influențează capacitatea de aglutinare a hematiilor prin intermediul neuraminidazei, iar tulpina A/Moldova/440/2013 conține substituția de aminoacizi S44P specifică pentru grupul genetic 3C.3, însă care nu posedă efecte antigenice semnificative (fig. 3.11).

Din cele menționate mai sus, reiese că datorită prezenței substituțiilor specifice tulpinile de virus gripal A(H3N2) circulante în Republica Moldova se întrunesc în grupul genetic 3C.3 (grup genetic 3, subgrupul C,

sub-subgrupul 3) al cladei genetice A/Victoria 208, unul din grupurile genetice predominante pentru tulpinile circulante la nivel global în perioada nominalizată [182, 185].

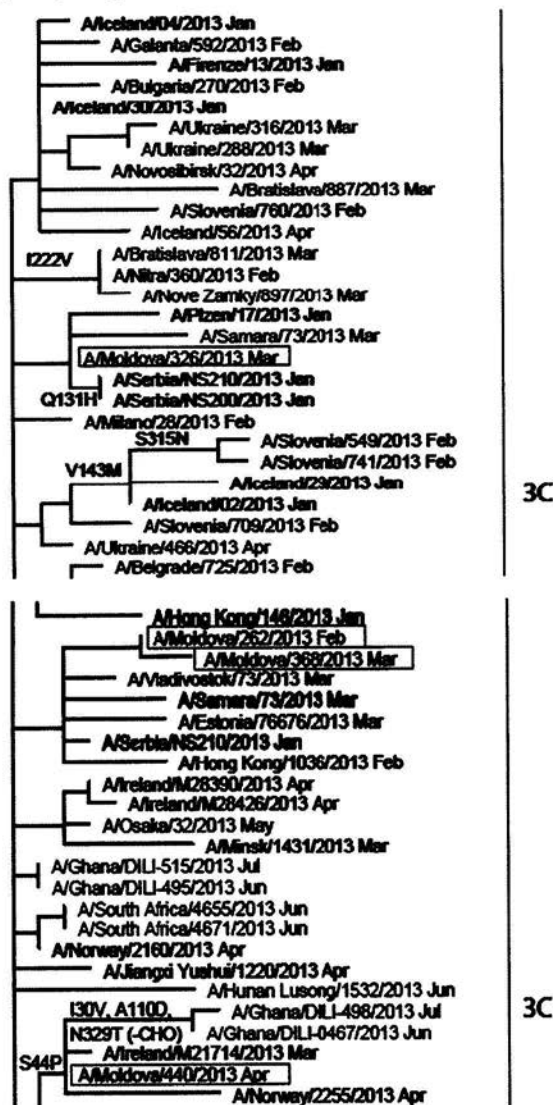


Fig. 3.11. Fragmente ale comparației filogenetice a virusurilor gripale A(H3N2), gena NA, sezonul epidemic 2012 – 2013 [185]

Evaluarea caracteristicilor genotipice ale virusurilor gripale de tip B circulante în perioada sezonului epidemic 2012-2013 în Republica Moldova a fost efectuată prin secvențierea genelor HA și NA și construirea arborelui filogenetic global al tulpinilor de virus gripal de tip B ce aparțin liniei B/Yamagata. Secvențierea genei HA a atestat prezența substituțiilor de aminoacizi T181A, D196N (+CHO) – comune, T46I, A358T, S170T, T75N, T121S – specifice. Aceste substituții sunt caracteristice grupului genetic 2 de virusuri gripale B în care s-au încadrat și tulpinile de referință B/Estonia/55669/2011, B/Hong Kong/3577/2012, inclusiv, tulpina vaccinală B/Massachusetts/02/2012. Prezența substituției D196N (+CHO) a condus la obținerea unui situs de glicozilare în poziția 196 a genei HA a virusurilor gripale de tip B linia B/Yamagata încadrate în grupul genetic 2.

Comparația filogenetică efectuată în baza arborelui filogenetic global a demonstrat că tulpinile de virus gripal B izolate și identificate în Republica Moldova s-au poziționat diferit în interiorul grupului genetic 2, fapt confirmat prin prezența diferitor substituții. Așadar, s-a observat că tulpina B/Moldova/462/2013 posedă substituția T121S care a poziționat-o distant de celelalte tulpini din Moldova (fig. 3.12). Tulpinile B/Moldova/366/2013, B/Moldova/458/2013, B/Moldova/130/2013 și B/Moldova/279/2013 au fost grupate separat datorită posesiei substituției de aminoacizi T75N din ramificarea arborelui filogenetic cu substituțiile specifice S170T și A358T. În același timp, tulpina B/Moldova/431/2013 s-a poziționat în arborele filogenetic distinct de tulpinile nominalizate datorită substituției T46I (fig. 3.12).

Rezultatele secvențierii genei NA a tulpinilor de virus gripal nominalizate au pus în evidență prezența substituțiilor de aminoacizi T106I, S295R care s-au dovedit a fi comune pentru toate ramurile arborelui filogenetic global, încadrându-se în grupul genetic 2. Similar tabloului atestat la secvențierea genei HA, tulpinile de virus gripal B circulante în Republica Moldova în perioada nominalizată, în interiorul grupului genetic 2 s-au poziționat diferit datorită substituțiilor specifice de aminoacizi. Astfel, tulpina B/Moldova/462/2013 s-a poziționat distant datorită substituției A290V. Tulpinile B/Moldova/366/2013, B/Moldova/458/2013, B/Moldova/130/2013 și B/Moldova/279/2013 au purtat aceleași substituții de aminoacizi și în aceleași poziții S107T și A358T

care le-au amplasat împreună, similar secvențelor obținute la nivelul genei HA ale acestor virusuri. Iar tulpina B/Moldova/431/2013 posedând substituția de aminoacizi A55T s-a poziționat separat de celelalte tulpini nominalizate (fig. 3.13) [182].

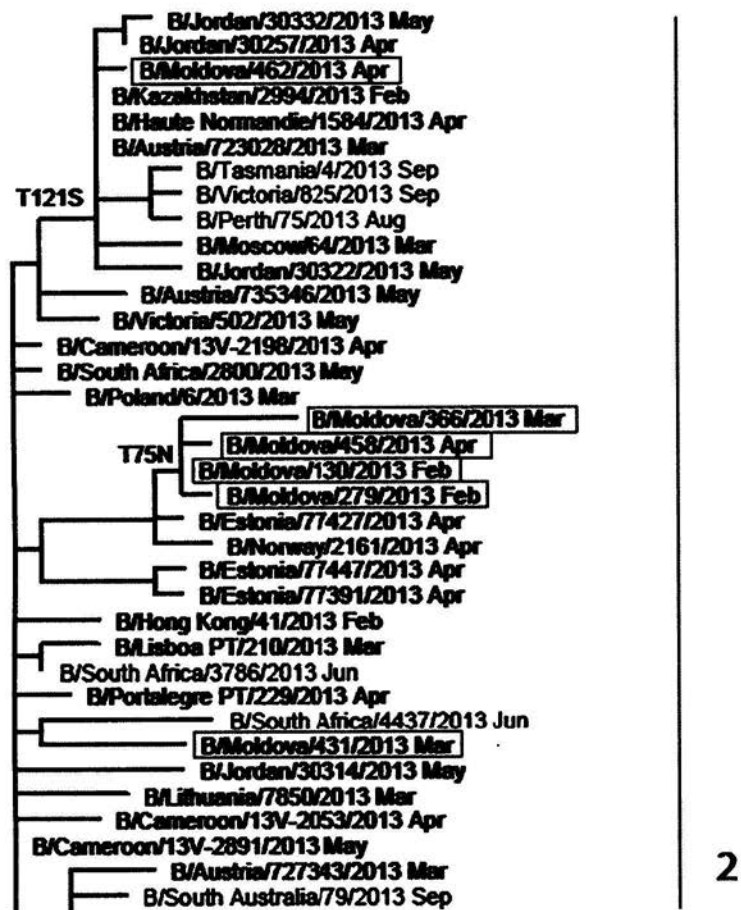
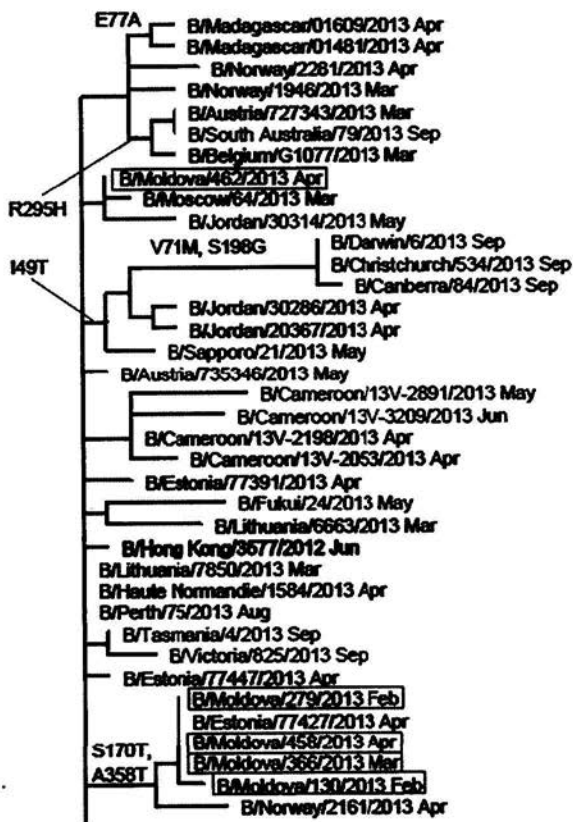


Fig. 3.12. Fragment din arborele filogenetic al virusurilor gripale de tip B (linia Yamagata), gena HA, sezonul 2012 – 2013 [185]



2

Fig. 3.13. Fragment din arborele filogenetic al virusurilor gripale de tip B (linia Yamagata), gena NA, sezonul 2012 – 2013 [185]

3.10. Evaluarea particularităților fenotipice ale tulpinilor de virusuri gripale identificate în sezonul epidemic 2012-2013

Rezultatele evaluării particularităților fenotipice au scos în evidență faptul, că tulpinile de virusuri gripale de tip A: A(H1N1)pdm09 și A(H3N2), izolate și identificate în Republica Moldova posedă substituția S31N în proteina M2, fapt stabilit la secvențierea genei M ale acestor tulpini, substituție responsabilă de inducerea rezistenței față de adamantane: amantadina și remantadina.

Analiza sensibilității fenotipice la remediile antivirale de ultimă

generație (oseltamivir și zanamivir) a virusurilor gripale A cu subtipurile H1N1pdm09, H3N2 și virusurile gripale de tip B, izolate și identificate în Republica Moldova în perioada nominalizată, a fost efectuată în testul de inhibare a neuraminidazei. Tulpinile de virusuri gripale A(H1N1)pdm09, A(H3N2) și B, testate, au fost totalmente sensibile la ambii inhibitori, ceea ce poate fi confirmat prin rezultatele analizei genotipice care nu a prezentat evidențe semnificative la nivelul genei NA privind rezistența acestor tulpini la oseltamivir și zanamivir [182, 185].

Prin urmare, gripa în Republica Moldova în sezonul epidemic 2012-2013 a fost etiologic cauzată de virusurile gripale A(H1N1)pdm09, A(H3N2) și B. Comparativ cu sezonul 2011-2012, în această perioadă (post-pandemică) s-a observat circulația preponderentă a virusului gripal A(H1N1)pdm09 care a lipsit din circulație în sezonul epidemic precedent în Republica Moldova. Evaluarea particularităților antigenice și genotipice a pus în evidență faptul că tulpinile de virus gripal A(H1N1)pdm09 și A(H3N2) au fost antigenic similare cu tulpinile vaccinale A/California/7/2009 și A/Victoria/361/2011, respectiv, recomandate de OMS pentru a fi incluse în componența vaccinului antigripal trivalent pentru sezonul viitor 2013-2014. Totodată, aceste tulpini de virusuri gripale la nivel genotipic s-au poziționat în grupurile genetice: 6C pentru tulpinile A(H1N1)pdm09 și 3C.3 pentru A(H3N2). Relevant este faptul, că tulpinile de virus gripal de tip B circulante în Republica Moldova în perioada nominalizată la nivel genotipic (componente ale grupului genetic 2) și antigenic au fost similare cu tulpina B/Massachusetts/02/2012 linia B/Yamagata, tulpină componentă a coctailului vaccinal antigripal trivalent recomandat de OMS pentru vaccinare în Emisfera de Nord pentru sezonul viitor. Comparativ cu sezoanele epidemice precedente 2010-2011 și 2011-2012, când în circulație se aflau preponderent virusurile gripale de tip B linia B/Victoria, în sezonul 2012-2013, acestea au fost înlocuite în mare parte cu tulpinile B/Yamagata, fapt confirmat de rezultatele analizelor antigenice și genotipice – fenomen întâlnit în multe țări la nivel global [182-185]. Evaluarea rezultatelor analizei fenotipice a atestat că tulpinile de virusuri gripale A(H1N1)pdm09, A(H3N2) și B, circulante în perioada nominalizată, au fost sensibile la remediile antivirale de ultimă generație oseltamivir și zanamivir.

3.11. Evaluarea particularităților epidemiologice ale gripei, IRVA și SARI în sezonul epidemic 2013-2014

Sezonul epidemic 2013-2014 s-a caracterizat printr-un pattern scăzut cu o răspândire geografică regională, intensitate joasă și o tendință în descreștere a procesului epidemic, precum și la un impact nesemnificativ asupra sistemului de sănătate [186].

În sezonul epidemic 2013-2014 primul caz de gripă, confirmat prin investigații de laborator, s-a înregistrat în săptămâna 51/2013 în raionul Soroca. Începând cu săptămâna 03/2014 numărul cazurilor înregistrate de gripă clinică s-a aflat în creștere, atingând apogeul în săptămâna 08/2014 ($3,0 \text{ }^0/_{0000}$), atestându-se apoi o reducere succesivă până la 1 caz în săptămâna 16/2014. În următoarele săptămâni (17-20/2014) cazuri de gripă clinică nu s-au înregistrat.

Pe parcursul sezonului epidemic 2013-2014 în Republica Moldova au fost înregistrate $524/14,7 \text{ }^0/_{0000}$ cazuri de gripă clinică, ceea ce constituie o reducere de 4,8 ori a nivelului morbidității prin gripă comparativ cu sezonul epidemic 2012-2013, când s-au înregistrat $2495/70,1 \text{ }^0/_{0000}$ cazuri.

Gripa în sezonul nominalizat a afectat preponderent copiii (0-14 ani) (57,06%), ponderea persoanelor cu vârsta între 15-64 ani și ≥ 65 ani a constituit 40,6% și 2,3%, respectiv, din numărul total de cazuri de gripă clinică înregistrate. În 19 raioane (Basarabeasca, Briceni, Cimișlia, Dondușeni, Drochia, Dubăsari, Edineț, Fălești, Glodeni, Hâncești, Leova, Nisporeni, Ocnîța, Râșcani, Sângerei, Șoldănești, Telenești, Ciadâr-Lunga, Vulcănești) cazuri de gripă clinică nu au fost înregistrate.

Morbiditatea prin IRVA din săptămâna 40/2013 s-a aflat într-o creștere succesivă, depășind pragul epidemic ($266,89 \text{ }^0/_{0000}$) în săptămânile 06 – 09/2014, atingând apogeul în săptămâna 08/2014 ($355,1 \text{ }^0/_{0000}$). Din săptămâna 10/2014 morbiditatea s-a aflat într-o descreștere succesivă, reducându-se în săptămâna 20/2014 până la $81,4 \text{ }^0/_{0000}$. În total pe parcursul sezonului 2013-2014 au fost înregistrate $192580/5409,4 \text{ }^0/_{0000}$ cazuri de IRVA (în sezonul 2012-2013 – $298950/7343,7 \text{ }^0/_{0000}$ cazuri), ceea ce constituie o reducere a morbidității de 1,1 ori față de sezonul precedent. Preponderent IRVA au afectat copiii (0-14 ani), ponderea căroră a constituit 61,6%.

Incidența prin SARI din săptămâna 40/2013 s-a aflat în creștere succesivă, atingând apogeul în săptămâna 08/2014 ($82,8 \text{ }^0/_{0000}$), atestându-se o reducere treptată până la $32,9 \text{ }^0/_{0000}$ în săptămâna 20/2014. Pe parcursul sezonului 2013-2014 au fost înregistrate $57249/1608,1 \text{ }^0/_{0000}$ cazuri de SARI

(în sezonul 2012-2013 – 47125/1157,6^{0/0000} cazuri), ceea ce constituie o sporire a morbidității de 1,2 ori. Cei mai afectați de SARI au fost copiii (0-14 ani), ponderea cărora a constituit 60,8%, la persoanele cu vârstă ≥ 65 ani SARI s-au înregistrat în 8,0% cazuri din numărul total de cazuri înregistrate.

3.12. Studiarea și evaluarea particularităților etiologice ale gripei, IRVA și SARI în sezonul epidemic 2013-2014

Pentru studiarea și evaluarea particularităților virusurilor gripale circulante în Republica Moldova în sezonul epidemic 2013-2014, au fost investigate 604 specimene cu material biologic colectat de la persoanele cu diagnosticul clinic prezumtiv „Gripă”, „IRVA” și „SARI”. La persoanele cu diagnosticul clinic prezumtiv „Gripă” din 65 (11,0%) de specimene în 41 (63,1%) mostre cu material biologic a fost detectat ARN virusului gripal A(H3N2). La pacienții cu diagnosticul clinic prezumtiv „IRVA” ARN virusului gripal A(H3N2) – în 63 (16,2%) cazuri, iar ARN virusului gripal A(H1N1)pdm09 a fost detectat în 1 (0,3%) din totalul de 388 (64,2%) probe. Din eșantionul de 151 (25,0%) mostre cu material biologic colectat de la pacienții cu diagnosticul prezumtiv „SARI” în 25 (13,0%) probe s-a detectat ARN virusului gripal A(H3N2) (tab. 3.8).

Tabelul 3.8

Rezultatele identificării virusurilor gripale prin rRT-PCR în dependență de diagnosticul clinic prezumtiv în sezonul 2013-2014

Spectrul virusurilor detectate	Numărul probelor investigate prin rRT-PCR, pe cauze:											
	Gripă			IRVA			SARI			Total		
	in-vest.	Pozitive		in-vest.	Pozitive		in-vest.	Pozitive		in-vest.	Pozitive	
		abs.	%		abs.	%		abs.	%		abs.	%
A(H1N1)pdm09	65	-	-	388	1	0,3	151	-	-	604	1	0,2
A(H3N2)	65	41	63,1	388	63	16,2	151	25	13,0	604	129	21,3
B	65	-	-	388	-	-	151	-	-	604	-	-
Total	65	41	63,1	388	64	16,5	151	25	13,0	604	130	21,5

Prin urmare, gripa în sezonul 2013-2014 a fost etiologic cauzată predominant de virusul gripal A(H3N2), ponderea căruia a constituit 99,2%, iar ponderea virusului gripal A(H1N1)pdm09 a constituit doar 0,8% (fig. 3.14). O situație similară în Republica Moldova s-a atestat în sezonul

2011-2012, pe când în majoritatea țărilor din Europa tulpina dominantă a fost A(H1N1)pdm09 [186, 187].

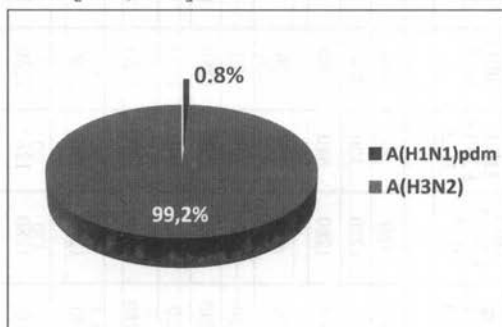


Fig. 3.14. Ponderea virusurilor gripale detectate în sezonul epidemic 2013-2014

3.13. Particularitățile antigenice ale tulpinilor de virusuri gripale izolate și identificate în sezonul epidemic 2013-2014

După cum s-a menționat, în sezonul epidemic 2013-2014 în Republica Moldova s-au aflat în circulație predominant tulpinile de virus gripal A(H3N2) care au fost caracterizate antigenic cu panelul de seruri de referință A/Perth/16/2009, A/Stockholm/18/2011, A/Iowa/19/2010, A/Victoria/361/2011, A/Athens/112/2012, A/Texas/50/2012, A/Samara/73/2013, A/Serbia/NS-210/2013, A/Hong Kong/146/2013, NIB-85 (A/Almaty/2958/2013) (tab. 3.9).

Rezultatele analizei antigenice au atestat faptul că tulpinile izolate și identificate în Republica Moldova au prezentat o reactivitate moderată practic cu toate serurile de referință, în afară de tulpina A/Perth/16/2009 – tulpină vaccinală în sezonul 2010-2011, ceea ce demonstrează că tulpinile de virusuri gripale evoluează în timp prin „antigenic drift” – variație antigenică minoră, caracteristică practic tuturor tipurilor de virusuri gripale, manifestându-se prin mutații punctiforme în genomul viral. Totodată, se poate observa similaritatea antigenică cu tulpina vaccinală A/Texas/50/2012, precum și cu alte tulpini din panelul de seruri standard prezentat, tulpina A/Moldova/696/2013, izolată și identificată în luna decembrie 2013, ca fiind cea mai reprezentativă. Acest fapt poate fi explicat prin apartenența tulpinilor de virus gripal A(H3N2) din acest studiu la grupul genetic 3C.3 (tab. 3.9) [186, 188, 189].

Caracteristica antigenică a virusurilor gripale A(H3N2) identificate în sezonul epidemic 2013-2014

Virusuri	Grupul genetic	Data colectării probei	Istoricul pasajelor	Titlul de inhibare a Hemaglutinării										
				Seruri de referință (seruri de dihoire)										
				A/Perth 16/09 F35/11	A/Stock 18/11 F28/11	A/Iowa 19/10 F15/11	A/Vic 361/11 T/C	A/Athens 112/12 F16/12	A/Texas 50/12 Egg	A/Samara 73/13 F24/13	A/Serbia NS- 210/13 F39/13	A/HK 146/13 F40/13	NIB-85 F45/13 3C.3	
Virusuri de referință														
A/Perth/16/2009		2009-07-04	E3/E3	640	160	160	160	320	320	160	160	80	160	160
A/Stockholm/18/2011	3A	2011-03-28	SIAT4	80	640	320	320	640	320	1280	1280	320	320	320
A/Iowa/19/2010	6	2010-12-30	E3/E2	320	1280	1280	1280	2560	1280	1280	1280	640	1280	640
A/Victoria/361/2011	3C.1	2011-10-24	MDCK2/ SIAT6	80	320	160	640	640	320	640	320	320	320	320
A/Athens/112/2012	3B	2012-02-01	SIAT4	80	320	160	640	640	320	640	320	320	320	320
A/Texas/50/2012	3C.1	2012-04-15	E5/E2	640	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280
A/Samara/73/2013	3C.3	2013-03-12	C1/SIAT2	160	640	320	1280	1280	320	1280	320	640	1280	640
A/Serbia/NS- 210/2013	3C.3	2013-01-18	E5/E1	320	1280	640	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280
A/Hong Kong/146/2013	3C.2	2013-01-11	E5/E1	320	2560	1280	640	1280	640	1280	640	640	2560	640
NIB-85 A/Almaty/2958/2013	3C.3	2013-01-27	E5/E1	640	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280
Virusuri testate														
A/Moldova/696/2013	3C.3	2013-12-17	MDCK2/ SIAT1	40	160	160	320	640	160	640	160	320	320	320
A/Moldova/7/2014	3C.3	2014-01-15	SIAT2	<	80	80	160	320	80	320	80	80	80	80
A/Moldova/28/2014	3C.3	2014-01-14	MDCK2	<	160	80	160	640	640	640	640	320	80	160

A/Moldova/41/2014	3C.3	2014-01-19	MDCK3	40	320	80	80	80	320	80	320	80	160	620	160	80	160
A/Moldova/49/2014	3C.3	2014-01-23	MDCK3	<	160	80	80	80	160	160	160	160	160	320	160	160	320
A/Moldova/59/2014	3C.3	2014-01-29	MDCK3	<	160	160	320	320	640	160	160	160	160	160	160	320	320
A/Moldova/73/2014	3C.3	2014-01-29	MDCK3	40	80	80	160	160	320	320	80	80	80	80	80	80	160
A/Moldova/82/2014	3C.3	2014-02-03	MDCK3	40	160	80	160	160	640	160	160	160	80	160	80	160	320
A/Moldo- va/108/2014	3C.3	2014-02-07	MDCK3	40	320	80	320	80	80	160	320	80	80	320	80	80	320
A/Moldo- va/117/2014	3C.3	2014-02-12	MDCK2	<	160	80	160	160	80	160	160	80	80	160	80	80	160
A/Moldo- va/124/2014	3C.3	2014-02-06	MDCK2	40	320	80	320	80	80	320	620	160	160	620	160	80	160
A/Moldo- va/130/2014	3C.3	2014-02-12	MDCK2	<	160	80	160	80	160	80	320	80	160	320	160	160	320
A/Moldo- va/131/2014	3C.3	2014-02-11	MDCK1	<	160	160	640	640	320	160	160	160	160	160	160	320	320
A/Moldo- va/133/2014	3C.3	2014-02-11	MDCK3	40	80	80	320	320	160	160	80	80	80	80	80	80	160
A/Moldo- va/136/2014	3C.3	2014-02-10	MDCK3	40	160	80	640	640	160	80	160	160	160	160	160	320	320
A/Moldo- va/138/2014	3C.3	2014-02-10	MDCK1	40	320	80	320	320	80	320	80	80	80	80	80	80	160
A/Moldo- va/146/2014	3C.3	2014-02-10	MDCK2	<	160	80	160	160	80	80	160	80	160	160	80	160	320
A/Moldo- va/168/2014	3C.3	2014-02-20	MDCK3	40	320	80	320	320	80	320	80	320	80	320	80	80	320
I. < = <40													Vaccin				

3.14. Analiza caracteristicilor genotipice ale tulpinilor de virus gripal circulante în sezonul 2013-2014

Studierea particularităților genotipice a fost realizată prin secvențierea genelor HA și NA, care a permis analiza secvențelor acestor gene și, respectiv, construcția arborelui filogenetic global cu utilizarea programelor specifice BioEdit și MEGA 5.2 [131].

Secvențierea genei HA a tulpinilor de virus gripal A(H3N2) a pus în evidență prezența substituțiilor comune de aminoacizi S45N (+CHO), T48I specifice grupului genetic 3, a substituțiilor de aminoacizi Q33R, N278K, N145S, T128A (-CHO), R142G, V186G și V18M caracteristice grupului genetic 3C, din care substituțiile T128A (-CHO), R142G, V186G și V18M sunt substituții ce pun în evidență particularitățile grupului genetic 3C.3 (fig. 3.15), inclusiv substituțiile de aminoacizi D-N în poziția 53 și A-S în poziția 43 pentru tulpina A/Moldova/7/2014 și, respectiv, substituția M-K în poziția 18 pentru tulpina A/Moldova/696/2013, care au plasat aceste tulpini în acest grup genetic.

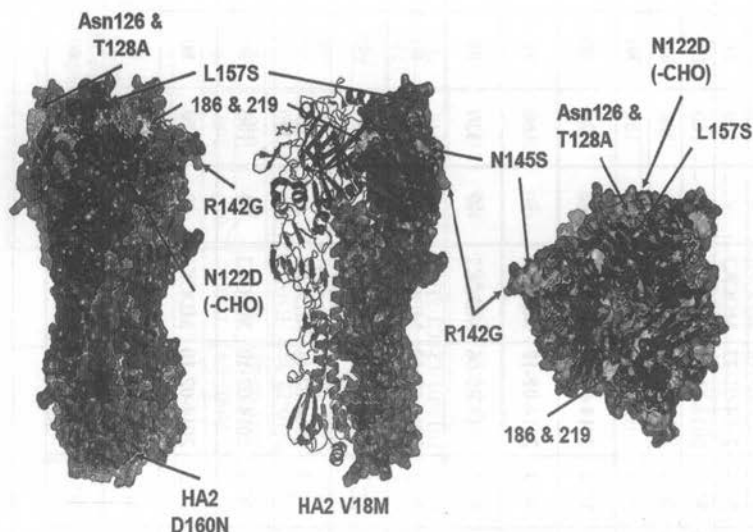


Fig. 3.15. Locusurile substituțiilor T128A, R142G, N145S care definesc subgrupul genetic 3C.3. În acest subgrup genetic cluster-ele virusurilor sunt definite inclusiv și de substituțiile individuale HA2 V18M, N122D (-CHO) sau L157S [189].

O particularitate caracteristică pentru grupul genetic 3, este că substituția de aminoacizi S45N (+CHO) conduce la obținerea unui situs de glicozilare în această poziție și unește la nivel antigenic tulpinile de virus gripal A(H3N2) ce se încadrează în acest grup genetic. În același timp, substituția de aminoacizi T-A în poziția 128 conduce la pierderea situsului de glicozilare în poziția dată, astfel, grupând tulpinile A/Moldova/7/2014 și A/Moldova/696/2013 în grupul genetic 3C.3, ceea ce le conferă antigenicitate similară cu tulpinile din panelul de referință utilizat A/Samara/73/2013, A/Serbia/NS-210/2013 și A/Almaty/2958/2013 (fig. 3.16) [188, 190].



Fig. 3.16. Fragment din analiza filogenetică comparativă a tulpinilor de virus gripal A(H3N2), gena HA, sezonul epidemic 2013 – 2014 [189]

Rezultatele analizei filogenetice comparative efectuate în baza secvențierii genei NA a tulpinilor de virus gripal A(H3N2) circulante în Republica Moldova în perioada nominalizată au atestat poziționarea tulpinilor în același grup genetic 3C.3, dar absolut diferit față de gena HA a acestor tulpini de virus gripal. Acest fapt s-a datorat prezenței substituțiilor de aminoacizi Y155F și D251V, substituții observate și la tulpinile A/Moldova/7/2014 și A/Moldova/696/2013, care în interiorul grupului genetic 3C.3

s-au poziționat în diferite subgrupe (fig. 3.17). Astfel, tulpina A/Moldova/7/2014 s-a poziționat în clada definită de substituțiile S335G și E381K, pe când poziționarea tulpinii A/Moldova/696/2013 a depins primordial de prezența substituțiilor S315G, Y155F și D251V, substituția aminoacizilor S-G în poziția 315 fiind comună pentru ambele tulpini precăutate (fig. 3.18).

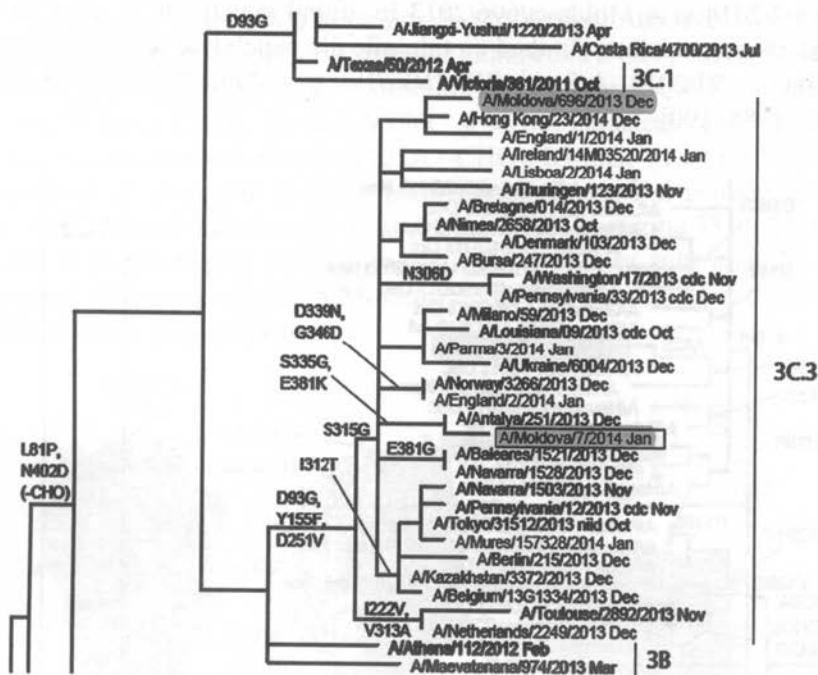


Fig. 3.17. Fragment al comparației filogenetice la nivel global a virusurilor gripale A(H3N2), gena NA, sezonul epidemic 2013 – 2014 [189].

Totodată, s-a observat că aceste tulpini de virus gripal posedă și substituțiile de aminoacizi L81P, D93G și N402D (-CHO) care demonstrează evoluția tulpinilor circulante în Republica Moldova în perioada nominalizată de la tulpina vaccinală A/Perth/16/2009 – component al vaccinului antigripal trivalent recomandat de OMS pentru vaccinare în sezonul 2011-2012 [177].

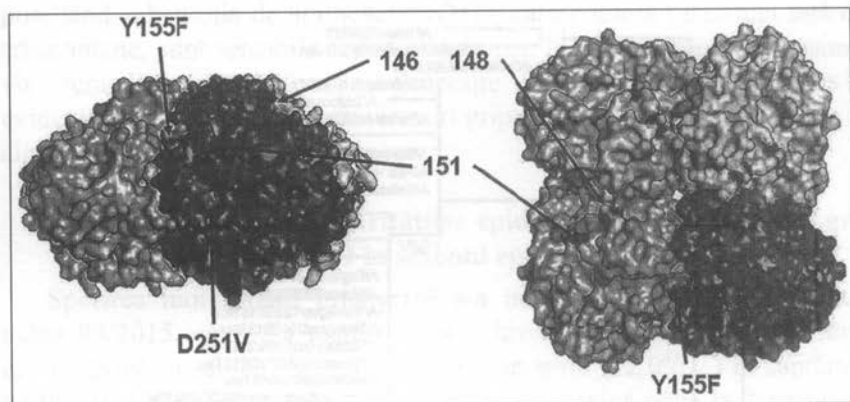


Fig. 3.18. Locusurile N2-NA ale aminoacizilor care influențează aglutinarea mediată de NA și definirea subgrupurilor genetice. Sunt indicate pozițiile (146, 148 și 151) unde substituțiile de aminoacizi influențează aglutinarea NA-mediată, pozițiile (Y155F și D251V) definesc subgrupurile NA în care se includ virusurile cu genele HA 3C.3 [189]

3.15. Studiarea particularităților fenotipice ale tulpinilor de virusuri gripale identificate în sezonul epidemic 2013-2014

Analiza filogenetică comparativă efectuată în baza secvențierii genei M a tulpinilor de virus gripal A(H3N2) și a arborelui filogenetic global a pus în evidență prezența substituției S31N la nivelul genei M2 la toate tulpinile circulante la nivel global, conferind rezistență față de adamantane: amantadina și remantadina. De rând cu substituția nominalizată, tulpina A/Moldova/696/2013 s-a poziționat într-un grup separat de tulpinile de virus gripal A(H3N2) de referință, din panelul de seruri standard, datorită posesiei substituției L-V în poziția 54, de asemenea, la nivelul genei M2, având efecte antigenice minore (fig. 3.19).

De asemenea, particularitățile fenotipice ale tulpinilor de virus gripal A(H3N2) circulante în Republica Moldova în sezonul epidemic 2013-2014 au fost studiate în reacția de inhibare a neuraminidazei [101, 107, 130, 146]. În rezultat, s-a demonstrat că sensibilitatea fenotipică a tulpinilor menționate este înaltă față de remediile antivirale oseltamivir și zanamivir – inhibitori ai neuraminidazei de ultimă generație [186, 188, 190].

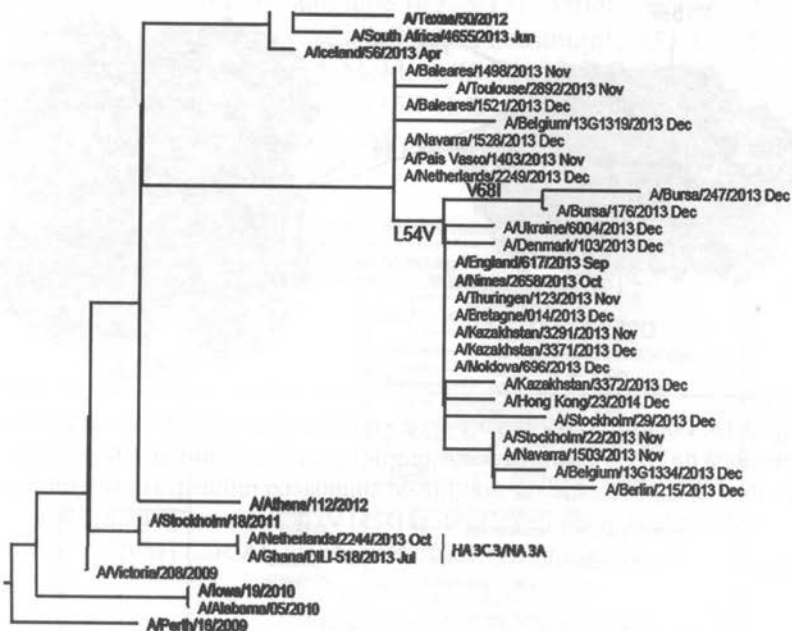


Fig. 3.19. Fragment al analizei filogenetice comparative a tulpinilor de virusurile gripale A(H3N2), gena M, sezonul epidemic 2013 – 2014 [189]

În baza rezultatelor obținute la acest compartiment al studiului, putem menționa, că sezonul epidemic gripal 2013-2014 a avut o evoluție lejeră, gripa fiind etiologic cauzată preponderent de virusul gripal A(H3N2). Din punct de vedere antigenic, tulpinile de virus gripal A(H3N2) circulante în Republica Moldova în perioada dată au fost similare cu tulpinile de virusuri gripale de referință din grupul genetic 3C.3 și, nu mai puțin, cu tulpina vaccinală A/Texas/50/2012 – recomandată de OMS pentru a fi inclusă ca component al vaccinului trivalent pentru sezonul 2014-2015, care de asemenea face parte din grupul genetic 3C – cel mai frecvent întâlnit grup genetic din sezonul respectiv [186, 188-190].

De menționat, că tulpinile de virus gripal A/Moldova/696/2013 și A/Moldova/7/2014 clasându-se într-un grup genetic 3C.3 s-au poziționat diferit, fapt datorat prezenței diferitor substituții de aminoacizi în diferite poziții – fenomen caracteristic și pentru alte tulpini de virus gripal A(H3N2) la nivel global. Și cel mai important aspect, este că tulpinile nominalizate

posedând substituția de aminoacizi S31N, care conferă rezistență față de adamantane, sunt sensibile față de inhibitorii NA: oseltamivir și zanamivir – remedii antivirale de ultimă generație. Aceste particularități au pus în evidență evoluția tulpinilor de virusuri gripale de la un sezon epidemic la altul prin variații antigenice minore.

3.16. Evaluarea particularităților epidemiologice ale infecției gripale, IRVA și SARI în sezonul epidemic 2014-2015

Sporirea morbidității prin gripă s-a înregistrat începând cu săptămâna 03/2015, când s-a confirmat prin investigații de laborator primul caz de gripă în raionul Rezina, atingând apogeul ($12,0^{0}/_{0000}$) în săptămâna 09/2015. Ulterior s-a atestat o reducere succesivă până la 2 cazuri în săptămâna 19/2015. În perioada săptămânilor 40/2014 – 20/2015 au fost înregistrate $2002/56,3^{0}/_{0000}$ cazuri de gripă clinică (în aceeași perioadă a sezonului 2013-2014 – $524/14,7^{0}/_{0000}$ cazuri), ceea ce constituie o sporire a morbidității de 3,8 ori față de sezonul precedent (fig. 3.20).

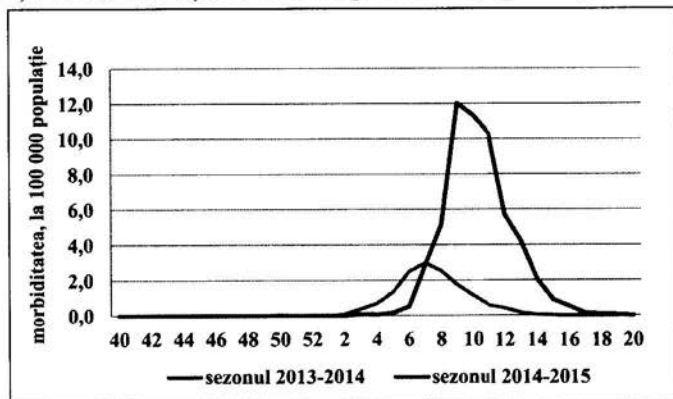


Fig. 3.20. Evoluția săptămânală a morbidității prin gripă în sezoanele 2013-2014 și 2014-2015

Gripa a avut o răspândire geografică extinsă cu o intensitate medie a procesului epidemic și un impact moderat asupra sistemului de sănătate, înregistrându-se în 30 teritorii administrative ale Republicii Moldova. Gripa a afectat preponderent persoanele cu vârsta între 15 - ≥ 65 ani (69,8%), iar copiii (0-14 ani) au fost afectați cu o pondere de 30,2%, comparativ cu anul 2014, când ponderea copiilor afectați constituie 57,0% (fig. 3.21).

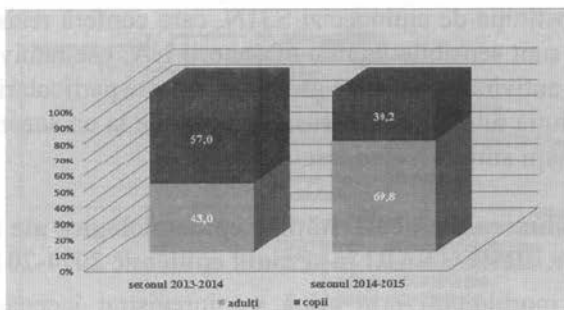


Fig. 3.21. Pondere morbidității prin gripă la copii și adulți în sezoanele 2013-2014 și 2014-2015

În perioada noiembrie 2014 – ianuarie 2015, conform ordinului MS nr. 1248 din 10.11.2014 a fost organizată și realizată campania de vaccinare a contingentelor cu risc sporit de infectare cu utilizarea a 150 000 doze de vaccin gripal recomandat de OMS pentru sezonul 2014 – 2015. În special, aceste contingente au inclus: lucrători ai instituțiilor medico-sanitare publice, copiii instituționalizați în orfelinate, case și școli internat, copiii din focarele de tuberculoză, gravidele, bătrânii și invalizii instituționalizați în aziluri, personalul instituțiilor de asistență socială etc.

Morbiditatea prin IRVA, în sezonul nominalizat, s-a aflat într-o creștere succesivă din săptămâna 03/2015, depășind pragul epidemic ($309,96^{0/0000}$) în săptămânile 08-12/2015, atingând apogeul în săptămâna 09/2015 ($621,3^{0/0000}$). Din săptămâna 10/2015 morbiditatea s-a aflat într-o descreștere treptată, reducându-se în săptămâna 20/2015 până la $98,7^{0/0000}$ (fig. 3.22).

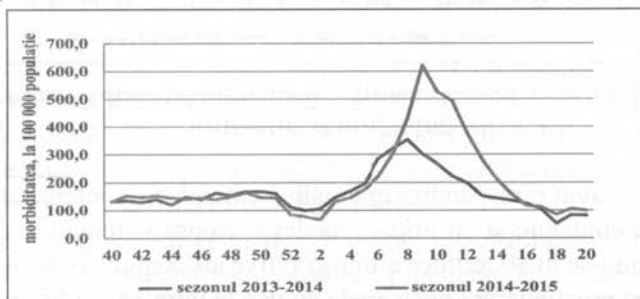


Fig. 3.22. Evoluția săptămânală a morbidității prin IRVA în sezoanele 2013-2014 și 2014-2015

În total, pe parcursul sezonului 2014-2015 (spt. 40/2014 – spt. 20/2015) au fost înregistrate $402447/11312,32^{0/0000}$ cazuri de IRVA (în aceeași perioadă a sezonului 2013-2014 - $191717/5386,1^{0/0000}$ cazuri), ceea ce constituie o sporire a morbidității de 2,1 ori față de sezonul precedent. IRVA s-au înregistrat în toate teritoriile administrative, afectând preponderent copiii (0-14 ani), ponderea cărora a constituit 60,3%, similar sezonului 2013-2014 (63,1%) (fig. 3.23).

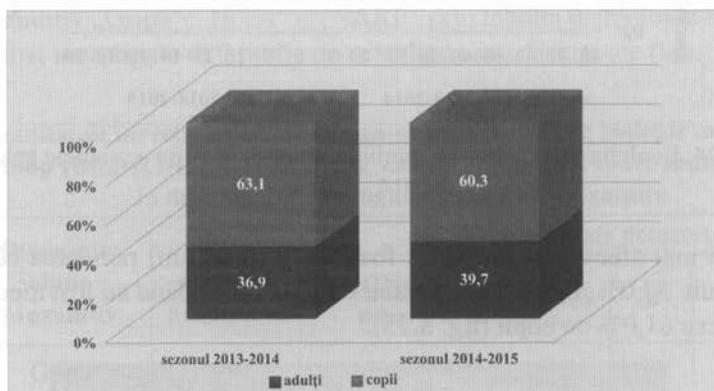


Fig. 3.23. Ponderea morbidității prin IRVA la copii și adulți în perioada sezoanelor 2013-2014 și 2014-2015.

La investigarea exsudatelor nazofaringiene de la bolnavii cu IRVA virusurile gripale au fost detectate în 28,1% cazuri, ceea ce denotă, că o bună parte de pacienți diagnosticați clinic cu IRVA făceau gripă, fapt ce încă o dată demonstrează necesitatea investigațiilor de laborator întru stabilirea diagnosticului etiologic.

Morbiditatea prin SARI din săptămâna 03/2015 s-a aflat în creștere, atingând apogeul ($122,1^{0/0000}$) în săptămâna 09/2015, după care s-a atestat o reducere până la $30,6^{0/0000}$ în săptămâna 20/2015. În total, în perioada spt. 40/2014 – spt. 20/2015 au fost înregistrate $61154/1719,0^{0/0000}$ de cazuri SARI (în aceeași perioadă a sezonului precedent – $57249/1608,3^{0/0000}$ cazuri), ceea ce constituie o sporire de 1,1 ori (fig. 3.24).

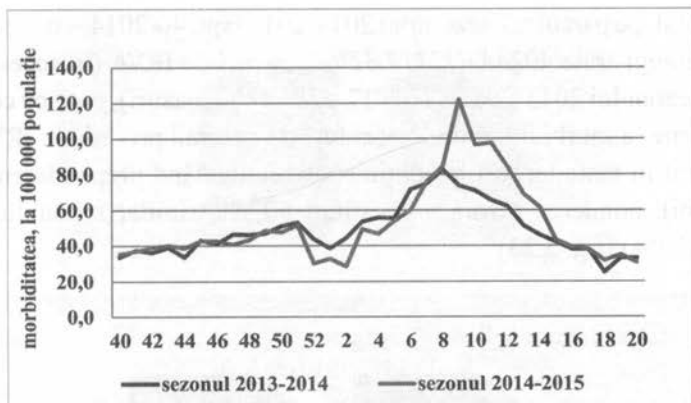


Fig. 3.24. Evoluția săptămânală a morbidității prin SARI în sezoanele epidemice 2013-2014 și 2014-2015.

Cei mai afectați de SARI au fost copiii (0-14 ani) ponderea căroră a constituit 57,0%, fapt practic similar cu anul 2014, când au fost afectați de SARI cca 61,0% de copii (fig. 3.25).

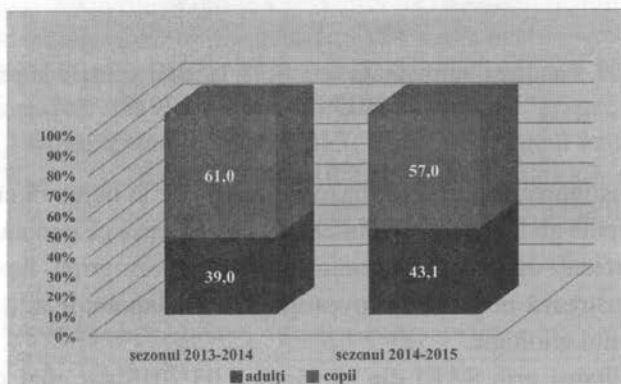


Fig. 3.25. Ponderea morbidității prin SARI la copii și adulți în sezoanele 2013-2014 și 2014-2015

Ponderea persoanelor spitalizate cu SARI a constituit 37,2%, iar a cazurilor SARI asociate cu gripa, în baza diagnosticului de laborator – 39,6%, înregistrându-se 21 de decese (1 copil și 20 adulți, inclusiv 2 gravide) pe fondalul maladiilor preexistente (cardiopatie, diabet zaharat, insuficiență

renală și hepatică, inclusiv obezitate), tratamentului neadecvat și adresare tardivă după asistență medicală. Persoanele decedate nu au fost vaccinate contra gripei.

3.17. Analiza particularităților etiologice ale gripei, IRVA și SARI în sezonul 2014-2015

În sezonul epidemic 2014-2015, pentru confirmarea diagnosticului clinic și detecția virusurilor gripale circulante de la bolnavii cu diagnosticul prezumtiv „Gripă”, „IRVA” și „SARI”, prin tehnici de biologie moleculară au fost investigate 680 probe de exsudate nazo-faringiene (tab. 3.10).

Tabelul 3.10

Rezultatele investigațiilor de laborator prin tehnici de biologie moleculară în timp real (rRT-PCR) la prezența virusurilor gripale în sezonul 2014-2015 în dependență de diagnosticul clinic prezumtiv

Diagnostic clinic prezumtiv	Nr. probelor examinate	Virusurile gripale detectate			
		A(H1N1) pdm	A(H3N2)	B	A(H1N1) pdm + B
Gripa	98	22*	3	38	0
IRVA	342	31	5	45	0
SARI	240	55	2	27	2
Total	680	108	10	110	2

Remarcă: * - nr. probelor pozitive, 0 – rezultate negative.

Din 680 probe investigate la gripă virusurile gripale au fost detectate în 230 (33,8%) cazuri, inclusiv în 110 cazuri (16,1%) virusul gripal de tip B, în 108 cazuri (15,9%) virusul gripal A(H1N1)pdm09, în 10 (1,5%) virusul gripal A(H3N2) și în 2 (0,3%) virusurile gripale A(H1N1)pdm09 + B (fig. 3.26). Astfel, s-a atestat, că gripa în sezonul 2014-2015 a fost etiologic cauzată de trei virusuri gripale B (48,0%), A(H1N1)pdm09 (47,0%) – virusuri gripale circulante codominante și A(H3N2) (4,3%). Totodată, este de menționat că în sezonul respectiv s-a evidențiat circulația codominantă a virusurilor gripale B și A(H1N1)pdm09 cu înregistrarea confecțiilor cu aceste virusuri.

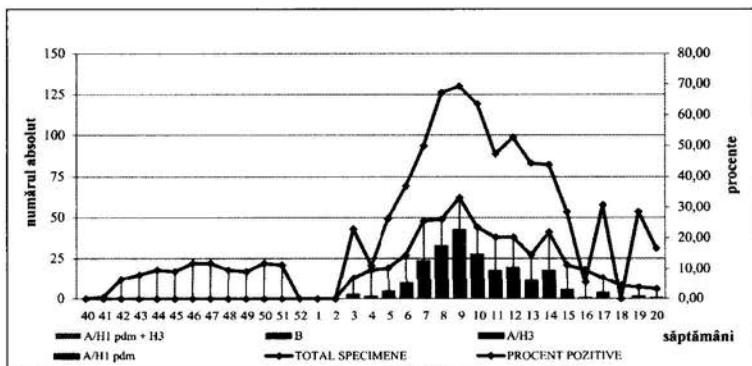


Fig. 3.26. Rezultatele investigațiilor de laborator la prezența virusurilor gripale în sezonul epidemic 2014-2015

Este important de menționat, că din cele 342 de probe colectate de la pacienții cu diagnosticul prezumtiv „IRVA”, în baza investigațiilor de laborator prin tehnici de biologie moleculară în timp real (rRT-PCR) în 81 (23,7%) cazuri au fost detectate virusurile gripale. Pe când, din 99 de specimene recoltate de la pacienții cu diagnosticul prezumtiv „Gripă” au fost confirmate doar 63 (63,6%) de probe cu prezența virusurilor gripale. În același rând de idei, din 217 probe recoltate de la pacienții cu SARI, prezența virusurilor gripale a fost confirmată în 86 (35,8%) cazuri. Acest fapt demonstrează necesitatea de a ține cont de definițiile de caz standard a infecțiilor nominalizate, inclusiv recomandate de OMS și stipulate în Ord. MS nr. 824 din 31.10.2011, precum și de algoritmul de recoltare, păstrare și transportare a speciemenelor spre laborator pentru efectuarea investigațiilor respective.

3.18. Particularitățile antigenice și genetice ale tulpinilor de virus gripal A(H1N1)pdm09

Studierea proprietăților antigenice ale virusurilor gripale A(H1N1) pdm izolate și identificate în sezonul epidemic 2014-2015 s-a realizat în rezultatul efectuării reacției de hemaglutinoinhibare (RIHA) cu panelul de antiseruri/antigene de referință A/California/7/2009, A/Bayern/69/2009, A/Lviv/N6/2009, A/Christchurch/16/2010, A/Astrakhan/1/2011, A/St.Petersburg/27/2011, A/St.Petersburg/100/2011, A/Hong Kong/5659/2012 și A/South Africa/3626/2013 (tab. 3.11).

Particularitățile antigenice ale tulpinilor de virus gripal A(H1N1)pdm09 izolate și identificate în sezonul 2014-2015

Virusuri	Grup genetic	Data	Istoricul pasajelor	Titrul de inhibare a Hemaglutinării ¹									
				A/Cal 7/09 F29/11	A/Bayern 69/09 F11/11	A/Lviv N6/09 F14/13	A/Chch 16/10 F15/14	A/Astrak 1/11 F22/13	A/St. P 27/11 F23/11	A/St. P 100/11 F24/11	A/HK 5659/12 F30/12	A/Sth Afr 3626/13 F3/14	
Virusuri de referință/ grup genetic							4	5	6	7	6A	6B	
A/California/7/2009		2009-04-09	EPI/E3	1280	1280	2560	320	320	320	640	320	320	
A/Bayern/69/2009		2009-07-01	MDCK5/ MDCK1	160	640	320	80	80	80	80	80	80	
A/Lviv/N6/2009		2009-10-27	MDCK4/ SI/ MDCK3	640	1280	2560	320	160	320	160	320	160	
A/Christchurch/16/2010	4	2010-07-12	E1/E3	2560	2560	2560	5120	2560	2560	5120	5120	2560	
A/Astrakhan/1/2011	5	2011-02-28	MDCK1/ MDCK5	1280	640	640	640	2560	2560	5120	2560	1280	
A/St. Petersburg/27/2011	6	2011-02-14	E1/E3	1280	1280	640	640	1280	1280	2560	2560	1280	
A/St. Petersburg/100/2011	7	2011-03-14	E1/E3	2560	1280	1280	640	2560	2560	5120	2560	1280	
A/Hong Kong/5659/2012	6A	2012-05-21	MDCK4/ MDCK2	640	160	320	320	640	640	1280	1280	640	
A/South Africa/3626/2013	6B	2013-06-06	E1/E2	1280	640	1280	640	1280	1280	2560	1280	1280	

Virusuri testate																																								
A/Moldo- va/150.08/2015	6B	2015-02-16	MDCK1/ MDCK1	2560	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	2560																		
A/Moldo- va/125.07/2015		2015-02-13	MDCK2/ MDCK1	2560	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	2560																		
A/Moldo- va/114.07/2015		2015-02-12	MDCK3/ MDCK1	1280	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	1280																		
A/Moldo- va/117.07/2015		2015-02-11	MDCK3/ MDCK1	2560	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	2560																		
A/Moldo- va/078.07/2015	6B	2015-02-09	MDCK2/ MDCK2	640	320	320	320	320	320	320	320	320	320	320	320	320	320	320	320	320	320	640																		
A/Moldo- va/107.07/2015	6B	2015-02-09	MDCK3/ MDCK1	1280	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	1280																		
A/Moldo- va/109.07/2015		2015-02-09	MDCK1/ MDCK1	2560	640	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	2560																		
A/Moldo- va/085.07/2015		2015-02-06	MDCK3/ MDCK2	2560	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	2560																		
A/Moldo- va/086.07/2015	6B	2015-02-06	MDCK2/ MDCK1	1280	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	1280																		
A/Moldo- va/090.07/2015		2015-02-06	MDCK2/ MDCK1	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	2560																		
A/Moldo- va/158.08/2015	6B	2015-02-19	MDCK1/ MDCK1	2560	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	2560																		
A/Moldo- va/151.08/2015		2015-02-18	MDCK1/ MDCK1	2560	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	2560																		
A/Moldo- va/050.05/2015	6B	2015-01-28	MDCK1/ MDCK1	2560	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	2560																		
A/Moldo- va/024.04/2015		2015-01-19	MDCK1/ MDCK1	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	2560																		
A/Moldo- va/012.04/2015		2015-01-17	MDCK2/ MDCK1	2560	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	1280	2560																		
I. < < 40																																								

Vaccin

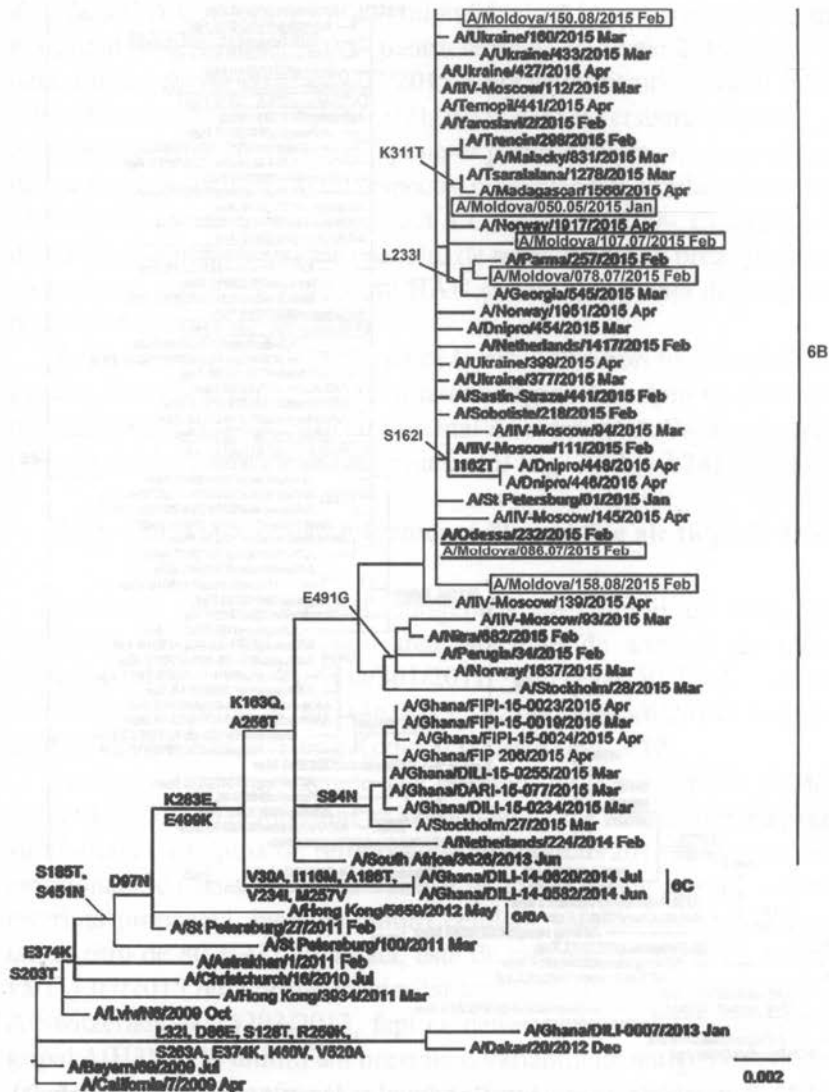


Fig. 3.27. Particularitățile genetice a tulpinilor de virus gripal A(H1N1)pdm09, gena HA

de referință A/California/7/2009, tulpină inclusă în componența vaccinului antigripal recomandat de OMS pentru sezonul epidemic 2014-2015. Totodată, tulpina A/Moldova/078.07/2015 a prezentat titruri de 1280 HAU cu tulpinile de referință A/Astrakhan/1/2011, A/St.Petersburg/100/2011 și A/Hong Kong/5659/2012. Acest fapt ne-ar permite să presupunem că tulpina dată a fost importată din Est, respectiv prezentând și similaritate antigenică, inclusiv față de tulpina vaccinală A/California/7/2009. Celelalte tulpini de virusuri gripale studiate cu panelul de referință dat au prezentat în mare parte titruri de anticorpi de 1280 HAU și 2560 HAU față de antigenii de referință respectivi.

Analiza particularităților genetice la nivel de arbori filogenetici în baza genelor HA și NA confirmă similaritatea antigenică a tulpinilor de virus gripal A(H1N1)pdm09 cu virusul vaccinal de referință A/California/7/2009, precum și apartenența la grupul genetic 6B (fig. 3.27 și 3.28).

3.19. Caracteristicile antigenice și filogenetice ale tulpinii de virus A(H3N2)

Studierea particularităților antigenice ale tulpinii de virus gripal A(H3N2) s-a realizat cu utilizarea panelului de antigeni de referință A/Perth/16/2009, A/Victoria/361/2011, A/Texas/50/2012, A/Samara/73/2013, A/Hong Kong/146/2013, A/Stockholm/6/2014, A/Switzerland/9715293/2013, A/Hong Kong/5738/2014 (tab. 3.12).

Particularitățile antigenice ale tulpinii de virus gripal A/Moldova/111.07/2015 au demonstrat că la nivel antigenic această tulpină prezintă similaritate cu tulpina de referință A/Stockholm/6/2014, propagat pe ouă embrionate, cu un titru de 160 HAU, pe când față de aceeași tulpină de referință propagată, însă, pe culturi celulare, tulpina cercetată a prezentat un titru de 80 HAU. Totodată, este de menționat că tulpina A/Moldova/111.07/2015 nu a prezentat similaritate antigenică cu tulpina vaccinală A/Switzerland/9715293/2013, fapt ce demonstrează că tulpinile de virus gripal A(H3N2) în ultimii ani prezintă o variabilitate antigenică continuă.

Acest fapt este confirmat și la nivel genetic prin evaluarea poziției tulpinii cercetate în arborele filogenetic construit în baza genelor HA și NA, care a și demonstrat apartenența la unul din grupurile genetice nou formate 3C.2a (fig. 3.29 și 3.30) [28].

Caracteristica antigenică a tulpinii de virus gripal A(H3N2)

Virusuri	Grup genetic	Data	Istoricul pasajelor	Titrul de inhibare a Hemaglutinării ¹										
				Seruri de referință (seruri de dihoare)										
				A/Perth 16/09 F18/11	A/Vic 361/11 T/C F09/12	A/Texas 50/12 Egg F05/13	A/Sa- mara 73/13 F24/13	A/HK 146/13 T/C F10/15	A/Stock 6/14 T/C F14/14	A/Stock 6/14 Egg F20/14	A/Switz 9715293/13 T/C NIBSC F13/14	A/Switz 9715293/13 Egg F32/14	A/HK 5738/14 T/C F30/14	A/HK 5738/14 NIB F53/14
Virusuri de referință/ grup genetic				3C.1	3C.1	3C.1	3C.3	3C.2	3C.3a	3C.3a isolate 2	3C.3a cl123	3C.2a	3C.2a cl121	<
A/Perth/16/2009		2009-07-04	E3/E3	640	160	320	80	160	40	160	<	<	<	<
A/Victoria/361/2011	3C.1	2011-10-24	MDCK2/ SIAT5	160	320	640	640	320	640	160	80	160	40	40
A/Texas/50/2012	3C.1	2012-04-15	E5/E2	640	1280	2560	640	640	320	640	80	320	160	80
A/Samara/73/2013	3C.3	2013-03-12	C1/SIAT4	320	320	1280	1280	640	640	320	80	320	320	80
A/Hong Kong/146/2013	3C.2	2013-01-11	E3/E3	320	640	2560	640	1280	80	640	40	640	320	40
A/Stockholm/6/2014	3C.3a	2014-02-06	SIAT1/ SIAT5	<	40	80	160	80	320	80	80	40	80	<
A/Stockholm/6/2014	3C.3a	2014-02-06	E4/E1 isolate 2	80	160	320	80	80	160	320	80	160	160	40
A/Switzer- land/9715293/2013	3C.3a	2013-12-06	SIAT1/ SIAT3	<	<	40	80	40	320	80	80	40	80	<
A/Switzer- land/9715293/2013	3C.3a	2013-12-06	E4/E1 clone 123	40	160	320	160	80	320	320	80	640	320	<
A/Hong Kong/5738/2014	3C.2a	2014-04-30	MDCK1/ MDCK3	<	40	80	160	80	320	80	40	160	160	<
A/Hong Kong/5738/2014	3C.2a	2014-04-30	E5/E2 clone121	40	40	320	160	40	160	80	40	40	320	640
Virusuri testate														
A/Moldo- va/111.07/2015	3C.2a	2015-02-10	MDCK2	<	40	80	80	40	160	80	<	80	<	<

1. < = <40

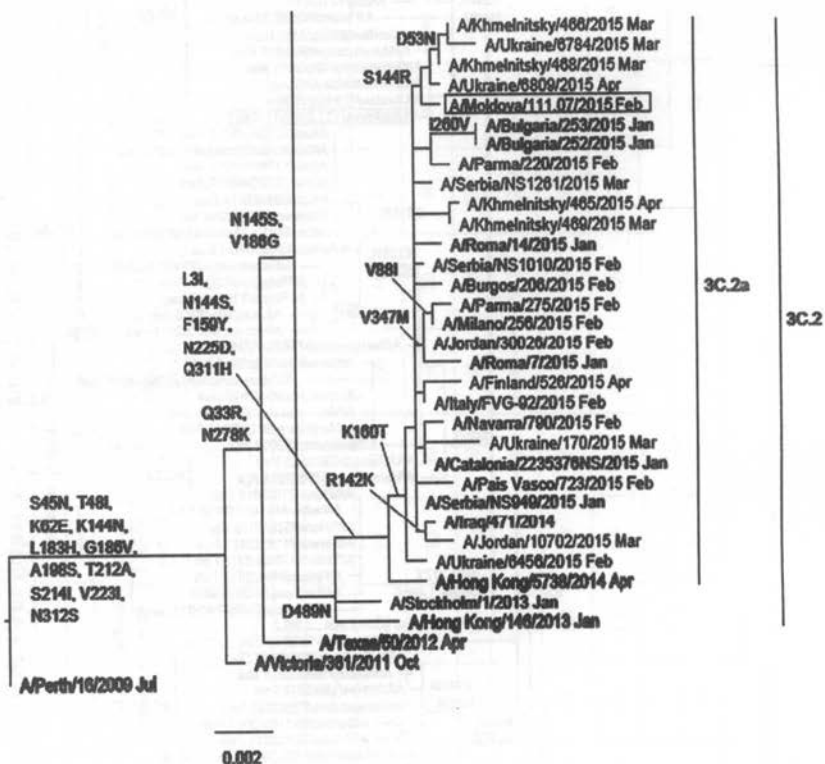


Fig. 3.29. Fragment din comparația filogenetică în baza genei HA a tulpinilor de virus gripal A(H3N2)

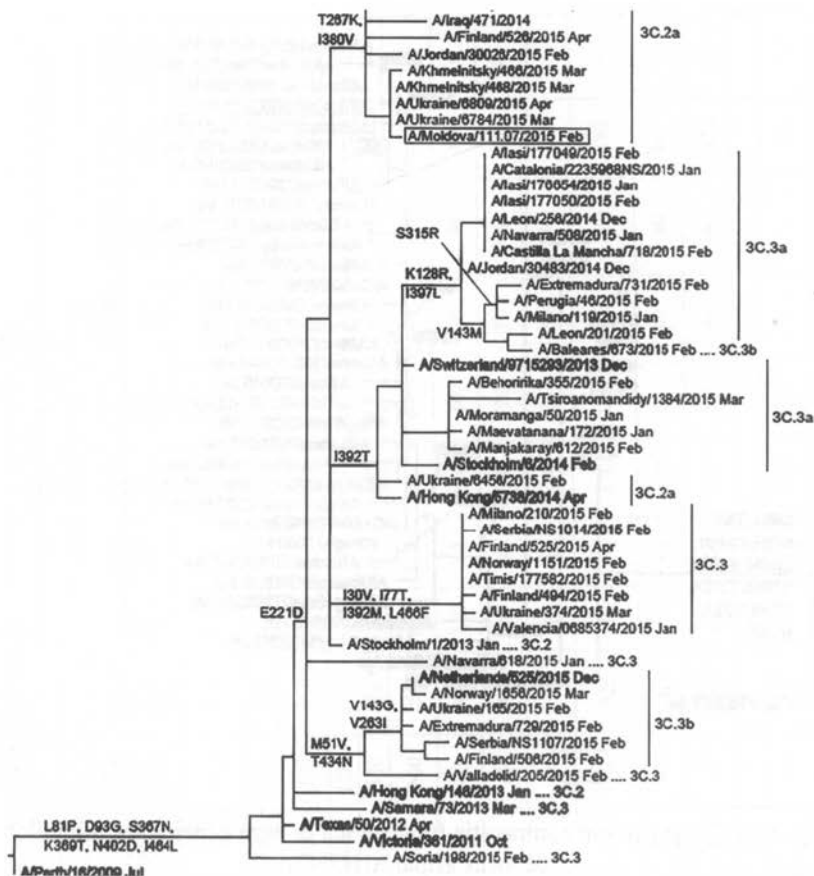


Fig. 3.30. Fragment din comparația filogenetică a tulpinilor de virus gripal A(H3N2) în baza genei NA

3.20. Analiza particularităților antigenice și genetice ale tulpinilor de virusuri gripale de tip B (linia B/Victoria și linia B/Yamagata)

Caracteristica antigenică a tulpinii de virus gripal de tip B, linia B/Victoria a fost evaluată în baza panelului de referință B/Malaysia/2506/2004, B/Brisbane/60/2008, B/Paris/1762/2009, B/Hong Kong/514/2009, B/Odessa/3886/2010, B/Malta/636714/2011, B/Johannesburg/3964/2012, B/Formosa/V2367/2012 și B/South Australia/81/2012 (tab. 3.13).

Evaluarea antigenică a tulpinii de virus gripal de tip B, linia B/Victoria

Virusuri	Grup gene- genetic	Data	Istoricul pasajelor	Titrul de inhibare a Hemaglutinării*											
				B/Bris ^{1,1} 60/08 SH 522	B/Mal ¹ 2506/04 F37/11	B/Bris ² 60/08 F22/12	B/Paris ² 1762/09 F07/11	B/HK ² 514/09 F19/13	B/ Odessa ² 3886/10 F13/15	B/Malta ² 636714/11 F33/11	B/Jhb ² 3964/12 F01/13	B/For ⁴ V2367/12 F04/13	B/Sth Aus ² 81/12 F41/13		
Virusuri de referință/ grup genetic				1A		1A	1A	1B	1B	1B	1A	1A	1A	1A	1A
B/Malaysia/2506/2004		2004-12-06	E3/E7	640	640	160	<	20	20	10	80	160	160	80	160
B/Brisbane/60/2008	1A	2008-08-04	E4/E5	1280	160	640	80	160	160	160	640	640	640	320	1280
B/Paris/1762/2009	1A	2009-02-09	C2/ MDCK2	1280	10	20	80	160	160	160	20	40	80	160	160
B/Hong Kong/514/2009	1B	2009-10-11	MDCK1/ MDCK2	640	<	20	80	80	80	160	10	40	40	80	80
B/Odessa/3886/2010	1B	2010-03-19	C2/ MDCK2	1280	10	20	80	80	80	160	20	40	40	80	160
B/Malta/636714/2011	1A	2011-03-07	E4/E1	640	80	160	40	80	80	80	320	320	320	160	640
B/Johannes- burg/3964/2012	1A	2012-08-03	E1/E2	5120	640	1280	80	320	320	160	1280	1280	1280	1280	1280
B/Formosa/ V2367/2012	1A	2012-08-06	MDCK1/ MDCK3	1280	80	320	80	80	80	160	160	160	160	160	1280
B/South Austra- lia/81/2012	1A	2012-11-28	E4/E1	1280	80	320	40	80	80	80	320	320	320	160	1280
Virusuri testate															
B/Moldo- va/049.05/2015	1A	2015-01-28	MDCK1/ MDCK1	1280	10	<	80	80	80	320	20	40	80	80	80

Vaccin *

1. < = <40; 2. < = <10; 3. Ser hiperimun de oi; 4. < = <20

* virusul liniei B/Victoria recomandat pentru utilizare în vaccinul quadrivalent

Evaluarea particularităților antigenice ale tulpinii de virus gripal B/Moldova/049.05/2015 a scos în evidență similaritatea antigenică a acestei tulpini cu virusul de referință B/Odessa/3886/2010 prezentând un titru de 320 HAU, pe când reactivitatea față de celelalte virusuri de referință a fost ne semnificativă. Este de menționat, că tulpina cercetată nu a reacționat în general cu virusul vaccinal B/Brisbane/60/08 propagat pe ouă embrionate, inclus în componența vaccinului antigripal quadrivalent recomandat de OMS pentru sezoanele 2014-2015 și 2015-2016. Paradoxal este faptul, că tulpina B/Moldova/049.05/2015 a prezentat un titru de 1280 HAU în cazul testării cu antiserul hiperimun de oi B/Brisbane/60/2008, având de fapt același rezultat ca și în cazul virusului de referință B/Brisbane/60/2008. Astfel, rezultatele generale indică la o reactivitate relativă a tulpinii cercetate cu panelul de virusuri de referință care, de fapt, sunt în legătură genetică strânsă cu virusul vaccinal B/Brisbane/60/2008 și, deci, fac parte din același grup genetic 1A. Această legătură genetică, dar și apartenența la grupul genetic 1A este demonstrată la nivel de arbori filogenetici construiți în baza genelor HA și NA la nivel global (fig. 3.31 și 3.32).

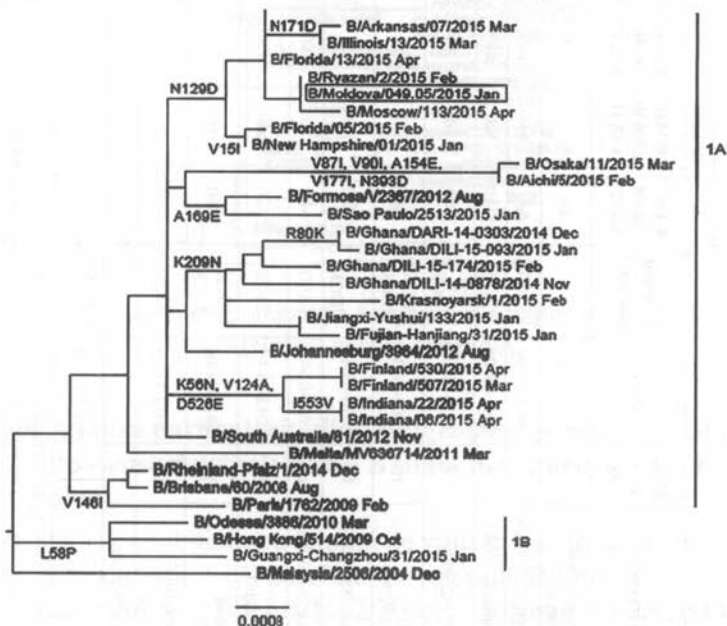


Fig. 3.31. Fragment din comparația filogenetică a tulpinilor de virus gripal de tip B, linia B/Victoria, gena HA

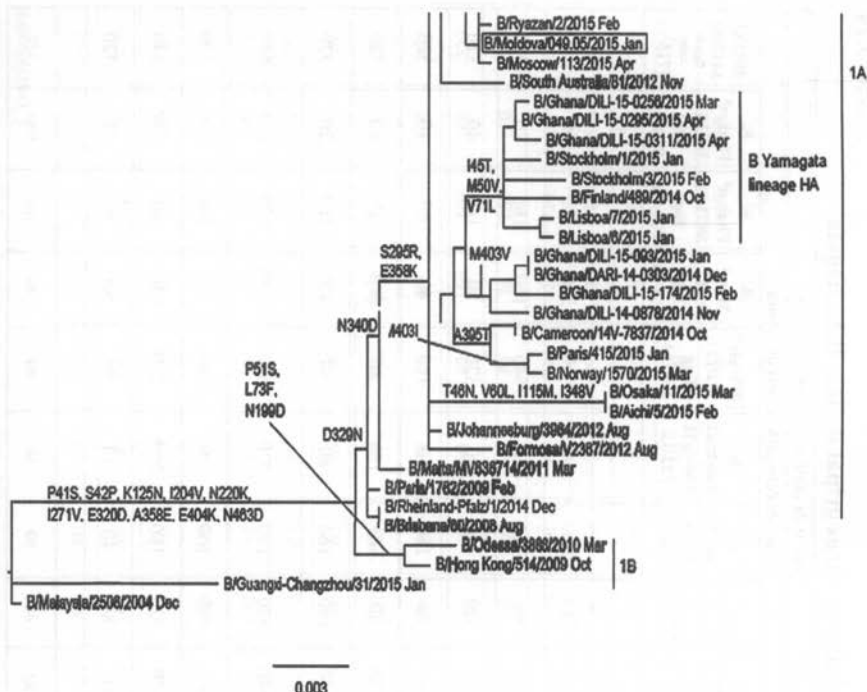


Fig. 3.32. Fragment din comparația filogenetică a virusurilor gripale de tip B (B/Victoria) în baza genei NA

Analiza particularităților antigenice ale tulpinilor de virus gripal de tip B, linia B/Yamagata s-a efectuat cu utilizarea panelului de antigeni/antiseruri de referință B/Florida/4/2006, B/Brisbane/3/2007, B/Wisconsin/1/2010, B/Stockholm/12/2011, B/Estonia/55669/2011, B/Massachusetts/02/2012, B/Massachusetts/02/2012, B/Phuket/3073/2013, B/Phuket/3073/2013, B/Hong Kong/3417/2014 (tab. 3.14).

Tabelul 3.14

Particularitățile antigenice ale tulpinilor de virus gripal B, linia B/Yamagata

		Titru de inhibare a Hemaglutinării ¹												
		Seruri de referință (seruri de dihoze)												
Virusuri	Grup genetic	Data	Istoricul pasajelor	B/F1 ³ 4/06 SH479	B/F1 ¹ 3/07 F38/14	B/Wis ² 1/10 F10/13	B/ Stock ⁵ 12/11 F06/15	B/ Estonia ² 55669/11 F32/12	B/Mass ² 02/12 Egg F42/14	B/ Phuket ² 3073/13 Egg T/C F36/14	B/ Phuket ² 3073/13 Egg T/C F35/14	B/HK ⁴ 3417/14 Egg St Jades F715/14		
Virusuri de referință/grup genetic				1	2	3	3	2	2	3	3	3		
B/Florida/4/2006	1	2006-12-15	E7/E1	2560	640	320	320	80	1280	320	40	320		
B/Brisbane/3/2007	2	2007-09-03	E2/E3	1280	640	80	160	40	640	160	20	320		
B/Wisconsin/1/2010	3	2010-02-20	E3/E3	640	320	320	160	20	320	80	160	320		
B/Stockholm/12/2011	3	2011-03-28	E4/E1	1280	160	80	160	10	160	80	40	320		
B/Estonia/55669/2011	2	2011-03-14	MDCK2/ MDCK3	640	80	40	40	160	80	640	80	320		
B/Massachusetts/02/2012	2	2012-03-13	E3/E3	2560	640	160	160	80	640	320	20	320		
B/Massachusetts/02/2012	2	2012-03-13	MDCK1/ C2/ MDCK3	2560	640	320	160	320	640	1280	160	640		
B/Phuket/3073/2013	3	2013-11-21	E4/E3	640	160	160	160	20	160	80	40	320		
B/Phuket/3073/2013	3	2013-11-21	M2/M2	1280	320	320	160	320	320	640	1280	640		
B/Hong Kong/3417/2014	3	2014-06-04	E4/E1	160	80	80	40	10	80	80	40	320		
Virusuri testate														
B/Moldova/156.08/2015		2015-02-17	MDCK1/ MDCK1	320	80	80	80	40	80	160	160	320		

B/Moldova/141.08/2015		2015-02-16	MDCCK1/ MDCK1	320	80	160	80	160	80	80	40	160	160	160	80	320
B/Moldova/099.07/2015	3	2015-02-11	MDCK1/ MDCK2/ MDCK1	320	80	160	160	160	160	80	40	160	160	160	160	320
B/Moldova/104.07/2015		2015-02-11	MDCK2/ MDCK1	320	80	160	160	160	160	80	80	160	160	160	160	320
B/Moldova/105.07/2015	3	2015-02-11	MDCCK2/ MDCK1	640	160	160	160	320	320	160	80	320	320	320	320	640
B/Moldova/110.07/2015	3	2015-02-11	MDCK2/ MDCK1	320	80	80	160	80	160	80	40	80	160	160	160	320
B/Moldova/081.07/2015		2015-02-09	MDCK2/ MDCK1	640	80	160	160	160	160	80	80	160	160	160	320	320
B/Moldova/087.07/2015		2015-02-09	MDCCK2/ MDCK1	320	80	160	160	160	160	80	80	160	160	320	320	320
B/Moldova/103.07/2015		2015-02-09	MDCCK2/ MDCK1	320	80	160	160	160	160	80	80	160	160	160	320	320
B/Moldova/128.08/2015		2015-02-06	MDCK1/ MDCK1	320	80	80	80	80	80	40	40	80	80	80	160	320
B/Moldova/072.06/2015		2015-02-05	MDCK1/ MDCK1	320	80	80	80	80	80	40	40	80	160	160	160	320
B/Moldova/075.06/2015		2015-02-05	MDCK1/ MDCK1	320	80	80	80	80	80	40	40	80	80	160	160	320
B/Moldova/057.06/2015	3	2015-02-03	MDCK1/ MDCK1	640	160	160	160	160	160	80	80	160	320	320	160	640
B/Moldova/059.06/2015		2015-02-03	MDCK1/ MDCK1	640	160	160	160	320	160	80	80	160	320	320	320	640
B/Moldova/060.06/2015		2015-02-03	MDCK2/ MDCK1	320	80	160	160	160	160	80	40	80	160	160	160	320
B/Moldova/053.06/2015	3	2015-02-02	MDCCK2/ MDCK1	320	80	160	160	160	160	80	40	80	160	160	160	320
B/Moldova/133.08/2015	3	2015-02-18	MDCK1/ MDCK1	320	80	160	160	160	80	80	40	40	80	160	80	320
B/Moldova/138.08/2015	3	2015-02-18	MDCCK1/ MDCK1	640	160	160	160	160	160	80	80	80	160	160	160	320

1. < = <40; 2. < = <10; 3. Ser hiperimun de oi; 4. Ser RDE pre-absorbit cu TRBC; 5. < = <20

Rezultatele obținute au scos în evidență că tulpinile cercetate, în general, au prezentat reactivitate relativă practic cu întreg panelul, atestându-se titruri de 40 HAU și 80 HAU în special față de virusul de referință B/Estonia/55669/2011, care, de fapt, face parte din grupul genetic 2, comparativ cu grupul genetic 3 din care fac parte tulpinile cercetate (fig. 3.33 și 3.34).

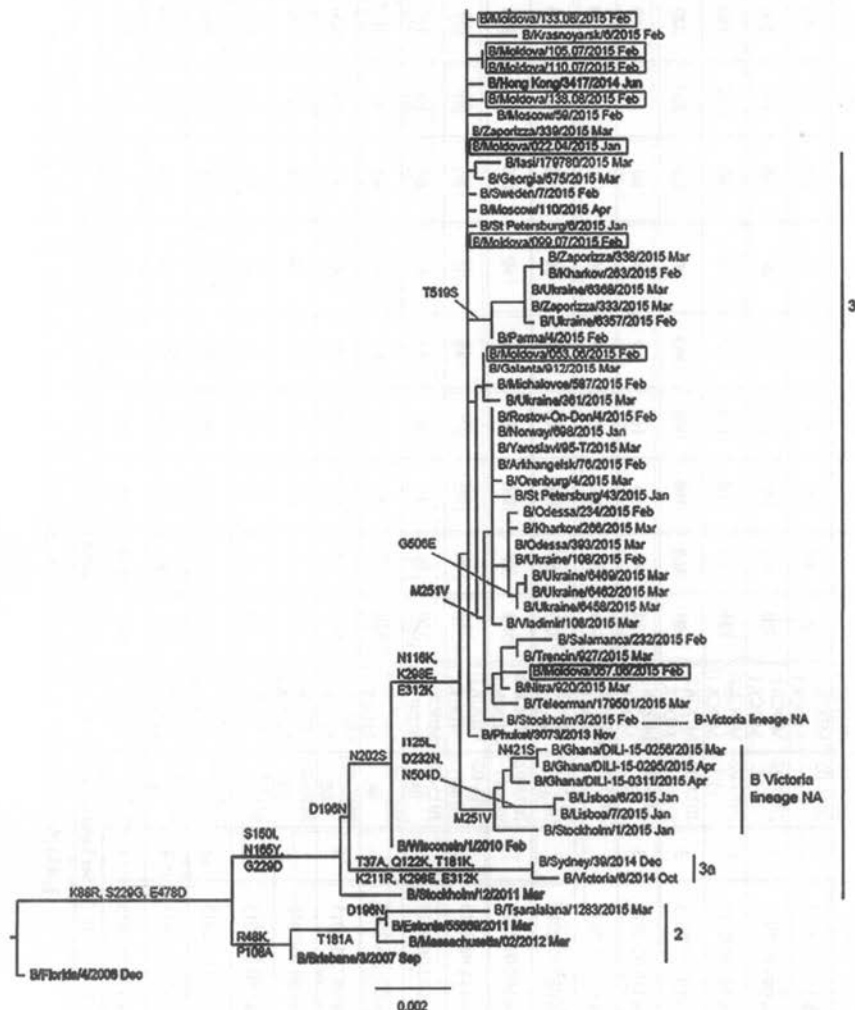


Fig. 3.33. Fragment din comparația filogenetică a tulpinilor de virus gripal de tip B (B/Yamagata), gena HA

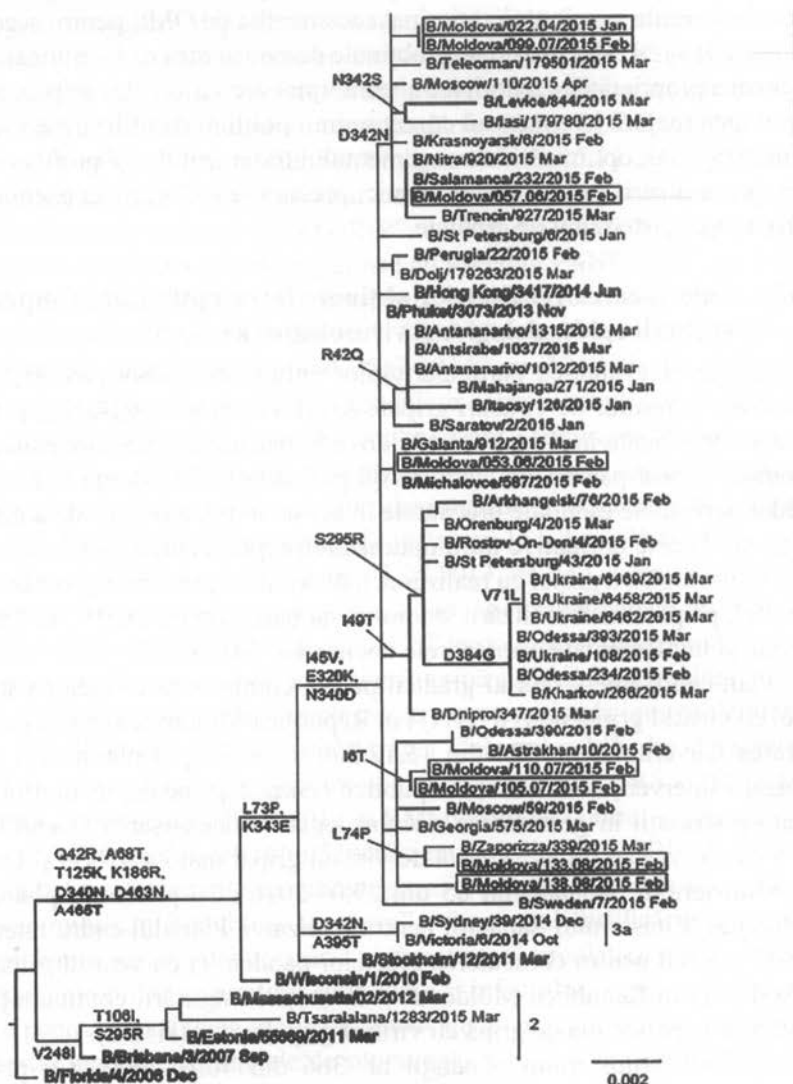


Fig. 3.34. Fragment din comparația filogenetică a tulpinilor de virus gripal B, linia B/Yamagata, gena NA

Este necesar de menționat, că tulpinile izolate de virusuri gripale, în testul de inhibare a neuraminidazei, au fost sensibile la remediile antigripa-

le Oseltamivir și Zanamivir și sunt similare cu tulpinile de virusuri gripale incluse în formula vaccinului antigripal recomandat de OMS pentru sezonul 2014-2015 [29, 30]. Rezultatele obținute demonstrează că identificarea și evaluarea proprietăților fenotipice și genotipice ale virusurilor gripale au o importanță majoră în contextul corectitudinii politicii de utilizare a vaccinului antigripal, optimizării managementului tratamentului și profilaxiei gripei, pronosticării procesului epidemic, precum și reducerii impactului negativ asupra sistemului de sănătate.

3.21. Valorificarea rezultatelor obținute întru optimizarea supravegherii epidemiologice și virusologice a gripei

Studierea și evaluarea particularităților antigenice, genotipice și fenotipice ale tulpinilor de virusuri gripale A(H1N1)pdm09, A(H3N2) și B izolate și identificate în Republica Moldova în perioadele pre-pandemică, pandemică și post-pandemică, inclusiv în perioada interepidemică care a succedat perioadele esențiale precăutate în acest studiu, a permis de a elabora un șir de acte normative întru optimizarea supravegherii epidemiologice și virusologice a gripei cu realizarea măsurilor de prevenire și control.

Astfel, pe parcursul realizării studiului, cu participarea CCBV, au fost elaborate și implementate următoarele documente (Anexa 1):

1. Plan-cadru intersectorial gradual pentru combaterea efectelor pandemiei cu virusul gripal nou A(H1N1) în Republica Moldova, aprobat prin Hotărârea Guvernului nr. 824 din 15.12.2009 – în scopul planificării și organizării intervenției autorităților publice centrale și locale, instituțiilor de stat cu atribuții în gestionarea riscului legat de declanșarea în aprilie 2009 a pandemiei de gripă, cauzată de virusul gripal nou A(H1N1) și Ordinul Ministerului Sănătății nr. 65 din 29.01.2010 „Cu privire la planul de acțiuni al Ministerului Sănătății pentru realizarea Planului-cadru intersectorial gradual pentru combaterea efectelor pandemiei cu virusul gripal nou A(H1N1) în Republica Moldova” – în scopul asigurării continuității activităților în pandemia de gripă cu virusul gripal nou A(H1N1).

2. Ordinul Ministerului Sănătății nr. 366 din 30.10.2009 „Cu privire la măsurile de vigilență și răspuns la pandemia cu noul virus gripal A(H1N1)”, Ordinul Ministerului Sănătății nr. 399 din 16.11.2009 „Cu privire la modificarea ordinului MS nr. 366 din 30.10.2009 (capitolul I, p. 6 și capitolul IV, anexa nr. 4)” și Dispoziția Ministerului Sănătății nr. 615-d din 27.12.2010 „Cu privire la unele măsuri de profilaxie a gripei în sezonul

rece al anilor 2010-2011” – în scopul fortificării supravegherii epidemiologice, asigurării depistării precoce, monitorizării sistematice a cazurilor de infecții respiratorii acute cu virusul gripal nou A(H1N1) cu organizarea măsurilor de control și răspuns în teritoriile administrative ale Republicii Moldova în conformitate cu recomandările OMS, ECDC și CDC.

3. Ordinile Ministerului Sănătății nr. 495 din 15.12.2009 „Privind vaccinarea împotriva gripei pandemice a contingentelor cu risc sporit de îmbolnăvire cu vaccinul CANTGRIP”, nr. 316 din 12.05.2010 „Privind vaccinarea împotriva gripei pandemice cu vaccinul PANENZA”, nr. 1088 din 30.10.2012 „Privind vaccinarea contra gripei sezoniere către sezonul gripal 2012-2013”, nr. 1249 din 06.11.2013 „Privind vaccinarea contra gripei sezoniere către sezonul gripal 2013-2014”, nr. 1248 din 10.11.2014 „Privind vaccinarea contra gripei sezoniere către sezonul gripal 2014-2015” – în scopul asigurării protejării contra gripei a contingentelor cu risc sporit de infectare și complicații postgripale, de importanță majoră în asigurarea funcționalității serviciilor de îngrijiri medicale și de securitate a statului.

4. Dispozițiile Ministerului Sănătății nr. 151-d din 08.04.2011, nr. 202-d din 18.05.2012, nr. 162-d din 03.05.2013, nr. 244-d din 17.05.2014 „Cu privire la suspendarea prezentării informației săptămânale privind morbiditatea prin gripă și IRVA de către CSP teritoriale” – în legătură cu diminuarea semnificativă a morbidității prin gripă și IRVA cu revenirea incidenței la limitele multianuale, caracteristice pentru perioada interepidemică.

5. Notă informativă și Hotărârea Colegiului MS din 22 septembrie 2011 “Privind situația epidemiologică prin gripă, IACRS și pneumonii în perioada sezonului 2010-2011 în RM: măsuri de control și răspuns”.

6. Ordinul Ministerului Sănătății nr. 824 din 31.10.2011 „Cu privire la perfectarea sistemului de supraveghere la gripă și infecțiile acute ale căilor respiratorii în Republica Moldova” – în scopul fortificării supravegherii epidemiologice, monitorizării sistematice a circulației gripei, infecțiilor acute ale căilor respiratorii superioare și infecțiilor respiratorii acute severe pentru organizarea măsurilor adecvate de prevenire și control și în contextul integrării în rețelele de supraveghere regionale (EuroFlu) și globale (FluNet) ale Organizației Mondiale a Sănătății.

7. Note informative și Hotărârile Comisiei Naționale Extraordinare de Sănătate Publică din 23 decembrie 2011 „Privind situația epidemiologică prin gripă, IACRS și pneumonii în perioada sezonului 2010-2011 în RM: măsuri de control și răspuns”, din 28 ianuarie 2013 „Privind situația epide-

miologică la gripă, infecții acute ale căilor respiratorii superioare și infecții respiratorii acute severe și realizarea măsurilor de control și răspuns în sezonul 2012-2013”, din 27 februarie 2013 „Privind evoluția situației epidemiologice la gripă, infecții acute ale căilor respiratorii superioare și infecții respiratorii acute severe: măsuri de control și răspuns”, 13 decembrie 2013 „Privind situația epidemiologică la gripă, infecțiile acute ale căilor respiratorii superioare (IACRS) și infecțiile respiratorii acute severe (SARI) cu realizarea măsurilor de control și răspuns în sezonul 2013-2014”.

8. Dispozițiile Ministerului Sănătății nr. 356-d din 28.09.2012 „Cu privire la prezentarea informației săptămânale privind morbiditatea prin gripă, IACRS și SARI de către CSP teritoriale”, nr. 325-d din 27.09.2013 și nr. 498-d din 29.09.2014 „Cu privire la prezentarea informației săptămânale privind morbiditatea prin gripă, IACRS și SARI de către CSP teritoriale, inclusiv monitorizarea virusologică în cadrul sistemului de supraveghere sentinelă” – în scopul fortificării supravegherii epidemiologice, monitorizării sistematice a circulației virusurilor gripale, IACRS și SARI în perioada săptămânilor 40 a anului curent – 20 a anului viitor.

9. Ordinul CNSP nr. 116 din 28.11.2012 „Cu privire la fortificarea sistemului național de supraveghere și sentinelă a bolilor transmisibile cu potențial epidemic” – în scopul fortificării capacităților sistemului național de supraveghere și de tip sentinelă a bolilor transmisibile cu potențial epidemic, inclusiv gripă și infecții respiratorii acute, aprecierea gradului de pregătire și răspuns, prevenirea și managementul urgențelor de sănătate publică.

10. Ordinul Ministerului Sănătății nr. 701 din 17.06.2013 „Cu privire la petrecerea seminarului zonal privind implementarea Programului Național de combatere a hepatitelor virale B, C și D și perfecționarea sistemului de supraveghere la gripă, IACRS și SARI” – în conformitate cu planul de acțiuni pentru realizarea Programului Național de combatere a hepatitelor virale B, C și D pentru anii 2012-2016 și Ordinul MS nr. 824 din 31.10.2011 „Cu privire la perfectarea sistemului de supraveghere la gripă și infecțiile acute ale căilor respiratorii în Republica Moldova”.

Cercetările realizate în cadrul acestui studiu au contribuit la implementarea și fortificarea sistemelor de supraveghere la gripă, IACRS și SARI de rutină și, în special, de tip sentinelă, care implică nemijlocit monitorizarea virusologică a infecțiilor nominalizate. În acest scop, sistemul de rutină de supraveghere epidemiologică și virusologică la gripă, IACRS și SARI inclu-

de colectarea datelor privind numărul de cazuri înregistrate, spitalizate și decese prin aceste maladii – indicatori specifici, inclusiv cu colectarea probelor de la pacienții cu evoluție severă, în special cu SARI din CSP teritoriale. Realizarea supravegherii în cadrul sistemului de rutină se valorifică în perioada sezonului rece, începând cu săptămâna 40 a anului în curs până în săptămâna 20 a anului viitor. Excepție a făcut doar perioada anilor 2009-2010, când s-a declanșat prima pandemie de gripă a sec. XXI cauzată de virusul gripal de tip nou A(H1N1), tulpină denumită ulterior A(H1N1)pdm09 și sistemul de supraveghere a funcționat pe parcursul acestor ani. Iar din primăvara anului 2011, în baza recomandărilor OMS, ECDC și CDC s-a trecut la sistemul de supraveghere sezonier în perioada rece a anului.

De rând cu sistemul de rutină a fost implementat sistemul de supraveghere sentinelă care include 9 puncte sentinelă cu colectarea datelor ce țin de indicatorii specifici, cât și a indicatorilor nespecifici: absenteism, consumul de medicamente simptomatice și specifice, numărul de consultații și vizite la domiciliu, numărul de concedii medicale de scurtă durată, numărul de adresări la serviciul ambulanță, numărul total de internări în spital/secția de boli infecțioase și numărul de internări în secția/spitalul de boli infecțioase pe cauze de gripă, IACRS și SARI. Implementarea acestor sisteme a contribuit la fortificarea supravegherii epidemiologice, monitorizării sistematice a circulației virusurilor gripale, precum și la organizarea măsurilor adecvate de prevenire și control și în contextul integrării în rețelele de supraveghere regionale EuroFlu în perioada anilor 2008-2014, iar din 2014 rețeaua unificată a OMS și ECDC TESSy și globală FluNet ale Organizației Mondiale a Sănătății. Sistemul de supraveghere sentinelă, implementat în Republica Moldova funcționează pe parcursul întregului an, întru realizarea măsurilor de control și răspuns cu intervenții prompte în cazuri de urgență [191].

O parte componentă de o importanță majoră în cadrul sistemului de supraveghere clinico-epidemiologică și virusologică de tip sentinelă care a servit drept bază pentru inițierea acestui studiu este monitorizarea circulației virusurilor gripale. În acest scop, pe parcursul realizării studiului, a fost elaborat și perfecționat algoritmul de investigații la gripă, care a fost ajustat, respectiv, la recomandările OMS și rigorile impuse de pandemia din 2009-2010. Principiile de bază ale algoritmului de investigații la gripă constau în: colectarea, păstrarea și transportarea corectă a probelor de la pacienții care întrunesc definițiile de caz standard pentru Gripă, IACRS

și SARI elemente descrise în ordinele și dispozițiile Ministerului Sănătății menționate mai sus.

Actualmente, algoritmul de investigații la gripă a exsudatelor nazofaringiene colectate de la persoanele cu diagnosticul prezumtiv de „Gripă”, „IRVA” și „SARI” include două compartimente cheie: 1) segmentul care include nemijlocit detecția virusurilor gripale – ține de metoda de diagnostic molecular rRT-PCR și se încheie cu eliberarea buletinului de analiză și 2) compartimentul privind investigațiile de izolare, identificare, caracterizare antigenică genotipică și fenotipică ale tulpinilor de virusuri gripale circulante. Ultima etapă a inclus selectarea celor mai reprezentative tulpini de virusuri gripale similare cu cele circulante la nivel global întru argumentarea formulei coctailurilor vaccinale antigripale (fig. 3.35).

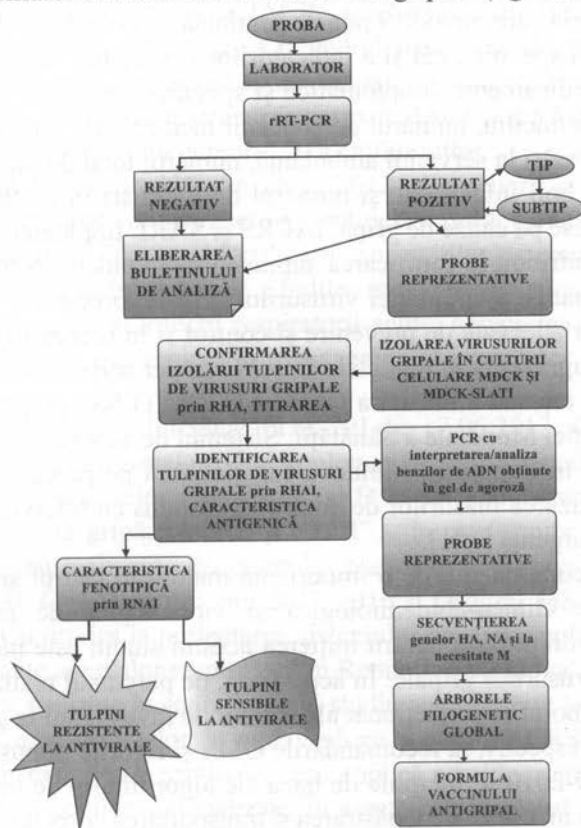


Fig. 3.35. Algoritmul investigațiilor de laborator la gripă

Realizarea cercetărilor în baza algoritmului prezentat, valorificat prin implementarea sistemului național de supraveghere clinico-epidemiologică și virusologică la gripă, IACRS și SARI permite de a studia și evalua particularitățile antigenice, genotipice și fenotipice ale tulpinilor de virusuri gripale circulante în Republica Moldova. Valorificarea acestui sistem racordat la exigențele OMS, ECDC și CDC contribuie la identificarea și studierea tulpinilor de virusuri gripale în cadrul Rețelei Globale de Supraveghere și Răspuns la Gripă (GISRS – Global Influenza Surveillance and Response System) din cadrul Rețelei Globale de Supraveghere la Gripă al OMS (WHO GISN – World Health Organization Global Influenza Surveillance Network) întru depistarea cât mai precoce a noilor substituții de aminoacizi care, probabil, ar putea influența atât patogenitatea, tropismul, cât și capacitatea de transmisie a virusurilor gripale de la o specie la alta, precum și posibilitatea de a evidenția factorii asociați reasortării virusurilor, în special în apariția de noi virusuri cu potențial pandemic [191].

Implementarea sistemului de supraveghere clinico-epidemiologică cu elemente de virusologie moleculară la gripă, IACRS și SARI prin realizarea măsurilor de control și răspuns, inclusiv în situații de urgență a făcut posibilă acreditarea de către OMS a laboratorului Epidemiologia infecțiilor respiratorii virale al Centrului Național de Sănătate Publică care la 18 martie 2013 a fost recunoscut ca Centru Național de Gripă și atestat ca membru al Sistemului Global de Supraveghere și Răspuns la Gripă al OMS (WHO GISRS) (Anexa 2, Anexa 3).

Așadar, realizarea investigațiilor virusologice în cadrul sistemului de supraveghere clinico-epidemiologică formează una din verigile principale ale acestui sistem și unul din obiectivele de bază care include identificarea tulpinilor de virusuri gripale emergente cu potențial epidemic și/sau pandemic.

Astfel, diagnosticul de laborator la gripă realizat prin supravegherea virusologică a virusurilor gripale circulante în Republica Moldova din cadrul sistemelor de supraveghere clinico-epidemiologică și virusologică la gripă, IACRS și SARI de rutină și sentinelă, parte componentă a activităților GISN al OMS – reprezintă elementul cheie, atât în selecția virusurilor gripale pentru vaccin, cât și în detecția timpurie a virusurilor emergente cu potențial pandemic întru pronosticarea situației epidemiologice.

Este necesar de menționat că veridicitatea rezultatelor obținute în acest

studiu a fost evaluată prin prisma pananelor de control extern de calitate al investigațiilor la gripă în cadrul Programelor de Evaluare a Controlului Extern de Calitate pentru Detecția virusurilor gripale de tip A prin PCR (External Quality Assessment Programme for the Detection of Influenza Virus Type A by PCR) organizate în cadrul Rețelei Globale de Supraveghere și Răspuns la Gripă al OMS și CDC (CDC Influenza Molecular Diagnostic Performance Evaluation Panel) cu obținerea scorului maxim pentru fiecare panel (Anexa 4).

3.22. Aspectele supravegherii epidemiologice și virusologice ale gripei, IACRS și SARI în anul 2016

Situația epidemiologică prin gripă, IACRS și SARI în Republica Moldova este sub supraveghere și monitorizare permanentă și se efectuează conform sistemului de supraveghere epidemiologică de rutină și sentinelă a gripei, IACRS, SARI ajustat la cerințele OMS, Centrului European de Control al Bolilor și Centrului de Control al Bolilor Atlanta, conectat la rețelele europene Euro Flu și global FluNet al OMS de supraveghere a gripei, IACRS și SARI. Sistemul include:

- Secția Supravegherea și controlul gripei și infecțiilor respiratorii virale;
- Laboratorul infecțiilor virale din cadrul CNSP;
- 9 puncte sentinelă (CSP Chișinău, Bălți, Căușeni, Cahul, Comrat, Edineț, Rezina, Soroca și Ungheni).

Monitorizarea sistemului de supraveghere și control al gripei, IACRS și SARI se efectuează în perioada săptămânilor 40–20, în baza algoritmului recomandat de OMS, ECDC și CDC Atlanta care include: supravegherea și monitorizarea geografică și tendințele procesului epidemic, circulația virusurilor gripale dominante și codominante, rezistența la preparatele antivirale și impactul asupra sistemului de sănătate.

Conform datelor de supraveghere epidemiologică, sporirea morbidității prin gripă s-a înregistrat din săptămâna 01/2016 și din săptămâna 48/2016. În sezonul 2015-2016 a atins apogeul în săptămâna 06/2016 ($5,2^{0/0000}$), iar în sezonul 2016-2017 a atins apogeul în săptămâna 51/2016 ($5,7^{0/0000}$). În anul 2016 au fost înregistrate 1660 ($46,7^{0/0000}$) cazuri de gripă clinică (în anul 2015 – 2003 ($56,3^{0/0000}$) cazuri), ceea ce constituie o diminuare a morbidității cu 17% față de anul precedent (fig. 3.36).

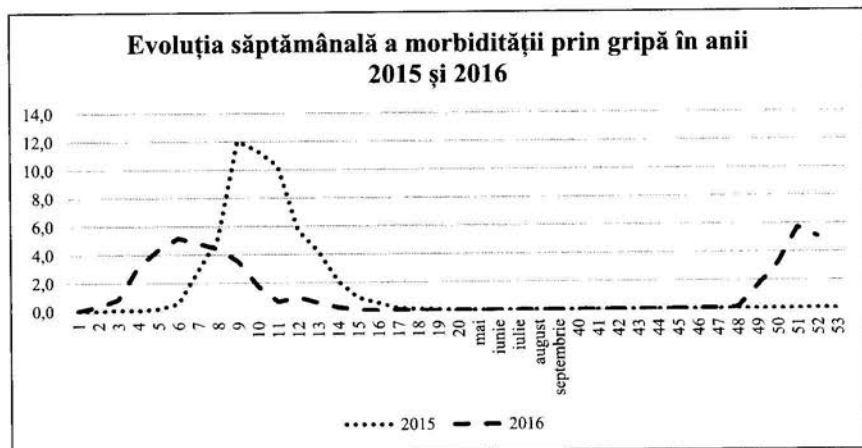


Fig. 3.36

Gripa a avut o răspândire geografică extinsă cu o intensitate medie a procesului epidemic și un impact moderat asupra sistemului de sănătate. Gripa a afectat preponderent persoanele cu vârsta cuprinsă între 5-14 ani (28,8%) și 30-64 ani (27,5%), iar persoanele ≥ 65 ani au fost afectate în proporție de 5,5%, comparativ cu anul trecut când persoanele cu vârsta între 30-64 ani au avut o pondere de 44,1% iar persoanele ≥ 65 ani – 8,9%.

În perioada 16 decembrie 2015 – 10 ianuarie 2016, conform ordinului MS nr.980 din 12.12.2016 „Privind vaccinarea contra gripei sezoniere către sezonul gripal 2016-2017” a fost organizată și realizată campania de vaccinare a contingentelor profesionale și cu risc sporit de îmbolnăvire cu utilizarea a 200 000 doze de vaccin antigripal recomandat de OMS pentru sezonul 2016 – 2017. În aceste contingente s-au încadrat: lucrători ai instituțiilor medico-sanitare publice, copiii instituționalizați în orfelinate, case și școli internat, copiii din focarele de tuberculoză, bolnavii cu diabet zaharat, cu insuficiență cardio-vasculară, cu boli cronice a aparatului respirator, persoanele în vârstă și invalizii instituționalizați în aziluri, personalul instituțiilor de asistență socială, efectivul poliției de frontieră, armatei naționale, trupelor de carabinieri etc.

Morbiditatea prin IACRS a sporit din săptămâna 01/2016 și din săptămâna 48/2016, depășind pragul epidemic pentru sezonul 2015-2016 ($313,96^{0/}_{0000}$) în săptămânile 05-07/2016, atingând apogeul în săptămâna

06/2016 ($371,6/_{0000}$) și depășind pragul epidemic pentru sezonul 2016-2017 ($311,19^0/_{0000}$) în săptămânile 50-52/2016, atingând apogeul în săptămâna 51/2016 ($447,5/_{0000}$), (fig. 3.37).

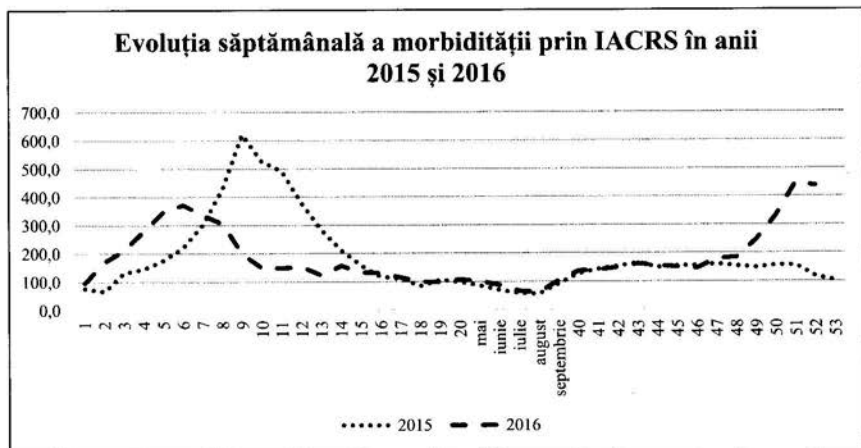


Fig. 3.37

În total, în anul 2016 au fost înregistrate 283344 ($7974,6^0/_{0000}$) cazuri de IACRS (în anul 2015 – 286153 ($8043,4^0/_{0000}$) cazuri), ceea ce demonstrează o situație similară cu anul precedent. Cazuri de IACRS s-au înregistrat în toate teritoriile administrative, afectând preponderent copiii (0-14 ani), ponderea cărora a constituit 65,5%, cu 5,2% mai mult față de anul 2015 (60,3%).

Morbiditatea prin SARI în anul 2016 a avut o evoluție constantă, nemanifestându-se printr-un apogeu comparativ cu anul 2015. În anul 2016 au fost înregistrate 37134 ($1045,1^0/_{0000}$) de cazuri SARI (în anul 2015 – 64726 ($1821,7^0/_{0000}$) cazuri), ceea ce constituie o reducere cu 42,6% (fig. 3.38). Cei mai afectați de SARI au fost copiii (0-4 ani) ponderea cărora a constituit 56,7%, urmat de grupa de vârstă 30-64 ani cu 15,6%, iar persoanele ≥ 65 ani au fost afectați în proporție de 12,4%, comparativ cu anul 2015 unde ponderea copiilor 0-4 ani a constituit cu 12,5% mai puțin, grupa de vârstă 30-64 ani – 9,3% mai mult, iar persoanele ≥ 65 ani au fost afectați în proporție de 9,9%.

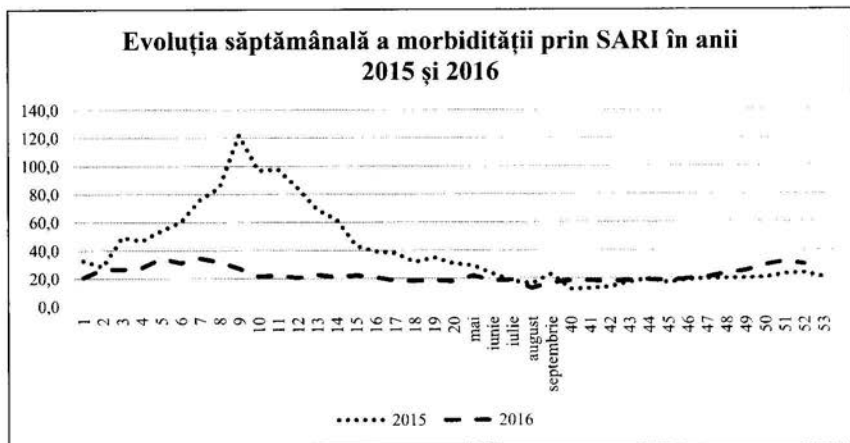


Fig. 3.38

Ponderea persoanelor spitalizate cu SARI din numărul total de spitalizări indiferent de cauză a constituit 7,4%, iar a cazurilor SARI asociate cu gripa, în baza diagnosticului de laborator din numărul total de probe investigate de la pacienții cu SARI – 20,6%, înregistrându-se 21 de decese (2 copii și 19 adulți) pe fundalul maladiilor preexistente (cardiopatie, diabet zaharat și insuficiență renală), tratamentului neadecvat și adresare tardivă după asistență medicală. Persoanele decedate nu au fost vaccinate contra gripei.

În anul 2016, pentru confirmarea diagnosticului clinic și detecția virusurilor gripale circulante de la bolnavii cu diagnosticul prezumtiv „Gripă”, „IACRS” și „SARI”, prin tehnici de biologie moleculară au fost investigate 695 probe de exsudate nazo-faringiene (tab. 3.15).

Tabelul 3.15

Rezultatele investigațiilor de laborator prin tehnici de biologie moleculară în timp real (rRT-PCR) la prezența virusurilor gripale în anul 2016 în dependență de diagnosticul clinic prezumtiv

Diagnostic clinic prezumtiv	Nr. probelor examinate	Total pozitive	Virusurile gripale detectate			
			A(H1N1) pdm	A(H3N2)	B	A(H1N1) pdm + A(H3N2)
Gripa	256	83	60	22	1	0
IACRS	277	86	39	44	2	1
SARI	162	89	55	33	1	0
Total	695	258	154	99	4	1

Din 695 probe investigate la gripă, a fost detectat ARN-ul virusurilor gripale în 258 (37,1%) cazuri, inclusiv în 154 cazuri (59,7%) ARN-ul virusului gripal A(H1N1)pdm09, în 99 cazuri (38,4%) ARN-ul virusului gripal A(H3N2), în 4 (1,5%) ARN-ul virusului gripal de tip B și în 1 (0,4%) ARN-ul virusurilor gripale A(H1N1)pdm09 + A(H3N2) (fig. 3.39). Astfel, s-a atestat, că gripa sezonieră în anul 2016 a fost etiologic cauzată de trei tipuri de virusuri gripale: A(H1N1)pdm09, A(H3N2) – virusuri gripale circulante codominante și de tip B.

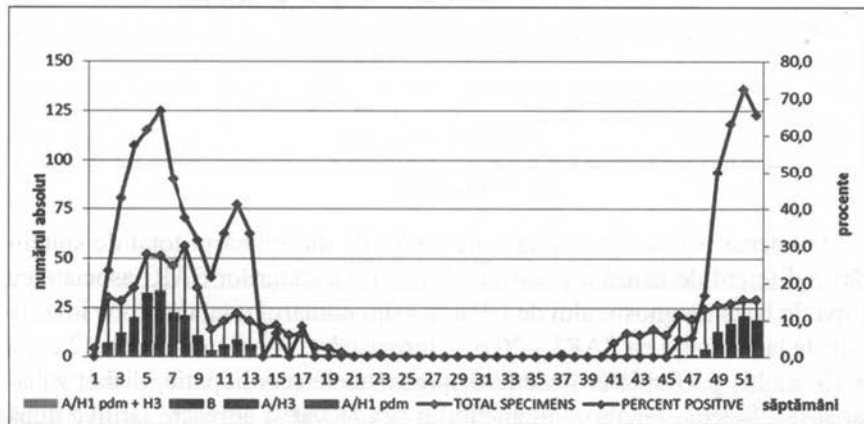


Fig. 3.39. Rezultatele investigațiilor de laborator la prezența virusurilor gripale în anul 2016

Este important de menționat, că din cele 277 de probe colectate de la pacienții cu diagnosticul prezumtiv „IACRS”, în baza investigațiilor de laborator prin tehnici de biologie moleculară în timp real (rRT-PCR) în 86 (31,0%) cazuri a fost detectat ARN-ul virusurilor gripale. Pe când, din 162 de specimene recoltate de la pacienții cu diagnosticul prezumtiv „Gripă” au fost confirmate doar 89 (54,9%) de probe cu prezența ARN-ul virusurilor gripale. Din 256 probe recoltate de la pacienții cu SARI, prezența ARN-ului virusurilor gripale a fost confirmată în 83 (32,4%) cazuri. Acest fapt demonstrează necesitatea de a ține cont de definițiile de caz a infecțiilor nominalizate, inclusiv recomandate de OMS și stipulate în ordinul MS nr. 824 din 31.10.2011, precum și de algoritmul de recoltare, păstrare și transportare a speciemenelor în laborator pentru efectuarea investigațiilor respective.

Pe culturi celulare MDCK au fost izolate și identificate 14 tulpini de virus gripal A(H1N1)pdm09 și 1 tulpină de virus gripal de tip B. Studierea proprietăților antigenice ale tulpinilor de virus gripal A(H1N1)pdm09 izolate în 2016 s-a realizat în reacția de hemaglutinare (RIHA) cu panelul de antiseruri/antigene de referință. În rezultat a fost scos în evidență că tulpinile de virus gripal A(H1N1)pdm09, circulante în Republica Moldova au prezentat similaritate antigenică înaltă față de antigenul de referință A/California/7/2009, tulpină inclusă în componența vaccinului antigripal recomandat de OMS pentru sezonul epidemic 2016-2017. Evidențierea și evaluarea particularităților genetice ale tulpinilor de virus gripal A(H1N1)pdm09, care implică și unele mutații neesențiale, demonstrează apartenența lor la cladele genele 6B.1 (13 tulpini) și 6B.2 (o tulpină). Evaluarea particularităților antigenice ale tulpinii de virus gripal B/Moldova/46.03/2016 a scos la evidență o reactivitate neesențială (40-80 HAU) față de majoritatea virusurilor de referință din panelul respectiv. Astfel, rezultatele generale indică la o reactivitate relativă a tulpinii cercetate cu panelul de virusuri de referință care, de fapt, sunt similare virusului vaccinal B/Brisbane/60/2008 și, deci, fac parte din același grup genetic 1A. Această legătură genetică, dar și apartenența la grupul genetic 1A este demonstrată la nivel de arbori filogenetici construiți în baza genelor HA și NA la nivel global. Toate tulpinile de virusuri gripale izolate au fost sensibile la Oseltamivir și Zanamivir.

Sistemul de supraveghere și control al gripei, IACRS și SARI elaborat la exigențele OMS, ECDC și CDC și implementarea acestuia în Republica Moldova, ne permite de a monitoriza în timp real răspândirea geografică, evoluția manifestării și intensitatea procesului epidemic, impactul asupra sistemului de sănătate, virusurile gripale dominante/codominante, originea și evoluția lor, rezistența la preparate antivirale și de a interveni prompt, la necesitate, cu măsuri de răspuns.

Pe parcursul anului 2016, specialiștii CNSP au realizat vizite de monitorizare și evaluare a situației epidemiologice în gripă, IACRS și SARI cu acordarea asistenței metodice și practice în 6 raioane (Ungheni, Căușeni, Edineț, Rezina, Comrat și Bălți).

Concluzii

1. Gripa în anul 2016 a avut o răspândire geografică extinsă cu o intensitate medie a procesului epidemic și impact moderat asupra sistemului de

sănătate. Preponderent au fost afectate persoanele cu vârsta între 5-14 ani (28,8%) și 30-64 ani (27,5%), iar persoanele ≥ 65 ani au fost afectate în proporție de 5,5%. Nivelul morbidității prin gripă în anul 2016 a diminuat cu 17% față de anul 2015.

2. Gripa a fost etiologic cauzată de trei virusuri gripale A(H1N1)pdm, A(H3N2) și B cu circulația codominantă a virusurilor gripale A(H1N1)pdm09 și A(H3N2). Tulpinile de virusuri gripale izolate au fost sensibile la remediile antigripale de ultimă generație: Oseltamivir și Zanamivir, recomandate de OMS pentru tratament și profilaxie.

3. În perioada 16 decembrie 2016 – 10 ianuarie 2017 au fost vaccinate contra gripei 200 000 persoane din contingentele profesionale și cu risc sporit de îmbolnăvire. De menționat că, cazurile letale au fost înregistrate la persoanele cu patologii preexistente și nevaccinate contra gripei.

4. IACRS s-a înregistrat în toate teritoriile administrative, afectând preponderent copiii (0-14 ani), ponderea cărora a constituit 65,5%. Nivelul morbidității prin IACRS a fost similar față de anul precedent, depășind pragul epidemic pentru sezonul 2015-2016, în săptămânile 05-07/2016 și pentru sezonul 2016-2017 în săptămânile 50-52/2016. Ponderea IACRS prezumtiv diagnosticate, dar confirmate cu prezența virusurilor gripale prin tehnici de biologie moleculară în timp real, a constituit 31,0%.

5. SARI s-au înregistrat în toate teritoriile administrative, afectând preponderent copiii (0-14 ani) ponderea cărora a constituit 56,7%. Nivelul morbidității prin SARI în anul 2016 s-a micșorat cu 42,6% față de anul precedent. Ponderea IACRS prezumtiv diagnosticate, dar confirmate cu prezența virusurilor gripale prin tehnici de biologie moleculară în timp real, a constituit 32,4%.

6. Ajustarea sistemului de supraveghere a gripei, IACRS și SARI la exigențele OMS, ECDC și CDC ne permite de a supraveghea și monitoriza în timp real răspândirea geografică, evoluția manifestării și intensitatea procesului epidemic, impactul asupra sistemului de sănătate, virusurile gripale dominante/codominante, originea și evoluția lor, rezistența la antivirale și de a interveni prompt, la necesitate, cu măsuri de răspuns.

Sarcini pentru anul 2017:

1. Evaluarea sistemului de supraveghere, control și monitorizare a gripei, IACRS și SARI și circulația virusurilor gripale în teritoriul Republicii Moldova.

2. Supravegherea epidemiologică și monitorizarea circulației virusurilor gripale în perioada spt.40/2017-20/2018.

3. Efectuarea studiului privind cunoștințele, atitudinile și practicile lucrătorilor medicali în domeniul imunizării împotriva gripei sezoniere și reacțiile la vaccinul antigripal cu elaborarea ghidului.

4. Acordarea asistenței organizator-metodice și practice IMSP și CSP puncte de sentinelă în supravegherea și controlul gripei, IACRS și SARI.

5. Elaborarea planului de acțiuni în imunizarea împotriva gripei sezoniere cu extinderea listei contingentelor profesionale și cu risc sporit de îmbolnăvire.

3.23. Studiarea cu identificare particularităților clinico-epidemiologice și virusologice ale infecției gripale, IRVA și SARI în sezonul epidemic 2015-2016.

În sezonul 2015-2016 primul caz de gripă s-a înregistrat în săptămână 52, anul 2015 la o persoană cu vîrstă 30 – 64 ani din raionul Ungheni confirmat prin investigații de laborator cauzat de virusul gripal A (H1N1) pdm09. Din săptămîna 01/2016 morbiditatea prin gripă sa aflat în creștere, atingînd apogeul 184 cazuri (5,17 ‰), urmată ulterior de o reducere succesivă pînă la 1 caz în săptămîna 17, anul 2016. În total în sezonul 2015-2016 au fost înregistrate 1099 (30,93‰) cazuri (în sezonul 2014-2015 – 2002 cazuri), afectînd preponderent (56,41%) persoanele cu vîrsta $15 \geq 65$ ani.

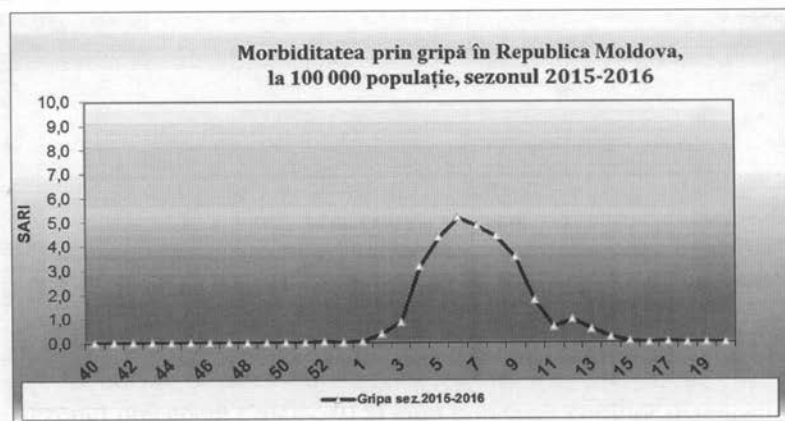


Fig. 3.40. Evoluția morbidității prin Gripă, în Republica Moldova 2015-2016

Gripa a avut o răspîndire geografică extinsă cu o intensitate medie 30,93%000 a procesului epidemic și un impact moderat asupra sistemului de sănătate, înregistrindu-se în 29 teritorii administrative ale Republicii Moldova. În 8 teritorii (raioanele Cantemir, Criuleni, Drochia, Dubăsari, Glodeni, Leova, Rîșcani și Vulcănești.) cazuri de gripa clinică nu s-au înregistrat. Cea mai înaltă morbiditate prin gripă 76 (86,8 %000) cazuri s-au înregistrat în raionul Florești, iar cea mai joasă 1 (1,19%000) în raionul Anenii-Noi.

În perioada noiembrie 2015 – decembrie 2015 conform, Ordinului MS nr.974 din 17.12.2015 a fost organizată și realizată campania de vaccinare a contingentelor cu risc sporit de infectare cu utilizare a 150000 doze de vaccin gripal trivalent recomandat de OMS pentru sezonul nominalizat. În special au fost vaccinate contingentele de populație cu risc sporit de infectare, inclusiv lucrătorii instituțiilor medico-sanitare publice, copiii, din focare de hepatite virale, focare de tuberculoză, gravidele, bătrînii și invalizii instituționalizați în aziluri, personalul instituțiilor de asistență socială.

Morbiditatea prin IRVA în sezonul nominalizat s-a aflat într-o creștere succesivă din săptămîna 01/2016 depășind pragul epidemic (313,96%000) în săptămînilor 05-07/2016, atingînd apogeul (371,59%000) în săptămîna 06/2016. Începînd cu săptămîna 08/2016 morbiditatea s-a aflat într-o descreștere treptată, reducîndu – se în săptămîna 20/2016 pînă la 107%000 cazuri.

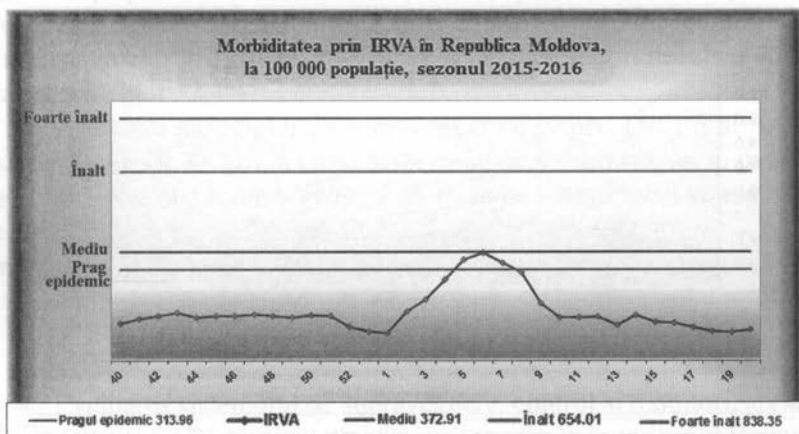


Fig. 3.41. Evoluția morbidității prin IRVA, în Republica Moldova 2015-2016

În total, pe parcursul sezonului 2015-2016 (spt. 40/2015 – spt. 20/2016) au fost înregistrate 204678/5760,54‰000 cazuri de IRVA, ceea ce constituie o reducere a morbidității cu 12,4% față de sezonul precedent. Infecțiile respiratorii virale acute s-au înregistrat în toate teritoriile administrative, afectând preponderent copiii (0-14 ani), ponderea cărora a constituit 63,67%, cu cea mai înaltă morbiditate (8987,72‰000 cazuri) în municipiul Bălți și cea mai joasă (589,7‰000 cazuri) în raionul Edineț.

Morbiditatea prin SARI din săptămîna 03/2016 s-a aflat în creșterea atingînd apogeul 34,42‰000 în săptămîna 07/2016, după care s-a atestat o reducere pînă la 17,8‰000 în săptămîna 20/2015. În total în perioada spt. 40/2015 – spt. 20/2016 au fost înregistrate 26367/742,08‰000 cazuri SARI, comparativ cu perioada analogică a sezonului precedent 61154/1718,96‰000 cazuri, ce constituie o reducere a morbidității prin SARI cu 57,0%. Cea mai înaltă morbiditate prin SARI (1098,0‰000 cazuri) s-a înregistrat în raionul Ciadîr-Lunga, iar cea mai joasă (83,0‰000 cazuri) în raionul Cahul.

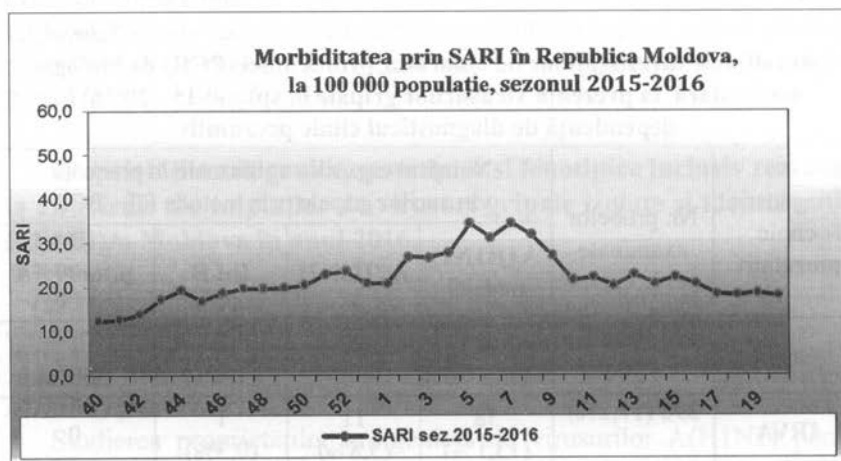


Fig. 3.42. Evoluția morbidității prin SARI, în Republica Moldova 2015-2016

Pe parcursul sezonului nominalizat cei mai afectați de SARI au fost copiii (0-14 ani) ponderea cărora a constituit 69,7%, fapt practic comparabil cu sezonul precedent (2014-2015) cînd ponderea copiilor diagnosticați cu SARI a constituit 57,0%.

Ponderea persoanelor spitalizate cu SARI a constituit 8,3%, iar a ca-

zurilor SARI asociate cu gripa, în baza diagnosticului de laborator 29,5%, înregistrându-se 21 de decese (2 copii și 19 adulți, gravide) pe fondalul maladiilor preexistente (cardiopatie, diabet zaharat, insuficiență cardiacă, hepatică, renală, obezitatea) adresării și inițierii tardive a tratamentului, frecvent neutilizând produse antivirale (antigripale) recomandate de OMS, oseltamivir și zanamivir.

Analiza și evaluarea structurii etiologice ale gripei, IRVA și SARI în sezonul 2015-2016.

În sezonul epidemic 2015-2016, pentru confirmarea diagnosticului clinic prezumptiv și identificarea virusurilor gripale în biosubstratele recoltate de la pacienții diagnosticați clinic cu Gripă, IRVA și SARI prin tehnici de biologie moleculară (PCR) au fost testate 665 probe de exudate nazo-faringiene, numărul investigațiilor constituind 1904, iar al probelor pozitive la virusurile gripale A(H1N1)pdm09, A(H3N2), Inf.B și A(H1N1) pdm09 + A(H3N2) – 187 (28,1%)

Tabelul 3.14

Rezultatele investigațiilor de laborator prin tehnici (PCR) de biologie moleculară la prezența virusurilor gripale în spt.(40/15 –20/16) în dependență de diagnosticul clinic prezumptiv

Diagnostic clinic prezumptiv	Nr. probelor examinate	Numărul cazurilor confirmate la prezența virusurilor gripale prin metoda RT - PCR			
		A (H1N1) pdm09	A (H3N2)	Inf B	A(H1N1) pdm09 +A (H3N2)
Gripa	124 (50,8%)	55 (44,4%)	5 (4,0%)	2 (1,6%)	1 (0,8%)
IRVA	290 (17,2%)	38 (13,1%)	11 (3,8%)	1 (0,3%)	0
SARI	251 (29,5%)	66 (26,3%)	7 (2,8%)	1 (0,4%)	0
Alt diagnostic	0	0	0	0	0
Total	665 (28,2%)	159 (23,9%)	23 (3,5%)	4 (0,6%)	1 (0,2%)

De menționat că din totalul de probe examinate de la pacienții (124) cu diagnosticul clinic prezumptiv „Gripă” virusurile gripale au fost identificate în următorul algoritm: A (H1N1) – 55 (44,4%), A (H3N2) – 5 (4,0%), Inf. B – 2 (1,6%), A(H1N1) pdm09 +A (H3N2) – 1 (0,8%). Investigarea pacienților cu IRVA a demonstrat următoarele: A (H1N1) – 38 (13,1%), A (H3N2) – 11 (3,8%), Inf. B – 1 (0,3%), iar a celor cu diagnosticul prezumptiv SARI a evidențiat următoarele virusuri gripale, A (H1N1) – 66 (26,3%), A (H3N2) – 7 (2,8%), Inf. B – 1 (0,4%).

Evaluarea rezultatelor privind structura etiologică a gripei în sezonul nominalizat demonstrează că tulpina dominantă a fost A(H1N1)pdm09, tulpinei codominante A (H3N2) i se atribuie un rol nesemnificativ 3,5%. Concomitent este necesar de a menționa ca în 17,2% la pacienții cu diagnosticul clinic prezumptiv IRVA au fost identificate virusurile gripale (tab.1). Aceste circumstanțe demonstrează necesitatea optimizării aplicării în teritorii a definițiilor standarde de caz suspect, caz probabil și caz confirmat recomandate de OMS, ECDC, CDC, care în consecință vor avea un impact pozitiv asupra realizării măsurilor de control și răspuns la gripă, inclusiv asupra eficacității tratamentului special antiviral realizat cu utilizarea produselor antigripale de ultima generație: Oseltamivir și Zanamivir.

Proprietățile antigenice, genotipice și fenotipice inclusiv rezistența la antivirale ale tulpinilor de virusuri gripale izolate și identificate în Republica Moldova în anul 2016.

Pe culturi celulare MDCK au fost izolate și identificate 15 tulpini de virusuri gripale, inclusiv 14 A (H1N1) pdm09 și 1 tulpină B/Victoria.

Particularitățile antigenice și genetice ale tulpinilor de virus gripal A(H1N1) pdm09.

Studierea proprietăților antigenice ale virusurilor A(H1N1) pdm09 izolate și identificate în anul 2016 s-a realizat în rezultatul efectuării testului de hemaglutinoinhibare (HAI) cu seruri imune față de virusurile gripale A/California/7/2009, A/Bayern/69/2009, A/Lviv/N6/2009, A/Chistchurch/10/2010, A/Astrakhan/1/2011, A/St.Petersburg/27/2011, A/St.Petersburg/100/2011, A/Hong Kong/5659/2012, A/South Africa/3626/2013, A/Slovenia/2903/2015. Rezultate acestui studiu sunt ilustrate în tabelul 3.15.

Tabelul 3.15
Analiza antigenică a tulpinelor de virus gripal A(H1N1)pdm09 izolate și identificate în sezonul 2015-2016.

Virusurile	Grup genetic	Data	Istoricul pasagerilor	Titlul de inhibare a hemaglutinării																						
				Seruri de referință (seruri de nevastăică)																						
				A/Cal/VBayerm 7/09	A/Lviv 69/09	A/Chch/Astrak N6/09	A/St.P 1/11	A/St.P 27/11	A/HK/USth Afr 100/11	A/St.P 5659/12	A/St.P 3626/13	A/St.P 3103/2015	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	
				NIBSC	MDCK	Egg	MDCK	Egg	MDCK	Egg	MDCK	Egg	F05/14	F09/15 ¹	F14/13 ¹	F15/14 ¹	F22/13 ¹	F26/14 ¹	F24/11 ¹	F30/12 ¹	F03/14 ¹	F02/16 ²	6A	6B	6B.1	
Virusurile de referință																										
A/California/7/2009	1	2009-04-09	NIBSC	E4/E3	1280	320	320	320	320	640	320	1280	1280	640	320	1280	1280	640	320	1280	1280	640	320	1280	640	640
A/Bayern/69/2009	1	2009-07-01	MDCK5/MDCK1		<	320	320	160	80	40	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80
A/Lviv/16/2009	1	2009-10-27	MDCK4/SIAT/1		80	1280	1280	320	80	80	80	80	160	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80	80
A/Christchurch/16/2010	4	2010-07-12	E1/E3		1280	1280	1280	2560	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640
A/Astrakhan/1/2011	5	2011-02-28	MDCK1/MDCK3		1280	640	640	1280	1280	640	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560
A/St. Petersburg/27/2011	6	2011-02-14	E1/E4		1280	640	640	640	1280	640	1280	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640
A/St. Petersburg/1/00/2011	7	2011-03-14	E1/E3		1280	1280	1280	640	1280	1280	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560
A/Hong Kong/5659/2012	6A	2012-05-21	MDCK4/MDCK2		320	160	320	320	320	320	320	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640
A/South Africa/3626/2013	6B	2013-06-06	E1/E3		640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640
A/Slovenia/2903/2015 clone 37	6B.1		E4		1280	640	640	640	2560	2560	1280	5120	2560	1280	5120	2560	1280	5120	2560	1280	5120	2560	1280	5120	2560	1280
Virusurile testate																										
A/Moldova/62.03/2016	6B.1	2016-01-22	MDCK1		1280	1280	320	640	1280	640	1280	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640
A/Moldova/59.03/2016	6B.1	2016-01-21	MDCK1		1280	640	320	640	1280	640	1280	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640
A/Moldova/45.03/2016	6B.1	2016-01-20	MDCK1		1280	640	320	640	1280	640	1280	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640
A/Moldova/47.03/2016	6B.1	2016-01-20	MDCK1		1280	640	320	640	1280	640	1280	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640
A/Moldova/48.03/2016	6B.1	2016-01-20	MDCK1		640	320	160	320	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640	640
A/Moldova/682.52/2015	6B.2	2015-12-22	MDCK3/MDCK1		1280	640	640	640	1280	1280	1280	1280	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640
A/Moldova/55.03/2016	6B.1	2016-01-18	MDCK1		1280	1280	320	640	1280	640	1280	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640
A/Moldova/57.03/2016	6B.1	2016-01-16	MDCK1		1280	640	320	640	1280	640	1280	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640
A/Moldova/34.02/2016	6B.1	2016-01-15	MDCK1		1280	640	640	640	1280	640	1280	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640
A/Moldova/32.02/2016	6B.1	2016-01-14	MDCK1		1280	640	320	640	1280	640	1280	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640
A/Moldova/7.02/2016	6B.1	2016-01-12	MDCK1		1280	640	320	640	1280	640	1280	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640
A/Moldova/16.02/2016	6B.1	2016-01-11	MDCK1		1280	640	640	640	1280	640	1280	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640
A/Moldova/26.02/2016	6B.1	2016-01-11	MDCK1		1280	1280	640	640	1280	640	1280	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640	2560	640
A/Moldova/58.03/2016	6B.1	2016-01-19	MDCK2		640	320	160	320	640	320	640	320	640	320	640	320	640	320	640	320	640	320	640	320	640	320

În testul de hemaglutinoinhibare (HAI) 12 tulpini de virus gripal A(H1N1)pdm09 au reacționat în titru 1:1280, iar două tulpini în titri 1:640 cu serul imun față de tulpina A/California/7/2009. Așadar a fost stabilit că tulpinile de virus gripal A(H1N1)pdm09 izolate în Republica Moldova după structura antigenică sunt similare cu tulpina A/California/7/2009.

Pentru aprecierea structurii antigenice B/Moldova/46.03.2016 în testului de hemaglutinoinhibare (HAI) au fost utilizate serurile imune față de tulpinile B/Malaysia/2506/2004, B/Brisbane/60/2008, B/Paris/1762/2009, B/Hong Kong/514/2012, B/Odessa/3886/2010, B/Malta/636714/2011, B/Iohansburg/3964/2012, B/Formosa/v2367/2012, B/South Australia/81/2012. Rezultatele sunt prezentate în tabelul 3.16.

Tulpina B/Moldova/46.03.2016 în testul de HAI a reacționat în titrul 1:640 cu serul imun față de tulpina B/Brisbane/60/2008, iar cu alte seruri imune în titre 1:40 – 1:80.

În rezultatul acestui studiu sa stabilit, că după structura antigenică tulpina B/Moldova/46.03.2016 este similară cu tulpina B/Brisbane/60/2008.

Secvențierea genei HA și genei NA a virusurilor gripale izolate A(H1N1)pdm09 a demonstrat ca gena HA în treisprezece cazuri din patrusprezece codifică substituțiile S84N, S16N și I216T în HA1, modificări asociate cu virusurile grupului genic 6B1. O tulpină de virus A(H1N1)pdm09 (izolată în 2015) a indicat o genă care a codificat pozițiile V152T, V173I în HA 1 și E164C și D174E în HA 2 modificări asociate virusurilor subgrupului 6B2. Gena NA s-a grupat similar. Este important de menționat ca ambele grupe genetice identificate în Republica Moldova nu diferă antigenic de tulpinile virusului gripal incluse în coctailul vaccinal.

Analiza antigenică a tulpinei de virus gripal B izolat și identificat în sezonul 2015-2016.

		Titlul de inhibare a hemaglutinării											
		Seruri de referință (seruri de nevastăică)											
Virusurile	Grup genetic	Data	Istoricul pasajelor	BI/Bris	BI/Mal	BI/Bris	BI/Paris	BI/Malta	BI/Jhb	BI/For	BI/Sth	Aus	BHK B/Odessa
Istoricul pasajelor				60/08	2506/04	60/08	1762/09	636714/11	3964/12	V2367/12	81/12	514/09	3886/10
Numărul serurilor de nevastăică				Sh. 539/540 /543/544 ^{1,3}	F37/11 ²	F22/12 ²	F07/11 ²	F29/13 ²	F01/13 ⁴	F04/13 ⁴	F41/13 ²	F09/13 ²	F19/11 ²
Grup genetic				1A		1A	1A	1A	1A	1A	1A	1A	1B
Virusurile de referință													
BI/Malaysia/2506/2004		2004-12-06	E3/E7	640	320	20	<	80	160	80	160	10	<
BI/Brisbane/60/2008	1A	2008-08-04	E4/E5	640	40	160	40	320	320	320	640	40	40
BI/Paris/1762/2009	1A	2009-02-09	C2/MDCK2	640	<	<	80	40	80	80	80	40	40
BI/Malta/636714/2011	1A	2011-03-07	E4/E1	640	40	160	40	320	320	320	640	40	40
BI/Johannesburg/3964/2012	1A	2012-08-03	E1/E2	2560	320	640	160	1280	1280	1280	1280	160	80
BI/Formosa/V2367/2012	1A	2012-08-06	CK1/MDCK3	1280	40	80	40	160	320	320	320	40	40
BI/South Australia/81/2012	1A	2012-11-28	E4/E2	640	40	80	40	160	320	160	640	40	40
BI/Hong Kong/514/2009	1B	2009-10-11	MDCK3	640	<	<	80	40	40	40	40	40	80
BI/Odessa/3886/2010	1B	2010-03-19	C2/MDCK2	640	<	<	80	80	80	80	80	40	80
Virusurile testate													
BI/Moldova/46.03/2016		2016-01-16	MDCK1	640	<	<	80	40	40	80	80	40	40

Phylogenetic comparison of influenza A(H1N1pdm09) HA genes

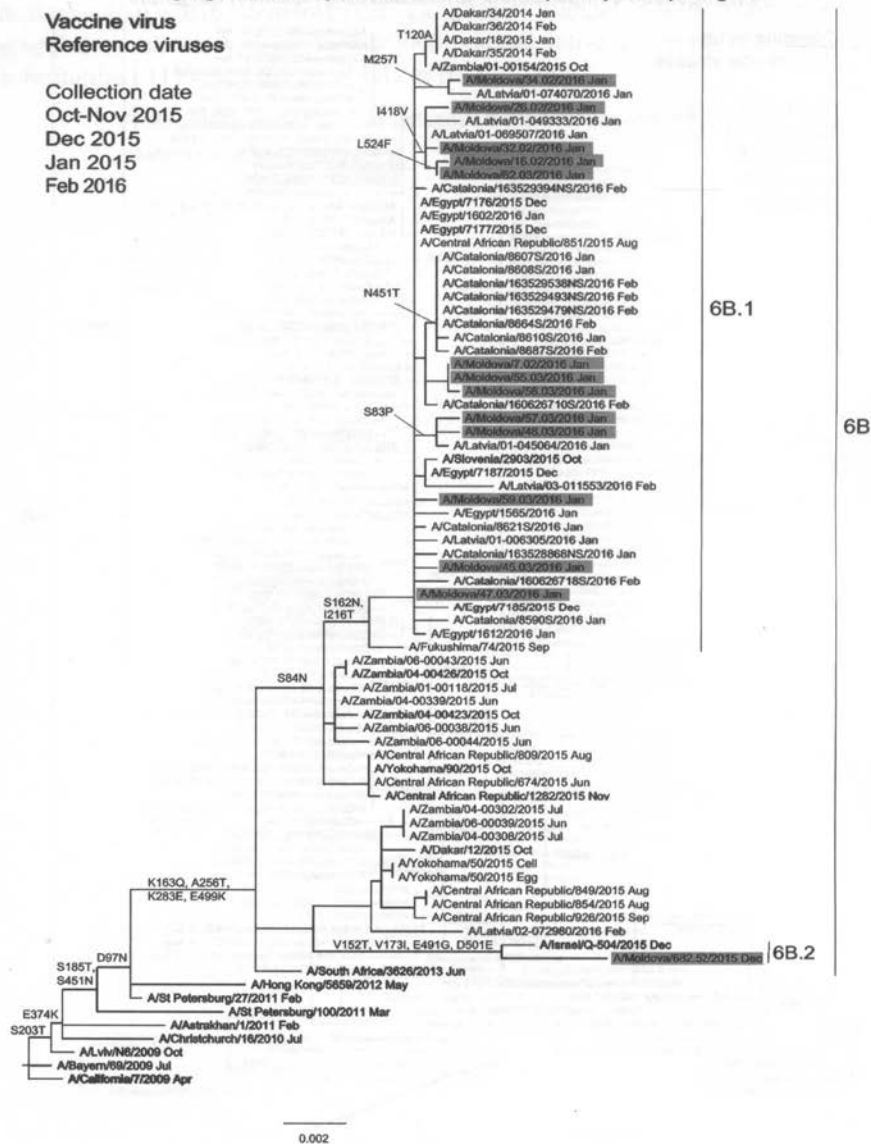


Fig. 3.43. Compararea filogenetică a tulpinilor de virus gripal A(H1N1) pdm09, în baza genei HA

Phylogenetic comparison of influenza A(H1N1pdm09) NA genes

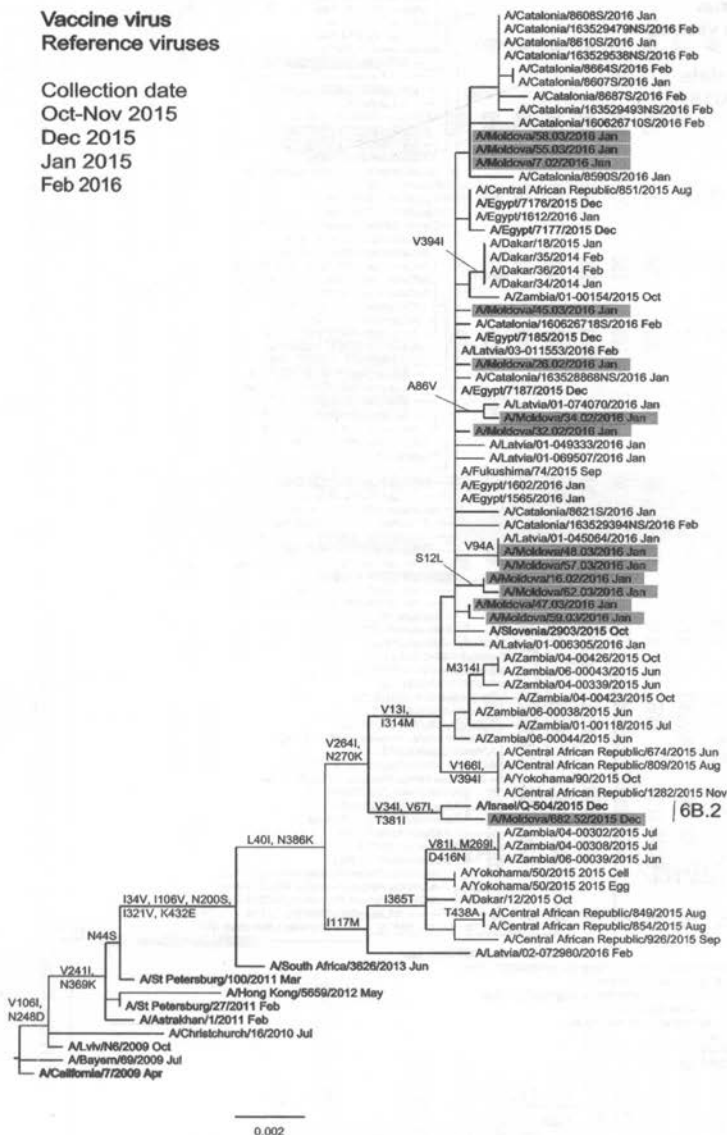


Fig. 3.44. Compararea filogenetică a tulpinilor de virus gripal A(H1N1) pdm09, în baza genei NA

Analiza secvențială a genei HA și a genei NA a tulpinii de virus B/ Moldova/46.03/2016 demonstrează ca genele tulpinei nominalizate aparțin grupului genetic 1 A, Brisbane/60/2008, clasate într-o subgrupă care codifică substituțiile I 117V, V 146I și N129D în HA1.

Phylogenetic comparison of influenza B (Victoria-lineage) HA genes

Reference viruses

Collection date

Oct 2015
Nov 2015
Dec 2015
Jan 2016

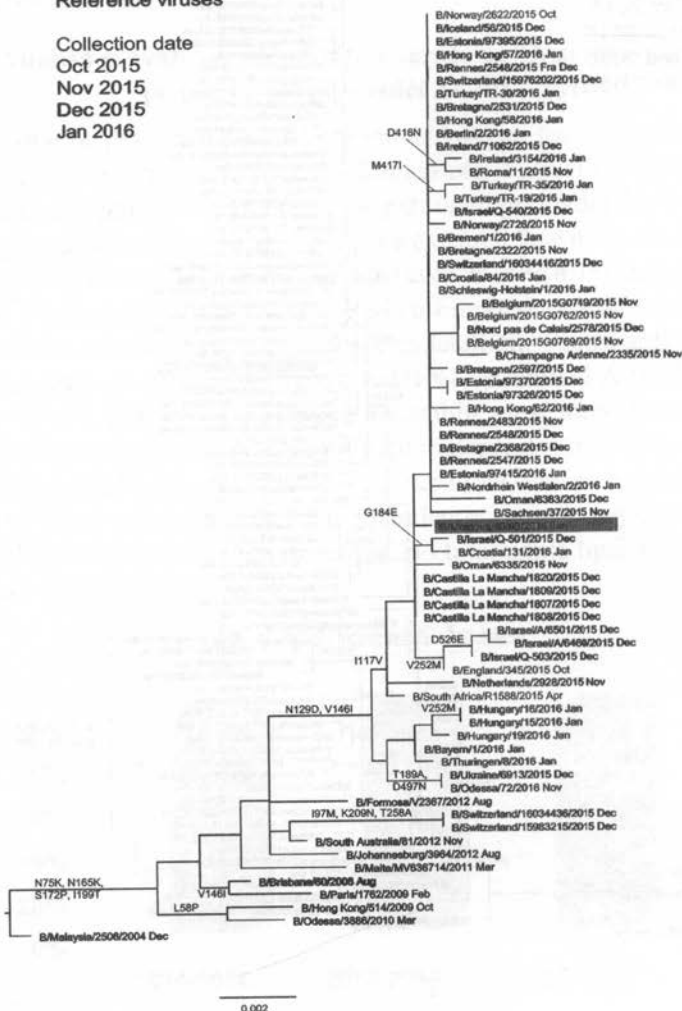


Fig. 3.45. Compararea filogenetică a tulpinei de virus gripal B/ Moldova/46.03.2016, linia Victoria în baza genei HA

Phylogenetic comparison of influenza B (Victoria-lineage) NA genes

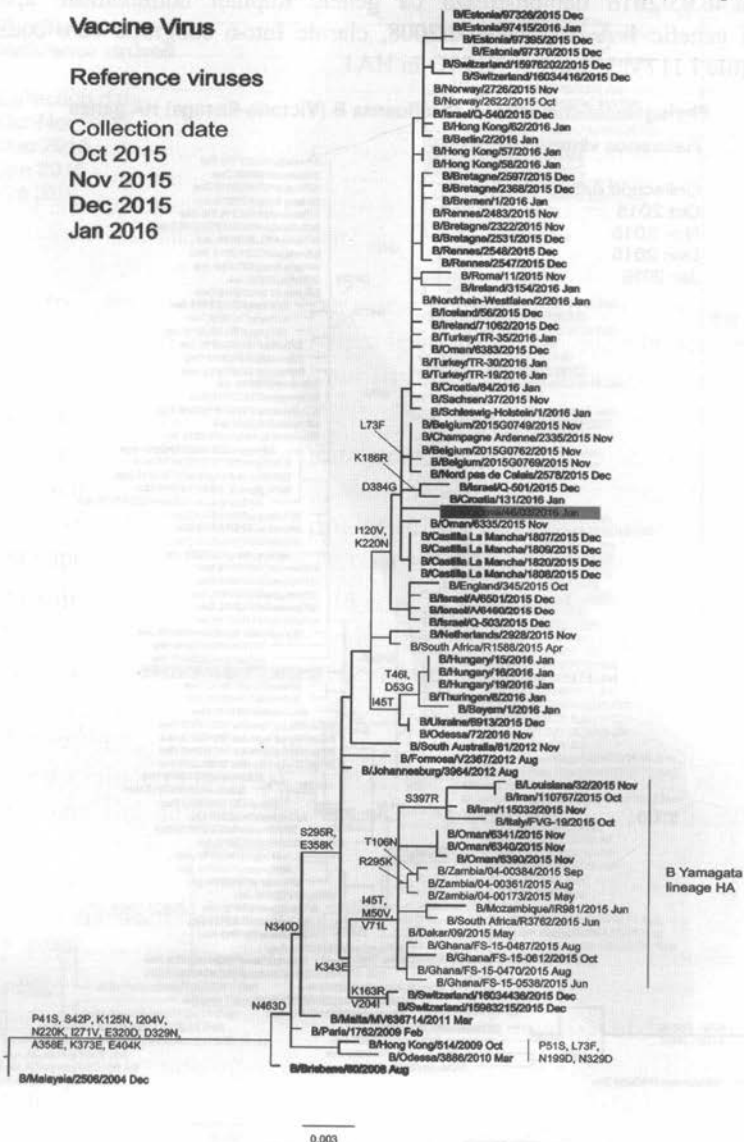


Fig. 3.46. Compararea filogenetică a tulpinei de virus gripal B/ Moldova/46.03.2016, linia Victoria în baza genii NA

Rezistența la antivirale.

Testele de inhibare a activității neurominidazei au demonstrat ca toate cele patrusprezece tulpini de virus gripal A(H1N1)pdm09 și una de virus gripal B/Moldova/46.03.2016 izolate în Republica Moldova sunt sensibile la produsele medicamentoase antigripale de ultima generație: Oseltamivir și Zanamivir.

Analiza și evaluarea letalității cauzate de virusurile gripale pe parcursul perioadei aa.2014-2016

În total pe parcursul perioadei nominalizate au fost înregistrate 42 decese cauzate de gripă, etiologic confirmată prin tehnici de biologie moleculară. În dependența de gen (sex) pe parcursul perioadei 2014-2016 nu a fost evidențiată o diferență semnificativă excepție face perioada 2015-2016 unde ponderea letalității pentru bărbați a constituit +38,1% iar pentru femei 61,9%. Credem că pentru o analiza mai aprofundată care ar elucida această diferență se cer studii suplimentare. Rata letalității pentru anii 2015-2016 în dependența de virusurile gripale A(H1N1) pdm09 și A (H3N2) a constituit 10,8% și 0,5% respectiv, în ansamblu acest indicator a constituit 11,3%. Diferența privind rate mortalității în dependența de formula virusului gripal parțial poate fi explicată prin faptul că tulpina A(H1N1) pdm09 a fost un virus emergent cu potențial pandemic cu care majoritate absolută a populației umane nu s-a confruntat, fiind totalmente lipsită de rezistență naturală. (Fig 3.47, Tab.3.17).

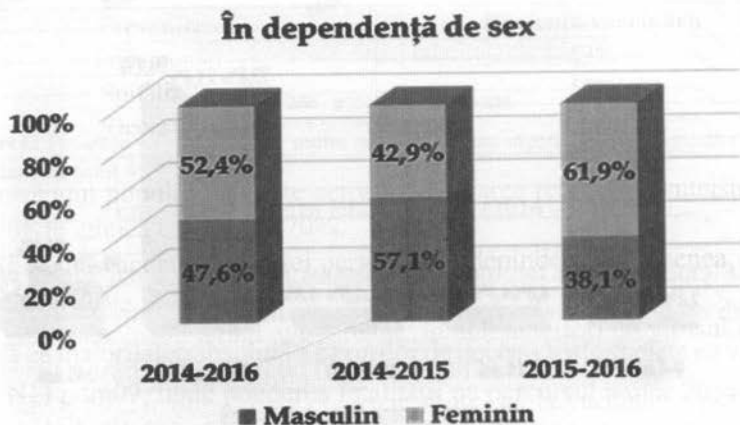


Fig 3.47. Ponderea letalității (I) (2014 – 2016)

Decese asociate cu gripa (2015 – 2016)

Sezonul	Cazuri de gripă confirmate	Cazuri letale (confirmate PCR)	Rata letalității, %
2015 – 2016 (spt.40-20)	186	20 (A(H1N1)pdm09)	10.8%
		1 (A(H3N2))	0.5%
		Total - 21	11.3%

Evaluarea mortalității în dependența de vîrstă demonstrează ca cele mai afectate au fost persoanele în grupa de vîrstă 30-64 ani, unde ponderea lor în perioada 2014-2016 a variat de la 71,4% pînă la 76,1%. În restul grupelor de vîrstă ponderea letalității a constituit de la 2,4% pînă la 19,0%. Letalitatea redusă la gripă în populație de vîrstă >65 ani parțial poate fi explicată prin prezența anticorpilor anti A(H1N1)pdm09, ca urmare a contactului acestei categorii de populație pe parcursul vieții cu virusul menționat.

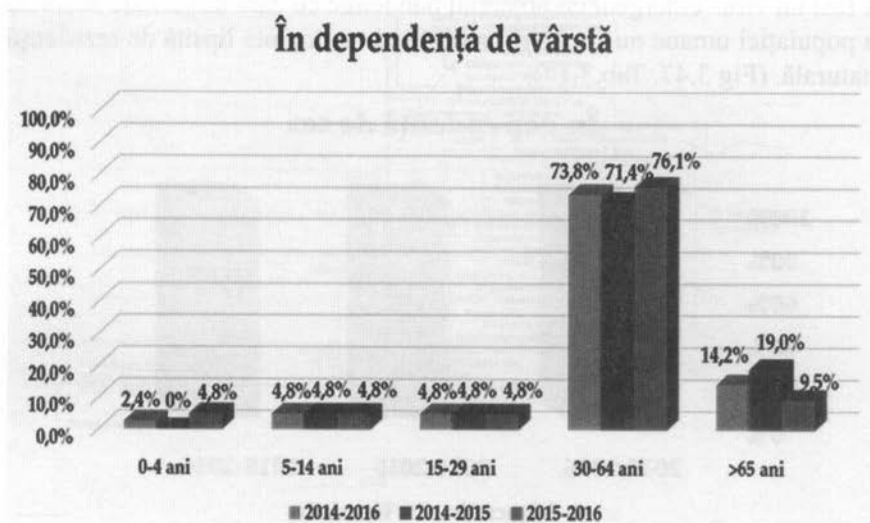
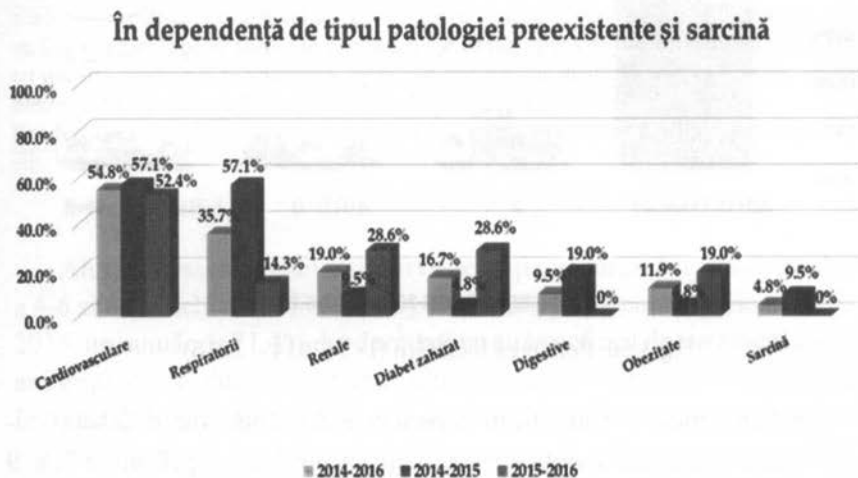


Fig.3.48. Ponderea letalității(II) (2014–2016)

Prezintă interes analiza și evaluarea structurii letalității în dependența de tipul patologiei preexistente și sarcină. Patologiile cardiovasculare au fost asociate cu mortalitatea pe parcursul perioadei 2014-2016 în 52,4% - 54,8%, respiratorii 14,3% - 57,1%, renale 9,5%-28,6%, diabet zaharat 4,8-19,0%, sarcina 4,8-9,5. Ponderea pacienților cu două și mai multe patologii preexistente pentru perioada 2014-2016 a constituit 45,2%. Explicațiile pot fi diferite, dar pentru patologii cardiovasculare care se asociază cu un procent semnificativ de letalitate în gripă, posibil că una din cauzele de bază este ventilarea insuficientă a pulmonilor, circumstanțe reale pentru dezvoltarea pneumoniilor postgripale. (Fig. 3.48).



Remarcă: Pacienții cu două și mai multe patologii preexistente pentru perioada (2014 – 2016) au constituit 45,2%

Fig. 3.49. Ponderea letalității (III) (2014 – 2016)

De asemenea cere de a fi scoasă din anonim structura letalității în dependență de virusul identificat. Analiza rezultatelor prezentate demonstrează că majoritatea absolută a cazurilor de deces a fost asociate cu virusul A(H1N1) pdm09, unde ponderea letalității pe parcursul anilor 2014-2016 a variat de la 81,0% pînă la 95,2%. Ponderea deceselor asociate cu virusurile gripale A (H3N2), B și A(H1N1) pdm09 + B a constituit de la 2,4%

la 14,3%. Corelația (legătura) puternică a deceselor cu virusul A(H1N1) pdm09 poate fi explicată prin următoarele, aceasta tulpină imbină material genetic gripal de origine aviară, porcină și umană, prin urmare a fost o tulpină emergentă, extrem de virulentă în special pentru femeile însărcinate, persoanele imunocompromise în special de vîrstă tînă și medie și cele cu patologii preexistente. (Fig.3.49).

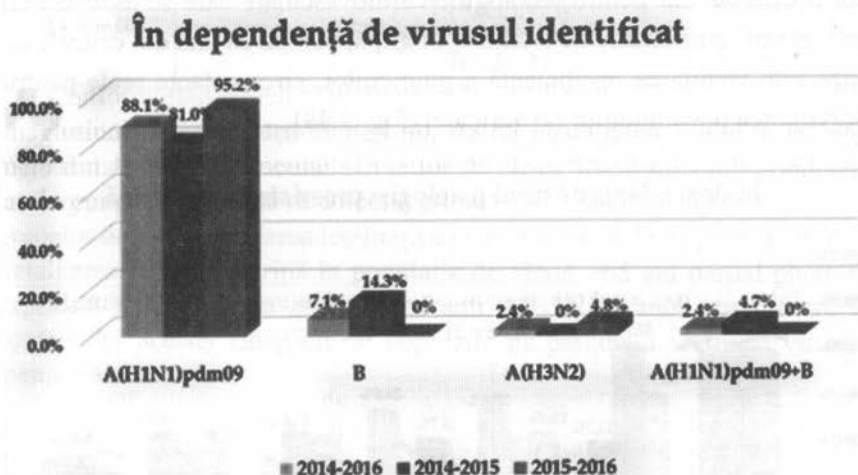
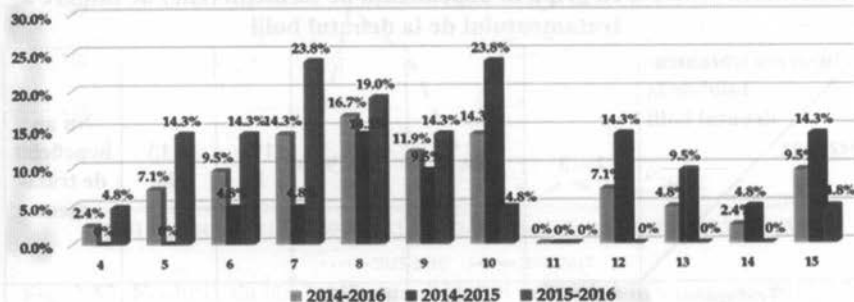


Fig.3.50. Ponderea letalității (IV) (2014 – 2016)

Analiza ponderii letalității în dependență de săptămînă decesului demonstrează o pondere sporită a mortalității începînd cu săptămînile 7, 8, 9 și 10 ale procesului epidemic. Probabil aceste circumstanțe pot fi explicate prin intensitatea sporită a procesului epidemic în săptămînile indicate, caracterizat prin-o rată sporită de izolare a virusurilor gripale cu virulență înaltă, astfel constituind un risc sporit de infectare a populației în special în săptămînile indicate. Urmare a nivelului ridicat de îmbolnăviri semnificativ a crescut riscul dezvoltării complicațiilor, inclusiv a pneumoniilor postgripale, care a constituit una din principalele cauze ale mortalității. (Fig.3.50).

În dependență de săptămâna decesului



săptămâna

Remarcă: Toate cele 42 persoane decedate nu au fost vaccinate contra gripei. Pe parcursul sezonelor reci în perioada anilor 2014 – 2016 cu câte 150000 doze de vaccin anti-gripal au fost imunizate persoanele din contingentele cu risc sporit de îmbolnăvire (copii și adulții cu maladii cronice și tuberculoză, lucrătorii instituțiilor medico-sanitare publice, gravide, efectivul MAI, efectivul Armatei Naționale, bătrânii, invalizii, etc.). Ponderea persoanelor imunizate cu vaccin anti-gripal din numărul total de populație a constituit 4,3%.

Fig.3.51. Ponderea letalității (V) (2014 – 2016)

Alt factor asociat letalității servește inițierea tardivă a tratamentului la a 4-6 zi de la debutul bolii (42,9%). Mai mult, pe parcursul perioadei 2015-2016, un număr de 71,4% din decedați nu au beneficiat de tratament specific antigripal cu produse antivirale de ultima generație oseltamivir (zanamivir). E regretabil faptul că 28,6% din decedați au inițiat tratamentul tardiv la ziua 6-9 de boală, cu toate că OMS recomandă inițierea tratamentului în primele 48 ore, ori inițiat mai târziu semnificativ scade eficacitatea lui. (Tab.3.18).

Este foarte important de menționat, că absolut toate persoanele decedate nu au fost vaccinate contra gripei cu vaccin gripal recomandat de OMS, CDC, ECDC pentru sezonul respectiv, cu toate că făceau parte din contingentele cu risc sporit de contractare a gripei și de dezvoltare a complicațiilor postgripale, în special pneumonii deseori incompatibile cu viața.

Letalitatea asociată cu gripa în dependență de termenii (zile) de inițiere a tratamentului de la debutul bolii

Inițierea tratamentului de la debutul bolii							Nu au beneficiat de tratament
		1 – 3	4 – 6	7 – 9	10 – 12	> 13 zile	
Sezoane	Tratament simptomatic antiviral nespecific	8 (38,1%)	9 (42,9%)	2 (9,5%)	0	2 (9,5%)	0
	Tratament antiviral cu oseltamivir (zanamivir)	-	3 (14,3%)	3 (14,3%)	-	-	15 (71,4%)

Remarcă: (-) nu a fost aplicat tratament antiviral cu oseltamivir și zanamivir. În 57,2% tratamentul simptomatic inclusiv specific a fost inițiat începând cu ziua a 4-a de la debutul bolii.

3.24. Evaluarea particularităților epidemiologice ale gripei, IACRS și SARI în sezonul gripal 2016/2017

În sezonul 2016/2017 au fost înregistrate 1130 cazuri de gripă clinică, nivelul morbidității prin gripă fiind practic la același nivel ca și în sezonul precedent. Activitatea gripală a debutat mult mai devreme, însă o situație similară s-a înregistrat și în alte țări din Europa. Gripa a avut o răspândire geografică regională și locală cu o intensitate medie a procesului epidemic și un impact moderat asupra sistemului de sănătate, înregistrându-se la populația Republicii Moldova în 23 teritorii administrative din 37. Primul caz de gripă clinică înregistrat și confirmat prin tehnici de biologie moleculară (PCR) a fost în săptămâna 46/2016 în municipiul Chișinău, urmând apoi o creștere a numărului de cazuri de gripă până la 5,7 la 100.000 populație în săptămâna 51/2016, descrescând până în săptămâna 04/2017 până la 28 cazuri, și în continuare înregistrându-se tot mai puține cazuri până la sfârșitul sezonului ajungând la 6 cazuri în spt.20/2017 (fig. 3.51).

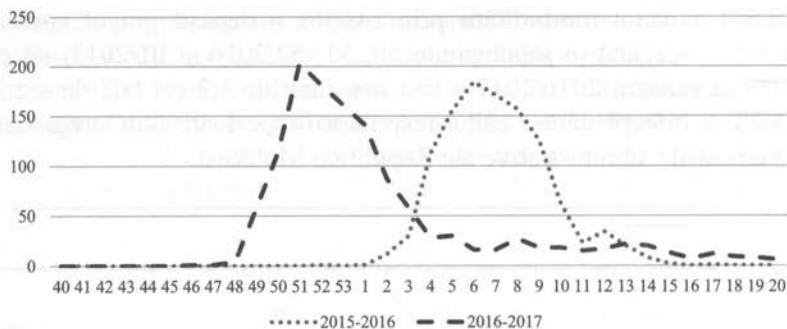


Fig. 3.52. Evoluția săptămânală a morbidității prin gripă în sezoanele 2015/2016 și 2016/2017

În sezonul 2016/2017, ponderea morbidității prin gripă a predominat la copiii (57,9%), comparativ cu sezonul precedent, când morbiditatea prin gripă a fost mai semnificativă la adulți (56,5%). Cele mai afectate categorii de vârstă în sezonul nominalizat a fost grupa de vârstă 5-14 ani (33,7%) și 0-4 ani (24,2%), comparativ cu sezonul 2015/2016 unde a predominat morbiditatea prin gripă la grupa de vârstă 30-64 ani (33,3%) și 5-14 ani (24,8%) (fig. 3.52).

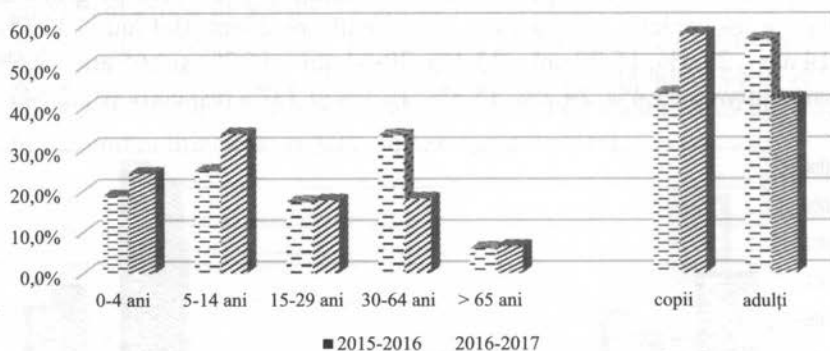


Fig.3.53. Ponderea morbidității prin gripă pe grupe de vârstă în sezoanele 2015/2016 și 2016/2017

Morbiditatea prin infecții acute a căilor respiratorii superioare, începând cu săptămâna 40/2016 s-a aflat în creștere, atingând apogeul (15901/447,53%_{ooo} cazuri) în săptămâna 51/2016, după ce s-a testat o reducere succesivă până la 5355/150,71%_{ooo} cazuri în săptămâna 16/2017

(fig.3.53). Nivelul morbidității prin IACRS a depășit pragul epidemic (311,19‰ cazuri) în săptămânile 50, 51, 52/2016 și 01/2017, iar prin IACRS în sezonul 2016/2017 a fost mai înalt de 1,2 ori față de sezonul 2015/2016. Infecții acute a căilor respiratorii superioare s-au înregistrat în toate teritoriile administrative ale Republicii Moldova.

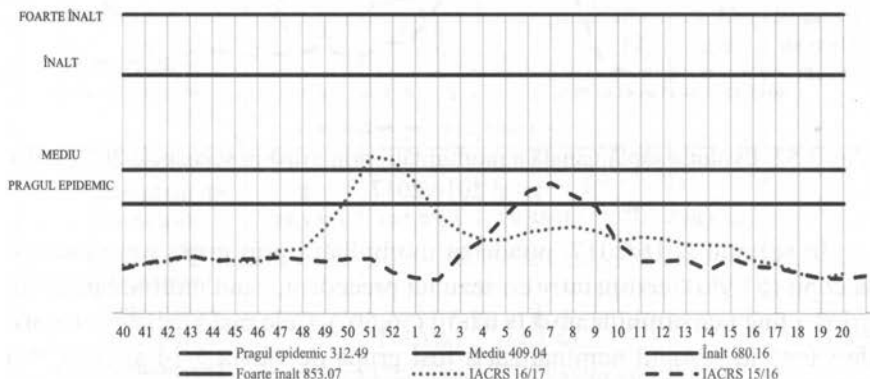


Fig.3.54. Evoluția săptămânală a morbidității prin IACRS în sezoanele 2015/2016 și 2016/2017

În sezonul 2016/2017, ponderea morbidității prin IACRS pe grupe de vârstă a fost practic același ca și în sezonul precedent: 0-4 ani – 39,5%, 5-14 ani – 29,6%, 15-29 ani – 13,1%, 30-64 ani – 15,2% și ≥65 ani – 2,6% comparativ cu 39,4%, 24,2%, 15,3%, 18,1% și 3,0% respectiv (fig.3.54).

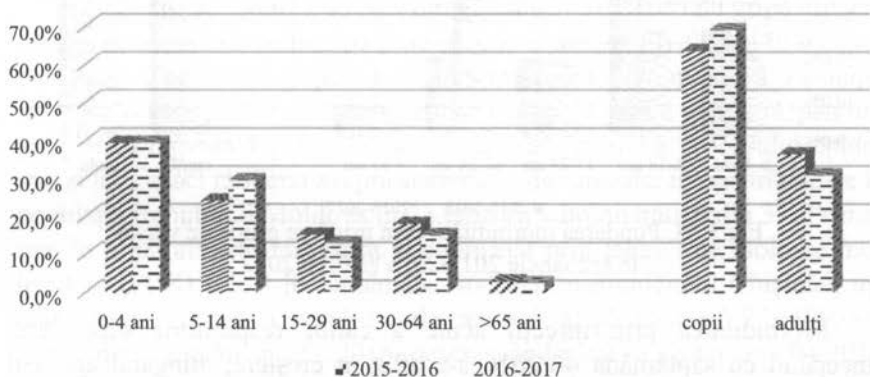


Fig.3.55. Ponderea morbidității prin IACRS pe grupe de vârstă în sezoanele 2015/2016 și 2016/2017

Incidența prin infecții respiratorii acute severe (SARI) din săptămâna 40/2016 s-a aflat în creștere succesivă, atingând apogeul (96,42‰) în săptămâna 51/2016, atestându-se apoi o reducere treptată până la 20,91‰ în săptămâna 16/2017. Nivelul morbidității prin SARI în sezonul 2016/2017 s-a majorat de 1,16 ori față de sezonul precedent. SARI s-a înregistrat în toate teritoriile administrative ale Republicii Moldova (fig.3.56).

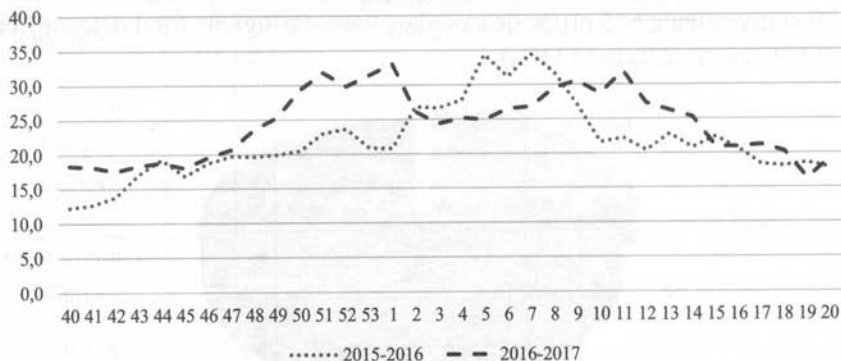


Fig.3.56. Evoluția săptămânală a morbidității prin SARI în sezoanele 2015/2016 și 2016/2017

Infecțiile respiratorii acute severe în sezonul 2016/2017 a afectat preponderent grupa de vârstă 0-4 ani în 55,0% cazuri comparativ cu sezonul 2015/2016 – 59,3% cazuri. Următoarea grupă afectată a fost cea de 30-64 ani în 15,5% cazuri, înregistrând exact aceeași pondere ca în sezonul 2015/2016. Cel mai puțin a fost afectată grupa de vârstă 15-29 ani – 3,2% în sezonul nominalizat și 3,3% în sezonul precedent.

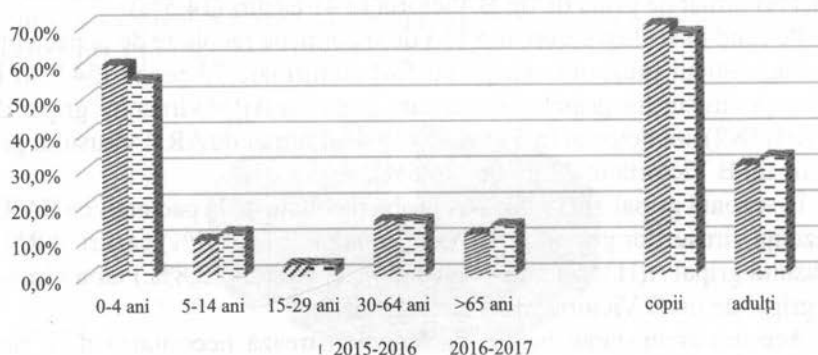


Fig.3.57. Ponderea morbidității prin SARI pe grupe de vârstă în sezoanele 2015/2016 și 2016/2017

3.25 Rezultatele studiului privind evidențierea particularităților etiologice, antigenice și genetice ale gripei, IACRS și SARI în sezonul gripal 2016/2017

În sezonul gripal 2016/2017 pentru confirmarea diagnosticului clinic și detecția virusurilor gripale circulante de la bolnavii cu diagnosticul prezumtiv „Gripă”, „IACRS” și „SARI”, prin tehnici de biologie moleculară au fost investigate 685 probe de exsudate nazo-faringiene fiind detectate cu rezultat pozitiv 226 în (32,9%).

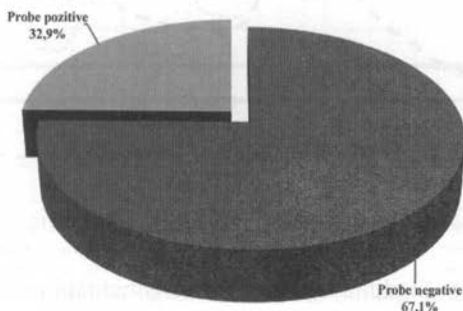


Fig.3.58. Sezonul gripal 2016/2017 (investigate 685 probe)

În perioada sezonului 2016/2017 a fost demonstrat că din cele 282 de probe colectate de la pacienții cu diagnosticul prezumtiv IACRS, în baza investigațiilor de laborator prin tehnici de biologie moleculară în timp real (rRT-PCR) în 92 (32,6%) cazuri au fost detectate virusurile gripale. Astfel ARN virusurilor gripale de tip A (H3N2) au fost detectate în 51 cazuri (18,1%) urmat de gripa de tip B Victoria în 41 cazuri (14,5%).

Pe când în același sezon, din 133 de specimene recoltate de la pacienții cu diagnosticul prezumtiv Gripă au fost confirmate 73 probe (54,9%) la prezența virusurilor gripale, dintre care prezența ARN virusului gripal de tip A(H3N2) s-a detectat în 51 probe (38,4%) urmat de ARN virusului gripal de tip B Victoria în 22 probe (16,5%).

În sezonul gripal 16/17 din 269 probe recoltate de la pacienții cu SARI, prezența virusurilor gripale a fost confirmată în 61 (22,7%) cazuri. ARN a virusului gripal A(H3N2) a fost detectat în 37 cazuri (13,8%) iar a virusului gripal de tip B Victoria în 24 cazuri (8,9%).

Aceste circumstanțe încă o dată demonstrează necesitatea de a ține cont de definițiile de caz a infecțiilor nominalizate, inclusiv recomandate de OMS și stipulate în Ord. MS nr. 824 din 31.10.2011, precum și de algo-

ritmul de recoltare, păstrare și transportare a speci­menelor spre laborator pentru efectuarea investigațiilor respective.

Tabelul 3.19

Rezultatele investigațiilor de laborator prin tehnici PCR la prezența virusurilor gripale în spt.(40/16 –20/17) în dependență de diagnosticul clinic prezumtiv

Diagnostic clinic prezumtiv	Nr. probelor examinate	Numărul cazurilor confirmate la prezența virusurilor gripale prin metoda RT - PCR	
		A (H3N2)	Inf B
Gripa	133	51 (38,4%)	22 (16,5%)
IRVA	282	51 (18,1%)	41(14,5%)
SARI	269	37 (13,8%)	24 (8,9%)
Alt diagnostic	1	0	0
Total	685	139 (20,3%)	87 (12,7%)

Cercetările efectuate în perioada sezonului epidemic 2016 – 2017 s-au realizat prin testarea a unui eșan­tion de 685 specimene cu material biologic în rRT-PCR. Rezultatele investigațiilor a pus în evidență circulația virusurilor gripale A(H3N2) și B. Gripa în sezonul 2016 – 2017 a fost etiologic cauzată de virusul A (H3N2) în 61,5%, urmat de virusul gripal de tip B Victoria în 38,5%.

În culturile celulare MDCK și MDCK-SIAT au fost izolate și identificate 14 tulpini de virus gripal A(N1N1)pdm09, 15 tulpini de virus gripal A(H3N2) și 16 tulpini de virus gripal de tip B.

Tulpinile de virus gripal A(N1N1)pdm09 antigenic au fost similare cu tulpina vaccinal A/California/7/2009 (H1N1)pdm, aparținând grupelor genetice 6B.1 (13 tulpini) și 6B.2 (1 tulpină).

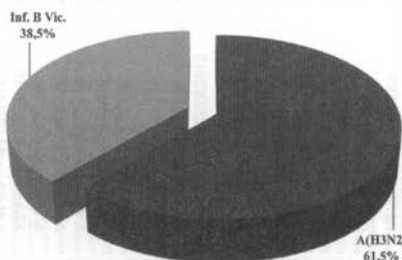


Fig.3.59. Ponderea virusurilor gripale identificate prin rRT-PCR în sezonul gripal 2016 – 2017

Analiza antigenică a virusurilor gripei de tip B Victoria

Virus	Other information	Collection date	Passage history	B/Bris/0908/09 Egg	B/Mai/2509/04 Egg	B/Bris/0908/09 Egg	Post-infection ferret antisera				Haemagglutination inhibition titre					
							B/Mask/83871/411 Egg	B/For/3954/12 Egg	B/ISo/Aus/81/12 Egg	B/IRK/914/09 MDCCK	B/Wsland/3154/16 MDCCK	B/ISo/Aus/81/12 Egg	B/IRK/914/09 MDCCK	B/For/3954/12 Egg	B/ISo/Aus/81/12 Egg	B/IRK/914/09 MDCCK
							1A	1A	1A	1A	1A	1A	1A	1A	1A	1A
				Sh 838.646.545.134 875151704		F0113 ¹ F0113 ² F0113 ³		F0113 ⁴ F0113 ⁵ F0113 ⁶		F0113 ⁷ F0113 ⁸ F0113 ⁹		F0113 ¹⁰ F0113 ¹¹ F0113 ¹²		F0113 ¹³ F0113 ¹⁴ F0113 ¹⁵		
				2560 2560 2560 2560 2560 2560 2560 2560 2560 2560		100 100 100 100 100 100 100 100 100 100		40 160 320 640 1280 2560 5120 10240 20480		40 160 320 640 1280 2560 5120 10240 20480		40 160 320 640 1280 2560 5120 10240 20480		40 160 320 640 1280 2560 5120 10240 20480		
				2560 2560 2560 2560 2560 2560 2560 2560 2560 2560		40 160 320 640 1280 2560 5120 10240 20480		40 160 320 640 1280 2560 5120 10240 20480		40 160 320 640 1280 2560 5120 10240 20480		40 160 320 640 1280 2560 5120 10240 20480		40 160 320 640 1280 2560 5120 10240 20480		
				2560 2560 2560 2560 2560 2560 2560 2560 2560 2560		40 160 320 640 1280 2560 5120 10240 20480		40 160 320 640 1280 2560 5120 10240 20480		40 160 320 640 1280 2560 5120 10240 20480		40 160 320 640 1280 2560 5120 10240 20480		40 160 320 640 1280 2560 5120 10240 20480		

Vaccine
IM/2015/16¹
IM/2016/17
IM/2016/17

HE (Turkey RBIC)
Turkey
Victoria B/Victoria-lineage
Supercripts refer to antiseraum properties (r refers to the lowest dilution of antiseraum used)
* = < 40
* = < 10
* = < 20
Not Done
B/Victoria-lineage virus recommended for use in quadrivalent vaccines
Requirements in phylogenetic tree

Tulpinile de virus gripal A(H3N2) n-au posedat proprietăți de a aglutina eritrocitele de cobai, curcan și umane. Secvențierea genelor HA și NA a permis de a aprecia apartenența a 12 tulpini la grupul genetic 3C.2a (substituirea aminoacizilor N121K și S144K în HA 1) și 3 tulpini la grupul genetic 3C.2a1 (substituirea aminoacizilor N171K în HA1 și G155E în HA2)

Tulpinile de virus gripal de tip B în testul de hemaglutinoinhibare a reacționat cu serul imun față de virusul vaccinal B/Brisbane/60/2008, astfel fiind stabilit, că tulpinile de virus gripal de tip B după structura antigenică sunt similare cu tulpina vaccinală B/Brisbane/60/2008. Este important de menționat, că genele HA a acestor tulpini de virus gripal de tip B diferă de genele tulpini, B/Brisbane/60/2008 prin substituirea aminoacizilor I1127V și I29D în HA 1. La 3 tulpini s-a apreciat și substituirea aminoacidului R80K în HA1. Genele NA acestor tulpini diferă de genele tulpinii B/Brisbane/60/2008, însă pentru a aprecia semnificația acestor mutații se cer studii suplimentare.

Toate tulpinile de virusuri gripale A(H1N1)pdm09, A(H3N2) și B(linia Victoria) au fost sensibile la remediile antigripale de ultima generație Oseltamivir și Zanamivir, apreciate în testul de neutralizare a neuraminidazei.

Collection date
 Oct-Nov 2015
 Dec 2015
 Jan 2015
 Feb 2016

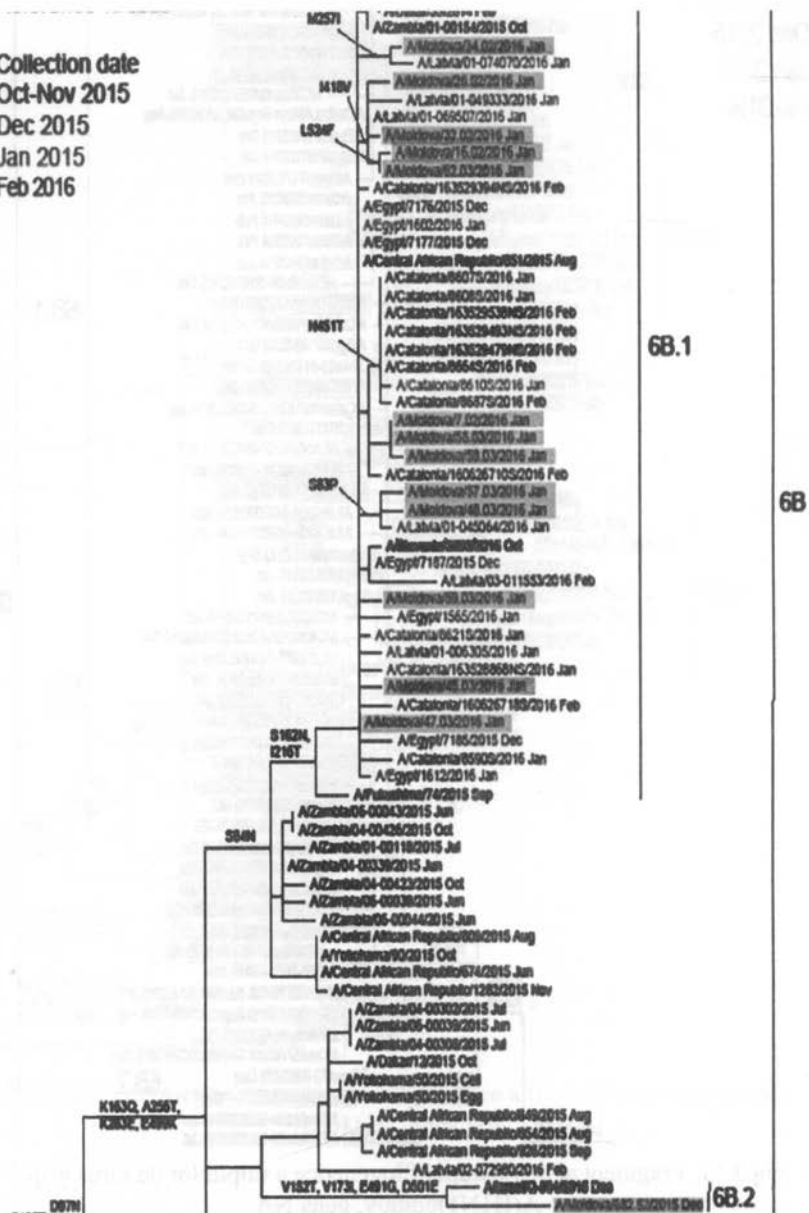


Fig.3.60. Fragment al comparației filogenetice a tulpinilor de virus gripal A(H1N1)pdm09, gena HA

Dec 2015
Jan 2015
Feb 2016

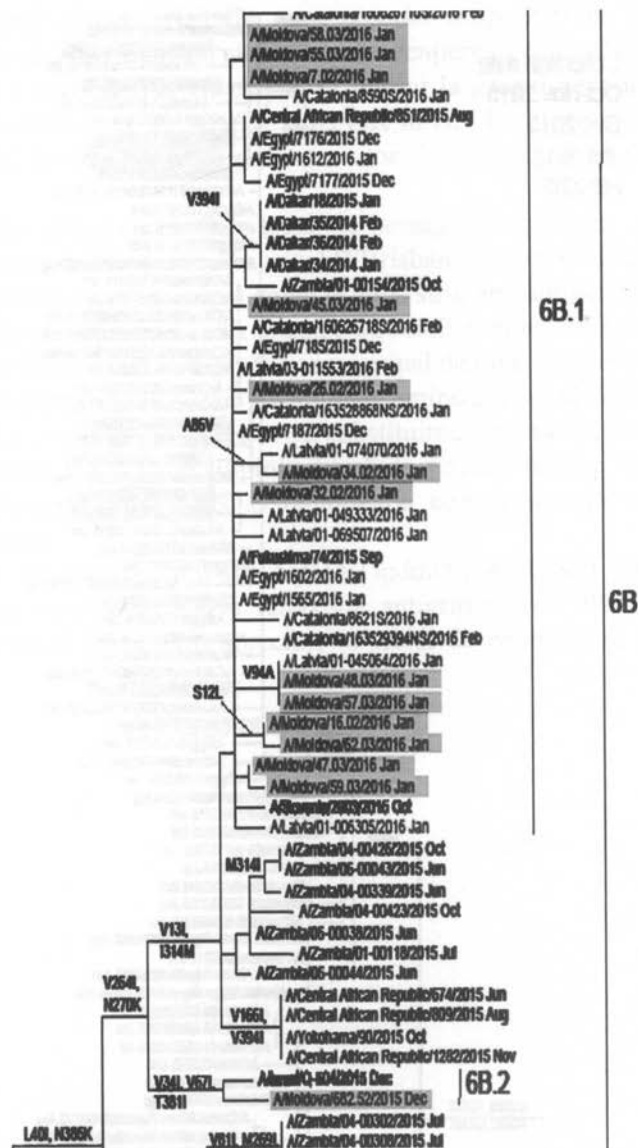


Fig.3.61. Fragment al comparației filogenetice a tulpinilor de virus gripal A(H1N1)pdm09, gena NA

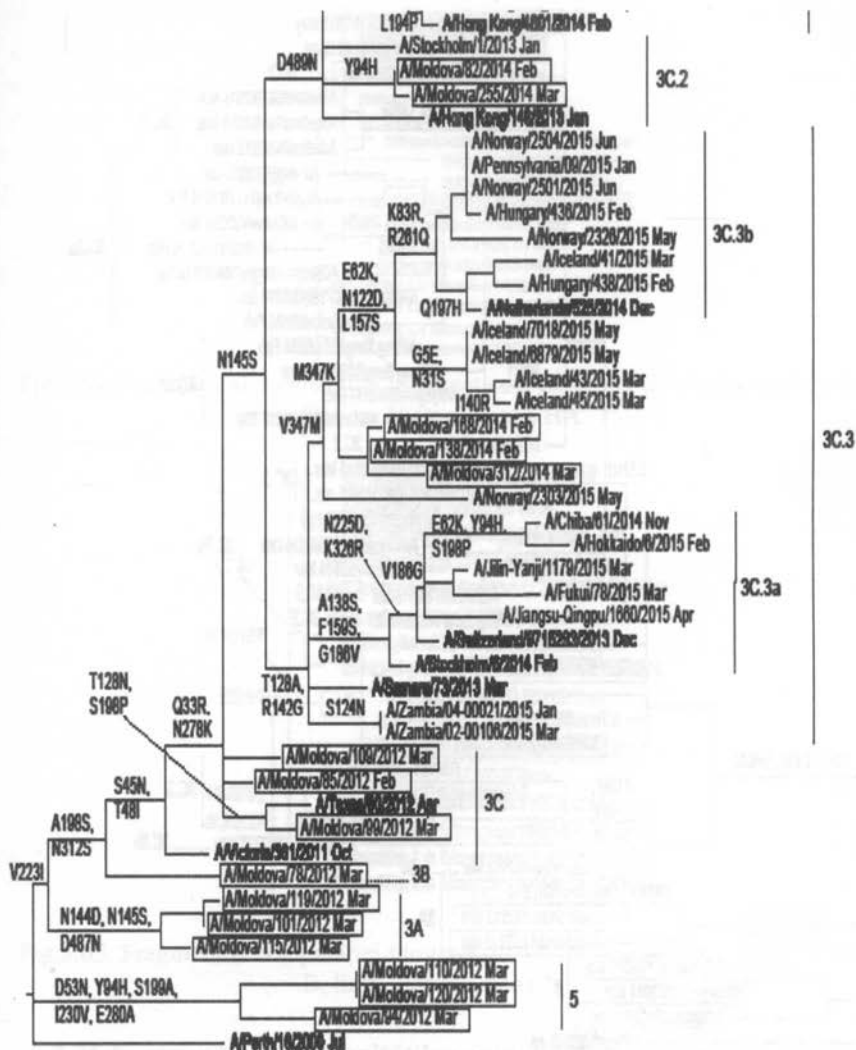


Fig.3.62. Fragment al comparației filogenetice a tulpinilor de virus gripal A(H3N2), gena HA

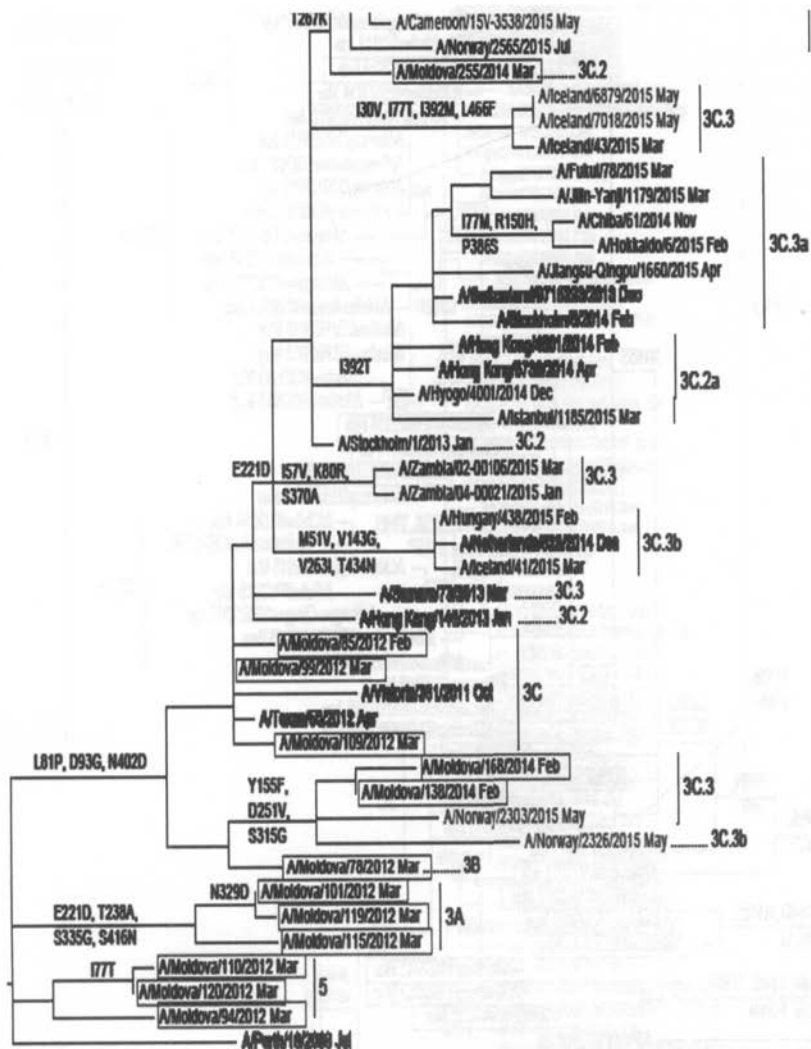


Fig.3.63. Fragment al comparației filogenetice a tulpinilor de virus gripal A(H3N2), gena NA

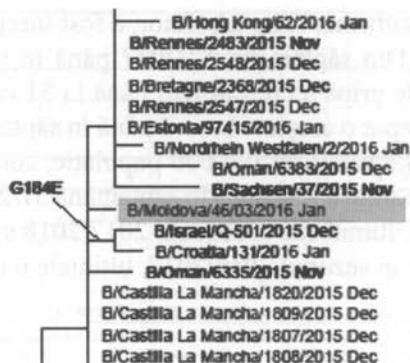


Fig.3.64. Fragment al comparației filogenetice a tulpinilor de virus gripal de tip B, linia Victoria, gena HA

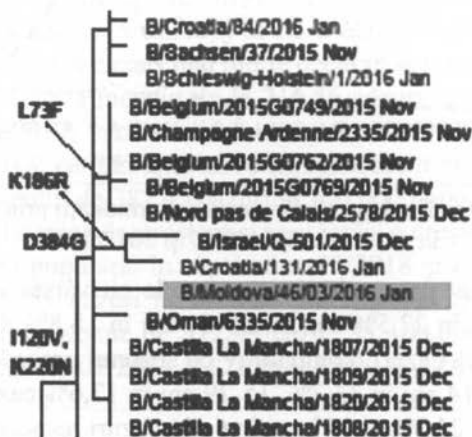


Fig.3.65. Fragment al comparației filogenetice a tulpinilor de virus gripal de tip B, linia Victoria, gena NA

3.26 Evaluarea particularităților epidemiologice ale gripei, IACRS și SARI în sezonul gripal 2017/2018

În sezonul gripal 2017/2018, gripa a avut o răspândire geografică extinsă cu o intensitate medie a procesului epidemic și un impact moderat asupra sistemului de sănătate. În total au fost înregistrate 990 cazuri de gripă, fiind cu 12,4% cazuri mai puține decât în sezonul precedent. Primul caz de gripă clinică a fost înregistrat în săptămâna 41/2016, iar ur-

mătorul caz, fiind confirmat și de laborator, a fost înregistrat în săptămâna 52/2017 (fig.3.64). Din săptămâna 52/2017 până în săptămâna 06/2018, numărul cazurilor de gripă a crescut lent până la 51 cazuri, iar din săptămâna 06/2018 a început o creștere bruscă până în săptămâna 09/2018 când a atins apogeul de 4,8 cazuri la 100.000 populație, comparativ cu sezonul 2016/2017 când maximum a fost atins în săptămâna 51/2016 cu 5,7 cazuri la 100.000 populație. Ultimul caz în sezonul 2017/2018 s-a înregistrat în săptămâna 18/2018, iar în sezonul 2016/2017, ultimele 6 cazuri în săptămâna 20/2017.

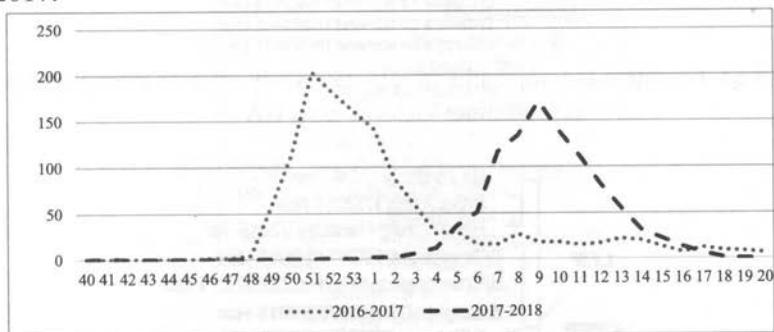


Fig.3.66. Evoluția săptămânală a morbidității prin gripă în sezoanele 2016/2017 și 2017/2018

Gripa a afectat preponderent persoanele cu vârsta între 5-14 ani în 38,5%, 15-29 ani în 22,5% cazuri, 30-64 ani în 18,8%, 0-4 ani în 16,0% și ≥ 65 ani în 4,2% cazuri, comparativ cu sezonul precedent – persoanele cu vârsta între 5-14 ani în 33,7%, 15-29 ani în 17,6% cazuri, 30-64 ani în 18,0%, 0-4 ani în 24,2% și ≥ 65 ani în 6,5% cazuri respectiv (fig.3.65).

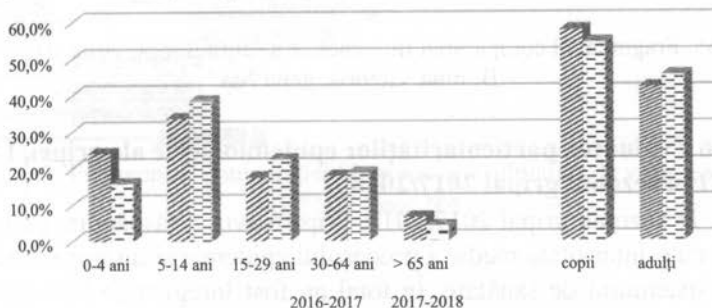


Fig.3.67. Ponderea morbidității prin gripă pe grupe de vârstă în sezoanele 2016/2017 și 2017/2018

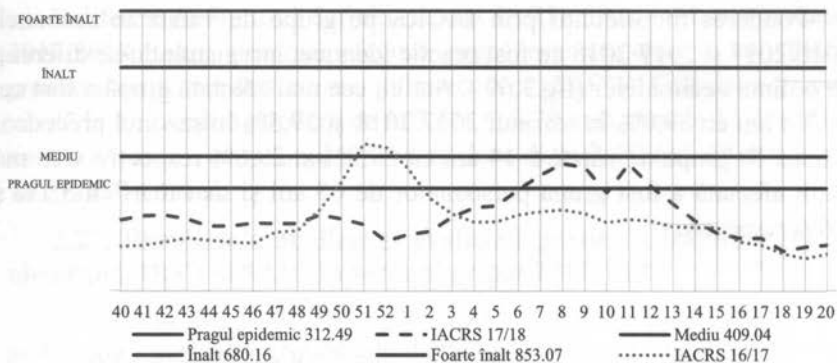


Fig.3.68. Evoluția săptămânală a morbidității prin IACRS în sezoanele 2016/2017 și 2017/2018

Pe parcursul perioadei nominalizate, în Republica Moldova au fost înregistrate 270268 cazuri de infecții acute a căilor respiratorii superioare (IACRS), fiind cu 9,1% cazuri mai multe decât în sezonul precedent. Morbiditatea prin IACRS a început de la 216,56 cazuri la 100.000 populație în săptămâna 40/2017, variind $\pm 19,2$ cazuri la 100.000 populație până în săptămâna 03/2018, ca mai apoi să se înregistreze o creștere treptat până la atingerea apogeului de 387,45 cazuri la 100.000 populație în săptămâna 08/2018, urmând o mică descreștere și apoi iarăși o creștere până la 386,49 cazuri la 100.000 populație în săptămâna 11/2018 și ca urmare descrescând până la 122,31 cazuri la 100.000 populație în săptămâna 18/2018 (fig.3.67). Pragul epidemic de 312,49 cazuri la 100.000 populație a fost depășit în săptămânile 07/2018-09/2018 și 11/2018-12/2018.

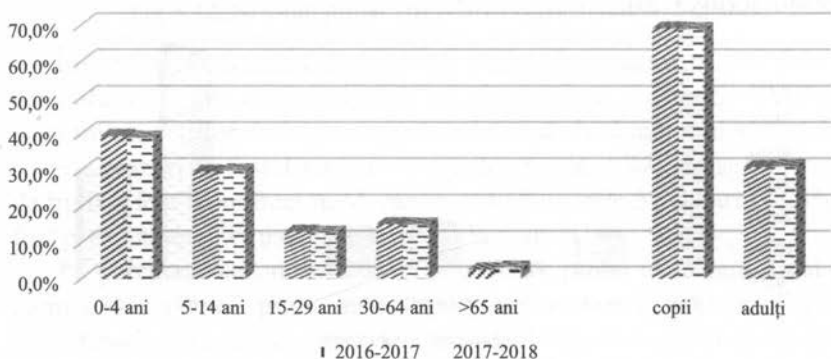


Fig.3.69. Ponderea morbidității prin IACRS pe grupe de vârstă în sezoanele 2016/2017 și 2017/2018

Ponderea morbidității prin IACRS pe grupe de vârstă în sezoanele 2016/2017 și 2017/2018 au fost practic identice, înregistrându-se diferențe de ordinul zecimalelor (fig.3.69). Astfel, cea mai afectată grupă a fost cea de 0-4 ani cu 39,0% în sezonul 2017/2018 și 39,5% în sezonul precedent, urmată de grupa de vârstă 5-14 ani cu 29,9% și 29,6% respectiv. Cea mai puțin afectată a fost grupa persoanelor de 65 ani și mai mari cu 3,1% și 2,6% respectiv.

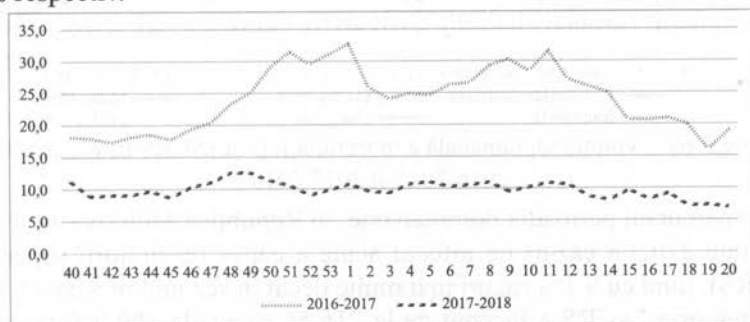


Fig.3.70. Evoluția săptămânală a morbidității prin SARI în sezoanele 2016/2017 și 2017/2018

Din săptămâna 40/2017 până în săptămâna 20/2018 au fost înregistrate 11807 cazuri de infecții respiratorii acute severe (SARI), fiind de 2,4 ori mai puține cazuri decât în sezonul precedent datorită schimbării definiției de caz SARI. Astfel, pe parcursul sezonului 2017/2018, morbiditatea prin SARI a variat între 7,2 și 12,8 cazuri la 100.000 populație înregistrându-se o tendință de descreștere lentă din săptămâna 48/2017 până la finalul sezonului (fig.3.70).

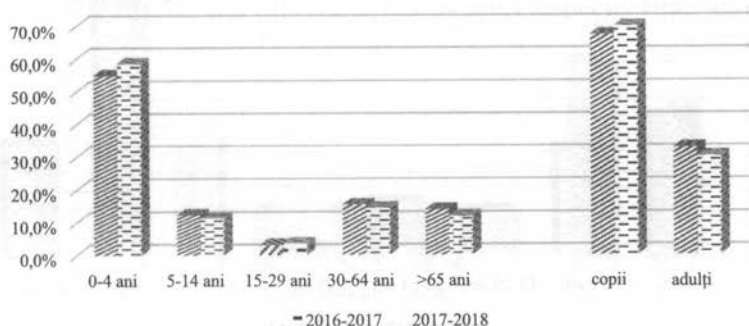


Fig.3.71. Ponderea morbidității prin SARI pe grupe de vârstă în sezoanele 2016/2017 și 2017/2018

Indiferent de faptul că definiția de caz SARI a fost modificată în sezonul 2017/2018, totuși cea mai afectată grupă este cea de 0-4 ani (58,6%) practic situație similară cu sezonul precedent (55,0%). Celorlalte grupe de vârstă le-a revenit o pondere de la 3,6% (15-29 ani) până la 14,5% (30-64 ani), comparativ cu sezonul precedent de la de la 3,2% (15-29 ani) până la 15,5% (30-64 ani).

3.27. Rezultatele analizei și evaluării particularităților etiologice ale gripei, IRVA și SARI în sezonul gripal 2017- 2018

În sezonul gripal 2017/2018 pentru confirmarea diagnosticului clinic și detecția virusurilor gripale circulante de la bolnavii cu diagnosticul prezumtiv „Gripă” „IACRS” și „SARI”, prin tehnici de biologie moleculară au fost investigate 872 probe de exsudate nazo-faringiene fiind detectate cu rezultat pozitiv 176 în (20,2%), într-o probă au fost identificate 2 virusuri A(H1N1)pdm09+ B (Yamagata).

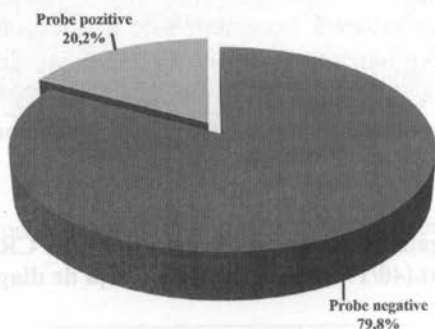


Fig.3.72. Sezonul gripal 2017/2018 (investigate 872 probe)

În perioada sezonului 2017/2018 a fost demonstrat că din cele 447 de probe colectate de la pacienții cu diagnosticul prezumtiv IACRS, în baza investigațiilor de laborator prin tehnici de biologie moleculară în 79 (17,7%) cazuri au fost detectate virusurile gripale. ARN virusurilor gripale de tip B a fost identificat în 65 cazuri (14,6%), unde 57 cazuri (12,8%) au fost prezentate de virusul gripal tip B (Yamagata).

Pe parcursul sezonului 2017/18, din 131 probe cu diagnosticul prezumtiv ”Gripă”, 62 probe au fost pozitive ceea ce constituie 47,3%. În speciemenele investigate a fost detectat ARN virusului gripal de tip B - 53 probe (40,4%), unde 44 (33,5%) revin virusului gripal de tip B (Yamagata). Prezența ARN virusului gripal de tip A, a fost identificată în 9 cazuri

(6,9%). Majoritatea absolută (8 cazuri – 6,1%) a fost prezentată de virusul gripal A(H1N1)pdm09.

Concomitent, pe parcursul sezonului gripal 2017/2018 au fost investigate prin tehnici de biologie moleculară PCR-RT, 294 probe, recoltate de la pacienții cu diagnosticul clinic ”SARI”.

Prezența virusurilor gripale a fost confirmată în 36 (12,3%) probe. ARN virusului gripal de tip B (Yamagata) a fost identificat în 22 cazuri (7,5%), în 10 cazuri (3,4%) a fost detectat ARN virusului A(H1N1)pdm09, iar în 4 cazuri (1,4%) a fost identificat ARN virusului gripal de tip B Victoria.

Identificarea virusurilor gripale în probele recoltate de la pacienții cu diagnosticul clinic prezumtiv ”IACRS” într-un procent sporit demonstrează că în teritorii, definițiile de caz a infecțiilor nominalizate, recomandate de OMS, ECDC, sunt aplicate modest, rămân rezerve pentru optimizarea calității diagnosticului clinic a infecțiilor respiratorii virale acute, în special a gripei.

Acest fapt demonstrează necesitatea de a ține cont de definițiile de caz a infecțiilor nominalizate, inclusiv recomandate de OMS și stipulate în Ord. MS nr. 824 din 31.10.2011, precum și de algoritmul de recoltare, păstrare și transportare a speciemenelor spre laborator pentru efectuarea investigațiilor respective.

Tabelul 3.22

Rezultatele investigațiilor de laborator prin tehnici PCR la prezența virusurilor gripale în spt.(40/17 –20/18) în dependență de diagnosticul clinic prezumtiv

Diagnostic clinic prezumtiv	Nr. probe- lor examine	Numărul cazurilor confirmate la prezența virusurilor gripale prin metoda RT - PCR				
		A (H3N2)	A (H1N1)	Inf. B Yam	Inf. B Vic	Inf.B nesubtipat
Gripa	131 (47,3%)	1 (0,8%)	8 (6,1%)	44 (33,5%)	8 (6,1%)	1 (0,8%)
IACRS	447 (17,7%)	2 (0,4%)	12 (2,7%)	57 (12,8%)	8 (1,8%)	0
SARI	294 (12,3%)	0	10 (3,4%)	22 (7,5%)	4 (1,4%)	0
Total	872	3 (0,3%)	30 (3,4%)	123 (14,1%)	20 (2,3%)	1 (0,1%)

Notă: 176 probe cu 177 virusuri, o probă a fost identificată cu A(H1N1)pdm09 + B (Yamagata)

Cercetările efectuate în perioada sezonului gripal 2017/2018 au demonstrat că majoritatea absolută a cazurilor au fost etiologic cauzate de virusul gripal tip B (81,3%) unde 69,5% au revenit virusului de tip B (Yamagata) urmat de tip B (Victoria) - 11,3%, iar într-un caz a fost identificată gripa de tip B nesubtipată (0,5%). În restul cazurilor a fost determinat prezența virusului gripal de tip A - 18,7%, unde 17,0% au revenit virusului gripal A(H1N1)pdm09, iar în 1,7% - A(H3N2). Datele prezentate, privind structura etiologică a cazurilor de gripă, sunt comparative cu cele prezentate de alte țări încadrate în sistemele internaționale TESSy și FluNet de supraveghere a gripei.

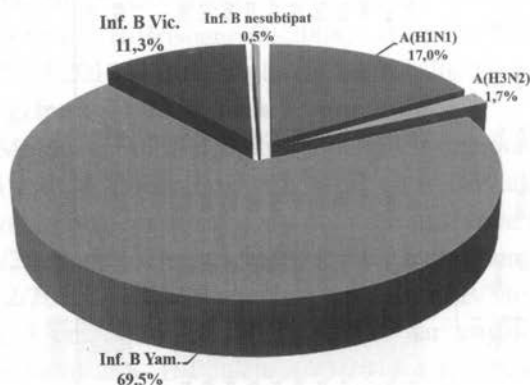


Fig.3.73. Ponderea virusurilor gripale identificate prin rRT-PCR în sezonul gripal 2017 – 2018

3.28 Rezultatele analizei și evaluării particularităților antigenice și genetice ale virusurilor gripale identificate pe parcursul sezonului 2017/2018

Studierea tulpinii de virus gripal A(H1N1)pdm09, izolată în cultura de celule MDCK-1, și identificată în reacția de inhibare (RIHA) a hemaglutinării cu serurile antivirale față de tulpinile de referință a virusurilor gripale, a demonstrat că antigenic este similară cu majoritatea virusurilor gripale incluse în panel pentru cercetare (tab.). Face excepție tulpina A/Moldova/29/2018 care a fost recunoscută de serul împotriva tulpinii de referință A/Lviv/N6/2009, la un titru de 1:160 în comparație cu titrul omolog 1:1280. Aceasta ar fi o combinație neobișnuită de virus / antiser cu A/Lviv/N6/2009 având modificări G155G/E în HAI, cu predominanța E și reziduu D222G evidențiate în RIHA.

Virusurile gripale de tip B (linia Victoria).

În (RIHA) virusul B/Moldova/68/2018 a demonstrat că antigenic este similar cu virusurile de referință, propagate în culturi de celule, după cum urmează: B/Formosa/V2367/2012; B/HongKong/514/2009; B/Irlanda/3154/2016 și B/Nordrhein-Westfalen/1/2016. Tulpina B/Moldova/68/2018 practic nu a demonstrat legătură antigenică cu virusul B/Norway/2409/2017, un virus cu o deleție a 2 aminoacizi ($\Delta 162-163$) în RIHA. Virusul B/Moldova/68/2018 a reacționat într-un titru mai redus cu serurile antigripale împotriva virusurilor de referință cultivate în ouă embrionate (B/Brisbane/60/2008, B/Malta/636714/2011, B/Johannesburg/3964/2012 și B/Australia de Sud/81/2012).

Virusurile gripale de tip B (linia Yamagata).

Virusul B/Moldova/74/2018 studiat în RIHA a demonstrat o legătură antigenică mai redusă evidențiată prin serul anti- B/Phuket/3073/2013, vaccinal, cultivat în ouă embrionate, dar mai semnificative față de virusul B/Wisconsin/1/2010, de asemenea cultivat în ouă embrionate. Serul anti-B/Stockholm/12/2011 în RIHA a reacționat cu virusul B/Moldova/74/2018 la un titru de 4 ori mai mic în comparație cu virusul de referință nominalizat, iar serul anti- B/Phuket/3073/2013 a recunoscut virusul B/Moldova/74/2018 la un titru de numai 2 ori mai mic decât titrul serului față de virusul omolog. Utilizarea serului anti- B/Mauritius/1791/2017 – virus cultivat în culturi celulare MDCK-1, grupa genetică 3 a demonstrat că virusul B/Moldova/74/2018 este recunoscut antigenic nesemnificativ. Serul anti- B/Massachusetts/02/2012 (clade 2) a recunoscut antigenic virusul B/Moldova/74/2018 mai bine dar serul împotriva fostului virus B/Massachusetts vaccinal, cultivat în ouă embrionate a recunoscut tulpina B/Moldova/74/2018 la un titru de 8 ori mai mic decât titrul serului pentru virusul omolog. Cu toate acestea, serul imun produs împotriva virusului B/Massachusetts/02/2012, cultivat în culturi celulare a recunoscut antigenic virusul gripal B/Moldova/74/2018 la un titru de 4 ori mai mic decât titrul serului de referință, utilizat în RIHA. Concomitent, este necesar de menționat că serul anti- B/Estonia/55669/2011, clada 2, cu un titru mai mare de 1280 a recunoscut antigenic slab virusul B/Moldova/74/2018.

Analiza antigenică a virusului de tip B (linia Victoria) 2018-03-20

WC number	Haemagglutination inhibition titre														
	Viruses	Other information	Passage history	Collection date	Passage history	BB/Is	B/Mal	B/Brn	B/Mala	B/Brn	B/Brn Aus	BB/Brn	B/Brn West	BB/Brn	
						6008	2506/04	60/08	638714/11	3944/12	VZ37/12	81/12	514/09	514/09	
						Sh	Egg	Egg	Egg	MOCK	MOCK	Egg	MOCK	MOCK	
						539.540.543, 544.576.571	F4114 ^a , NS/F3218 ^a	F23113 ^a	F0416 ^a	F5916 ^a	F2516 ^a	F2516 ^a	F0913 ^a	F0913 ^a	
						1A	1A	1A	1A	1A	1A	1A	1B	1A	
REFERENCE VIRUSES															
B/Malaysia/2506/2004			2004-12-06	E3/E6	2580	640	640	160	160	40	160	160	20	10	<
B/Frisbane/01/2009			2009-08-04	E4/E4	2560	160	640	320	160	320	320	320	80	40	40
B/Malaysia/3571/2011		1A	2011-03-07	E4/E1	2560	160	640	640	160	160	320	320	80	40	40
B/Johannesburg/0964/2012		1A	2015-08-03	E1/E2	5120	640	1280	1280	1280	1280	1280	1280	320	320	40
B/Formosa/VZ367/2012		1A	2012-08-06	MOCK/IMOCK3	5120	80	640	640	160	640	640	640	80	160	80
B/South Australia/81/2012		1A	2012-11-28	E4/E2	5120	160	640	640	160	640	640	640	80	80	80
B/Hong Kong/914/2009		1B	2009-10-11	MOCK/IMOCK2	5120	20	80	160	80	640	80	160	160	160	160
B/Ireland/3154/2016		1A	2016-01-14	MOCK/IMOCK4	5120	<	40	160	40	160	40	160	80	100	80
B/Norrhein-Westfalen/1/2016		1A	2016-01-04	C2/IMOCK2	5120	<	40	40	40	320	40	80	80	160	80
B/Norway/2469/2017		1A(Δ2)		MOCK/IMOCK2	80	<	<	<	<	<	<	10	<	40	<
TEST VIRUSES															
B/Moldova/862/2018		1A	2018-01-16	MOCK2	5120	10	40	80	80	320	80	160	80	160	80

Vaccine
NH-2015-16^a
SH-2016

Assay H (Turkey RBC)

RBC Turkey
Virus Influenza B/Victoria-lineage
Date

1. Superscripts refer to antisera properties (< relates to the lowest dilution of antiserum used)

2. < = 40

3. < = 10

4. hyperimmune sheep serum

5. < = 0.5

ND Not Done

6. B/Victoria-lineage virus recommended for use in quadrivalent vaccines

Sequences in phylogenetic trees

Concomitent cu analiza și evaluarea antigenică a tulpinii de virus gripal A, izolate în Republica Moldova a fost realizată analiza secvenței genei HA și a genei NA a tulpinii A/Moldova/29/2018. Pentru gena HA (clada 6B.1) au fost evidențiate substituții de aminoacizi în pozițiile S74R, S164T și I295V. Gena NA a virusului nominalizat, de asemenea încadrată în clada 6B.1 a arborelui filogenetic a avut mai multe substituții în aminoacizii comparativ cu virusul vaccinal A/Michigan/45/2015 în pozițiile G77R, I188T, N449D.

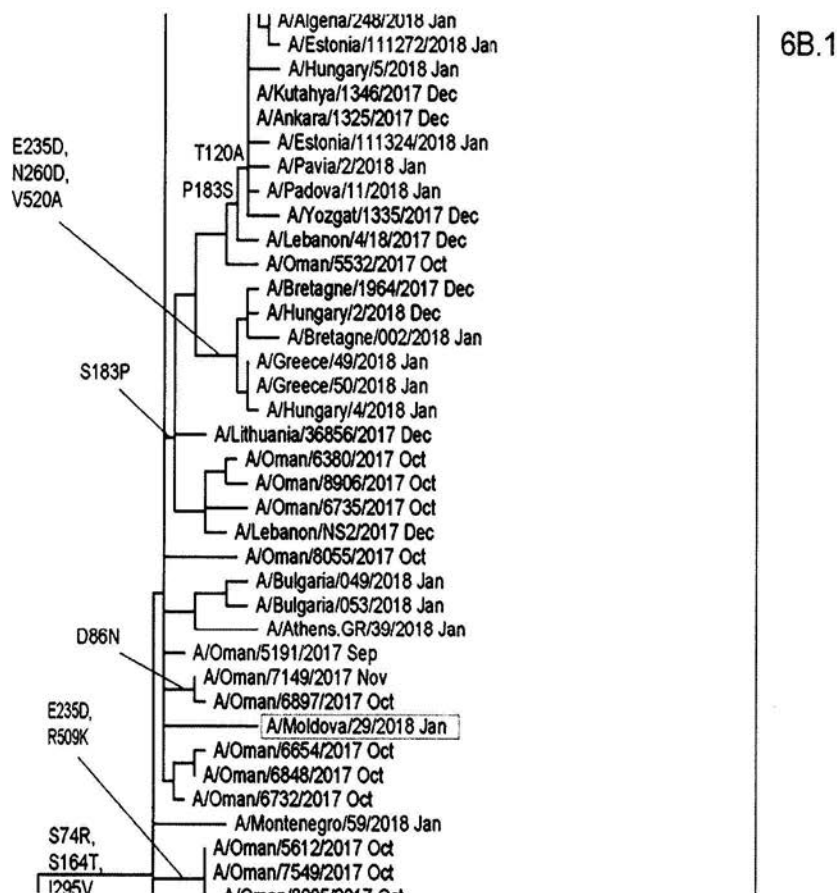


Fig.3.74. Fragment al comparației filogenetice a tulpinilor de virus gripal A(H1N1)pdm09, gena HA

Vaccine virus
Reference viruses

Collection date

Oct 2017

Nov 2017

Dec 2017

Jan 2018

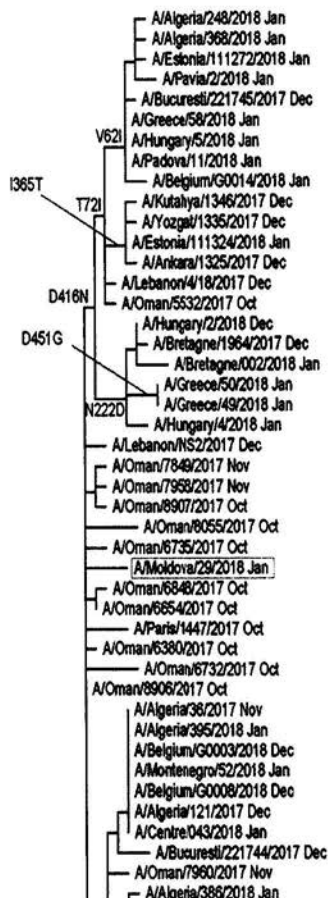


Fig.3.75. Fragment al comparației filogenetice a tulpinilor de virus gripal A(H1N1)pdm09, gena NA

Analiza secvenței genei HA și a genei NA a tulpinii virusului gripal B/Moldova/68/2018 (linia Victoria) demonstrează că genele HA și NA a virusului nominalizat se încadrează în partea centrală a cladei 1A. secvențierea genei HA și NA a virusului B/Moldova/74/2018 (linia Yamagata) demonstrează că genele menționate se încadrează în clada 3 a arborelui filogenetic. A fost demonstrat că există mai multe substituții în aminoacizi pentru gena NA, decât în gena HA comparativ cu virusul vaccinal, semnificația cărora la moment nu este cunoscută.

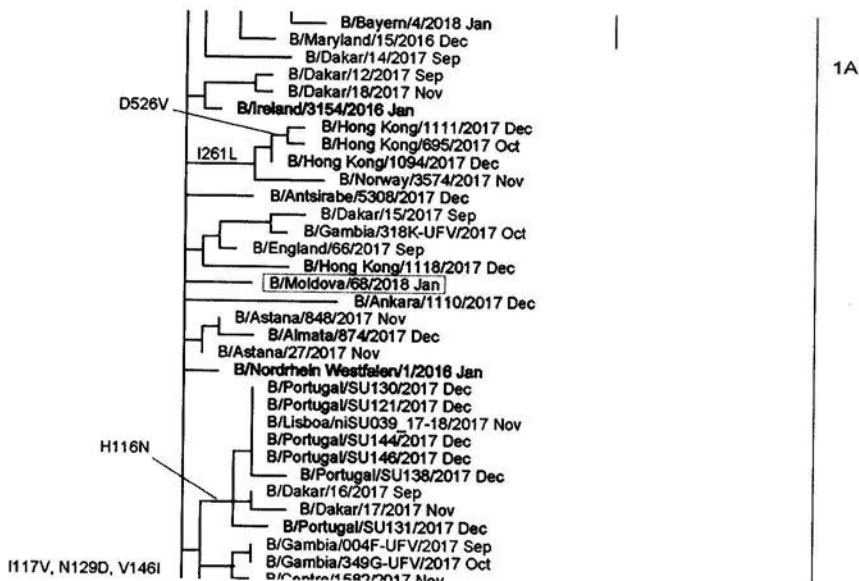


Fig.3.76. Fragment al comparației filogenetice a tulpinilor de virus gripal de tip B, linia Victoria, gena HA

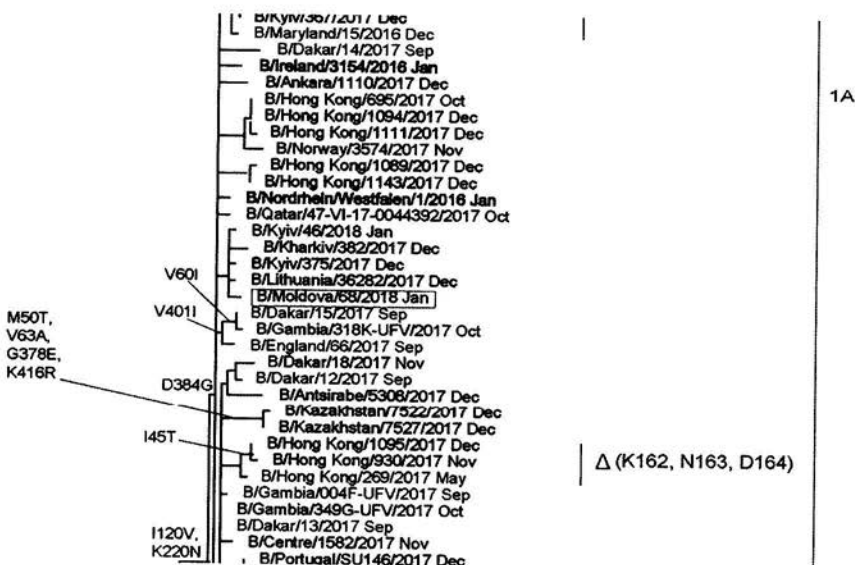


Fig.3.77. Fragment al comparației filogenetice a tulpinilor de virus gripal de tip B, linia Victoria, gena NA

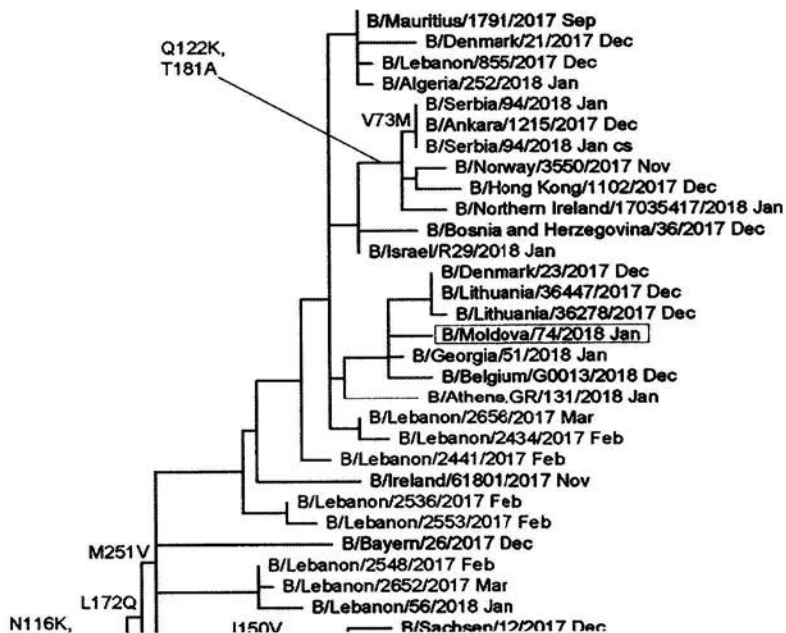


Fig.3.78. Fragment al comparației filogenetice a tulpinilor de virus gripal de tip B, linia Yamagata, gena HA

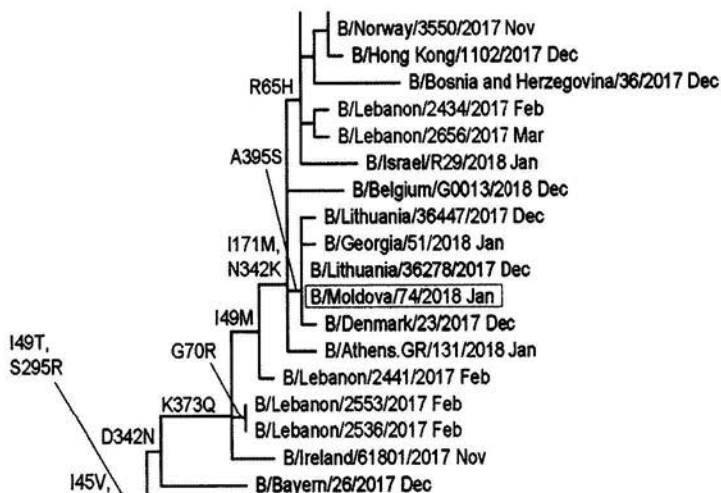


Fig.3.79. Fragment al comparației filogenetice a tulpinilor de virus gripal de tip B, linia Yamagata, gena NA

Rezultatele studiului rezistenței antivirale la produsele antivirale oseltamivir și zanamivir realizat prin aprecierea nivelului de inhibare a sialidazei, au demonstrat că tulpinile de virusuri gripale A/Moldova/74/2018, B/Moldova/68/2018 (linia Victoria) și B/Moldova/74/2018 (linia Yamagata) sunt sensibile la medicamentele nominalizate.

Data colectării	Numele virusului	Tip/Sub-tip	OS IC50	Sensibilitatea OS	Zan IC50	Sensibilitatea Zan	Rezultate HI
16-01-18	B/Moldova/68/2018	BVictoria	28.58	Inhibiție normală	4.23	Inhibiție normală	
27-12-17	B/Moldova/748/2017	BYamagata					Nu s-a reușit izolarea tulpinii de virus gripal B
16-01-18	B/Moldova/74/2018	BYamagata	27.57	Inhibiție normală	1.99	Inhibiție normală	
10-01-18	A/Moldova/30/2018	H1pdm					Nu s-a reușit izolarea tulpinii de virus gripal A
02-01-18	A/Moldova/21/2018	H1pdm					Nu s-a reușit izolarea tulpinii de virus gripal A
09-01-18	A/Moldova/29/2018	H1pdm	1.97	Inhibiție normală	0.90	Inhibiție normală	

Autorii monografiei sunt recunoscători echipei specialiștilor în frunte cu John McCaughey (The Crick Worldwide Influenza Center, The Francis Crick Institute, London) pentru suportul profesional acordat în studierea tulpinilor de virusuri gripale izolate în Republica Moldova prin tehnici de biologie moleculară de ultima generație.

3.29 Morbiditatea prin gripă, IRVI și SARI la întreprinderile de procesare a cărnii

Evaluarea morbidității prin infecțiile acute ale căilor respiratorii superioare, gripă, pneumonii etc., provocate de condițiile de muncă generează pierderi economice ale întreprinderilor inclusiv din sectorul privat.

Infecțiile nominalizate nu ocolesc nici întreprinderile de procesare a cărnii, la care activează peste 15 mii angajați.

Importanța sectorului de prelucrare a cărnii și produselor din carne din Republica Moldova este determinată de rolul indispensabil legat de securitatea alimentară a țării de importanță socială majoră, pe de altă parte și necesitatea fortificării sănătății angajaților, care procesează produsele din carne, deoarece fără condiții adecvate de muncă în sector nu este posibilă realizarea menirii sale strategice.

O provocare pentru întreprindere de procesare a cărnii din Republica Moldova o constituie lipsa unui Program concret de dezvoltare și fortificare a sectorului de procesare a cărnii, care ar asigura nu numai supraviețuirea întreprinderilor la etapa actuală, dar și transformarea sectorului, într-un sector viabil și profitabil, cu performanțe de procesare înalte. De menționat că, în condițiile lipsei unui Program de dezvoltare și fortificare a sectorului, întreprinderile de procesare a cărnii se dezvoltă haotic și nu au obiective bine formulate.

În cadrul unui studiu organizat în cadrul Centrului Național de Sănătate publică organizat în perioada 2012-2017 la patru întreprinderi de procesare a cărnii (ÎPC) în scopul determinării algoritmului de îmbolnăvire a angajaților în raport cu factorii profesionali de risc (temperatura, umiditatea relativă a aerului și viteza mișcării aerului), au fost investigate 730 locuri de muncă (de producție – 493, auxiliare – 237) de la patru întreprinderi din ramura cercetată la trei parametri: *temperatura aerului, umiditatea relativă și viteza curenților de aer* (2190 – determinări). Rezultatele obținute au fost comparate cu datele din tabelele 1 și 2.

Tabelul 3.23

NORMAREA
componentelor microclimatului la posturile de lucru

Metabolismul, (M), W	Temperatura aerului, °C		Umiditatea relativă a aerului (%)	Viteza de mișcare a aerului (m/s)
	Limitele termice minime admise	Limitele termice maxime admise		
M ≤ 117	18	32	60	≤ 0,1
117 < M ≤ 234	16	29	60	≤ 0,3
234 < M ≤ 360	15	26	60	≤ 0,4
360 < M ≤ 468	12	22	60	≤ 0,5
M > 468	-	18	60	-

Sursa: [36, 68].

NORMAREA

componentelor microclimatului la posturile de lucru (birouri, camere de comandă, încăperi cu videoterminale, încăperi social-culturale etc.), unde desfășurarea activității profesionale necesită confort termic

Perioada anului	Temperatura aerului, °C	Umiditatea relativă a aerului (%)	Viteza de mișcare a aerului (m/s)	Note
16.04-15.10	23 – 26	30 – 70	0,1 – 0,3	diferența pe verticală a valorilor temperaturii aerului la 1,1 m și 0,1 m de asupra pardoselei (nivelului capului și al gleznelor) mai mică de 3 °C
16.10-15.04	20 – 24	30 – 70	0,1 – 0,3	-

La întreprinderile de prelucrare a cărnii (ÎPC) unul din factorii de risc, care periclitează sănătatea angajaților este microclimatul la locul de muncă, care este constituit din parametri ai ambianței de muncă ca, temperatura aerului, umiditatea relativă a aerului, viteza curenților de aer, temperatura suprafețelor. Împreună acești factori exercită o acțiune combinată favorabilă sau nefavorabilă asupra organismului angajaților [Pînzaru Iurie, *Evaluarea condițiilor de muncă și a stării de sănătate a angajaților întreprinderilor de procesare a cărnii* (Ghid practic), Chișinău, 2017, 72 p.].

Microclimatul nefavorabil de producere poate fi cauza unor dereglări funcționale ale diferitelor sisteme ale organismului – respirator, cardiovascular, nervos central, digestiv, a metabolismului hidrosalin, proteic, glucidic etc. De asemenea, microclimatul nefavorabil poate accentua acțiunea altor factori nocivi ai mediului – substanțelor toxice, microorganismelor, vibrației etc. Totodată, disconfortul termic diminuează atenția, și accentuează starea de surmenaj fapt ce poate genera accidente cu urmări grave.

Microclimatul zonei de muncă este influențat de condițiile climatice, caracterul procesului tehnologic, particularitățile constructive și de ventilare ale încăperilor industriale etc. În Republica Moldova parametrii microclimatici la locul de muncă se reglementează de Cerințele minime de securitate și sănătate la locul de muncă, aprobat prin Hotărîrea Guvernului nr. 353 din 05.05.2010... În același timp normativele sanitare ale parametrilor microclimatului zonei de muncă depind de categoria de muncă, procesul tehnologic, activitățile fizice întreprinse de angajați, temperaturile climatice etc.

Având în vedere, că în încăperile de producere temperatura aerului la locurile permanente de muncă este sub nivelul admisibil, condițiile de muncă vor fi considerate ca nocive.

Pentru evaluarea stării condițiilor de muncă a angajaților ÎPC la parametrii microclimatului în lucrarea dată sunt prezentate rezultatele măsurărilor instrumentale efectuate conform prevederilor indicațiilor metodice „Evaluarea igienică a factorilor mediului ocupațional și a procesului de muncă. Criteriile igienice de clasificare a condițiilor de muncă”, nr. 01.10.32.3-1 din 10 martie 2008.

Rezultatele investigațiilor microclimatului denotă, că în 54,8 la sută din cazuri temperatura aerului în zona de muncă a fost sub limitele normelor igienice stabilite pentru menținerea echilibrului termic al organismului uman (secțiunile de producere – 65,7% și auxiliare – 32,1%), iar umiditatea înaltă s-a înregistrat în 84,0% cazuri (secțiunile de producere: dezosare, umplerea membranelor – 90,3% și auxiliare – 70,9%). De menționat, că valorile vitezei de mișcare a aerului, nici în unul din cazuri, nu au depășit limita admisibilă de 0,4m/s.

Ponderea cea mai mare de măsurători ale parametrilor microclimatului care nu se încadrează în limitele normelor sanitare (fig. 1) s-a înregistrat la întreprinderile nr. 1 și 3 (temperatura aerului, corespunzător 83,1 și 81,8%, umiditatea – 100%), iar ponderea cea mai mică s-a înregistrat la întreprinderea ÎPC nr. 4 (temperatura aerului – 28,2% și umiditatea relativă – 69,1%).

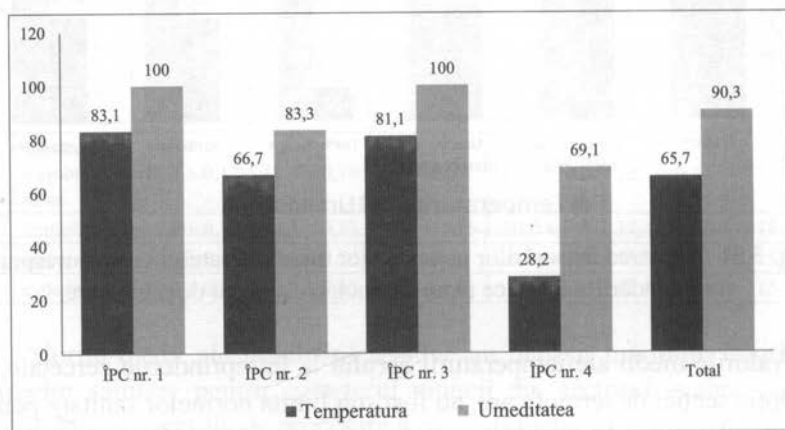


Fig. 3.80. Ponderea măsurărilor parametrilor microclimatului ce nu corespund recomandărilor igienice pentru întreprinderile luate în studiu

Evident, că parametrii microclimatici în mare măsură depind de procesul tehnologic, care pentru întreprinderile de procesare a cărnii impune temperaturi mai joase și umiditate mai ridicată. Astfel, s-a constatat că, procentul cel mai mare al măsurătorilor temperaturii la locurile de muncă care nu corespunde normelor sanitare (fig. 2) a fost mai evidențiat în secția de tranșare (77,4%), de preparare a tocăturii (76,2%) și secția de umplere a membranelor (74,1%), pe când procentul cel mai mic este caracteristic pentru secția termofocare (21,2%).

La întreprinderile studiate suprafețele de lucru permanent se spală abundant cu apă pentru a asigura menținerea stării sanitare satisfăcătoare și evitarea eventualelor accidentări, fapt ce condiționează creșterea nivelului umidității relative în încăperi. Anume din aceste considerente procentul măsurărilor ce au constatat depășiri ale nivelului umidității a fost înalt pentru toate secțiile de producție, variind în limitele de la 86,7% (secția de ambalare) până la 96,4% (secția de tranșare).

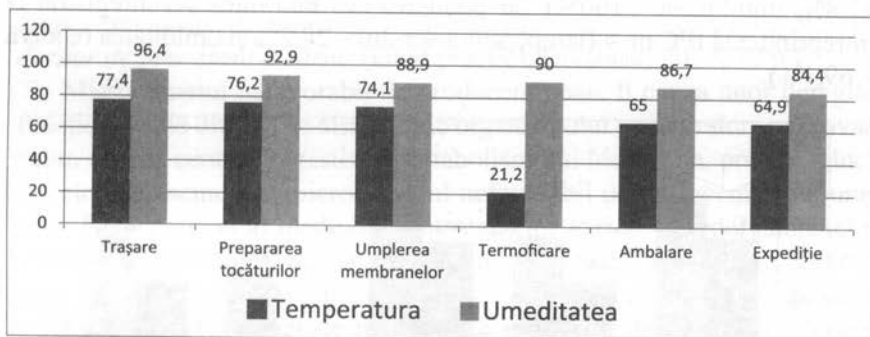


Fig. 3.81. Ponderea măsurărilor parametrilor microclimatului ce nu corespund recomandărilor igienice pentru principalele secții de producere.

Valorile medii ale temperaturii aerului la întreprinderile cercetate, cu excepția secției de termoficare, au fost sub limita normelor sanitare pentru caracterul muncii din sectorul dat și a variat între 15-26 °C. Cele mai mici valori medii totale a temperaturii aerului de la locul de muncă (tabelul 4)

s-au înregistrat în secțiile de tranșare ($12,6 \pm 0,5$ °C) și prepararea tocăturii ($12,3 \pm 0,47$ °C), unde condițiile de muncă pot fi catalogate ca nocive de clasa III, gradul 1, iar la întreprinderile nr. 1 și 3, în secția de tranșare, condițiile de muncă pot fi caracterizate ca nocive de clasa III, gradul 2, cu o medie a temperaturii corespunzător de $10,8 \pm 0,16$ și $8,3 \pm 1,64$ °C. Nocivitatea condițiilor de muncă de clasa III, gradul 2 sunt specifice și pentru angajații din secțiile de ambalare a acestor două întreprinderi, unde mediile temperaturii aerului au constituit corespunzător, $10,7 \pm 0,23$ și $9,0 \pm 0,58$ °C. Valori medii joase a temperaturii aerului s-au înregistrat și în secția de expediere de la ÎPC nr. 2 ($10,5 \pm 0,63$ °C). În secția de termoficare, practic la toate întreprinderile cercetate, temperatura medie a aerului s-a încadrat în limitele normelor sanitare stabilite. De asemenea, este necesar de menționat, că valorile temperaturii aerului înregistrate la locul de muncă, nu pot fi caracterizate ca condiții de muncă nocive nici într-o secție de producere la întreprinderea nr. 4.

Tabelul 3.25

Valorile medii ale temperaturii aerului la locurile de muncă din secțiile de producere la întreprinderile de procesare a cărnii

Nr. d/o	Secție	ÎPC nr. 1, °C	ÎPC nr. 2, °C	ÎPC nr. 3, °C	ÎPC nr. 4, °C	Media, °C	Limite recomandate °C
1	tranșare	$10,8 \pm 0,16$	$14,2 \pm 0,13$	$8,3 \pm 1,64$	$16,0 \pm 1,0$	$12,6 \pm 0,5$	15-26
2	prepararea tocăturilor	$11,0 \pm 0,13$	$14,6 \pm 0,13$	$10,0 \pm 0,48$	$17,5 \pm 1,35$	$12,3 \pm 0,47$	15-26
3	umplerea membranelor	$11,2 \pm 0,17$	$15,3 \pm 0,19$	$12,7 \pm 0,3$	$15,8 \pm 1,1$	$12,8 \pm 0,44$	15-26
4	termoficare	$17,1 \pm 0,18$	$15,3 \pm 0,13$	$13,8 \pm 1,15$	$20,0 \pm 0,8$	$17,4 \pm 0,41$	15-26
6	ambalare	$10,7 \pm 0,23$	$12,3 \pm 0,25$	$9,0 \pm 0,58$	$18,1 \pm 0,86$	$13,5 \pm 0,53$	15-26
7	expediție	$10,8 \pm 0,31$	$10,5 \pm 0,63$	$12,1 \pm 1,61$	$16,3 \pm 0,37$	$12,7 \pm 0,38$	15-26

Valorile medii ale umidității relative au depășit mărimile limită ale normelor sanitare pentru caracterul muncii din sectorul evaluat (60%) practic în toate secțiile de procesare a cărnii (tabelul 2), variind de la $66,8 \pm 1,3\%$ (secția de termoficare) până la $76,0 \pm 1,3\%$ (secția de pregătire a tocăturii).

**Valorile medii ale umidității relative la locurile de muncă din secțiile de
producere la întreprinderile de procesare a cărnii**

Nr. d/o	Secție	ÎPC nr. 1, %	ÎPC nr. 2, %	ÎPC nr. 3, %	ÎPC nr. 4, %	Media total, %	Limite recomandate, %
1	tranzare	78,9 ± 0,44	63,7 ± 0,63	77,6 ± 8,34	69,2 ± 8,53	75,2 ± 0,88	60
2	prepararea tocăturilor	81,9 ± 1,31	63,7 ± 0,61	78,0 ± 1,5	62,6 ± 2,45	76,0 ± 1,3	60
3	umplerea membranelor	78,6 ± 0,7	63,9 ± 0,06	74,9 ± 0,78	65,0 ± 1,9	73,9 ± 0,8	60
4	termoficare	68,0 ± 1,15	57,0 ± 1,1	72,5 ± 2,1	62,7 ± 1,71	66,8 ± 1,3	60
6	ambalare	78,9 ± 0,75	68,6 ± 1,0	72,5 ± 2,63	62,5 ± 1,55	70,9 ± 1,29	60
7	expediție	78,4 ± 0,6	68,0 ± 0,13	73,3 ± 1,0	59,2 ± 1,92	71,4 ± 1,24	60

Valori medii ridicate ale umidității relative a aerului la locurile de muncă s-au înregistrat la întreprinderile ÎPC nr. 1 (de la 68,0 ± 1,15 până la 81,9 ± 1,31%) și ÎPC nr. 3 (de la 72,5 ± 2,1 până la 78,0 ± 1,5%), unde condițiile de muncă în toate secțiile pot fi caracterizate, în dependență de parametrul investigat, ca nocive de clasa III, gradul 2. La întreprinderile ÎPC nr. 2 și 4, nivelul admisibil al umidității nu a fost depășit cu mai mult de 10%, astfel condițiile de muncă fiind caracterizate ca nocive de clasa III, grupul 1, cu excepția secției de termoficare de la întreprinderea ÎPC nr. 2 și secției expediție de la ÎPC nr. 4, unde umiditatea medie se încadrează în limitele normelor sanitare și condițiile de muncă nu pot fi caracterizate ca nocive.

De menționat că, cerințele igienice față de procesul tehnologic de la întreprinderile de procesare a cărnii impun un microclimat cu temperaturi joase și umiditate relativă a aerului ridicată care nu se încadrează în limitele normelor sanitare. Angajatorul trebuie să asigure condițiile de muncă pe măsură să protejeze angajații în sectoarele respective cu temperaturi mai joase pentru a nu periclita procesul tehnologic. Din aceste considerente condițiile de muncă sunt caracterizate ca nocive de clasa III, grupul 1 și 2 pentru caracterul muncii specific acestei ramuri și necesită implementarea unor măsuri de protecție a angajaților, cum ar fi:

- diminuarea acțiunii nefavorabile a factorilor mediului ocupațional prin reducerea timpului de contact cu aceștia, introducerea pauzelor reglementare și reducerea timpului de activitate la locul de muncă cu condiții nocive;

- asigurarea cu echipament individual de protecție (îmbrăcăminte în dependență de regimul termic din secțiile de producere);
- angajarea în muncă a muncitorilor doar după susținerea examenelor medicale conform prevederilor Hotărîrii Guvernului nr. 1025 din 07.09.2016 pentru aprobarea Regulamentului sanitar privind supravegherea sănătății persoanelor expuse acțiunii factorilor profesionali de risc (Monitorul Oficial nr. 306-313 art. Nr. 1118 din 16.09.2016), asigurarea angajaților cu încăperi pentru încălzire.

Evaluarea morbidității cu incapacitate temporară de muncă conform f. 16-itm constituie una din metodele clasice, prin care se evaluează starea de sănătate a angajaților întreprinderilor în raport cu anumiți factori de risc din mediul ocupațional.

În acest context datele privind sănătatea angajaților în raport cu factorii din mediu ocupațional au o importanță majoră în promovarea măsurilor de ameliorare a condițiilor de muncă. Morbiditatea specifică a angajaților în unele cazuri exprimată prin unele boli sau accidente raportate în modul stabilit, reflectă imposibilitatea de exercitare a unor activități [*Evaluarea igienică a factorilor mediului ocupațional și a procesului de muncă. Criteriile igienice de clasificare a condițiilor de muncă.* (Indicații metodice), aprobate de medicul-șef sanitar de stat al Republicii Moldova, nr. 01.10.32.3-1 din 10.03.2008, Hotărârea Parlamentului nr. 82 din 12.04.2012 pentru aprobarea *Strategiei naționale de prevenire și controlul bolilor netransmisibile pe anii 2012–2020.* (Monitorul Oficial nr. 126-129 art. Nr. 412 din 22.06.2012)].

Conform datelor OMS, circa 25% din maladii sunt legate de locul de muncă. Printre factorii care influențează starea de sănătate în vârstă aptă de muncă un rol primordial revine riscurilor din mediul ocupațional: de la 20 la 40% din pierderile capacităților de muncă sunt provocate de îmbolnăvirile, care sunt direct sau indirect legate de condițiile nesatisfăcătoare de muncă.

Prin urmare, evaluarea factorilor de risc ocupațional asupra stării de sănătate a angajaților în decursul procesului de muncă și elaborarea acțiunilor de diminuare până la nivelele admisibile, permite menținerea sănătății angajaților și economisirea resurselor financiare ale întreprinderilor.

Mai mulți autori consideră, că morbiditatea cu incapacitate temporară de muncă, de rând cu morbiditatea profesională, într-o mare măsură reflectă calitatea mediului ocupațional, unde activează angajații [http://www.statistica.md/public/files/Metadate/Popultia.pdf; Клебанов Р. Д., Николаева Е. А., Кривецкая А. В., *Анализ заболеваемости с временной утратой нетрудоспособностью работников теплоэлектростанций, Сборник научных трудов, Выпуск 20, Минск, 2012, с 47-51*].

În cadrul cercetării am evaluat starea de sănătate a angajaților după indicatorii morbidității cu incapacitatea temporară de muncă în raport cu factorii de risc profesional care o determină, conform formularului statistic 16-itm pentru anii 2013-2017. Au fost analizate peste 2600 cazuri de incapacitate temporară de muncă.

În scopul evidențierii particularităților patologiilor legate de profesie, este foarte important ca cercetările științifice să fie axate pe structura morbidității cu incapacitate temporară de muncă. În acest sens, datele media, integrale pentru întreprinderile luate în studiu (tabelul 6), privind repartizarea morbidității cu incapacitate temporară de muncă pe nozologii, atât după indicele de frecvență cât și după indicele de gravitate denotă, că pe locul I se plasează bolile sistemului respirator, pe locul II – bolile sistemului circulator, iar locul III revine bolilor sistemului digestiv, osteo-articular și leziunilor traumatice.

Tabelul 3.27

Structura claselor de maladii la ÎPC

	Clasele de maladiile	Numărul mediu de cazuri și zile cu ITM la 100 angajați	
		Nr. cazuri/100 angajați	Nr. zile/100 angajați
I	Bolile sistemului respirator	13,9±1,3	134,0±17,1
II	Bolile sistemului circulator	5,9±0,52	85,0±9,0
III	Bolile sistemului osteo-articular	3,54±0,67	55,2±12,9
	Bolile sistemului digestiv	3,11±0,44	45,9±6,2
	Traume și otrăviri	3,02±0,4	48,8±10,3

Pentru a identifica pe cât sunt de întemeiate aceste legități, în continuare vom analiza fiecare sistem în parte.

Așa dar, analiza morbidității prin bolile aparatului respirator, pentru perioada 2013-2017, la ÎPC luate în studiu (fig. 3) denotă, că cea mai mare medie a frecvenței cazurilor înregistrate, s-a constatat la întreprinderile nr. 2 și 4, constituind respectiv 16,77±3,9 și 16,80±4,6 cazuri la 100 angajați, iar cea mai mică

frecvență a fost caracteristică pentru întreprinderea nr. 1 ($6,48 \pm 0,96$ cazuri la 100 angajați).

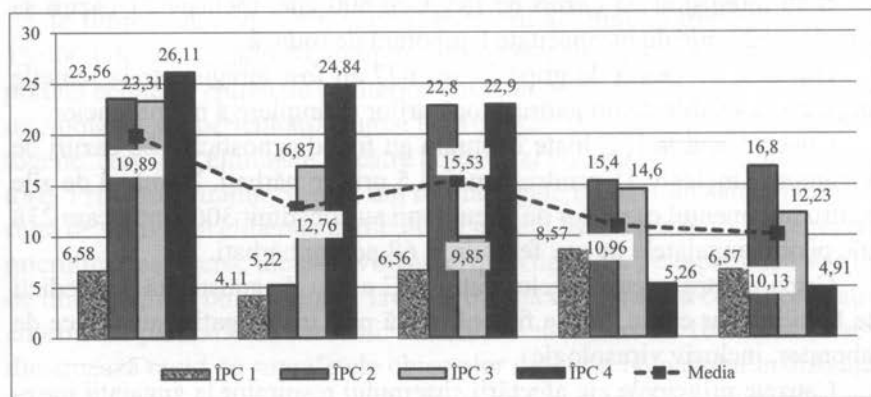


Fig. 3.82. Morbidity with temporary work incapacity due to respiratory diseases (nr. de cazuri la 100 angajați)

În rezultatul evaluării dinamicii acestui indice, s-a constatat, că media generală pentru toate întreprinderile cercetate a variat de la $19,89 \pm 5,6$ (a. 2013) până la $10,13 \pm 3,4$ cazuri la 100 angajați (a. 2017), prezentând o tendință de scădere în medie anual cu 2,1 cazuri la 100 angajați ($R^2=0,72$). Această dinamică este caracteristică practic pentru toate ÎPC, cu excepția întreprinderii nr. 1, la care, datorită faptului, că în perioada aa. 2014-2016 morbiditatea prin bolile sistemului respirator practic s-a dublat (de la 4,11 până la 8,57 cazuri la 100 angajați) și respectiv se conturează o tendință de creștere medie anuală cu 0,44 cazuri la 100 angajați ($R^2=0,20$).

Numărul mediu de zile cu incapacitate temporară de muncă, ca consecință a morbidității prin bolile sistemului respirator, pentru perioada luată în studiu, de asemenea, a fost mai mare la întreprinderile nr. 2 și 4, constituind corespunzător, $193,0 \pm 55,4$ și $177,3 \pm 47,1$ zile la 100 angajați, urmate de întreprinderile 3 și 1, în care sau înregistrat respectiv, $122,4 \pm 24,1$ și $43,4 \pm 6,2$ zile la 100 angajați. Particularitățile dinamicii indicelui prezentat sunt identice cu cele manifestate de indicele frecvenței.

În perioada menționată la ÎPC au fost înregistrate 726 cazuri de boli respiratorii dintre care 368 ori 50,7% s-au înregistrat la femei.

Numărul de zile a constituit 6690 dintre care în concediul medical femeile s-au aflat în 61,1% ori 4090 zile.

Cele mai răspândite afecțiuni ale sistemului respirator în rândul angajaților sunt faringita acută și angina 192 cazuri din ele 195 la femei.

S-au înregistrat 95 cazuri de IRVA cu 800 zile, inclusiv 71 cazuri și a femei cu 621 zile de incapacitate temporară de muncă.

Din cele 31 cazuri de gripă 21 ori 677 au fost înregistrate la femeile angajate în secțiile de pregătire a tocăturilor și umplere a membranelor.

Concomitent la ÎPC luate în studiu au fost diagnosticate 20 cazuri de pneumonii, inclusiv 15 printre femei și 5 printre bărbați. Numărul de zile pentru tratamentul cazurilor de pneumonii au constituit 306 dintre care 238 zile pentru angajatele de sex feminin și 68 pentru bărbați.

Gripa printre angajații celor patru ÎPC a fost diagnosticată de medicii de familie doar clinic, fără a fi confirmată prin investigații paraclinice de laborator, inclusiv virusologic.

Cauzele principale ale afectării sistemului respirator la angajații întreprinderilor de procesare a cărnii se datorează nivelului sporit al umidității relative a aerului, oscilațiilor temperaturii, valorilor periodice sporite ale curenților de aer în mediul ocupațional, mai cu seamă în sectoarele de tranșare, dezosare, frigidere.

În acest context o oportunitate pentru angajații de la întreprinderile de procesare a cărnii întru reducerea morbidității prin infecțiile respiratorii virale acute, inclusiv a gripei (urmare a confirmării diagnosticului clinic prin investigații virusologice paraclinice), ar fi vaccinarea antigripală, care ar condiționa un impact socio-economic pozitiv la întreprinderile nominalizate, [192,193,194].

În această ordine de sugestii Organizația Mondială a Sătății vine cu recomandări pentru regiunea Europeană privind componența vaccinului gripal pentru sezonul 2018-2019.

Vaccinul gripal trivalent va include:

- an A/Michigan/45/2015(H1N1)pdm09-like virus;
- an A/Singapore/INFIMH - 16-0019/2016(H3N2)-like virus;
- a B/Colorado/16/2017-like virus (B/Victoria/2/87 lineage).

Vaccinul gripal kvadrivalent va conține:

- an A/Michigan/45/2015(H1N1)pdm09-like virus;
- an A/Singapore/INFIMH - 16-0019/2016(H3N2)-like virus;
- a B/Colorado/16/2017-like virus (B/Victoria/2/87 lineage).
- a B/Phuket/3073/2013-like virus (B/Yamagata/16/88 lineage).

4. GRIPA: PATOGENIE, IMUNOLOGIE, CLINICA ȘI TRATAMENTUL

În timpul unei zile, prin căile respiratorii ale omului trec aproximativ 15.000 l de aer, al cărui conținut microbial este filtrat depunându-se pe suprafața celulelor epiteliale și ulterior eliminat prin aerul expirat. Infectarea microbială este periculoasă numai în prezența virusurilor și bacteriilor patogene, care sunt eliminate de către bolnavii și purtătorii infecțiilor respiratorii. Prin tuse, strănut, vorbit, din rinofaringele bolnavului sau al purtătorului de virus sunt eliberate particule de secreții/salivă (picături Pflugge) cu microfloră patogenă, inclusiv virusul gripal (fig. 4.1). Pe o perioadă scurtă de timp, în jurul bolnavului se creează o zonă contaminată cu concentrații enorme de particule de aerosoli. Particulele mai mari de 100 μm se sedimentează rapid pe suprafețele obiectelor din jurul bolnavului la distanțe ce nu depășesc 2-3 m (circa 80% din totalul particulelor eliminate) și au importanță doar pentru persoanele care se află în imediata apropiere a bolnavului, după care se usucă și se transformă ulterior în praf „bacterian”. Acest praf în urma mișcării aerului în încăpere (dereticare uscată, scuturarea plapumelor) se poate ridica și sedimenta din nou de multiple ori, reprezentând o sursă permanentă de infecție. Particulele mai mici de 100 μm rămân suspendate în aer și pot fi purtate la o anumită distanță de curenții de aer, până când are loc inactivarea lor, în dependență de factorii mediului ambiant (expunerea la lumina solară, temperatură, umiditate).



Fig. 4.1. Răspândirea prin picături Pflugge a virusului gripal

Este important că numărul particulelor eliminate este în dependență de puterea și frecvența actelor fiziologice de tuse, strănut, vorbire. Este suficient să rugăm pacientul să-și acopere gura la strănut și tuse, că eliberarea particulelor de aerosoli se micșorează de 10-70 ori, astfel, poate fi micșorată și concentrația particulelor virale patogene în aer (tab. 4.1).

Tabelul 4.1

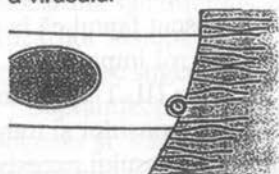
Concentrația și proporția particulelor de aerosoli la tuse și strănut

Actele fiziologice	Cantitatea particulelor, mii	Ponderea particulelor %	
		>100 mcm	< 100 mcm
Strănut (puternic, cu gura deschisă).	100-800	50	50
Strănut (moderat, cu gura închisă).	10-15	80	20
Tuse, intensitate moderată.	50—10	85-90	20-15

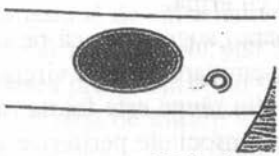
De obicei, celulele mucoasei nazale și tractului respirator „mătură” virusurile, prevenind astfel infecția. Însă, în unele cazuri, virusurile ocolesc mecanismele primare de apărare ale organismului și produc infecție. Pentru inducerea infecției este necesară o anumită cantitate de virusuri: cu subtipul A(H3N2) – între 12 și 300 DICT50 (DICT50 – doza infectantă 50% în culturi celulare), dar cu subtipul A(H2N2) – numai 3 DICT50. După infectare, virusurile sunt reținute la nivelul epiteliului căilor respiratorii. Replicarea virusului poate avea loc în toate celulele epiteliului respiratoriu, dar cu precădere în celulele epiteliale ciliate columnare (cilindrice); virusul se fixează pe celulele epiteliale ale căilor respiratorii cu ajutorul hemaglutininei. Acțiunea protectoare a mucusului din căile respiratorii este anulată de prezența NA virale care hidrolizează mucopolizaharidele, distruge membrana celulară, expunând receptorii celulari la virus, iar virusul pătrunde în interiorul celulei prin cuplare (endocitoză). Ulterior, în celulagază sunt distruse procesele vitale și are loc replicarea ARN-ului viral și sintetizarea componentelor virale. Noile virusuri sunt puse apoi în libertate, distrugând alte celule.



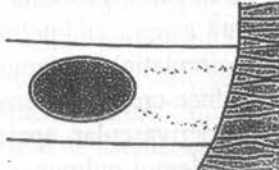
1. Transmiterea aerogenă a virusului



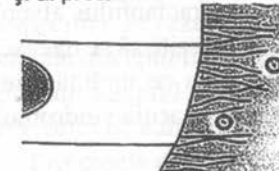
3. Penetrarea membranei celulare



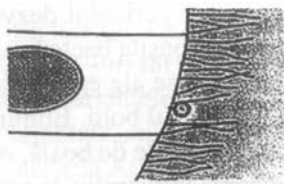
5. Eliberarea ARN-ului viral



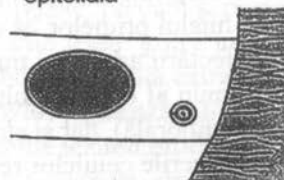
7. Transportul ARN-ului viral și al proteinelor



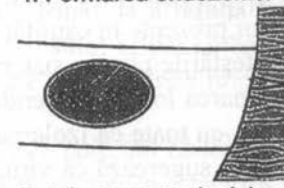
9. Eliberarea virusurilor în exteriorul celulei



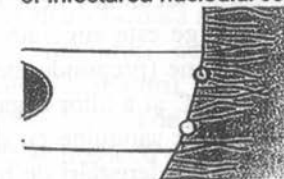
2. Atașarea la membrana epitelială



4. Formarea endozomei



6. Infectarea nucleului celular



8. Leșirea virusurilor din celula gazdă prin înmugurire

- A. Țesut conjunctiv
- B. Membrana bazală
- C. Porțiunea deteriorată a epitelului
- D. Mediul extern

Fig. 4.2. Schema acțiunii virusului asupra epitelului

Ca urmare a invadării căilor respiratorii, virusul gripal lezează epitelul și deteriorează funcția acestuia de reținere și eliminare a particulelor de praf, bacteriilor etc. Bacteriile pătrund în așa mod cu ușurință în

plamâni; apare pericolul dezvoltării unei suprainfecții bacteriene (de ex., pneumonia, bronșita bacteriană). Multiplicarea virală determină necroze și distrugerii extinse ale epiteliilor cu eliminare de virus, care începe cu o zi înainte de debutul bolii. Eliminările masive în secrețiile nazofaringiene au loc timp de 3-8 zile de boală, cu titruri de 104-120 particule/ml de secreție. Multiplicarea virusurilor se realizează foarte rapid: la 8 ore după pătrunderea în căile respiratorii a unei particule virale concentrația acestora atinge 10^3 , iar la finalul primelor 24 de ore – 10^{23} . Este cunoscut faptul că în patogeniza afectării arborelui traheobronșic la gripă, un rol important îl are răspunsul imun al organismului, elaborarea de citokine (IL.TNF-factorul de necroză tumorală), dar și starea țesutului limfoid al bronșiilor și traheii. Astfel, distrugerile celulelor respiratorii s-ar datora răspunsului excesiv al limfocitelor T-citotoxice față de Ag virale prezente pe celulele infectate, al citokinelor prezente în cantități mari la bolnavii cu gripă.

Manifestările clinice sistemice (febra, frisoane) sugerează, că pe lângă diseminarea locală descendentă are loc și diseminare pe cale viremică (sanguină), cu toate că izolarea virusului gripal din sânge este foarte rară. Unele studii sugerează că virusul s-ar asocia cu limfocitele periferice circulante, astfel făcându-l nedetectabil în sângele bolnavului. Prezența virusului în sânge este sugerată și de acțiunea lezantă asupra endoteliului vaselor sanguine (preponderent în zonele de microcirculație) al plămânilor, inimii, SNC și a altor organe. Virusul gripal induce creșterea permeabilității vaselor sanguine cu dezvoltarea edemului perivascular, apariția de microtrombi, dereglări de homeostază ce duc la edemul pulmonar. În timpul infecției sunt afectate toate componentele arborelui traheobronșic, dar în special alveolocitele tip II cu distrugerea surfactantului alveolar (surfactantul tapetează alveolele în interior și nu le permite să se unească). Alveolele se deformează, se umplu cu transudat, ceea ce înrăutățește și mai mult starea pacientului, iar uneori poate duce la apariția sindromului detresei respiratorii.

Ca rezultat al viremiei masive, toxinemiei poate apărea șocul toxico-infecțios și al sindromului periculos pentru viață – insuficiența cardio-vasculară acută, sindromul de coagulare diseminată intravasculară, insuficiența renală soldate cu deces. Gravitatea procesului patologic este în dependență de virulența virusului gripal, de starea sistemului imun al pacientului. La indivizii cu sistem imun intact boala este autolimitantă, însănoșirea clinică începând după aproximativ o săptămână de la debut. Refacerea comple-

tă a epiteliiilor respiratorii durează însă 3-4 săptămâni. La pacienții cu anumite afecțiuni, în special cardiopulmonare, poate survini rapid pneumonia virală primară – un fenomen rar întâlnit pentru variantele gripale sezoniere circulante la moment, dar specific pentru variantele pandemice, de asemenea și pentru varianta gripală aviară înalt patogenă A(H5N1).

Faptul că virusul gripal a fost izolat din mușchiul cardiac în cazurile de miocardită sau din mușchii scheletului în miozite, precum și prezența modificărilor histopatologice decelate în cazurile letale grave în majoritatea organelor se sugerează existența și multiplicarea gripală extrapulmonară.

Suprainfecția bacteriană, cu *Haemophylus influenzae*, *Streptococcus piogenes* și *Staphylococcus aureus* determină leziuni profunde ale pereților bronhiilor, bronhiolelor și alveolelor, favorizate de edemul și inflamația preexistentă, ca și de capacitatea virusului gripal de a inhiba fagocitoza bacteriană de către macrofagi. Asocierea virusului gripal cu bacterii evoluează fatal în cele mai multe cazuri, în special, la vârste mici, fenomen adesea prezent la copii sugari, prematuri.

Poarta de intrare a virusurilor gripale este epiteliiul căilor respiratorii. Mecanismele de apărare umană utilizează în prima linie factorii nespecifici de apărare, la aceștia se referă caracteristica vâscoasă a mucozităților, mișcarea permanentă a epiteliiului cilindric, inhibitorii nespecifici de replicare virală, care se conțin în secretul căilor respiratorii, macrofagii care captează virusul, imunoglobulina A secretorie. Factori de protecție se consideră de asemenea nectinele de tip C, care se leagă cu carbohidrații virusului provocând agregarea acestuia și conducând la acțiunea de opsonizare. Pentru ca să se realizeze infectarea virusul trebuie să înfrunte factorii nespecifici de rezistență din căile respiratorii, ținta cheie a virusului sunt celulele din epiteliiul cilindric ciliar. Învîngând rezistența cililor din epiteliiu epuizați, agentul viral pătrunde în nazofaringe și demonstrează acțiunea secretului de calitate înaltă.

Proteinele din secretul glandular sunt capabile nespecific să inhibe activitatea de hemaglutinare și infecțioasă a virusului gripal. Această activitate se datorează prezenței în secret a glucoproteinelor care conțin o cantitate considerabilă de acid n-acetilmuramic. Există o varietate sezonieră a conținutului de inhibitori, perioada cea mai activă fiind vara-toamna, dar în perioada de iarnă când este și perioada epidemiei de gripă, conținutul inhibitorilor nespecifici scade. Celulele moarte se desprind și se captează de macrofagi, de asemenea se înlătură din căile respiratorii. În stratul

submucos în urma eliberării substanțelor biologice active (histamină, serotonină, kinine, prostoglandine), apare reacția vasculară a elementelor sanguine, formarea de microtrombi în hemoragii, diapedeza mononuclearelor și neutrofilelor leucocitare, edem, dereglări metabolice locale, schimbarea pH-ului de mediu, acidoză etc. În acest context procesul inflamator este cel mai exprimat în traheie și bronhii.

Prezența sindromului toxic este o particularitate certă a patogeniei. Simptomele de intoxicație sunt rezultatul rezorbției toxinelor virale, a produselor metabolismului dereglat, care direct sau indirect influențează organele și sistemele. Virusul posedă acțiune toxică asupra sistemului vascular, considerabil crescând permeabilitatea și fragilitatea lor, care în complex cu dereglările microcirculatorii pot declanșa evoluția sindromului hemoragic. În apariția dereglărilor circulatorii, în afara acțiunii directe asupra patului vascular o mare importanță are acțiunea neurotrofă virală. Sunt caracteristice lezările treptate ale sistemului nervos vegetativ cu cele două compartimente (simpatic și parasimpatic): hipertenzia se schimbă în hipotensie, tahicardie-bradicardie, crește secreția mucozităților în căile respiratorii și transpirația. Pătrunzând în straturile mai profunde ale epiteliului, virusul înfruntă rezistența celei de-a doua linii de apărare – cea specifică (interferon, anticorpii circulanți ai claselor M, G și E, reacția termică). În infecția cu gripă ca răspuns la infectare se dezvoltă reacția precoce a citokinelor (RPC) ca cel mai rapid răspuns la acțiunea virală, aici este vorba de reacția RPC înăscută, varianta cea mai răspândită este reacția citokinelor la acțiunea virusului gripal ca față de un parazit intracelular când virusul declanșează sistemul interferonogen, având rol de inductor natural. Cascada evenimentelor intracelulare care demarează după inocularea virusului este generată de formarea interferonilor și ca rezultat distrugerea ARN-informativ viral, datorită acțiunii 2',5'-oligoadenilsintetazei și activarea endonucleazei. În paralel activarea proteinkinazei formează unitatea alfa factor, care inițiază translarea ce contribuie la blocarea sintezei proteinelor virale. Aceasta duce la inhibarea reproducerii spectrului larg de ARN al virusurilor pe contul efectului direct antiviral intracelular. Aceste fenomene au loc în primele ore după inocularea virusului gripal în organism. Interferonii (INF) și în primul rând interferonul β sau așa numitul interferon de tip I are capacități de activare a killerilor naturali (KN) și limfocitelor citotoxice. În rezultatul acestei infectări locale au loc trei interacțiuni interactive:

- Inhibarea de către interferoni a reproducerii intracelulare a virusului.

- Înlăturarea celulelor infectate prin intermediul KN și limfocitelor citotoxice.

- Protecția celulară de infectarea prin secreția interferonului.

Interferonul se răspândește prin tot organismul, aderând la receptorii specifici ai celulelor ne afectate, astfel blochează afectarea virală. Acest interferon formează în zona afectată o zonă de protecție în calea răspândirii infecției. De asemenea interferonii activează practic toate reacțiile imune (intermedierea moleculară dintre sistemele endocrin și imun, activarea macrofagilor, creșterea citotoxicității, stimularea expresiei antigenice claselor I și II).

Efectele descrise cu regret adesea sunt insuficiente în finisarea procesului infecțios. Acest lucru se manifestă prin diminuarea rezistenței organismului, defecte în sistemul interferonic și imun, situații ecologice nefavorabile, acțiunea stresului etc.

În final evoluează o afecțiune acută care se soldează cu producerea unei cascade de citokine (etapa II de declanșare a reacției citotoxice precoce) activarea CD4+ și CD8+, celulelor E cu evoluarea specifică a imunității celulare T și B. În paralel cu sinteza de INF tip I se sintetizează citokinele-factor de necroză tumoral (FNT), se formează interleukinile (IL) 1 β , 6, 10 și 15, cât și factorul de transformare a creșterii (TGF). La această etapă se determină varietatea reacției citotoxice după varietatea virală. Producerea interferonului β (INF β) se consideră semnul dominant cheie în infectarea virală. INF α/β provoacă leucopenia, limfadenopatia, migrarea celulelor deci are loc redistribuirea celulelor pentru desfășurarea următoarelor efecte imunologice INF α/β pot intensifica răspunsul imun specific în gripă la infectarea primară pe contul atragerii populației B și E către locul de inflamație pentru activitate antigenică.

Prima reacție la inflamație este a macrofagilor, aici are loc disocierea particulelor virale în peptide, care se deplasează spre membrana celulară. Pe membrana macrofagilor ele contactează cu moleculele antigene de clasa I și II. INF care e secretat de IL-1 intensifică expresia antigenică. Acțiunea sinergică dintre IL-1 și IL-2 contribuie la proliferarea precursorilor T-celulelor în timus. În focarul infecției se îndreaptă T-limfocitele (helper) care interacționează cu fragmentele antigenice. În activarea T-helperilor iau parte IL4, IL6 și FNT. E posibilă situația când T-limfocitele sunt capabile nemijlocit să interacționeze cu antigenele virale, după care se includ limfocitele citotoxice și killerii naturali, ce sunt factori de bază în li-

chidarea celulelor infectate cu virus. Rolul CD8+ și limfocitelor citotoxice e dublă: pe de o parte cel mai eficient elimină virusul din căile respiratorii superioare comparativ cu alte subpopulații, pe de altă parte – intensifică reacția inflamatorie locală, în experimente declanșând sindromul distress. Prin astfel de interacțiuni este posibil ca virusul să rămână învingător, și atunci macroorganismul implică factorii imunității umorale (locale și generale).

La baza imunității specifice locale sunt IgA secretorie. La sinteza acestora iau parte celulele epiteliale ciliare, macrofagii, T-limfocitele, celulele epitelului secretor. Macrofagii localizați în spațiul dintre celulele epiteliale înghit fragmente de celule virale distruse metabolizându-le. Antigenii, macrofagii activează limfocitele T și B care se transformă în plasmocite ce produc anticorpi de clasa IgA. Înfăptuind funcții efectoare importante, IgA îndeplinește rolul de moleculă care reglează funcțiile sistemului imun în special macrofagii alveolari ce poartă receptori către Fc-fragment al acestei imunoglobuline. Complecșii imuni care conțin anticorpii clasei A induc monocit-macrogag sinteza FNT- α și C3- complimentul; IgA secretorie leagă virusul și împiedică ieșirea acestuia din organism în formă activă ce limitează circulația virusului printre oameni.

La primul contact cu virusul peste 3-5 zile se formează anticorpii IgM, creșterea nivelului cărora vorbește despre faza acută a procesului inflamator. Nivelul crescut al imunoglobulinelor în ser este indicele stabilității organismului către infecții, IgE – singurul tip de anticorpi care interacționează cu membrana celulară (în practica clinică se reflectă prin bronhospazm). La interacțiunea primară cu virusul prin mecanisme imune se formează memoria imunologică. Formarea memoriei imune este scopul folosirii vaccinului. Anticorpii interacționează cu antigenul formând complexe imune. În mecanismele de rezistență ale organismului față de informația genetic străină se implică două fenomene: rezistența imunitară și cea dobândită. Între mecanismele specifice ale rezistenței antigripale există repartizarea funcțiilor de apărare:

- Anticorpii secretori care inhibă producerea virusului la poarta de infectare, asigurând apărarea antiepidemică, îndreptată spre limitarea transmiterii și răspândirii agentului patogen de la cei infectați către cei sănătoși; anticorpi secretori prin diapazonul său larg de acțiune e capabil să inhibe orice variante de antigene ale virusului gripal A în limitele subtipurii său.

- Anticorpilor serici neutralizează produsele toxice ale virusului și reglează gravitatea formelor clinice ale bolii.

- Factorii imunității mediate celular înlătură rezervorul virusului din celulele infectate, care sunt inaccesibile anticorpilor.

Intensitatea imunității antivirale depinde de nivelul anticorpilor circulanți și formarea limfocitelor citotoxice. Limfocitele citotoxice declanșează liza celulelor infectate de virus. Îmbolnăvirea repetată de gripă este motivată de variabilitatea virusului gripal și formarea imunității strict față de tipul concret, fapt ce explică necesitatea vaccinării sezoniere anuale.

Clinica

Gripa este o infecție virală acută, febrilă, generalizată, ce afectează căile respiratorii superioare sau/și inferioare. Definiții de caz standard pentru gripă, infecții acute ale căilor respiratorii superioare și pneumonii acute. **Cazurile clinice** se divizează în: caz posibil (suspect) – caz care îndeplinește criteriile clinice ale patologiei respective; cazurile probabile, atunci când se întrunesc criteriile clinice, patologice și cu tangență cu situația epidemiologică. Cazurile clinice confirmate se consideră dacă se întrunesc criteriile clinice cu prezența datelor de laborator pozitive. **Criteriile clinice de caz pentru gripă** au debut acut cu febră peste 38°C cu tuse și/sau dureri în gât cu absența altor diagnoze respiratorii. Datele de laborator necesită izolarea virusurilor gripale, detecția rapidă prin tehnica RT-PCR. Se necesită serologie pozitivă unde se apreciază creșterea dinamică de 4 ori a titrului de anticorpi specifici neutralizanți la un interval de 14 zile. Criteriile epidemiologice sunt luate în considerație dacă se întrunesc criteriile cazului clinic și este legătură epidemiologică cu un caz confirmat.

Definițiile de caz clinic pentru infecțiile acute ale căilor respiratorii superioare (IACRS). Se consideră un caz clinic dacă este prezent debutul insidios (treptat) și cel puțin unul din următoarele semne – tuse, coriză, faringită, laringită cu sau fără febră, adenopatie și/sau conjunctivită.

În funcție de contextul epidemiologic și criteriile de laborator se vor efectua următoarele investigații: izolări virale detecții IF/PCR pentru adenovirusuri, virusul sincițial respirator, virusuri paragripale, coronavirusuri (bocavirusuri), parvovirusuri etc.

Caz clinic standard pentru infecții respiratorii acute severe (SARI) includ definiții de caz standard al infecțiilor respiratorii acute similare cu gripa (debut acut cu febră peste 38°C) cu tuse cu sau fără dureri de gât în absența altor diagnoze și prezența dispneei, respirație dificilă care necesi-

tă spitalizare. SARI în cazul copiilor de toate vârstele includ pneumonii și/sau bronșiolite care necesită confirmare radiologică de condensare pulmonară, necesită examen virusologic, bacteriologic și serologic în dependență de cazul clinic.

Infecțiile respiratorii acute și gripa prin manifestările clinico-epidemiologice au impact cu risc crescut de infectare și complicații la anumite categorii de persoane care sunt considerate grup de risc. Cei cu risc sporit de infectare și complicații sunt copii sugari și cei cuprinși cu vârsta de până la 5 ani, copii cu comorbidități aflați la tratament de hemodializă; copii infectați cu HIV, cât și cei imunodeficiențe primare și dobândite, copii cu infecții respiratorii recurente.

Un grup de risc aparte sunt femeile gravide care au șanse mai mari de infectare cu virusurile sezoniere și/sau a declanșa complicații serioase. De asemenea, aceste virusuri pot afecta copilul intrauterin. Dovadă că gripa și IACRS pot evolua mai sever la gravide sunt rezultatele observațiilor cunoscute din perioada epidemiilor și pandemiilor anterioare (pandemiile din 1918-1919, 1957-1958), care au raportat și cazuri de deces în perioada sarcinii. S-a demonstrat că-n aceste perioade a crescut numărul avorturilor, a nașterilor premature îndeosebi în cazurile pneumoniilor la gravide. Studiile epidemiologice efectuate în perioada interepidemică de asemenea indică sarcina ca factor agravant cu risc matern și pentru copil pentru apariția complicațiilor postgripale (pneumonii severe, travaliu precoce, impact perinatal nefast) (tab. 4.2).

Tabelul 4.2

Clasificarea gripei în funcție de forme clinice, severitatea bolii și evoluție

Conform etiologiei	Forme clinice	Severitatea	Evoluția	
			Durata bolii	Caracterul
A	• Tipică	• Ușoară	• Acută	• Ciclică
B	• Atipice: inaparentă subclinică frustă hipertoxică	• Medie	• Fulminantă	• Cu complicații: specifice - virus asociate nespecifice - bacteriene • Cu maladii intercurente asociate • Cu acutizarea maladiilor de fond *
C		• Gravă • Hipertoxică		

În vederea datelor clinice care impun adresarea imediată după asistență medicală pentru gravide sunt următoarele: dispneei, respirație dificilă, dureri în piept sau abdomen, apariția bruscă a amețelilor sau confuzie, vomă severe și persistente, scăderea sau chiar absența mobilității copilului, febră rebelă refractară la antipiretice.

Manifestările clinice ale infecției cu virus gripal sezonier

1. **Perioada de incubație:** de la câteva ore până la 1-3 zile în gripa sezonieră și 1-7 zile în gripa pandemică A(H1 N1).

2. **Perioada manifestărilor clinice** este dominată de semnele toxice generale.

Debutul este brusc, uneori brutal, cu frisoane, febră 39-40°C. Sunt prezente:

- Sindromul infecțios:
 - Fatigabilitate, astenie marcată, chiar adinamie.
 - Tulburări de somn, apatie, iritabilitate.
 - Anorexie.
 - Tahicardie.
- Sindromul algic:
 - Mialgii și/sau artralгии difuze.
 - Cefalee intensă, constantă, predominant în regiunea frontală, supra-orbitală.
 - Dureri în globii oculari (la mișcări sau la apăsare), caracteristice gripei.
 - Fotofobie.
- Sindromul cataral:
 - Nepronunțat în primele zile de boală.
 - Rinorea, din a 2-3 zi de boală, cu secreții aderente, vâscoase, cu senzație de nas înfundat, uscăciune, usturime.
 - Dezvoltarea ulterioară a tabloului de faringo-laringo-traheo-bronșită cu predominarea manifestărilor clinice de traheită.
 - Tusea uscată, spută vâscoasă, greu de eliminat, uneori cu striuri sanguinolente.
 - Dureri retrosternale.
 - Dispnee cu insuficiență respiratorie acută în formele severe.
- Date obiective:
 - Pletoră facială.
 - Injectarea vaselor sclerale.

- Enantem difuz pe pilieri, vâl, luetă.
- Granulația palatului moale, uvulei (Semnul Morozkin).

În cazul în care gripa nu este însoțită de complicații, simptomele acute durează 3-5 zile, după care scade febra și tusea devine productivă.

Severitatea gripei depinde de mai mulți factori:

1) Starea generală a organismului: regimul alimentar (carențe de alimente cantitativ, calitativ); starea psiho-emoțională (stresul, depresia), su-prarăcirea ș.a.).

2) Vârsta (copiii sub 5 ani, sugari).

3) Contactul anterior cu virusul respectiv.

4) Prezența unor afecțiuni cronice: cardiovasculare, bronhopulmonare (bronșite, bronșiectazii, astm bronșic), afecțiuni renale, diabet, anemii se-vere etc.

5) Tratamente imunosupresoare (corticoterapie, radioterapie, chimio-terapie) sau îmbolnăviri cu HIV.

6) Sarcina (infecția gripală în graviditate sporește riscul pentru avort și naștere prematură, dar și riscul matern pentru formele grave, cu risc major pentru făt.

În cazul formei ușoare de gripă, febra < 38,5°C, sindrom infecțios slab pronunțat, sindrom cataral slab pronunțat.

În cazul formei medii de gripă, febra 38,5-39,5°C, sindrom infecțios moderat pronunțat, sindrom cataral moderat pronunțat, sunt posibile larin-gotraheita stenoizantă compensată.

În cazul formei grave de gripă, febra 39,5-40,5°C, sindrom infecțios pronunțat, pot apărea semne de encefalopatie (stări psihotice, convulsii scurte clonice, halucinații, vomă), sindrom cataral pronunțat, sunt posibile laringotraheita stenoizantă, sindromul bronhoobstructiv (tuse neproductivă, dispnee cu expirația prelungită, dificilă, cianoză periorală, paliditate a tegumentelor), sindromul de afectare pulmonară segmentară, sindromul hemoragie (epistaxis, erupții peteșiale, hemoptizie).

Forma hipertoxică (malignă) de gripă este rară. La câteva zile după un debut aparent banal se instalează un edem pulmonar, care determină o insuficiență respiratorie acută severă (dispnee, cianoză, tahipnee) cu hipoxemie refractară și expectorație deseori hemoptoică. Bolnavul prezintă febră ridicată și stare generală foarte proastă. Pot apărea manifestări clinice caracteristice SCID (sindromul de coagulare intravasculară), DRAS (detresă respiratorie acută severă), ȘTI (șocul toxiinfecțios), edemul cere-

bral acut, manifestări extrarrespiratorii: miocardită, pericardită, insuficiență renală funcțională, meningoencefalită cu tulburări de conștiință până la comă, convulsii, reacție meningeană, semne neurologice de focar. Evoluția poate fi fatală în pofida tratamentului intensiv și a asistenței respiratorii. Supraviețuitori pot rămâne cu sechele respiratorii severe (fibroză pulmonară difuză).

Gripa la sugari

Maladia debutează lent, cu temperatură subfebrilă, semne toxice moderate sau chiar absente, semne discrete de catar respirator: nas înfundat, tuse. Tegumentele sunt palide, copiii refuză alăptatul. Sindromul de crup apare rar. Gravitatea maladii este condiționată de asocierea rapidă a infecției bacteriene (exo- sau endogene) cu dezvoltarea complicațiilor septice (otite, pneumonii, infecții ale căilor urinare etc.). Letalitatea este de 3 ori mai frecventă decât la copiii mai mari. La sugari, incidența gripei este mai mică față de incidența altor viroze nongri-pale (virus sincițial respirator, adenovirusuri, virusuri paragripale, enterovirusuri). Deși gripa poate începe ca o rinofaringită banală, infecția poate trece rapid în forme severe cu laringită (crup gripal), bronșiolită capilară, bronho-pneumonie. Deseori, la copiii de vârstă dată pe primul plan se determină afectarea musculară cu rabdomioliză și creșterea enzimelor musculare.

Gripa la copiii mici (de la 1 până la 3 ani)

La acest grup de vârstă, gripa are o evoluție gravă, cu semne toxice pronunțate, implicarea sistemului nervos central cu declanșarea sindromului neurotoxic. Frecvent se înregistrează pneumonii segmentare, crup, sindrom obstructiv. Sindromul de crup se dezvoltă de regulă la sugari și copiii de vârstă fragedă (laringe îngust, inervație și vascularizație abundentă, ceea ce conduce spre edem subcordal și spasm reflector al mușchilor laringelui, chiar în cazuri cu inflamație ușoară). Crupul se instalează brusc, pe neașteptate, de obicei noaptea. Toate simptomele de bază: voce răgușită, tuse aspră, lătrătoare și dispnee cu inspirația dificilă – apar concomitent, pe fonul febrei înalte și semne toxice pronunțate. Gravitatea crupului este condiționată de gradul de stenoză (I, II, III, IV). În lipsa suprainfecțiilor bacteriene evoluția crupului este benignă și de scurtă durată (1-3 zile). În cazul aderării florei bacteriene, starea se agravează, boala evoluând lent cu acutizare. La copii poate fi întâlnit sindromul abdominal care se manifestă prin inapetență, grețuri, vome, uneori diaree, dureri abdominale, limba intens saburală. Uneori poate surveni și un sindrom pseudoapendicular.

Manifestările clinice ale infecției cu virusul gripal pandemic A(H1N1)

Manifestările clinice ale gripei pandemice A(H1N1) pot varia de la o boală non-febrilă cu sindrom cataral ușor pronunțat, la o infecție asemănătoare cu cea din gripa sezonieră, până la o pneumonie virală rapid progresivă cu instalarea sindromului de detresă respiratorie acută. La internare, majoritatea pacienților prezintă febră și tuse, iar în jumătate din cazuri – dispnee, fatigabilitate, astenie, iar o treime – frisoane, mialgie, rinoree, dureri în faringe, cefalee, vomă, diaree apoasă, nehemoragică, fără semne inflamatorii. Copii la internare pot manifesta doar febră și semne de letargie, fără tuse sau alte simptome respiratorii. În cazurile severe la sugari și copii mici apar modificări de respirație (apnee, tahipnee, dispnee), cianoză, dehidratarea, modificări de conștiință și iritabilitate. Complicația cea mai frecventă în gripa pandemică este pneumonia de genă virală, care poate evolua rapid spre detresă respiratorie acută. În o treime din cazuri se determină o pneumonie bacteriană secundară. Persoanele aparent sănătoase, de asemenea, pot face forme foarte grave de gripă. Agravarea stării pacientului de obicei survine a 3-5 zi de la debut. Boala poate progresa rapid în decurs de 24 ore, cu instalarea insuficienței respiratorii.

Factorii de risc pentru apariția complicațiilor sunt:

- Copii < 5 ani (în special cei < 2 ani).
- Gravidele
- Pacienții cu patologii cronice preexistente precum:
 - astm bronhie
 - boli bronhopulmonare obstructive
 - imunodeprimății
 - boli cardiace
 - diabet zaharat
 - obezitate

Semnele de agravare a stării generale:

- tahipnee de la 2 luni până la 1 an 50 respirații și mai mult, de la 1 an până la 5 ani 40 respirații și mai mult;
- dispnee la efort fizic sau în repaus;
- respirație forțată (implicarea musculaturii auxiliare);
- poziție forțată;
- acrocianoză;
- hemoptizie;

- dureri sau presiune toracică;
- confuzie;
- febră înaltă pe o durată mai mult de 3 zile sau reapariția febrei după o perioadă de apirexie;
- TA scăzută;
- vomă severă sau persistentă;
- tahicardie >100 b/min sau bradicardie <60 b/min.;
- respirație accelerată;
- tirajul cutiei toracice;
- convulsii în anamneză sau la moment;
- refuzul alăptării;
- somnolență;
- obnubilare;
- adinamie.

Complicațiile gripei

Respiratorii:

- sindromul de detresa respiratorie acută (SDRA) este un sindrom de insuficiență respiratorie acută cu edem pulmonar acut necardiogen, cauzat de creșterea permeabilității alveolo-capilare prin mecanism lezional și care evoluează cu hipoxemie severă (prin șunt dreapta stânga intrapulmonar) și transudat alveolar. Criteriile ARDS: tahipnee mai mult de 30 r/min; SaO₂ mai mic de 90%; raportul PaO₂/FiO₂ mai mic de 3; prezența opacităților pulmonare în > 2 cadrane; semne de rezistență la oxigenoterapie; crup gripal (laringită sufocantă), bronșiolită capilară (la sugari), bronhopneumonie interstițială, cu caracter edematos și hemoragie.

Extrarespiratorii:

Șocul toxico-septic. Șoc distributiv dezvoltat pe fon de SIRS, asociat cu hipotensiune și hipoperfuzie tisulară în ciuda repleției volemicе adecvate, ce necesită substanțe vasoactive, pentru menținerea unei hemodinamici stabile.

Criteriile Șocului toxico-septic: instabilitatea hemodinamicii pe fondul administrării de lichide permissive patologiei în cauză; tensiunea arterială sistolică < 30% din cea inițială sau tensiunea arterială medie < 70 mmHg; tahicardie > 100 b/min sau bradicardie < 60 b/min; scor SIRS 3-4 puncte (leucocitoză, tahicardie, tahipnee, febră); cardiace (miocardită, pericardită, decompensare cardiacă); neurologice (meningite, meningoencefalite); edemul cerebral este o formă specială de "swelling", (fenomenul de um-

flare a creierului), în care substanța cerebrală este expansiionată din cauza creșterii lichidului tisular, iar densitatea creierului este scăzută.

Criteriile Edemului cerebral: hipertermie (febră $>39^{\circ}\text{C}$); cefalee chinuitoare; greață, vomă; semne de alterare a cunoștinței (euforie, anxietate, stare de comă); semne meningiene pozitive; stază papilară; miozită cu rabdomioliza la sugari (distrugerea țesutului mușchilor striati, antrenând eliberarea în sânge a mioglobinei), mioglobinurie, afectări renale (nefrită interstițială).

Agravarea afecțiunilor cronice preexistente:

Astmul bronșic și bronșita cronică, afecțiunile cardiovasculare, afecțiuni renale etc.

Complicații ca urmare a tratamentului:

Sindromul Reye se întâlnește la copiii cu gripă A și alte infecții virale (varicela) tratați cu aspirină. Constă într-o encefalopatie asociată cu degenerescenta hepatică, care are evoluție letală în 10-40% din cazuri. Manifestările clinice apar la câteva zile de la debutul gripei și pot fi precedate de greață și vomă. Ulterior apare obnubilare, coma, delir, convulsii, tulburări respiratorii. La examenele paraclinice se constată: în lichidul cefalorahidian – pleiocitoză limfocitară discretă cu albuminorahie normală; hiperamonemie; hipoglicemie; semne de citoliză hepatică și scăderea concentrației de protrombină).

Complicațiile prin suprainfectare bacteriana reprezintă principalul factor de gravitate în gripă.

Leziunile mucoasei tractului respirator favorizează suprainfecția bacteriana. Aceasta este cu atât mai frecventă și mai gravă cu cât preexistau afecțiuni respiratorii (bronșită cronică, mucoviscidoză etc.). Bacteriile cele mai frecvent implicate în suprainfecție sunt: *H. influenzae*, pneumococul și stafilococul auriu.

Se suspectează o suprainfectare bacteriană atunci când: febra reapare sau persistă mai mult de 7 zile; secrețiile devin purulente; apare leucocitoza cu neutrofilie; se alterează starea generală și funcția respiratorie.

Formele clinice de suprainfecție bacteriană sunt:

- În sfera ORL: sinuzite, otite, laringite; ele apar mai ales la copii.
- Laringita gripală, crupul gripal este o laringită obstruantă prin leziuni necrotico-hemoragice ale mucoasei laringotraheale. Se realizează mai ales prin suprainfecție cu *H. influenzae* la copii, respectiv cu Stafilococ – la adulți. Debutul este alarmant, la ziua 3-4 de boală, cu dispnee, senzație

de sufocare, tuse lătrătoare, cianoză. Se poate instala șocul infecțios cu tahicardie, hipotensiune arterială, iar în lipsa unui tratament adecvat starea bolnavului poate evolua spre deces.

- Supurațiile bronșice apar mai ales la pacienții cu bronșită cronică, astm bronșic. Infecția gripală produce frecvent decompensarea unei insuficiențe respiratorii cronice.

- Pneumoniile și bronhopneumoniile bacteriene sunt cele mai frecvente complicații dintre suprainfecțiile bacteriene, produse de *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* sau *Staphylococcus aureus* meticilin rezistent sau piogen în majoritatea cazurilor ele apar după 6-8 zile de evoluție a gripei; uneori apar concomitent cu pneumonia interstițială gripală. Evoluția sub un tratament cu antibiotic corect este favorabilă în majoritatea cazurilor.

- Pleurezii para sau metapneumonice – pot fi purulente, hemoragice, uni- sau bilaterale, pot să apară tardiv după gripă și sunt de obicei închisate, lăsând-sechele severe; ele sunt secundare unui proces pneumonie cu germeni gram negativi sau stafilococ (tab. 4.3, 4.4).

Tabelul 4.3

Manifestările clinice și paraclinice ale laringitei, laringotraheitei stenoizante (crup) în gripă

Semnele clinice	Fazele neurotoxicozei		
	I	II	III
<i>Conștientă</i>	Păstrată sau delir	Inhibat somnolent	Comă
<i>Tonus muscular</i>	Normal păstrat	Hipertonie	Hipotonie
<i>Caracter al convulsiilor</i>	Stare preconvulsivă	Accese scurte	Tonico-clonice. Dispar în coma profundă
<i>Somn</i>	Superficial	Somnolență	Sopor, comă
<i>Semne meningiene</i>	Slab pronunțate	Moderat pronunțate	Pronunțate sau dispar în coma profundă
<i>Semne de focar cerebral</i>	Absente	Rareori	Frecvent afectați nervii cranieni III, IV, VII, IX, X.
<i>Febră</i>	Hipertermie malignă	Hipertermie malignă	Hipertermie sau hipotermie în comă

<i>Pupile</i>	Moderat miotice, reacția la lumină vie	Mioză, reacția slabă la lumină	Mioză, reacție la lumină absentă
<i>Dereglări senzoriale</i>	Hiperestezie	Hipoestezie	Hipoestezie și anestezie
<i>Dereglări vegetative</i>	Paliditatea tegumentelor, acrocianoză	Acrocianoză, cianoză difuză, membre reci	Cianoză difuză, tegumente marmorate, reci
<i>Disfuncție a centrului respirator</i>	Tahipnee moderată	Tahipnee pronunțată 60-80 de respirații pe min	Respirația aritmică. Bradicardie, sindrom distres respirator
<i>Disfuncție a centrului cardiovascular</i>	Tahicardie moderată	Tahicardie pronunțată	Tahicardie sau bradicardie, aritmii
<i>LCR</i>	Hipertensiv incolor Clorurorahia Glucorahia	Hipertensiv, incolor, în normă la analiză	Puncția lombară este contraindicată
<i>Diureză</i>	Adecvată	Oligurie	Oligoanurie

Tabelul 4.4

Manifestările clinice și paraclinice ale laringitei, laringotraheitei stenozante (crup) în gripă

Fazele evolutive ale stenozei laringiene	Manifestările clinice	Datele paraclinice
Faza I (Stenoza compensată)	stare generală - medie tuse „lătrătoare” disfonie (voce răgușită) stridor dispnee inspiratorie la neliniște, la efort fizic	<ul style="list-style-type: none"> • Analiza generală a sângelui: - leucopenie - eozinofilie - limfocitoză - VSH moderat crescut • Componentă a gazelor sanguine normală sau ușor scăzută

Faza II (Stenoza subcompensată)	stare generală gravă stridor neliniște, agitație dispnee inspiratorie în stare de repaus s tuse „lătrătoare” disfonie (voce răgușită) tiraj vădit intercostal, supraclavicular, epigastral la inspirație cianoză periorală tahicardie	<ul style="list-style-type: none"> • Analiza generală a sângelui: - leucopenie - eozinofilie - limfocitoză - VSH moderat crescut • Saturație a sângelui cu oxigen la 60-70% , ✓ PH -7,36-7,25 • Hipercapnee ventilatorie • Exces de bază mărit sau hipercapneea
Faza III (Stenoza decompensată)	stare generală gravă sau foarte gravă neliniște permanentă hiperexcitabilitate / tirajul accentuat al musculaturii scheletale, inspirator insuficiență circulatorie paliditatea tegumentelor cu acrocianoză tahicardie, bradiaritmie, bradicardie desen vascular mărmurat tremur al extremităților, convulsii sopor	<ul style="list-style-type: none"> • Saturația sângelui cu oxigen la 60% (hipoxemie) - pH > 7,2 • Acidoza decompensată mixtă • Hipercapnee pronunțată
Faza IV (Asfixia)	stare generală extrem de gravă somnolență tiraj intercostal absent bradicardie, aritmie cianoză totală s hipotermie convulsii asfixie avansată și stare agonală coma hipoxică, deces	hipercapnee pronunțată hipoxemie acidoza decompensată mixtă

Monitoringul pacientului cu gripă severă:

- Tensiunea arterială sistolică/diastolică.
- Pulsoximetria.
- Diureza orară.
- Radiografia cutiei toracice.
- Electrocardiografia.
- Analiza generală a sângelui.
- Analiza biochimică a sângelui (bilirubina, ALAT, ureia, creatinina, proteina generală).
- Glicemia.
- Coagulograma.
- Echilibrul acidobazic și gazos.
- Lonograma.
- Analiza generală a urinei.
- Consultul altor specialiști (la necesitate).

Principalele criterii de admitere în secțiile de terapie intensivă a pacienților cu gripă

- Instalarea insuficienței respiratorii acute, SDRA.
- Instalarea șocului toxico-septic.
- Instalarea edemului cerebral.
- Exacerbarea gravă a patologiei coexistente.
- Asocierea gripei pe fondalul terenului somatic cronic compromis sever.

Perioada de convalescență

Evoluția formelor comune de gripă este benignă și autolimitantă, cu dispariția febrei în 5-7 zile. Perioada de convalescență poate fi însoțită cu tuse persistentă, se menține astenia generală pronunțată (sindromul oboseleii cronice) care se poate prelungi până la 1-2 săptămâni după vindecare. Poate apărea un sindrom depresiv însoțit de melancolie, irascibilitate, labilitate psiho-emoțională. În lipsa complicațiilor, infecția gripală evoluează autolimitant cu refacerea totală a bolnavului. Însă în această perioadă, ca urmare a scăderii capacității de apărare a organismului după suportarea infecției virale, este sporită receptivitatea organismului la infecții bacteriene sau virale.

Imunitatea la infecția cu virusul gripal

Funcția fundamentală a sistemului imunitar este apărarea integrității organismului față de pătrunderea unor substanțe (antigene) străine. Aceas-

tă apărare este asigurată printr-un sistem complex de organe, celule și alți factori. La mecanismele de apărare a organismului participă imunitatea nespecifică și imunitatea specifică. Imunitatea nespecifică a organismului este asigurată de un sistem compus din macrofage, complement, supresori naturali, lizosim, interferon și alți mediatori de interacțiune celulară. Imunitatea specifică apare în organism pe parcursul vieții ca urmare a contactului cu diferite tipuri de microorganisme.

La evoluția imunității antivirale participă atât factorii umorali, cât și cei celulari. Particularitățile imunității antivirale sunt condiționate de specificitatea structurii virusurilor. Durata imunității în cazul diferitelor infecții virale variază în mod semnificativ. În cazul unor infecții – varicelă, rujeola, rubeola – imunitatea este stabilă și de lungă durată, iar îmbolnăvirile repetate sunt rare. În cazul altor infecții respiratorii și/sau ale tractului intestinal, imunitatea este de scurtă durată (tab. 4.5).

Tabelul 4.5

Mecanismele de apărare ale organismului împotriva infecției virale

Mecanism	Ațiune	Contra-strategia virusului
Mucoasa căilor respiratorii.	Reținerea și îndepărtarea particulelor virale înainte ca acestea să invadeze țesutul epitelial și să se multiplice.	Neuraminidaza permite virusului să pătrundă prin mucoasă.
Interferon.	Distrugea virusurilor.	Multiplicarea rapidă a virusurilor.
Supresorii (killer) naturali - limfocitele T.	Distrugea celulelor infectate.	Multiplicarea rapidă a virusurilor.
Anticorpi.	Neutralizarea virusurilor.	Variația antigenică.

Particularitățile imunologice ale infecției cu virus gripal

La pătrunderea în organism, virusul gripal se confruntă cu o varietate de mecanisme de apărare:

1. Mucoasa care acoperă căile respiratorii formează un strat protector pe epiteliu, reținând bacteriile, virusurile și alte particule. Virusul gripal poate depăși această barieră datorită neuraminidazei.

2. Producerea de interferon, care începe imediat după infectare. Inter-

feronul reușește să distrugă virusul în 4-5 zile, totuși replicarea virusului este atât de rapidă, încât producerea de interferon este insuficientă pentru a stopa infecția virală.

Ca și în cazul altor tipuri de infecții virale, la crearea imunității antigripale contribuie factorii celulari și umorali. Mecanismele de apărare funcționează în sensul neutralizării și eliminării din organism a virusului și a celulelor infectate. Cu toate că organismul sintetizează anticorpi față de toate proteinele principale ale virusului gripal, în procesul imuno-infecțios importanță au doar 2 proteine HA și NA și anticorpii elaborați față de ele.

3. Răspunsul imun față de virusurile gripale este solid și de durată, **intrasubtipic**, oferind protecție față de reinfecție cu virus omolog. Astfel, indivizii născuți înainte de 1951 la reapariția în 1977 a subtipului A(H1N1) (responsabil de pandemia din 1918) au făcut foarte rar forme clinic manifeste de îmbolnăvire, imunitatea persistând mai mult de trei decenii.

4. Rezistența încrucișată **intersubtipică (între subtipuri)** este practic inexistentă, fiind demonstrată de pandemiile ce survin o dată cu apariția de noi subtipuri, prin shift antigenic a virusului gripal A.

5. Răspunsul imun are **specificitate înaltă de tip**, între virusurile gripale A, B și C neexistând imunitate încrucișată.

Răspuns umoral

Anticorpii specifici sunt sintetizați față de toate proteinele virale gripale, dar cu precădere față de antigenii (Ag): **Ag HA (hemaglutinina)**; **Ag NA (neuraminidaza)**, **AgM (proteina M de matrice)** și **Ag NP (nucleoproteina)**.

1. Răspunsul imun protector este determinat, în special, de nivelul anticorpilor (Ac) **induși de Ag HA** atât în ser, de tip IgG, cât și în secrețiile nazofaringiene, de tip IgA. Ac IgA anti HA produși la nivelul mucoaselor sunt de tip neutralizant, persistând 3-5 luni de la infecție. Anticorpii serici se mențin durate îndelungate (ani de zile). Mecanismele asociate protecției sunt: neutralizarea infectivității virale, agregarea virionilor și liza celulelor infectate mediată de complement.

2. Răspunsul cu **Ac față de Ag NA** contribuie la scăderea severității bolii și a capacității de diseminare a virusului prin diminuarea concentrației particulelor virale eliberate din celulele infectate. Anticorpii anti NA sunt prezenți în ser și în secreții, nivelurile mari de astfel de **anticorpi** previn manifestarea clinică severă, nu și producerea infecției propriu-zise.

3. **AgM și NP** induc sinteza Ac specifici de tip, care nu au activitate protectoare. În cursul bolii, Ac serici sunt evidențiați în prima săptămână de la debut, atingând concentrația maximă la 3 săptămâni. Consecutiv infecției naturale, 80% dintre subiecți prezintă Ac față de HA, de tip IgM, IgG și IgA; Ac IgA și IgG apar în primele 7 zile de boală.

Răspuns celular

La îmbolnăvire, în primele 1-3 zile de la debut, se observă o creștere a numărului de neutrofile cu o scădere concomitentă a limfocitelor, urmată de o revenire la normal. Răspunsul cu limfocite T citotoxice atinge maximum înainte de apariția anticorpilor, fiind urmată de o diminuare până la niveluri nedeterminabile.

Răspunsul imun este **specific de tip**. Ag interne NP și M sunt predominant recunoscute de limfocitele citotoxice. Răspunsul față de HA este prezent, dar încrucișat față de diversele subtipuri ale virusului gripal A, fapt dovedit pe studii în care limfocitele T CD8 și CD4 recunosc nu numai epitopii HA ale tulpinilor virusurilor gripale A umane, dar și epitopii tulpinilor porcine și aviare. Această imunitate ar proteja parțial omul de infecția cu virusuri gripale provenite de la alte specii.

Reacțiile specifice mediate celular sunt:

– **de citotoxicitate**, divizate prin: citoliza celulelor infectate care exprimă Ag-NP, M și HA, responsabile fiind limfocitele T efectoare, celulele NK citotoxice și totodată inductoare de IFN, celulele K și citotoxicitatea celulară mediată de Ac, dirijată în special față de AgHA și NA, nu și față de Ag interne NP;

– **de hipersensibilitate întârziată**, în care intervin limfocitele T;

– **de expresie a citokinelor:**

a) s-a demonstrat experimental că la imunizarea șoarecilor cu virusul gripal, celulele T-CD8 sintetizează o combinație de citokine: IL-2/IL-4 sau IL-4/IFN gama și IL-2/IFN gama, iar celulele T-CD4 un singur tip de citokine. IL-2 și IL-4 au acțiune de creștere a activității citotoxicității limfocitelor T, NK, K și a monocitelor, participând la răspunsul antiviral alături de IFN.

Implicarea citokinelor în răspunsul imun la acțiunea virusurilor gripale s-a observat foarte elocvent la persoanele care au fost infectate cu virusul A(H5N1), în anii 2003-2007, în special la cei cu forme severe, decelându-se o „explozie de citokine”, cu concentrații mari de IL, IFN, TNF. Rolul lor necesită studii aparte și aprofundate.

Impactul economic. Costul gripei

În decursul ultimilor ani se observă o creștere continuă a cheltuielilor legate de sănătate. Această creștere este condiționată și de o serie de factori: îmbătrânirea populației, creșterea incidenței anumitor boli, crearea de noi tehnologii, cerințele tot mai mari ale pacienților legate de calitatea serviciilor medicale. Gripa și afecțiunile respiratorii generează anual importante pierderi economice. Costul asociat al gripei se referă în special la costul *îngrijirilor medicale și pierderea capacității temporare de muncă pe perioada îmbolnăvirii persoanei adulte sau pentru îngrijirea copilului bolnav.*

Cea mai mare parte a costurilor de îngrijire medicală o constituie costurile de spitalizare. În perioada epidemică, rata de spitalizare crește de 2 - 5 ori pentru pacienții din grupurile cu risc sporit, ceea ce înseamnă o creștere a numărului de internări cu 1.600 la 1 milion de locuitori, ca rezultat al complicațiilor severe ale gripei: pneumonia și/sau alte infecții bacteriene secundare sau exacerbarea bolilor cronice (diabet, boli cardiovasculare, astm bronșic etc.). Pentru tratarea gripei și a complicațiilor ei, în fiecare an, în lume se cheltuiesc aproximativ 14,6 mlrd \$. Fiecare persoană, la rândul său, din cauza infecției gripale poate cheltui echivalentul de la 30 până la 100 \$, doar pentru acoperirea tratamentului infecției gripale, nu și a complicațiilor post-gripale, care ridică costul gripei la sute de dolari SUA. Costul vaccinului gripal sezonier constituie **10-12\$**. Astfel, **ca și în cazul** multor infecții, prevenirea infecției (vaccinarea) costă mult mai puțin decât tratarea ei. Gripa are repercusiuni importante și la nivel social; costurile pe care aceasta le implică se referă la *absenteismul de la locul de muncă și productivitatea redusă a angajaților bolnavi* (în cazul în care angajații bolnavi continuă să lucreze sau se întorc la lucru înainte de dispariția simptoamelor), plata orelor suplimentare și angajarea de personal temporar.

Tratamentul

Izolarea bolnavilor cu gripă, evitarea mijloacelor de transport în comun, locuri publice, în vederea localizării infecției. Izolarea bolnavului se poate face la domiciliu, în spital sau în instituții medicale de tip ambulatoriu/policlinică organizate în funcție de amploarea epidemiei gripale.

Repaus la pat, până la normalizarea temperaturii corpului și 2-3 zile de recuperare

Tratament igienodietetic:

- Dietă hidro-lacto-zaharată pe toată perioada febrilă. Alimentație calorică, suficientă conform vârstei, bogată în vitamine. Sugarii trebuie să fie alăptați la sân cât mai frecvent pe perioada acută a bolii, rehidratați.

- Aport sporit de lichide în corespundere cu vârsta și toleranța.

- Igiena cavității bucale prin gargarisme cu ceai de mușețel, sol. bicarbonat de sodiu 2% sau alte antiseptice.

Principiile tratamentului medicamentos:

• Antipiretice/analgice (la febra $>38,0^{\circ}\text{C}$). Copiilor le este contraindicat acidul acil salicilic din cauza riscului apariției sindromului Reye.

• Decongestie nazală (la necesitate) – intranasal soluție NaCl de 0,9%, apă de mare etc.

Aceste tratamente trebuie să dureze maxim 5 zile din cauza faptului că duc la ischemia mucoasei care favorizează suprainfecția bacteriană. De asemenea pot induce apariția atrofiei mucoasei nazale.

• Antitusive și expectorante (la necesitate).

• Antihistaminice (la necesitate, persoanelor predispuse la stări alergice).

• Mărirea rezistenței nespecifice a organismului prin administrarea de remedii imunomodulatoare: Arbidol, Viferon în supozitorii rectale, Cycloferon din primele zile intramuscular sau intravenos apoi per os.

- Pacovirina - 1 comprimat x 2 ori/zi înainte de masă, timp de 10 zile. Manifestă activități antivirale, imunomodulatoare și interferonogene. Mecanismul acțiunii antivirale constă în inhibiția reproducerii intracelulare a virionilor în stadiile inițiale și tardive. Efectul imunomodulator se manifestă prin acțiunea asupra diferitor subclase de T-limfocite (T-helper și T-supresori). Activitatea interferonogenă se manifestă prin inducerea interferonului endogen, preponderent de tipul α și β .

Tratamentul etiologic

Tratamentul antiviral se va începe cât mai curând posibil, deoarece 80-90% din afecțiunile acute respiratorii inițial sunt virale.

Tratamentul pacienților cu gripa pandemică A(H1N1) suspectată sau confirmată.

În cazul în care sunt disponibili inhibitorii de neuraminidază:

• Pacienții cu gripa pandemică A H1N1 suspectată sau confirmată sunt tratați cu oseltamivir (Tamiflu). Tratamentul este recomandat ca unul de primă linie adulților, inclusiv gravidelor, și copiilor.

Administrarea de oseltamivir pacienților cu gripa pandemică A(H1N1) suspectată sau confirmată			
Vârsta sau masa corporală	Doza	Frecvența de administrare	Durata curei de tratament
Adulți, copii >13 ani	75 mg	2 ori în zi	5 zile
Copii <15 kg	30 mg	2 ori în zi	5 zile
>15-23 kg	45 mg	2 ori în zi	5 zile
>23-40 kg	60 mg	2 ori în zi	5 zile
>40 kg	75 mg	2 ori în zi	5 zile
Copii 0-1 luni	2 mg /kg	2 ori în zi	5 zile
Copii >1 lună - 3 luni	2,5 mg/kg	2 ori în zi	5 zile
Copii >3-12 luni	3 mg/kg	2 ori în zi	5 zile

Pacienții cu manifestări clinice severe pot fi tratați cu doze mai mari de oseltamivir (150 mg de 2 ori/zi) pe o durată de 10 zile sau mai mult funcție de negativarea nivelului de viremie determinată prin PCR.

Pacienților cu insuficiență renală și clearansul creatininei de 10-30 ml/min doza de oseltamivir poate fi redusă la 75 mg o dată pe zi. Nu sunt recomandări privind reducerea dozei de oseltamivir pacienților cu insuficiență hepatică. Pacienților care au vomitat în perioada de o oră de la administrarea oseltamivirului se recomandă decât o doză suplimentară de 75 mg (recomandare bazată pe considerente fiziologice).

• Zanamivirul este recomandat drept tratament alternativ copiilor, adulților, inclusiv gravidelor Bronhospasmul poate fi o reacție adversă la administrarea de zanamivir. Doza nu se ajustează pacienților cu insuficiență renală sau hepatică.

Administrarea de Zanamivir pacienților cu gripa pandemică A(H1N1) suspectată sau confirmată			
Vârsta pacientului	Doza inhalatorie	Frecvența de administrare	Durata curei de tratament
Adulți și copii > 7 ani	10 mg (2 pufuri)	2 ori în zi	5 zile

• Dacă inhibitorii de neuraminidază sunt accesibili pacienților cu gripă pandemică A(H1N1) suspectată sau confirmată – nu se va administra amantadina sau remantadina ca tratament de primă linie.

- Este posibilă administrarea concomitentă a inhibitorilor de neuraminidază și inhibitorilor M2 doar în cazurile când, conform datelor recent primite de la organele de supraveghere locală, se va demonstra sau suspecta susceptibilitatea virusului gripal la inhibitorii M2. Clinicienii vor determina cu precauție care pacienți (funcție de gravitate) vor primi tratament antiviral combinat.

- Mamele ce primesc oseltamivir sau zanamivir, pot continua alăptarea copiilor. Administrarea preparatelor antivirale nu este o contraindicație pentru alăptare.

Actualmente în SUA a fost urgentată aprobarea unui nou inhibitor de neuraminidază – Peramivir cu administrare pentru tratamentul pacienților extrem de gravi (în special, celor aflați la respirație dirijată), celor care nu pot primi inhibitorii de neuraminidază per oral sau în inhalații.

În cazul în care nu sunt disponibili inhibitorii de neuraminidază:

- Se va administra inhibitorii M2 ca tratament de primă linie dacă, conform datelor recente primite de la organele de supraveghere locală, se va demonstra sau suspecta susceptibilitatea virusului la inhibitorii M2.

Administrarea de amantadină pacienților cu gripa suspectată sau confirmată			
Vârsta	Doza	Frecvența	Durata
Adulți < 65 ani și copii >10 ani	100 mg	2 ori în zi	5 zile
Adulți > 65 ani	100 mg	1 dată în zi	5 zile
Copii 1-9 ani	5 mg/kg /zi divizată în 2 prize (doza totală să nu depășească 150 mg/zi)		5 zile
Administrarea de amantadină pacienților cu insuficiență renală			
Clearensul creatininei 30-50 ml/min	200 mg în prima zi apoi 100 mg în zilele următoare		
Clearensul creatininei 15-29 ml/min	200 mg în prima zi apoi 100 mg peste o zi		
Clearensul creatininei <15 ml/min	200 mg la 7 zile		

Administrarea de rimantadină pacienților cu gripa suspectată sau confirmată			
Vârsta	Doza	Frecvența	Durata
Adulți, copii > 12 ani	100 mg	2 ori în zi	5 zile
Adulți > 65 ani, pacienți cu insuficiență hepatică severă sau renală (clearensul creatininei 10 ml/min)	100 mg	1 dată în zi	5 zile

Recomandări privind administrarea de antibiotice pacienților cu gripă

- Pacienților cu pneumonie comunitară se va indica antibiotice conform ghidurilor clinice respective.
- Nu se indică antibiotice cu scop profilactic pacienților cu gripă suspectată sau confirmată, dar care nu necesită ventilare asistată și nu au indicații clinice pentru administrarea de antibiotice.
- Se indică antibiotice pacienților cu infecție de gripă suspectată sau confirmată care necesită ventilare asistată. Vor fi urmate ghidurile clinice respective pentru prevenirea sau tratamentul pneumoniilor cauzate de ventilația asistată sau celor nosocomiale.

Corticosteroizii:

Nu se indică de rutină, dacă nu există indicații specifice legate de, obicei de boala de bază. **Se va administra în bronșiolite și prezența bronho-spasmului moderat sau sever.**

Oxygenoterapie. Atunci când este posibil, pulsoximetrele trebuie să fie utilizate pentru evaluarea inițială a pacienților cu insuficiență respiratorie la momentul prezentării și pentru monitorizarea saturației cu oxigen pe parcurs. Oxygenarea sângelui arterial trebuie să fie menținută la nivelul de peste 90%. În condițiile în care dispozitivele pentru monitorizarea saturației cu oxigen a sângelui nu sunt disponibile, oxygenoterapia trebuie să fie administrată pacienților cu gripă care manifestă semne clinice de detresă respiratorie acută. Canulele nazale utilizate în acest scop nu permit oxygenarea în volum și viteză suficient de mare și sunt eficiente doar pentru managementul hipoxiei ușoare. Pacienții în stare de hipoxie severă necesită volume mari de oxigen oferit prin mască facială. Viteza de livrare a oxigenului de către dispozitivele uzual folosite poate varia ca concentrație și volum și poate fi insuficientă pentru a corija hipoxia de grad avansat.

Atunci când nu este disponibilă sursa de oxigen prin conductă, instituția medicală trebuie să aibă depozit și sistem de aprovizionare cu cilindre de oxigen în cantitate suficientă. Întrucât nebulizatoarele și măștile de oxigen cu flux mare de aer au fost potențial implicate în răspândirea nozocomială a SARS, aceste măsuri trebuie folosite numai dacă sunt justificate clinic. Ele trebuie aplicate sub un control strict al infecției care include și precauțiile de transmitere aerogenă.

Principii generale de tratament a pacienților cu gripă complicată cu sindrom de detresă respiratorie acută

1. Sedo-analgezie.
2. Corecția echilibrului ionic.
3. Antacide.
4. Antiproteazice.
5. Terapia eferentă de detoxicare (pasmafereza membramară).
6. Profilaxia și tratamentul complicațiilor (antibioticoterapia).
7. Terapia volemică (perfuzia prealabilă a 500 ml de fluide, apoi câte 1 ml/kg/h), sub controlul diurezei.

Principii generale de tratament a pacienților cu gripă complicată cu șoc toxico-septic

1. Terapia respiratorie (la necesitate, solicitarea consultației specialiștilor calificați).
2. Oxigenoterapia (menținerea SaO_2 mai mult de 90%).
3. Terapia volemică (perfuzia prealabilă a 500 ml de fluide, apoi câte 1 ml/kg/h), sub controlul diurezei.
4. La necesitate administrarea de catecholamine (sol. Dopamină, Dobutrex, Noradrenalină, Mezaton, Adrenalină), în doze necesare de menținere a hemodinamicii eficiente.
5. Heparine cu masa moleculară mică.
6. Terapia de substituție (componente și preparate sanguine).
7. Corticoterapie.

Principii generale de tratament a pacienților cu gripa complicată cu edem cerebral

1. Consultația medicilor specialiști (neuropatolog, oftalmolog etc.).
2. Antipiretice (medicația farmacologică și fizică).
3. Diuretice osmotice.
4. Terapia respiratorie (la necesitate, solicitarea consultației specialiștilor calificați).

5. Oxigenoterapia (menținerea SaO_2 mai mult de 90%).
6. Terapia volemică (perfuzia prealabilă a 500 ml de fluide, apoi câte 1 ml/kg/h), sub controlul diurezei.
7. La necesitate administrarea de catecolamine (sol. Dopamină, Dobutrex, Noradrenalină, Mezatol, Adrenalină), în doze necesare de menținere a hemodinamicii.
8. Heparine cu masa moleculară mică.
9. Terapia de substituție (componente și preparate sanguine).
10. Corticoterapie.

5. PROFILAXIA GRIPEI

A. Nespecifică

1. Măsurile față de izvorul de infecție:

- depistare: epidemiologic, clinic, laborator;
- declarare: numerică, trimestrială; săptămânal sau zilnic în epidemii;
- izolare: 5-7 zile, la domiciliu, formele ușoare, cele grave se spitalizează.

2. Măsurile față de căile de transmitere:

- dezinfecția continuă și terminală nu sunt necesare;
- aerisirea încăperilor, curățenia sunt suficiente.

B. Specifică

Profilaxia specifică a gripei cuprinde:

1. Vaccinarea antigripală
2. Chimioprofilaxia antigripală

1. Vaccinarea antigripală – cea mai eficientă metodă de prevenire și control al gripei

Istoria dezvoltării vaccinului antigripal

1933: Descoperirea virusului gripal A uman.

1935-1937: Primele experimentări cu material conținând virus activ.

1940: Descoperirea virusului gripal B.

1943-1945: Primele testări clinice extensive cu virus întreg.

1945: Prima înregistrare a vaccinului antigripal (USA).

1964: Primele experimentări ale vaccinului divizat.

1966: Îmbunătățirea majoră a metodei de purificare a vaccinurilor.

1976: Primele testări ale vaccinului subunitar (înregistrat în 1980).

1995: Primele testări ale vaccinului virosomal (înregistrat în 1998).

Dezvoltarea vaccinurilor antigripale a început în anii '40 cu sprijinul Departamentului Apărării al SUA, îmbolnăvirile în masă din timpul epidemiilor de gripă fiind considerate o amenințare la adresa capacității de luptă a trupelor armate americane. Primele vaccinuri conțineau particule virale întregi (atenuate și inactivate). Acestea erau obținute prin inactivarea virusului (cultivat pe ouă de găină) cu formol. Eficiența acestor vaccinuri era destul de ridicată (70-80%). Din cauza purificării insuficiente, vaccinurile respective conțineau o cantitate mare de ovalbumină,

vaccinarea fiind deseori însoțită de reacții adverse (febră, edem și durere la locul injectării).

Dea lungul celor 50 de ani, vaccinurile s-au perfecționat în permanență, eficiența și puritatea lor îmbunătățindu-se continuu. În 1966 a început să fie utilizată centrifugarea zonală ca metodă de purificare a vaccinurilor, care a permis scăderea conținutului de ovalbumină și a diferitelor componente celulare (cauza celor mai frecvente reacții la vaccin). Astfel de vaccinuri de puritate înaltă erau mai puțin reactogene în comparație cu vaccinurile inițiale.

În prezent există trei tipuri de vaccinuri antigripale:

I. *Vaccinurile cu virus întreg inactivat sau atenuat (generația I)*

Aceste vaccinuri induc un bun răspuns imunologic, însă au o reactogenicitate ridicată și de aceea nu pot fi folosite la copii. Vaccinurile respective au o serie de contraindicații, ce limitează dur întrebuințarea lor la persoanele cu risc sporit de complicații postgripale.

II. *Vaccinurile divizate/split (generația a II-a)*

Au fost dezvoltate în anii '60, în scopul reducerii reactogenității. Vaccinurile divizate/split conțin fragmente ale virusului, nu virus integru, incluzând proteinele de suprafață și alte componente virale. Descompunerea particulelor virale se realizează cu ajutorul solvenților organici sau al detergenților.

III. *Vaccinurile subunitare (generația a III-a)*

Au fost dezvoltate în anii '70, pornind de la observația că antigenii superficiali ai virusurilor produc un răspuns imun identic cu cel al virusului întreg sau divizat, dar reactogenicitatea este mai redusă.

Vaccinurile subunitare conțin numai hemaglutinină și neuraminidază, toate celelalte componente virale fiind îndepărtate. Datorită eficienței sale înalte și reactogenității scăzute, se pot folosi la copii cu vârsta de peste 6 luni.

Procesul de fabricație a vaccinului antigripal subunitar:

1. Fiecare tulpină virală se obține separat, pe diferiți embrioni de găină, pornind de la sămânța primară. Pentru fiecare tulpină virală, multiplicarea virusului se realizează prin inoculare a sute de mii de ouă și incubarea timp de 2-3 zile la temperatura optimă, de obicei +33-35°C. Pentru a evita contaminarea cu bacterii, ouăle se dezinfectează înaintea inoculării.

2. Se realizează apoi recoltarea materialului, centrifugarea pentru în-

depărtarea impurităților mari și ultracentrifugarea care permite obținerea unui înalt grad de puritate a suspensiei.

3. Inactivarea virusului se face prin tratare cu formaldehidă.

4. Separarea antigenelor de suprafață (hemaglutinina și neuraminidaza) de pe membrana virală se realizează folosind detergentul bromura de trimetil-cetil-amoniu (TCAB).

5. Hemaglutinina și neuraminidaza sunt separate de celelalte componente virale prin ultracentrifugare, iar detergentul este îndepărtat prin dializă.

6. Moleculele de hemaglutinină și neuraminidază prin agregare spontană formează rozete. Acestea sunt introduse într-o soluție tampon care conține săruri de sodiu, potasiu, calciu și magneziu și o cantitate mică de conservant tiomersal pentru a asigura sterilitatea și a preveni contaminarea cu bacterii.

7. Această procedură se realizează separat pentru fiecare din cele 3 tulpini ale vaccinului. Ultima etapă constă în amestecarea celor 3 componente și încărcarea suspensiei obținute în seringi de 0,5 ml.

8. În fiecare an, vaccinul antigripal trece printr-un control sever al calității. Imediat ce vaccinul a fost produs, se inițiază procedura de înregistrare anuală. Se realizează două studii clinice pentru vaccin (în luna iunie) la persoane tinere și vârstnici pentru evaluarea eficienței și a toleranței.

Vaccinurile viitorului

Obținerea de vaccinuri pe culturi celulare

În 1995, Organizația Mondială a Sănătății a exprimat necesitatea dezvoltării unor tehnologii folosind culturile celulare, care să permită producerea unor cantități mari de vaccin antigripal și o reacție mai rapidă în eventualitatea unei pandemii. Astfel de vaccinuri au fost deja create de unele firme producătoare pe baza tehnologiei culturilor celulare MDCK (Medine Dar by Canine Kidney). Testele clinice au demonstrat că, din punct de vedere al profilului de siguranță și al caracteristicilor, acest vaccin nu se deosebește de vaccinul obținut pe baza embrionilor de găină. Pe lângă posibilitatea obținerii rapide, un alt avantaj al acestui vaccin îl constituie faptul că poate fi administrat persoanelor alergice la proteinele din oule de găină.

Îmbunătățirea imunogenității vaccinurilor

În ultimii ani, cercetarea științifică a fost orientată în sensul creării de

noi vaccinuri gripale cu imunogenicitate îmbunătățită pentru obținerea în rezultatul vaccinării a unui răspuns imun mai puternic decât în cazul vaccinurilor clasice. Cu acest scop se folosesc diferite tehnologii inovatoare. Astfel, a fost creat un vaccin subunitar virosomal, principiul căruia se bazează pe folosirea liposomilor (înveliș lipidic de formă sferică) pe care se fixează antigenii de suprafață al virusului gripal (hemaglutinina și neuraminidaza). În așa mod, particula virosomală imită structura virusului natural. Vaccinul virosomal se caracterizează printr-o mai bună tolerabilitate, nefiind observate reacții adverse importante. Acesta ar fi unul din vaccinurile de viitor contra gripei.

Compoziția vaccinurilor antigripale

Pentru a asigura protecția maximă față de virusul natural, compoziția vaccinului se schimbă în fiecare an, aceasta stabilindu-se pe baza recomandărilor OMS în funcție de prognoze (tulpinile care vor circula în sezonul respectiv). În compoziția vaccinului se introduc 3 categorii de antigeni virali: 2 de tipul A și 1 de tip B.

Selecția tulpinilor antigenice ale vaccinurilor gripale

În fiecare primăvară, Organizația Mondială a Sănătății face recomandări referitoare la tulpinile virale în sezonul de gripă apropiat, ținând cont de mutațiile antigenice observate. Aceste recomandări sunt elaborate pe baza datelor obținute de la Centrele Regionale de Referință de supraveghere a gripei în urma monitorizării epidemiilor de gripă. Într-o perioadă de 15 ani, în 47 din 51 de cazuri (92%), datele pronosticate privind tulpinile în circulație s-au dovedit absolut exacte sau suficient de exacte. Doar în 4 cazuri (8%) antigenii nu au coincis: în 1983/84; în 1990/91; în 1993/94 și 1997/98.

Toate vaccinurile antigripale elaborate în lume în sezonul respectiv trebuie să conțină compoziția recomandată de OMS.

Pentru asigurarea acurateței prognozelor și implicit a eficienței vaccinurilor, este necesară cooperarea dintre centrele de supraveghere și firmele producătoare de vaccinuri.

Schematic este prezentat un exemplu de calendar pentru producerea de vaccinuri:

- Februarie: experții determină tulpinile virale în circulație și OMS face recomandările pentru compoziția vaccinurilor în sezonul următor.

- Martie: se face cultivarea virusurilor; materialul viral cultivat este trimis tuturor producătorilor de vaccinuri.
- Aprilie: producerea vaccinului.
- Mai-iulie: pregătirea și testarea vaccinului; sunt elaborate specificațiile tehnice; se realizează testările clinice.
- August: ambalarea.
- Septembrie: distribuția.
- Octombrie-Decembrie: efectuarea vaccinării antigripale.

Eficiența vaccinării antigripale

Utilizarea vaccinului antigripal în profilaxia gripei este determinată de 3 factori:

1. Coincidența antigenelor - asemănarea virusurilor gripale care circulă și tulpinile în compoziția vaccinului.

2. Imunogenicitatea - nivelul răspunsului imun pe care îl generează. Anticorpii sintetizați după administrarea vaccinului la nivele peste concentrația critică (1:40) asigură protecția față de complicațiile serioase și letale ale gripei.

3. Reactogenicitatea - legată de efectele adverse ale vaccinului, produse prin acțiunea proteinelor virale și a corpurilor străini de origine nonvirală.

În general, eficiența vaccinării la copii și persoane cu vârsta până la 60 de ani este de 70-90%. Diferite studii au demonstrat că prin vaccinare se realizează o reducere semnificativă a incidenței complicațiilor gripei, spitalizării, mortalității.

Prevenirea	Eficiența vaccinării
Pneumoniei	53%
Spitalizării	50%
Decesului	68%

În rândul populației adulte active, vaccinarea reduce absenteismul de la locul de muncă cu până la 70%.

Eficiența vaccinării fiecărei persoane va depinde, de asemenea, de următorii factori:

- dacă vaccinatul a mai avut contact în anii anteriori cu virusul gripal; în acest caz gradul de protecție fiind mai mare (efect booster);
- vârsta vaccinatului. Este cunoscut faptul că la vaccinarea persoanelor de vârstă înaintată, răspunsul imun este mai scăzut. Totuși, vaccinarea este recomandată în primul rând acestora, deoarece reprezintă grupul de

populație care este cel mai susceptibil la complicații. Vaccinarea permite scăderea drastică a numărului de complicații (cu 50-60%) și a cazurilor de deces din cauza gripei (cu 80%) la această categorie de populație. Indicatorul principal al eficienței vaccinării este producția de anticorpi specifici. La persoanele în vârstă se observă un răspuns imun mai scăzut decât la cei tineri.

Principiul de bază al vaccinării

Prin vaccinare, subiectului îi sunt administrate antigenele virale (hemaglutinina și neuraminidaza) și, ca urmare, sistemul imun produce anticorpii specifici. Formarea acestora asigură protecția organismului la contactul viitor cu tulpinile naturale.

O particularitate a tuturor vaccinurilor antigripale este faptul că acestea nu asigură o protecție imună de durată; anticorpii care se formează atât după vaccinare, cât și după infectare, au un caracter temporar (6-12 luni). Doar o cantitate mică dintre aceștia rămân în sânge dar, de regulă, aceasta este insuficientă pentru asigurarea protecției imune.

Datorită caracterului temporar al anticorpilor formați și a variației antigenice periodice a virusului gripal, pentru a se asigura o protecție neîntrepută (stare imună permanentă), vaccinarea trebuie repetată anual.

Indicațiile vaccinării antigripale:

Vaccinarea este recomandată tuturor persoanelor cu vârsta peste 6 luni. Există, însă, categorii cărora, din cauza stării de sănătate sau a altor condiții, vaccinarea le este indicată cu prioritate.

I. Grupuri cu risc crescut de complicații postgripale

- toate persoanele în vârstă de peste 65 de ani, indiferent de existența sau absența bolilor cronice;
- persoane cu boli cardiovasculare sau pulmonare cronice (insuficiență cardiacă);
- persoane cu boli respiratorii cronice (astm bronșic, BPOC (boli pulmonare obstructive cronice));
- persoane cu boli metabolice cronice (diabet);
- persoane cu imunosupresie datorată bolii sau tratamentului;
- pacienții cu deficite imune congenitale sau dobândite (inclusiv infecția HIV);
- femei gravide care în sezonul de gripă se va afla în/peste săptămâna a 14 de sarcină. Vaccinul antigripal poate fi utilizat în timpul sarcinii

deoarece el, conținând virus inactivat, nu are efect teratogen. La femeile gravide există un risc crescut al complicațiilor, deoarece gripa poate duce la întreruperea prematură a sarcinii și avort. Riscul de complicații crește drastic (de 4 ori) în trimestrele 2 și 3 de sarcină. Se recomandă vaccinarea antigripală a femeilor gravide care în sezonul de gripă se află în/peste săptămâna a 14-a de sarcină;

- copiii care necesită tratament cronic cu aspirină.

II. Persoane în contact cu grupuri cu risc sporit

- personalul medical și alte tipuri de personal din spitale și policlinici, instituții de îngrijire;
- membrii de familie al bolnavilor din grupele cu risc sporit;
- pentru a preveni îmbolnăvirile cu gripă a nou-născuților și copiilor în vârstă de până la 6 luni, este deosebit de importantă imunizarea adulților care se găsesc în contact cu aceștia.

III. Alte grupuri de persoane pentru care este recomandată vaccinarea

- populația adultă activă, pentru prevenirea absenteismului de la locul de muncă;
- orice persoană care dorește să se protejeze de boală;
- copiii și tinerii care frecventează instituții de învățământ (preșcolari, elevi, studenți), riscul de îmbolnăvire fiind mai mare în colectivități;
- membrii colectivităților închise de copii și bătrâni (creșe, cămine de copii sau bătrâni, secții de boli cronice). Copiii pot fi vaccinați începând cu vârsta de 6 luni;
- personalul medico-sanitar, din transporturi, turism, poliție, armată, comerț, servicii publice ș.a.

Administrarea vaccinului gripal

Folosirea diferitelor tipuri de vaccinuri în funcție de vârstă

Tip de vaccin	Vârsta de la care se poate folosi
Vaccin cu virus întreg inactivat	De la 18 ani *
Vaccin cu virus atenuat	De la 3 ani *
Vaccin cu virus divizat	De la 6 luni **
Vaccin cu virus subunitar	De la 18 luni **

* Din cauza reatogenității crescute a vaccinurilor cu virus întreg inactivat și virus atenuat, acestea nu sunt recomandabile copiilor mici.

** Datorită imunogenității înalte și a frecvenței scăzute a reacțiilor adverse, vaccinurile subunitare și cele divizate se pot folosi pentru orice categorie de vârstă, începând de la 6 luni.

Dozarea vaccinului subunitar la diferite categorii de vârstă

Vârstă	Doza	Nr. doze
6 luni -3 ani	0,5 ml	1-2*
3 - 14 ani	0,5 ml	1-2*
De la 14 ani	0,5 ml	1 **

* Pentru copiii care nu au avut gripă în antecedente sau nu au fost vaccinați anterior, se re-comandă administrarea a 2 doze de vaccin într-un interval de 4 săptămâni.

** Bolnavilor imunodeficitari, indiferent de vârstă, li se recomandă administrarea a 2 doze de vaccin la un interval de 4 săptămâni.

Pentru a fi protejați împotriva gripei, vaccinarea trebuie repetată anual, deoarece pe de-o parte virusul gripal își modifică structura în fiecare an, iar pe de altă parte concentrația de anticorpi scade după vaccinare.

1. Modul de administrare

Vaccinul se injectează intramuscular sau subcutanat. Administrarea intramusculară se realizează la adulți și adolescenți în zona superioară a brațului (mușchiul deltoid). Copiilor mici li se administrează vaccinul în partea superioară anterolaterală a coapsei.

Administrarea concomitentă cu alte vaccinuri

Vaccinul antigripal se poate administra concomitent cu alte vaccinuri. În acest caz este important ca vaccinurile să fie administrate în zone diferite ale corpului.

Perioada optimă de administrare

Pentru Emisfera Nordică, perioada optimă pentru vaccinare antigripală este toamna, din luna septembrie până în noiembrie, din următoarele considerente:

1. În Emisfera Nordică, epidemiile de gripă au loc, de obicei, între lunile noiembrie și martie.

2. Perioada de producere a anticorpilor este de 2-4 săptămâni de la vaccinare.

3. Concentrația de anticorpi începe să scadă după 6 luni de la vaccinare.

Dacă din anumite motive, vaccinarea nu a fost făcută la timp, aceasta se poate face și după începerea epidemiei de gripă. Este larg răspândită părerea greșită că după începerea epidemiei vaccinarea este contraindicată. Acest lucru este valabil numai în cazul vaccinurilor antigripale cu virus atenuat.

Vaccinurile cu virus inactivat pot fi administrate pe perioada epidemiei. Vaccinarea poate fi ineficientă dacă inocularea a fost făcută după infectarea cu virusul gripal (dar manifestările clinice încă nu au apărut).

Contraindicații la vaccinarea antigripală cu vaccin gripal subunitar:

- reacții alergice serioase la administrarea anterioară de vaccinuri;
- alergie la una dintre componentele vaccinului (de exemplu ovalbumina);
- boala acută cu febră.

Contraindicații la vaccinarea antigripală cu vaccin gripal viu atenuat, inactivat

În cazul vaccinurilor cu viruși atenuați, contraindicațiile sunt mai numeroase, incluzând:

- afecțiunile acute;
- alergie la ou (ovalbumina);
- astm bronhic;
- afecțiuni ale sistemului nervos;
- afecțiuni cronice pulmonare și ale căilor respiratorii superioare;
- insuficiența cardiovasculară;
- afecțiuni renale;
- afecțiuni ale sistemului endocrin;
- afecțiuni sangvine;
- sarcina.

Reacții adverse

Reacții locale: durerea, eritemul, edemul, prurit - sunt cel mai frecvent întâlnite, fiind o reacție a organismului la componentele vaccinului sau un rezultat al traumei produse de ac. Sunt fenomene de scurtă durată (1-2 zile).

Reacții sistemice; febră, dureri de cap, transpirație, frisoane, mialgii, vărsături. Se identifică la mai puțin de 1% din cazuri. De obicei, apar la 6-12 ore de la vaccinare și durează maxim 2 zile.

Vaccinurile inactivate nu conțin virusuri vii și de aceea nu pot produce îmbolnăvirea cu gripă.

Deoarece vaccinarea se face toamna, atunci când infecțiile respiratorii sunt foarte răspândite, o persoană vaccinată poate contacta o răceală sau altă infecție respiratorie acută, dar aceasta nu are legătură cu vaccinarea.

Vaccinurile subunitare, spre exemplu, conțin doar proteine superficiale ale virusului. De aceea, reacțiile secundare sunt mai puțin frecvente în cazul administrării vaccinurilor subunitare decât a vaccinurilor cu virus întreg inactivat sau divizat (split). În concluzie, experiența bogată acumulată în folosirea vaccinurilor inactivate moderne, demonstrează siguranța administrării acestor vaccinuri. Ca rezultat al variației antigenice a virusului gripal, durata imunității produse, atât prin îmbolnăvire, cât și prin vaccinare, este de aproximativ 1 an. În Republica Moldova sunt autorizate pentru utilizare cu scop de vaccinare antigripală sezonieră următoarele vaccinuri: Influvac (Solvay Pharmaceuticals), Vaxigripp (AventisPasteur) și Fluarix (GlaxoSmith Kline).

5.1. Elaborarea cu evaluarea unei metode originale de vaccinare contra gripei

Gripa este una dintre cele mai răspândite maladii pe glob, manifestându-se prin epidemii anuale în urma variației antigenice minore (mutații punctiforme în genele care codifică hemaglutinina și neuraminidaza) și pandemii la un interval de 10...40 ani în urma variației antigenice majore (apariția de noi subtipuri de virusuri gripale cu hemaglutinină sau neuraminidază complet noi).

Infecția respiratorie acută nominalizată reprezintă o problemă social-medicală la nivel mondial, manifestându-se prin epidemii anuale și pandemii. Vaccinarea anuală a populației împotriva gripei cu vaccin antigripal recomandat de OMS pentru sezonul viitor este cea mai eficientă modalitate de prevenire a îmbolnăvirilor de această maladie. Eficiența vaccinării la diferite grupe de populație variază de la 58,0 până la 90,0% [1,6,109]. Dezavantajul metodei menționate constă în aceea că o bună parte a populației, de la 10,0 până la 42,0%, poate face gripă și după vaccinare. Problema pe care o rezolvă metoda propusă constă în sporirea eficacității imunizării contra gripei. Metoda revendicată, propusă de noi constă în administrarea vaccinului gripal concomitent cu o capsulă de Pacovirină produs medicamentos autohton cu acțiune imunomodulatoare, antioxidantă, antivirală și interferonogenă, elaborat de savanții moldoveni prof. univ., Dr.hab.șt.med. C. Spînu și prof. univ., Dr.hab.șt.med. P. Chintea (Brevet de invenție MD 782 Z 2015.01.31) 30 min înainte de masă, timp de 30 zile.

Avantajele metodei propuse constau în intensificarea procesului de

imunogeneză la persoanele vaccinate contra gripei, exprimat prin creșterea numărului de persoane cu titru de anticorpi protectori (87,5...92,5%) și a valorilor T-helper, unde raportul CD4/CD8 (Th/Ts) constituie 1,8, urmare administrării concomitente a produsului medicamentos nominalizat.

În studiul dat sunt prezentate rezultatele aplicării remediei medicamentos Pacovirină în procesul de vaccinare contra gripei sezoniere. Studiul s-a efectuat pe un lot experimental (40 persoane - 18 bărbați și 12 femei) și lotul martor (40 persoane - 18 bărbați și 12 femei) cu vârsta între 20 și 30 ani. S-a utilizat vaccinul antigripal Vaxigrip (cu un conținut de 15 μg de HA a tulpinilor virusurilor gripale A/California/7/2009 (H1N1) pdm09, A/Victoria/361/2011 (H3N2) și B/Wisconsin/1/2010), produs de compania Sanofi Pasteur, Franța, recomandat de OMS pentru sezonul 2012/2013 și remediu medicamentos Pacovirină (tomatozida-5α furostan-3α, 22,26triol-3[O-β-galactopiranozil(1→2)β-D-glucopiranozil(1→4)-β-D-galactopiranozid]-26-O-β-D glucopiranozid) - 0,05 g; celuloză microcristalină - 0,147 g; amidon de porumb - 0,100 g; stearat de magneziu - 0,003 g), câte o capsulă de 50 mg, produs de Î.M. Farmaco S.A., Republica Moldova. Studiul în loturile martor și experimental s-a efectuat randomizat prin metoda dublu-orb în baza acordului informat a pacienților.

La persoanele din lotul experimental s-au administrat 0,5 ml de vaccin în mușchiul deltoid și pe parcursul a 30 zile câte o capsulă de Pacovirină (50 mg) pe zi cu 30 min înainte de masă. La persoanele din lotul martor s-a administrat numai vaccinul Vaxigrip în mușchiul deltoid în doză de 0,5 ml. La persoanele din lotul experimental și lotul martor până și după vaccinare (peste 30 zile) a fost determinat titrul de anticorpi hemaglutinoînhibanți în testul de hemaglutinoînhibare după metoda descrisă (Serogical diagnosis of influenza by haemagglutination inhibition testing. Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza. WHO Heat Organization 2011, p. 59-62) și numărul celulelor cu proprietăți imunoregulatorie (T-helper și T-supresoare) prin testul Capcellia (Capcellia CD4/CD8 whole/sang total (quantitativ immunoassay for CD4 and CD8 T-lymphocytes by immunocapture), BIO-RAD, France, 2000, 28p).

Rezultatele testării persoanelor din lotul experimental și lotul martor la prezența anticorpilor hemaglutinoînhibanți și a numărului de celule imunoregulatorie (T-helper și T-supresoare) sunt prezentate în tabelele 5.1 și 5.2.

Titrul de anticorpi hemaglutinoinhibanți în ser la persoanele din lotul experimental și martor până la vaccinare

Contingentele examinate	Nr. de persoane	Grupe de vârstă	Antigenii virusurilor gripale		
			A(H1N1)pdm	A(H3N2)	B
			< 1:40*	< 1:40	< 1:40
Lot experimental	40	20...30 ani	40	40	40
Lot martor	40	20...30 ani	40	40	40

Legendă : * - titrul anticorpilor hemaglutinoinhibanți în ser.

Conform standardelor internaționale titrul protector de anticorpi hemaglutinoinhibanți constituie $\geq 1:40$. Astfel la inițierea studiului persoanele din lotul experimental și martor nu dispuneau de nivelul respectiv anticorpi protectori față de infecția gripală.

Rezultatele răspunsului imun la persoanele din lotul experimental și martor până la vaccinare

Contingentele examinate	Nr. de persoane	Grupa de vârstă	T-limfocite		
			Th CD4	Ts CD8	Th/Ts CD4/CD8
Lot experimental (persoanele până la vaccinarea contra gripei cu aplicarea Pacovirinei)	40	20...30 ani	785 ±272	530±231	1,5
Lot martor (persoanele până la vaccinarea numai cu vaccin antigripal)	40	20...30 ani	780±270	530±231	1,5

Numărul de celule imunoregulatorie (T-helper(CD4) și T-supresoare (CD8)) și raportul CD4/CD8 era în limitele caracteristice pentru această vârstă. Peste 30 zile de la imunizare persoanele din loturile experimental și martor au fost din nou testate la prezența anticorpilor hemaglutinoinhibanți și a numărului de celule imunoregulatorie. Rezultatele sunt expuse în tabelele 5.3 și 5.4.

Rezultatele determinării titrului de anticorpi hemaglutinoinhibanți contra gripei la persoanele din lotul experimental și martor

Contingentele examinate	Nr. de persoane examinate	Grupe de vârstă	Antigenii virusurilor gripale											
			A(H1N1)pdm					A(H3N2)					B	
			<1:40		>1:40		<1:40		>1:40		<1:40		>1:40	
			Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%	Abs.	%
Lot experimental (persoanele vaccinate contra gripei cu aplicarea Paco-virinei)	40	20...30 ani	3	7,5	37	92,5	4	10,0	36	90,0	5	12,5	35	87,5
Lot martor (persoanele vaccinate contra gripei numai cu vaccin)	40	20...30 ani	10	25,0	30	75,0	11	27,5	29	72,5	11	27,5	29	72,5

În lotul experimental la persoanele vaccinate contra gripei cu aplicarea Pacovirinei titrul de anticorpi protectori $\geq 1:40$ a fost determinat la 37 (92,5%) persoane față de virusul gripal A(H1N1)pdm, la 36 (90,0%) - față de virusul A(H3N2) și la 35 (87,5%) persoane față de virusul gripal de tip B, pe când în lotul martor titrul protector de anticorpi la 30 (75,0%) persoane față de virusul gripal A(H1N1)pdm, la 29 (72,5%) - față de virusul A(H3N2) și la 29 (72,5%) persoane față de virusul gripal de tip B. Datele prezentate denotă că aplicarea Pacovirinei stimulează procesul de imunogeneză și sporește numărul persoanelor cu titru protector de anticorpi față de infecția gripală, date confirmate prin intervalul de încredere: valoarea $p=0,05$.

Tabelul 5.4

Rezultatele răspunsului imun la persoanele din lotul experimental și martor după vaccinare contra gripei cu și în absența Pacovirinei

Contingentele examinate	Nr. de persoane	Grupa de vârstă	T-limfocite		
			Th CD4	Ts CD8	Th/Ts CD4/CD8
Lot experimental (persoanele vaccinate contra gripei cu aplicarea Pacovirinei)	40	20...30 ani	963 ±272	535±231	1,8
Lot martor (persoanele vaccinate numai cu vaccin antigripal)	40	20...30 ani	853±270	533±231	1,6

Menționăm că numărul de celule limfocite T-helper s-a dovedit a fi mai mare în grupa persoanelor care concomitent cu vaccinul antigripal au administrat Pacovirină. Valoarea T-helper a avansat în acest lot de la 785 ± 272 la 963 ± 272 celule $\times 10^6/L$. Valoarea markerului T-supresoare în ambele loturi pe parcursul studiului a rămas nemodificată. La finele studiului raportul CD4/CD8 a constituit 1,8 în lotul experimental față de 1,6 în lotul martor.

Tabelul 5.5

Eficacitatea vaccinului gripal și a vaccinului gripal cu aplicarea Pacovirinei în profilaxia gripei

Vaccinul gripal	Pacovirină	Vaccinul gripal cu aplicarea Pacovirinei
72,5-75,0%*	74,0% [^]	87,5-92,5%*

* - ponderea persoanelor vaccinate contra gripei cu titru protector ($>1:40$) de anticorpi

[^] - indicele eficacității epidemiologice

Rezultatele obținute, urmare a utilizării metodei de vaccinare contra gripei propuse de noi demonstrează o eficientă sporire de inducere a anticorpilor protectori, rezultat al stimulării procesului de imunogeneză obținut prin aplicarea concomitentă a vaccinului gripal și a produsului medicamentos autohton „Pacovirină”.

Credem că această metodă originală propusă de noi este binevenită în special pentru vaccinarea antigripală a contingentelor cu risc sporit de infectare, asociat cu un statut imunocompromis, cauzat de multile patologii preexistente de genă infecțioasă și neinfecțioasă.

6. CHIMIOPROFILAXIA GRIPEI

În gripa pandemică cu virus nou A(H1N1)

- o OMS nu recomandă administrarea de rutină a profilaxiei antivirale persoanelor considerate contacti ai cazurilor probabile/confirmate.
- o În majoritatea cazurilor, se recurge la monitorizarea persoanelor de contact și administrarea la necesitate a tratamentului antiviral.
- o În unele situații, când contactii fac parte din grupul de risc sporit de apariție a complicațiilor sau în cazul gravidelor, clinicienii pot administra profilaxia antivirală opțional.

Administrarea preparatelor antivirale în scop chimioprofilactic contacților ai cazurilor probabile/confirmate cu gripa pandemică când totuși a fost argumentată decizia de administrare a chimioprofilaxiei antivirale:

a. în cazul în care inhibitorii de neuraminidază sunt disponibili:

• Se va administra oseltamivir ca medicație de prima linie, sau zanamivir, ca medicație alternativă, timp de 7-10 zile de la ultima expunere.

Administrarea de oseltamivir (Tamiflu) în scop chimioprofilactic			
Vârsta /masa corporală	Doza	Frecvența	Durata curei
Adulți, copiii >13 ani	75 mg	1 dată în zi	7-10 zile de la ultima expunere
Copii <15kg	30 mg	1 dată în zi	7-10 zile de la ultima expunere
>15-23 kg	45 mg	1 dată în zi	7-10 zile de la ultima expunere
>23-40 kg	60 mg	1 dată în zi	7-10 zile de la ultima expunere
>40 kg	75 mg	1 dată în zi	7-10 zile de la ultima expunere

Chimioprofilaxia cu oseltamivir se consideră a fi inofensivă pe o durată de până la 8 săptămâni.

Administrarea de Zanamivir în scop chimioprofilactic			
Vârsta	Doza inhalatorie	Frecvența	Durata curei
Adulți și copiii >5 ani	10 mg (2 pufuri)	1 dată în zi	7-10 zile de la ultima expunere

Chimioprofilaxia cu zanamivir s-a verificat a fi inofensivă pe o durată de până la 28 zile.

b. în cazul în care inhibitorii de neuraminidază nu sunt disponibili:

• Amantadina sau rimantadina pot fi administrate dacă, conform datelor recente primite de la organele de supraveghere locală, se va demonstra sau suspecta susceptibilitatea virusului la inhibitorii M2.

Administrarea de amantadină în scop profilactic			
Vârsta	Doza	Frecvența	Durata
Adulți < 65 ani și copii >10 ani	100 mg	2 ori în zi	7-10 zile de la ultima expunere
Adulți > 65 ani	100 mg	1 dată în zi	7-10 zile de la ultima expunere
Copii 1-9 ani	5 mg/kg /zi divizată în 2 prize (doza totală să nu depășească 150 mg/zi)		7-10 zile de la ultima expunere
Administrarea de amantadină în scop profilactic pacienților cu insuficiență renală			
Clearence creatininei 30-50 ml/min	200 mg în prima zi apoi 100 mg în zilele următoare		
Clearence creatininei 15-29 ml/min	200 mg în prima zi apoi 100 mg peste o zi		
Clearence creatininei <15 ml/min	200 mg la 7 zile		

• La gravide administrarea de amantadină sau rimantadină este contraindicată în scop profilactic.

• La bătrâni, persoanelor cu insuficiență renală, indivizilor care sunt pe medicație neuropsihiatrică sau prezintă tulburări neuropsihice sau convulsive, amantadina sau rimantadina nu se administrează.

Administrarea de rimantadină în scop profilactic			
Vârsta	Doza	Frecvența	Durata
Adulți < 65 ani și copii >10 ani	100 mg	2 ori în zi	7-10 zile de la ultima expunere
Adulți 5 65 ani	100 mg	1 dată în zi	7-10 zile de la ultima expunere
Copii 1-9 ani	5 mg/kg /zi divizată în 2 prize (doza totală să nu depășească 150 mg/zi)		
Adulți > 65 ani, pacienți cu insuficiență hepatică severă sau renală (clearence creatininei 10 ml/min)	100 mg	1 dată în zi	7-10 zile de la ultima expunere

Preparatele antivirale reprezintă linia a 2-a în profilaxia gripei, vaccinarea constituind prima intenție:

- Rațiuni biologice: vaccinurile induc formarea de anticorpi, ce reprezintă cele mai eficiente și naturale substanțe antivirale.
- Rațiuni medicale: pentru a asigura profilaxia pe perioada epidemiei, preparatele antivirale trebuie administrate în fiecare zi timp de cel puțin 6 săptămâni, cu riscul apariției efectelor adverse și al intolerabilității.
- Rațiuni economice: costul unei doze de vaccin este mult mai mic decât cel al administrării medicamentelor antivirale timp de 6 săptămâni.

Compararea mijloacelor de profilaxie a gripei

Vaccinarea	Terapie specifică (antivirală)	Terapie nespecifică (imunostimulatoare)	Tratamente populare
Eficiența ridicată. Compoziția vaccinului se schimbă anual, pentru a corespunde tulpinilor de virus gripal care circulă în sezonul epidemic respectiv.	Eficiența medie, în general, acționează numai împotriva virusului gripal de tip A.	Eficiență scăzută. Crește rezistența generală a organismului, nu creează imunitate specifică împotriva gripei.	Eficiență scăzută. Cresc rezistența generală a organismului, nu produc imunitate specifică împotriva gripei.
Este necesară vaccinarea anuală.	Implică administrarea pentru o perioadă mai lungă.	Implică administrarea pentru o perioadă mai lungă.	Implică administrarea pentru o perioadă mai lungă.
Frecvența redusă a reacțiilor adverse.	Frecvența mare a reacțiilor adverse	Frecvența redusă a reacțiilor adverse.	Frecvența redusă a reacțiilor adverse.
Practic, nu are contraindicații.	O serie largă de contraindicații.	Practic, nu are contraindicații.	Practic, nu are contraindicații.
Se poate folosi la copii mici (începând cu 6 luni).	Pot fi folosite doar la copiii mari și adulți.	Nu toate mijloacele pot fi folosite la copiii mici.	Nu toate mijloacele pot fi folosite la copiii mici.
Cheltuieli materiale scăzute.	Cheltuieli materiale mari (în condițiile folosirii regulate).	Cheltuieli materiale mari (în condițiile folosirii regulate).	Cheltuieli materiale scăzute.

6.1. Utilizarea produsului autohton „Pacovirină” în profilaxia gripei

În prezent cu scop de profilaxie a gripei sunt utilizate vaccinurile anti-gripale, remediile antigripale, interferonii, inductorii de interferon și diferite substanțe imunomodulatoare. Se cunoaște metoda de profilaxie a gripei care include utilizarea cicloferonului, produs de origine vegetală utilizat în profilaxia gripei și altor infecții respiratorii virale acute. Metoda prevede următorul algoritm de aplicare a preparatului: în ziua 1, 2 câte 4 comprimate; în următoarele zile (4, 6, 8 și mai mult), peste 72 ore câte 300,0 mg (o dată în 3 zile), atingând o eficacitate, studiată prin metoda randomizată (dublu orb), cu reducerea morbidității de 1,5...2,9 ori, cu un indice de protecție de 41.. .90%. Însă această metodă, care servește la referință conține un indice de protecție cu o amplitudine semnificativă, diferența între pragul minim și maxim atinge o valoare sub 50%. Mai mult ca atât, eficacitatea produsului revine numai din proprietățile lui de a induce interferon, neinfluențând alte mecanisme. Variația atât de exprimată a indicelui de protecție de asemenea poate fi explicată prin apariția tulpinilor de virus gripal interferon-rezistente, unde produsul nominalizat demonstrează o activitate antivirală ne semnificativă de 41%.

Dezavantajele metodei cunoscute constau în aceea că vaccinarea antigripală nu poate fi aplicată la persoanele cu o hipersensibilitate la componentii vaccinului, vaccinul trebuie realizat în lunile octombrie-noiembrie, adică în perioada preepidemică, nu garantează o protecție a populației în proporție de 100%, costul unei doze de vaccin antigripal este foarte înalt. Concomitent, se poate menționa că, dezavantajele remediilor antigripale, interferonilor, inductorilor de interferoni și a substanțelor imunomodulatoare sunt apariția rezistenței virusurilor gripale față de remediile utilizate, uneori a reacțiilor adverse semnificative.

Problema pe care o rezolvă metoda propusă constă în elaborarea unei metode originale de profilaxie cu utilizarea produsului medicamentos autohton, Pacovirină, care demonstrează un indice de protecție contra infectării cu virusul gripal de 3,6 ori mai mare, comparativ cu metoda de referință, indicele de protecție constituind în medie 74%. Totodată, Pacovirina având un spectru extins de activitate antivirale este eficace și în prevenirea gripei dezvoltate de tulpinile de virus-gripal interferon-rezistente prin excluderea posibilității de formare a tulpinilor interferon-rezistente.

Produsul medicamentos autohton „Pacovirina” este de origine vegetală, economic avantajos și larg accesibil, manifestă acțiune antivirală, imunomodulatoare, interferonogenă și antioxidantă. Totodată preparatul nu demonstrează acțiune toxică, cumulativă, teratogenă, cancerigenă, embriotoxică, iritantă locală, alergică, efecte adverse și nu influențează asupra sistemului reproductiv. Prețul de cost al remediei este cu mult mai redus decât al medicamentelor de import cu acțiune similară.

Esența metodei propuse de noi constă în aceea că în perioada preepidemică și epidemică a gripei se administrează produsul medicamentos autohton „Pacovirină” cu acțiune antivirală, imunomodulatoare, interferonogenă și antioxidantă Pacovirină, câte o pastilă de 0,3 g pe zi, conținând 50,0 mg de substanță activă, timp de 14 zile. Utilizarea acestui produs medicamentos lipsit de efecte adverse în profilaxia gripei demonstrează un indice semnificativ de protecție care constituie în medie 74%, eficient și în prevenirea gripei dezvoltate de tulpinile de virus-gripal interferon-rezistente, totodată acest preparat exclude formarea tulpinilor interferon-rezistente în circulația de virusuri gripali; în ansamblu „Pacovirina” semnificativ reduce nivelul morbidității prin gripă și a complicațiilor postgripale.

În perioada ianuarie-aprilie 2003 s-a studiat eficacitatea „Pacovirinei” în profilaxia gripei la bolnavii cu patologii gastrointestinale de gravitate medie, spitalizați în Spitalul Clinic Republican de boli infecțioase „T. Ciorbă”. Studiul s-a efectuat randomizat prin metoda dublu-orb în baza acordului informat de la pacienții incluși în loturile martor și experimental. În această perioadă în Republica Moldova a avut loc o sporire semnificativă a incidenței prin gripă sezonieră. Pe parcursul lunilor ianuarie-aprilie 2003 în republică au fost înregistrate 38 019 cazuri de gripă sezonieră (în aceeași perioadă a anului 2002 – 18 579 cazuri), nivelul morbidității majorându-se de 2,0 ori față de aceeași perioadă a anului 2002. Lotul experimental a constituit 95 de pacienți (55 bărbați și 40 femei) în vârstă de 20...45 ani, care la internare nu făceau gripă și/sau alte infecții respiratorii virale acute. În schema complexă de tratament a bolnavilor a fost inclus remediu „Pacovirină”, care se administra dimineața, cu 20-30 min înainte de masă, câte o pastilă o dată pe zi pe parcursul a 14 zile din data spitalizării. În lotul martor au fost incluși 95 bolnavi (55 bărbați și 40 femei) în vârstă de 20...45 ani, care, de asemenea, la internare nu făceau gripă și/sau alte infecții respiratorii virale acute, ce au fost tratați după aceeași schemă, însă

„Pacovirina” a fost substituită cu Placebo. Schema administrării Placebo a fost identică cu cea din lotul experimental. Pe parcursul perioadei nominalizate (14 zile) bolnavii din loturile experimental și martor s-au aflat sub supravegherea medicului. Investigațiile clinice și paraclinice a bolnavilor spitalizați s-a efectuat prin metoda randomizată, dublu-orb în baza acordului informat al pacienților. Diagnosticul de gripă a fost stabilit în baza datelor clinice (debut acut, febră 39...40°C, simptome generale toxice, cefalee, dureri în globii oculari, mialgii puternice, astenie, catar nazal, simptome de laringotraheită, tensiune arterială scăzută) și investigațiilor de laborator (depistarea antigenului în lavajele nazofaringiene și a anticorpilor specifici în serurile perechi). În tabel sunt expuse rezultatele acestui studiu.

Tabel

Eficacitatea Pacovirinului în profilaxia gripei

Loturile de bolnavi	N-au făcut gripă		Au făcut gripă	
	nr. de pacienți	%	nr. de pacienți	%
Lotul experimental (n = 95)	77	81,05±4,02	18	18,94±4,02
Lotul martor (n = 95)	26	27,36±4,57	69	69,47±4,57

Pe parcursul lunilor ianuarie-aprilie 2003 în lotul experimental din 95 de bolnavi n-au făcut gripă 77 persoane, iar 18 persoane au făcut gripă într-o formă ușoară. În lotul martor n-au făcut gripă 26 persoane, iar 69 au făcut gripă într-o formă medie. Diferența dintre indici este statistic veridică <0,01.

În lotul experimental din 18 probe de lavaje nazofaringiene antigenul virusului gripal A(H3N2) a fost depistat în 9 (50,0%) cazuri, iar la alte 9 persoane a fost apreciată o creștere a titrului de anticorpi de 4 ori față de virusul gripal A(H3N2). În lotul martor antigenul virusului gripal A(H3N2) a fost depistat în 30 (65,0%) probe din 46 examinate, iar o creștere a titrului de anticorpi față de virusul gripal A(H3N2) a fost apreciată la 25 persoane din 30 examinate.

Datele prezentate denotă, că nivelul morbidității prin gripă la persoanele din lotul experimental a fost mai redus decât în lotul martor de 3,6 ori, indicele de protecție constituind 73,9%. Eficacitatea epidemiologică a unor remedii utilizate în profilaxia gripei este mai redusă decât a Pa-

covirinei, indicii eficacității constituind 1,5...2,0 față de 3,6 la preparatul nominalizat.

Studiul efectuat a demonstrat eficacitatea remediei medicamentoase Pacovirină în profilaxia gripei, activitate antigripală deja brevetată (MD 3120 G2 2006.08.31). Preparatul poate fi utilizat pe larg de populație în timpul erupțiilor de gripă cu scop profilactic. După cum s-a menționat remediu este de origine vegetală, nu provoacă alergii și reacții adverse, poate fi produs în cantități necesare cu un preț de cost mai redus decât al medicamentelor de import cu acțiune similară.

Considerăm că eficacitatea înaltă a „Pacovirinei” în profilaxia gripei se datorează activității antivirale, imunomodulatoare, interferonogene și antioxidante a preparatului. Utilizarea preparatului în timpul sporirii incidenței prin gripă va contribui la reducerea riscului de infectare și la diminuarea nivelului de morbiditate. Metoda propusă extinde spectrul de remedii, care pot fi utilizate în profilaxia gripei în perioada de sporire a morbidității, în special pentru contingentele cu risc sporit de infectare asociat cu un statut imun compromis și care pot dezvolta efecte adverse la unele produse medicamentoase antigripale pe parcursul tratamentului.

7. RECOMANDĂRI PENTRU ANUMITE GRUPE DE RISC PRIVIND PERICOLUL INFECȚIEI CU VIRUSUL GRIPAL

Infecția cu virusul gripal la gravide

Datele accesibile la moment nu dovedesc totalmente că femeile gravide au șansa mai mare de a se infecta cu virusul gripal. Dovadă că, gripa poate fi mai severă la femeile gravide, este bazată pe observațiile făcute în timpul pandemiilor anterioare, precum și în cadrul studiilor efectuate la femeile gravide ce au suportat infecții cu gripă sezonieră. S-a constatat că, în timpul pandemiilor din 1918-1919 și 1957-1958 au fost raportate decese în rândul femeilor gravide bolnave de gripă. De asemenea, s-a demonstrat că în timpul pandemiilor de gripă a crescut numărul avorturilor spontane și a nașterilor premature, în special, în rândul femeilor care au făcut pneumonie. Nu este clar cum virusul gripal poate afecta copilul.

Sarcina reprezintă un factor agravant, cu risc crescut pentru apariția complicațiilor postgripale la mamă, precum pneumonii virale sau bacteriene severe; avort spontan, nașteri precoce.

Tabloul clinic

La majoritatea gravidelor, gripa pandemică a evoluat tipic cu manifestări clinice similare unei boli respiratorii acute (precum dureri de gât, rinoree, febră), fără complicații. Însă, la unele dintre ele, în special, când graviditatea evoluează pe un fondal care prezintă risc de agravare, precum obezitatea, diabet zaharat, boli cronice bronhopulmonare obstructive etc., boala poate progresa rapid cu instalarea pneumoniei de geneză virală și detresă respiratorie acută.

Tratamentul și profilaxia

Sarcina nu este o contraindicație pentru administrarea preparatelor antivirale precum zanamivir sau oseltamivir. Dacă gravida se încadrează în definițiile curente de caz standard suspect, probabil sau confirmat de infecție cu virus gripal de tip nou A(H1N1):

- Se indică tratament antiviral în doze și durată conform stării generale (consultă compartimentul respectiv).
- Tratamentul antiviral se începe cât mai curând posibil, preferabil până la 48 de ore de la debut.
- Gravida suspectă, probabilă sau confirmată cu virus gripal va fi izolată separat de celelalte gravide.

- Gravida va purta mască chirurgicală (dacă va putea fi tolerată) în perioada intranatală, pentru a micșora riscul de molipsire a nou-născutului și a personalului medical.
- Pacienta care în perioada intranatală prezintă manifestări clinice caracteristice gripei necomplicate, va fi amplasată separat de copilul său până la satisfacerea următoarelor condiții:
 - primirea medicației antiviral pe o durată de cel puțin 48 ore;
 - afebrilitate;
 - poate controla tusea.

Satisfacerea acestor condiții reduce considerabil dar nu elimină riscul transmiterii infecției la copil.

- Mamele trebuie să fie încurajate să înceapă cât mai curând alăptarea și să alimenteze cât mai frecvent, chiar dacă primește tratament antiviral cu tamiflu sau relenza. Laptele nu este considerat o potențială sursă de infecție. Alimentarea se va face de o altă persoană cu laptele stors prealabil de la mamă, sau de însăși lăuză dacă ea satisface toate condițiile enumerate anterior.
- Deoarece nu poate fi determinat riscul de transmitere a virusului A(H1N1) de la mamă la făt, fiecare nou născut trebuie considerat a fi potențial infectat dacă nașterea a avut loc cu 2 zile anterior sau 7 zile după debutul bolii la mamă.
- Nou-născutul trebuie monitorizat, iar la depistarea primelor semne de infecție – investigat și tratat cu oseltamivir.
- Administrarea de antivirale în scop profilactic copiilor < 3 luni nu este recomandată în mod uzual.

Graviditatea și febra

Unul dintre cel mai bine studiat efect advers al gripei – este febra (hipertermia). Este demonstrat că, temperatura ridicată a mamei în timpul sarcinii, reprezintă un factor de risc pentru dezvoltarea copilului, cu posibila apariție a convulsiilor la nou-născut, a encefalopatiei, a paraliziei cerebrale până la moartea nou-născutului. Studiile au demonstrat că febra la mamă în primul trimestru dublează riscul apariției defectelor tubului medular la făt și poate induce apariția malformațiilor congenitale și altor efecte negative. Prezența chiar și a datelor limitate ne poate sugera, că riscul apariției malformațiilor congenitale și a consecințelor nefaste pentru copil asociate cu febra (hipertermia) la mamă poate fi redus prin utilizarea

de medicamente antipiretice, precum Acetaminofen (Tylenol) și multivitamine ce conțin acid folic.

Măsuri suplimentare care pot limita transmiterea virusului gripal

Părinții și personalul care îngrijesc copiii vor fi instruiți cu privire la modul de protejare a copilului de agenții care cauzează boli respiratorii, inclusiv, cu virusul gripal.

Se recomandă:

- reducerea contactelor sociale inutile, precum și evitarea, pe cât posibil, a locurilor publice aglomerate;
- spălarea frecventă pe mâini cu apă și săpun, atât pentru adulți, cât și pentru copii, în special după ce copiii au pus mâinile în gură;
- limitarea utilizării în comun a jucăriilor și altor obiecte care au fost în gură la copil;
- respectarea regulilor când se tușește sau se strănută.

Utilizarea în mod corespunzător a măștilor faciale și respiratoarelor pot ajuta la reducerea riscului de a contracta virusul gripal, dar acestea trebuie să fie folosite împreună cu alte măsuri de prevenire, cum ar fi evitarea contactelor apropiate și respectarea regulilor de igienă. Respiratorul, bine aranjat pe față, poate filtra particulele mici, care se pot inspira prin marginile externe ale măștii faciale, dar în comparație cu masca facială în respirator se respiră mai dificil pentru perioade lungi de timp.

Recomandări privind îngrijirea bolnavilor infectați cu virusul gripal la domiciliu

Calea principală de răspândire a virusurilor gripale este transmiterea prin picături de la om la om în timpul strănutului și tusei. Aceasta se petrece atunci când micropicăturile formate în timpul tusei sau a strănutului omului infectat nimeresc pe mucoasa gurii sau nasului oamenilor aflați în apropiere. Virusurile gripale, de asemenea, se pot răspândi și în cazul atingerii suprafețelor contaminate cu virusuri gripale, iar apoi cu mâinile murdare se atinge de gură sau nas.

Recomandări persoanelor infectate cu gripa, aflate la domiciliu:

- Să stea acasă timp de 7 zile de la debutul bolii sau cel puțin 24 ore de la dispariția febrei/simptomelor în cazul în care maladia durează mai mult de 7 zile.
- Să primească tratament antiviral (dacă a fost prescris de medic).
- Să consume cât mai multe lichide: apă minerală, sucuri naturale, ceai etc., pentru a evita deshidratarea organismului.

- Să-și acopere gura și nasul în timpul tusei și strănutului.
- Să se spele cât mai des pe mâini cu apă și săpun sau cu soluții pentru mâini pe bază de alcool, în special, după tuse, strănut în palme sau folosirea șervețelilor.
- Să evite contactul cu alte persoane sănătoase, să nu frecventeze școala și serviciul pe perioada cât este bolnavă.
- La apariția simptomelor severe, să solicite asistență medicală specializată.
- Să se acorde condiții sau îngrijiri speciale pentru gravide și persoanele cu afecțiuni cronice (diabet, afecțiuni cardiovasculare, astm, emfizem etc.).

Recomandări privind tratamentul la domiciliu

În perioada pandemiei pacienții cu gripă de evoluție ușoară sau medie, care nu fac parte din grupul de risc de apariție a complicațiilor, pot fi tratați în condiții de ambulator. Medicul de familie va monitoriza pacienții la domiciliu pe o perioadă de minimum 5-7 zile de la debutul bolii (în funcție de starea generală a pacientului).

Monitorizarea la domiciliu a pacienților cu gripă:

- Măsurarea temperaturii de 2 ori pe zi.
- Frecvența respirației pe minut.
- Frecvența pulsului și a bătăilor cordului.
- Auscultația și percuția plămânilor.
- Examinarea semnelor meningiene.
- Inspecția cavității bucale, nazale și a urechilor.
- La apariția semnelor generale de pericol (vome repetate, anorexie, convulsii, tulburări de conștiință, semnelor meningiene, pneumoniilor și altor complicații), pacienții cu gripă se vor spitaliza.
- La apariția stărilor de urgență, se va acorda asistența de urgență (vezi PCN-16 Protocol Clinic Național Gripa la copil) și pacienții se vor spitaliza în secția de terapie intensivă a spitalului de boli infecțioase sau somatice.

Avertizare! Nu se va prescrie și nu se vor administra pacienților cu vârstă <18 ani preparate medicamentoase ce conțin în componența sa acidul acetilsalicilic din cauza riscului apariției sindromului Reye. Se va verifica componența preparatelor administrate!

Când se va solicita asistența medicală de urgență?

Asistența medicală de urgență se va solicita imediat, în cazul în care, persoana aflată la domiciliu va prezenta semne de agravare a stării generale, precum:

- dispnee la efort fizic sau în repaus;
- respirație grea;
- tirajul cutiei toracice la copii;
- dureri sau presiune toracică;
- hemoptizii;
- acrocianoză;
- febră înaltă pe o durată mai mult de 3 zile sau reîntoarcerea febrei după o perioadă scurtă de apirexie;
- TA scăzută;
- vomă severă sau persistentă;
- convulsii în anamneză sau la moment;
- somnolență, adinamie, obnubilare sau confuzie;
- refuzul copiilor să bea sau să se alăpteze;
- simptome de deshidratare, inclusiv amețeli la ridicare, lipsa urinării sau în cazul sugarilor bolnavi – lipsa lacrimilor când plânge.

Măsurile pentru diminuarea răspândirii gripei în condiții casnice

În timpul îngrijirii membrilor de familie bolnavi de gripă, cele mai importante modalități pentru a proteja pe cei sănătoși sunt:

- Plasarea bolnavului într-o cameră separată de ceilalți membri ai familiei.
- Respectarea de către bolnav a regulilor de igienă – acoperirea gurii și nasului în timpul tusei și strănutului și spălarea regulată pe mâini cu apă și săpun sau cu soluții pe bază de alcool.
- Evaluarea necesităților de profilaxie cu preparate antivirale, a membrilor de familie care au contactat cu bolnavul, în special a celor ce suferă de maladii cronice.

Amplasarea bolnavului

- Bolnavul va fi izolat într-o cameră separată de cele comune. Ușa camerei va fi închisă.
- Bolnavii de gripă, care au febră, nu trebuie să părăsească domiciliul, cu excepția cazului în care este necesară acordarea ajutorului medical specializat. Ei pot fi o sursă de infecție pentru alte persoane.

ne (pentru maturi, perioada de contagiozitate – 7 zile de la apariția simptoamelor; copiii, în special cei mai mici, mai mult de 7 zile).

- Dacă bolnavul de gripă trebuie să părăsească domiciliul, i se va recomanda să-și acopere nasul și gura când tușește și strănută și să poarte mască medicală, dacă este tolerată.
- Bolnavul, de asemenea, va purta mască în timpul aflării la domiciliu în arii comune și aproape de alți membri ai familiei.
- Dacă este posibil, bolnavul va folosi o cameră de baie separată. Camera de baie se va spăla zilnic cu dezinfectanți casnici obișnuiți.

Protecția altor membri de familie

- Persoanei bolnave i se interzice să primească vizitatori, altele decât persoanele care îl îngrijesc.
- Dacă este posibil, doar un adult din casă va îngriji persoana bolnavă.
- Femeile gravide vor evita îngrijirea bolnavilor cu gripă, deoarece au un risc sporit de complicații postgripale.
- Toți membrii familiei trebuie cât mai des să-și spele mâinile, în special după fiecare contact cu bolnavul sau după vizita camerei de baie.
- Se vor utiliza prosoape de hârtie pentru uscarea mâinilor după spălare sau prosoape individuale pentru fiecare membru al familiei.
- Se vor acrisi bine încăperile comune (bucătărie, baie, toaletă și altele).
- Preparatele antivirale pot fi folosite pentru a preveni gripa, de aceea consultați recomandările naționale și internaționale privind necesitatea prescrierii preparatelor antivirale pentru toți membrii de familie.

Utilizarea măștilor sau respiratoarelor

- Se va folosi mască chirurgicală sau respirator N-95 în timpul acordării asistenței medicale persoanei bolnave.
- Respiratorul N-95 bine ajustat pe față poate filtra particulele mici, care pot fi inhalate prin marginea măștilor chirurgicale. Dar, se va ține cont, că prin respirator este mai dificil de respirat pentru perioade lungi de timp decât prin mască.
- Se va utiliza respiratorul N-95 în cazul în care bolnavul este ajutat să inhaleze preparate medicamentoase. Astfel de proceduri trebuie să

fie efectuate în camere separate, cât mai departe de spațiile comune din casă.

- Măștile și respiratoarele utilizate trebuie să fie plasate într-o pungă separată pentru nimicire.
- Nu se admite utilizarea repetată a măștilor și respiratoarelor. Dacă se va folosi masca de tifon sau bumbac, ele pot fi spălate cu detergenți obișnuiți și călcate.
- După ce se va scoate masca sau respiratorul, mâinile se vor spăla cu apă și săpun sau cu soluții ce conțin alcool.
- Efectuarea curățeniei și evacuarea deșeurilor în condiții casnice.
- Șervețelele și alte produse de unică folosință, utilizate de bolnav, vor fi plasate într-o pungă separată pentru nimicire.
- Suprafețele (în special, mesele, obiectele din camera de baie, jucăriile) vor fi spălate cât mai des cu dezinfectanți casnici.
- Nu este necesar de a spăla separat albiturile și vesela bolnavului, dar se va ține cont, că toate acestea pot fi folosite de alte persoane doar după ce sunt spălate.
- Albiturile și prosoapele vor fi spălate cu detergenți obișnuiți și călcate la temperaturi maxime. Albiturile bolnavului nu vor fi mutate din loc în loc „cu brațul”: după manipulare, se vor spăla obligatoriu mâinile cu săpun sau se vor prelucra cu soluții ce conțin alcool.
- Vesela bolnavului se va spăla cu detergenți obișnuiți.

BIBLIOGRAFIE

1. Ciufecu E.S. Virusologie medicală. București: Național, 2003. 942 p.
2. Scoferța P. ș.a. Evoluția morbidității prin gripă și infecții respiratorii virale acute pe parcursul ultimilor 14 ani. În: Medicina preventivă – strategia oportună a sistemului de sănătate. Volum de articole ale Conferinței științifico-practice consacrate jubileului de 60 ani a serviciului Sanitaro-epidemiologic de Stat și 10 ani de activitate a CNȘPMP, Chișinău, 2005, p. 187- 188.
3. Spînu C. ș.a. Gripa pandemică A(H1N1) în Republica Moldova. În: Bulletinul Academiei de Științe a Moldovei, Științe Medicale, 2010, Vol. 5 (28), pp. 109-119.
4. Киселев О.И. и др. Грипп А/Н1N1 как типичная эмерджентная инфекция (вирусологические, клинико-эпидемиологические особенности, вопросы терапии и профилактики). Пособие для врачей. Санкт-Петербург-Харьков-Ужгород 2009. http://www.base.polysan-ru.com/arxiv/ah1n1_emerjenta_naya_inf.pdf (vizitat 20.04.2012).
5. Kamps B., Hoffmann Ch. And Preiser W. Influenza Report 2006. Flying Publisher. 225 p. http://www.ops.org.bo/multimedia/cd/2010/sri-2010-5/files/bib/Influenza_Report_2006_Sebastian_2006.pdf (vizitat 07.06.2011).
6. Spînu C. ș. a. Infecția cu virusuri gripale umane. Aspecte epidemiologice, clinice, de laborator, tratament și profilaxie. Ghid practic nr.1. MS RM, Chișinău, 2009, 99 p.
7. Yu Xiaoyan et al. Etiology and clinical characterization of respiratory virus infections in adult patients attending an Emergency Department in Beijing. PLoS ONE 7(2), 2012: e32174. Doi: 10.1371/journal.pone.0032174. <http://www.plosone.org/article/info:Doi/10.1371/journal.pone.0032174> (vizitat 20.04.2012).
8. Spînu C. ș. a. Evoluția gripei pandemice A(H1N1) în Republica Moldova. În: Bacteriologia, Virusologia, Parazitologia, Epidemiologia, A – II-a Conferință Națională de Microbiologie și Epidemiologie, Sinaia, 14-16 octombrie 2010, Vol. 55, Nr. 3, p. 38.
9. Barlett J.G. and Hayden F.G. Influenza A(H5N1): Will it be the next pandemic influenza? Are we ready? In: Annals of Internal Medicine 2005, Vol. 143, no. 6, pp. 460-462 <http://birdflubook.com/resources/Bartlett460.pdf> (vizitat 12.07.2009).
10. Ng E.K. et al. Influenza A H5N1 Detection. In: Emerg Infect Dis, 2005, Vol. 11, No. 8, p. 1303-1305. Doi: 10.3201/eid1108.041317. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3320469> (vizitat 20.07.2009).
11. Жирнов О.П., Манькин А.А. рН-зависимые перестройки в структуре вируса гриппа А. В: Вопросы вирусологии, 2014, № 3, стр.41-46.

12. Osterholm M.T. Preparing for the next pandemic. In: *N Eng J Med* 2005, V 352, pp. 1839-1842. DOI:10.1056/NEJMp058068. <http://www.nejm.org/Doi/full/10.1056/NEJMp058068> (vizitat 08.08.2009).

13. Esposito Susanna et al. Viral shedding in children infected by pandemic A/H1N1/2009 influenza virus. In: *Virology Journal* 2011, Vol. 8, no. 349. Doi: 10.1186 /1743-422X-8-349. <http://www.virologyj.com/content/8/1/349> (vizitat 24.09.2012).

14. Pere G. et al. Surveillance for influenza (H1N1) 2009 in Catalonia: results and implications. In: *Rev Esp Salud Publica*, 2011, 85 (1), p. 37-45. Doi: 10.1590/S1135-57272011000100005. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21750841> (vizitat 20.04.2012).

15. Гендон Ю.З. Свиной грипп H1N1/Калифорния – страсти и факты. В: *Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии* 2010, №4, стр. 105-114.

16. Львов Д.К., Колобухина Л.В., Щелканов М.Ю. Грипп: история, клиника, патогенез. В: *Лечащий врач (Москва)*, 2011, стр. 33-38 <http://www.lvrach.ru/2011/10/15435275> (vizitat 18.09.2012).

17. Spînu C. ș. a. Gripa aviară. Aspecte epidemiologice, clinice, de laborator, tratament și profilaxie. Ghid practic nr.2. MS RM, Chișinău, 2009, 91 p.

18. Киселев О.И., Маринич И.Г., Соминина А.А. Грипп и другие респираторные вирусные инфекции: эпидемиология, профилактика, диагностика и терапия. Санкт-Петербург, 2003, 245 стр.

19. Takeshi N. Native morphology of influenza virions. In: *Frontiers in Microbiology* 2012, Vol. 2, pp. 1-5. Published: 03 January 2012. Doi: 10.3389/fmicb.2011.00269. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3249889/> (vizitat 15.06.2012).

20. Lakdawala S.S. et al. Eurasian-origin gene segments contribute to the transmissibility, aerosol release, and morphology of the 2009 pandemic H1N1 influenza virus. In: *PLoS Pathog* 7(12), 2011: e1002443. Doi: 10.1371/journal.ppat.1002443.

<http://www.plospathogens.org/article/info%3ADoi%2F10.1371%2Fjournal.ppat.1002443> (vizitat 19.07.2012).

21. Bashir Aamir U. et al. Molecular Epidemiology of Influenza A(H1N1) pdm0909 Viruses from Pakistan in 2009-2010. In: *PLOS ONE* 2012, 7(8): e41866. Doi: 10.1371/journal.pone.0041866. <http://www.plosone.org/article/info%3ADoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0041866> (vizitat 12.07.2012).

22. Ferguson N.M., Galvani A.P., Bush R.M. Ecological and immunological determinants of influenza evolution. In: *Nature*, 2003, 422, p. 428-433. <http://ame-deo.com/lit.php?id=12660783> (vizitat 16.07.2012).

23. Neumann G., Takeshi N., and Yoshihiro K. Emergence and pandemic po-

tential of swine-origin H1N1 influenza virus. In: *Nature*, 2009; 459 (7249), p. 931-939. Doi: 10.1038/nature08157. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2873852/> (vizitat 27.07.2012).

24. Nguyen-Van-Tam J.S., Hampson A.W. The epidemiology and clinical impact of pandemic influenza. In: *Vaccine*, 2003, 21, p. 1762-1768. Doi: 10.1016/S0264-410X(03)00069-0. http://www.researchgate.net/publication/10813306_The_epidemiology_and_clinical_impact_of_pandemic_influenza (vizitat 12.07.2009).

25. Kilbourne E. Influenza pandemics of the 20th century. In: *Emerg. Infect. Dis.*, 2006, 12, p. 9-14. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3291411/> (vizitat 22.09.2012).

26. Eder V. Aspecte etiologice și morfostructurale ale virusurilor gripale (Revista literaturii). În: *Buletinul AȘM*, 4(36)/2012, Chișinău, p. 264-268.

27. Centers for Disease Control and Prevention. Update: novel influenza A(H1N1) virus infection. In: *MMWR Morb. Mortal. Wkly. Rep.*, 2009, 58, p. 585-589. <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5821a2.htm> (vizitat 17.06.2013).

28. Ducatez M.F. et al. Multiple Reassortment between Pandemic (H1N1) 2009 and Endemic Influenza Viruses in Pigs, United States. In: *EID 2011*, Vol. 17, No. 9, ISSN 1080-6059. http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/17/9/11-0338_article.htm (vizitat 17.06.2013).

29. Taubenberger J.K. The origin and Virulence of the 1918 „Spanish” Influenza Virus. In: *Proc Am Philos Soc*, 2006, 150 (1), p. 86-112. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2720273/> (vizitat 20.07.2012).

30. Guang-Wu Chen and Shin-Ru Shin. Genomic Signatures of Influenza A Pandemic (H1N1)2009 Virus. In: *EID*, 2009, Vol. 15, No. 12, p. 1897-1903. Doi: 10.3201/eid1512.090845 www.cdc.gov/eid (vizitat 23.05.2012).

31. Vijaykrishna D. et al. Reassortment of pandemic H1N1/2009 influenza A virus in swine. In: *Science*, 2010, 328 (5985), p. 1529-1533. Doi: 10.1126/science.1189132. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3569847/pdf/nihms440159.pdf (vizitat 02.12.2013).

32. WHO. Preliminary review of D222G amino acid substitution in the haemagglutinin of pandemic influenza A(H1N1) 2009 viruses.

http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/h1n1_d222g/en/ (vizitat 02.12.2013).

33. Mak G.C. et al. Association of D222G substitution in haemagglutinin of 2009 pandemic influenza A (H1N1) with severe disease. In: *Euro Surveill*, 2010, 15 (14): pii=19534. www.eurosurveillance.org/images/dynamic/EE/V15N14/art19534.pdf (vizitat 02.12.2013).

34. Ryvkin R. et al. Within-patient emergence of the influenza A(H1N1) pdm0909 HA1 222G variant and clear association with severe disease, Norway. In: Euro Surveill, 2013, 18 (3): pii=20369. www.eurosurveillance.org/images/dynamic/EE/V18N03/art20369.pdf (vizitat 02.12.2013).

35. Бурцева Е.И. и др. Особенности социркуляции вирусов гриппа в постпандемический период 2010-2011 гг. по итогам деятельности Центра экологии и эпидемиологии гриппа ФГБУ НИИ вирусологии им. Д.И. Ивановского Минздравсоцразвития России. В: Вопросы вирусологии, 2012, №1, стр. 20-33.

36. Skowronski D.M. et al. Cross-reactive and Vaccine-Induced Antibody to an Emerging Swine-Origin Variant of Influenza A Virus Subtype H3N2 (H3N2v). In: JID, 2012. Doi: 10.1093/infdis/jis500. <http://jid.oxfordjournals.org/content/206/12/1852.full.pdf+html> (vizitat 06.09.2012).

37. Pappas C. et al. Single gene reassortants identify a critical role for PB1, and NA in the high virulence of the 1918 pandemic influenza virus. In: PNAS, 2008, Vol. 105, No. 8, p. 3064-3069 www.pnas.org/cgi/Doi/10.1073/pnas.0711815105 (vizitat 20.07.2012).

38. Peiris M., Poon L., Guan Y. Emergence of a novel swine-origin influenza A virus (S-OIV) (H1N1) virus in humans. In: J Clin Vir, 2009, 45, p. 169-173. Doi:10.1016/j.jcv.2009.06.006. [http://www.journalofclinicalvirology.com/article/S1386-6532\(09\)00255-8/abstract](http://www.journalofclinicalvirology.com/article/S1386-6532(09)00255-8/abstract) (vizitat 20.07.2012).

39. Сулопаров И.М. и др. Генетические особенности штамма вируса гриппа А (H1N1), вызвавшего пандемию 2009 г. В: Журнал Эпидемиологии и Микробиологии, 2011, № 5, стр. 107-110.

40. Соминина А.А. и др. Развитие надзора за гриппом в России в системе национального центра ВОЗ по гриппу. В: Вопросы вирусологии, 2012, № 6, стр. 17-21.

41. Онищенко Г.Г. Эпидемическая ситуация по гриппу, вызванному высокопатогенным вирусом типа А(H1N1), в Российской Федерации и в мире. В: Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунологии, 2010, № 1, стр. 3-9.

42. Garten R.J. et al. Antigenic and Genetic Characteristics of Swine-Origin 2009 A(H1N1) Influenza Viruses Circulating in Humans. In: Science 2009, Vol. 325. 197-201. Doi:10.1126/science.1176225. <http://www.sciencemag.org/content/325/5937/197.full.pdf> (vizitat 09.02.2012).

43. Guarnaccia T. et al. Antigenic Drift of the Pandemic 2009 A(H1N1) Influenza Virus in a Ferret Model. In: PLoS Pathog, 2013, 9(5): e1003354. Doi: 10.1371/journal.ppat.1003354. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3649996/pdf/journal.ppat.1003354.pdf (03.12.2013).

44. Dhiman N. et al. Evidence for Amino Acid Changes in a 57-Base-Pair Re-

giona of the Highly Conserved Matrix Gene of Pandemic (H1N1) 2009 Influenza A Virus. In: *J. Clin. Microbiol.*, 2010, 48 (10), p. 3817-3819. <http://jcm.asm.org/> (vizitat 25.09.2012).

45. de la Rosa-Zamboni D. et al. Molecular Characterization of the Predominant Influenza A(H1N1)pdm0909 Virus in Mexico, December 2011 – February 2012. In: *PLoS ONE*, 2012, Vol. 7, Issue 11: e50116. Doi: 10.1371/journal.pone.0050116. www.plosone.org (vizitat 02.12.2013).

46. Hause B.M. et al. Genetic and antigenic characterization of recent human-like H1 (δ -cluster) swine influenza virus isolates. In: *J Swine Health Prod*, 2011, 19 (5), p. 268-276. www.aasv.org/shap/issues/v19n5/v19n5p268.pdf (vizitat 09.12.2013).

47. Piralla A. et al. Segregation of virulent influenza A(H1N1) variants in lower respiratory tract of critically III patients during the 2010-2011 seasonal epidemic. In: *PLoS ONE*, 2011, 6 (12): e28332. Doi: 10.1371/journal.pone.0028332. <http://www.plosone.org/article/info:Doi/10.1371/journal.pone.0028332> (vizitat 14.08.2011).

48. Slinporn P. et al. Serological analysis of human pandemic influenza (H1N1) in Thailand. In: *J Health Popul Nutr*, 2010, Vol. 28, no. 6, p. 537-544. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2995021/> (vizitat 14.08.2011).

49. Львов Д.К. и др. Корреляция между рецепторной специфичностью штаммов пандемического вируса гриппа А(H1N1)pdm0909, изолированных в 2009-2011 гг., структурой рецепторсвязывающего сайта и вероятностью развития летальной первичной вирусной пневмонии. В: *Вопросы вирусологии* 2012, №1, стр. 14-20.

50. Киселев О.И. Генom пандемического вируса гриппа А/H1N1V-2009. Москва: «Димитрейд График Групп», 2011, 164 стр.

51. Киселев О.И. Химиопрепараты и химиотерапия гриппа. Санкт-Петербург: Росток, 2012, 272 стр.

52. Fouchier R.A. et al. Characterization of a novel Influenza A virus hemagglutinin subtype (H16) obtained from black-headed gulls. In: *J Virol*, 2005, 79, p. 2814-2822. <http://amedeo.com/lit.php?id=15709000> (vizitat 15.07.2011).

53. Даниленко Д.М. Пандемический грипп 2009 г. в России. Особенности выделения и биологические свойства вирусов. В: *Вопросы вирусологии* №2, 2011, стр. 4-8.

54. Киселев О.И. и др. Пандемический грипп 2009 г. в России. Диагностика и молекулярно-биологические характеристики вируса. В: *Вопросы вирусологии* 2011, №1, стр. 17-21.

55. Bolton K.J. et al. Likely effectiveness of pharmaceutical and non-pharmaceutical interventions for mitigating influenza virus transmission in Mongolia. In: *Bulletin of the World Health Organization*, 2012, 90, p. 264-271. Doi: 10.2471/

BLT.11.093419. www.who.int/bulletin/volumes/90/4/11-093419/en/# (vizitat 09.07.2014).

56. Lorusso A. et al. Genetic and antigenic characterization of H1 influenza viruses from United States swine from 2008. In: *Journal of General Virology*, 2011, 92, p. 919-930. <http://vir.sgmjournals.org/content/92/4/919.full.pdf.html> (vizitat 15.07.2013).

57. Bedford T. et al. Integrating influenza antigenic dynamics with molecular evolution. *Cornell University Library*, 12 Apr 2013. arXiv:1304.3637v1 [q-bio.PE] (vizitat 31.07.2013).

58. Shu B. et al. Genetic analysis and antigenic characterization of swine origin influenza viruses isolated from humans in the United States, 1990-2010. *Virology*, 2012, 422 (1), 151-160. Doi:10.1016/j.virol.2011.10.016. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22078166> (vizitat 19.06.2013).

59. Furuse Y., Suzuki A., Oshitani H. Reassortment between swine influenza A viruses increased their adaptation to humans in pandemic H1N1/09. In: *Infection, Genetics and Evolution*, 2010, Vol. 10, Issue 4, p. 569-574. www.sciencedirect.com/science/article/pii/S1567134810000146 (vizitat 02.12.2013).

60. Portela A. and Digard P. The influenza virus nucleoprotein: a multifunctional RNA-binding protein pivotal to virus replication. In: *Journal of General Virology*, 2002, 83, p. 723-734. <http://vir.sgmjournals.org/cgi/pmidlookup?view=long&pmid=11907320> (vizitat 09.11.2013).

61. Furuse Y. et al. Comparison of selection pressures on the HA gene of pandemic (2009) and seasonal human and swine influenza A H1 subtype viruses. In: *Virology*, 2010, 405, p. 314-321. Doi: 10.1016/j.virol.2010.06.018.

www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0042682210004009 (vizitat la 02.12.2013).

62. de Jong, J. C. et al. Antigenic and genetic evolution of swine influenza A(H3N2) viruses in Europe. In: *Journal of Virology*, 2007, 81 (8), p. 4315-4322. Doi:10.1128/JVI.02458-06 <http://jvi.asm.org/> (vizitat 24.04.2013).

63. Lekcharoensuk P. et al. First whole genome characterization of swine influenza virus subtype H3N2 in Thailand. In: *Veterinary Microbiology*, 2010, 145(3-4), p. 230-244. Doi:10.1016/j.vetmic.2010.04.008. www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0378113510001896 (vizitat 24.04.2013).

64. Salin C. et al. Genetic characterization of H1N1, H1N2 and H3N2 swine influenza virus in Thailand. In: *Archive of Virology*, 2008, 153, p. 1049-1056. Doi:10.1007/s00705-008-0097-7. <http://link.springer.com/book/10.1007/978-3-642-36871-4/page/1> (vizitat 25.04.2013).

65. Thacker E. and Janke B. Swine Influenza Virus: Zoonotic Potential and Vaccination Strategies for the Control of Avian and Swine Influenzas. In: *The Journal of Infectious Diseases*, 2008, 197, p. S19-S24. Doi: 10.1086/524988. <http://jid.oxfordjournals.org/> (vizitat 17.07.2013).

66. FluView, CDC. 2008-2009 influenza season. Week 23 ending June 13, 2009. www.cdc.gov/flu/weekly/weeklyarchives2008-2009/08-09summary.htm (vizitat 08.08.2013).
67. Centers for Disease Control and Prevention. 2008-2009 Influenza Season Summary. www.cdc.gov/flu/weekly/weeklyarchives2008-2009/08-09summary.htm (vizitat 08.08.2013).
68. Members of the Western Pacific Region GISRS. Epidemiological and Virological Characteristics of Influenza in the Western Pacific Region of the World Health Organization, 2006-2010. In: PLoS ONE, 2012, 7 (5): e37568. Doi: 10.1371/journal.pone.0037568. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3366627/pdf/pone.0037568 (vizitat 03.12.2013).
69. Rajão D.S. et al. Genetic characterization of influenza virus circulating in Brazilian pigs during 2009 and 2010 reveals a high prevalence of the pandemic H1N1 subtype. In: Influenza and Other Respiratory Viruses, 2013, 7 (5), p. 783-790. Doi: 10.1111/irv.12072. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23280098> (vizitat 24.04.2013).
70. van den Brand J. et al. Comparison of Temporal and Spatial Dynamics of Seasonal H3N2, Pandemic H1N1 and Highly Pathogenic Avian Influenza H5N1 Virus Infections in Ferrets. In: PLoS ONE, 2012, 7 (8): e42343. Doi: 10.1371/journal.pone.0042343. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3414522/> (vizitat 09.11.2013).
71. Brockwell-Staats C., Webster R., Webby R. Diversity of Influenza Viruses in Swine and the Emergence of a Novel Human Pandemic Influenza A (H1N1). In: Influenza resp Viruses, 2009, 3 (5), p. 207-213. www.medscape.com/viewarticle/708377 (vizitat 24.04.2013).
72. Львов Д.К., Бурцева Е.И., Лаврищева В.В. Информация Центра экологии и эпидемиологии гриппа Института вирусологии им. Д. И. Ивановского РАМН об итогах эпидемического сезона 2009-2010 гг. по гриппу и ОРВИ (с 40-й недели 2009 г. по 22-ю неделю 2010 г.) в мире и в России. В: Вопросы вирусологии, 2011, № 1, стр. 44-49.
73. Грудинин М.П. и др. Генетическое разнообразие и молекулярная эволюция вирусов гриппа А в России в 2006-2012 гг. В: Вопросы вирусологии № 6, 2012, стр. 37-42.
74. Ren X.W. et al. Antigenic and genetic variation in the hemagglutinins of H1N1 and H3N2 human influenza A viruses in the Shanghai area from 2005-2008. In: J Med Virol, 2011, 83(7), p.1113-1120. Doi: 10.1002/jmv.22078. <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/jmv.22078/abstract> (vizitat 09.12.2013).
75. Steinbrück L., McHardy A. Inference of Genotype-Phenotype Relations-

hips in the Antigenic Evolution of Human Influenza A (H3N2) Viruses. In: PLoS Comput Biol, 2012, 8 (4): e1002492. Doi: 10.1371/journal.pcbi.1002492.

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3330098/> (vizitat 09.12.2013).

76. Gulati S. et al. Human H3N2 Influenza Viruses Isolated from 1968 To 2012 Show Varying Preference for Receptor Substructures with No Apparent Consequences for Disease or Spread. In: PLoS ONE, 2013, 8 (6): e66325. Doi: 10.1371/journal.pone.0066325. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3689742/> (vizitat 03.12.2013).

77. Ferreira L. et al. Sequence analysis of the 2009 pandemic influenza A H1N1 virus haemagglutinin gene from 2009-2010 Brazilian clinical samples. In: Memórias do Instituto Oswaldo Cruz, 2011, 106 (4), p. 613-616. www.bioline.org.br/request?oc11102 (vizitat 26.04.2013).

78. Лаврищева В.В. и др. Этиология летальных пневмоний в период развития пандемии, вызванной вирусом гриппа А(H1N1)pdm092009 в России. В: Вопросы вирусологии, 2013, № 3, стр. 17-21.

79. Lin Y.P. et al. Evolution of the receptor binding properties of the influenza A(H3N2) hemagglutinin. In: PNAS, 2012. www.pnas.org/cgi/Doi/10.1073/pnas.1218841110 (vizitat 12.02.2013).

80. Nelson M.I. et al. Evolution of Novel Reassortant A/H3N2 Influenza Viruses in North American Swine and Humans, 2009-2011. In: Journal of Virology, 2012, 86 (16), p. 8872-8878. Doi: 10.1128/JVI.00259-12. <http://jvi.asm.org/> (vizitat 24.04.2013).

81. Лобова Т.Г. и др. Эволюционная изменчивость вирусов гриппа В, циркулировавших в Российской Федерации с 2005 по 2012 г. В: Вопросы вирусологии, 2012, № 6, стр. 22-26.

82. FluView, CDC. 2009-2010 Influenza Season Summary. www.cdc.gov/flu/weekly/weeklyarchives2009-2010/09-10Summary.htm (vizitat 11.11.2013).

83. FLU FOCUS. Issue No.3, July 2011. <http://www.euro.who.int/flufocus> (vizitat 15.09.2012).

84. Community Network of Reference Laboratories (CNRL) for Human Influenza in Europe. Technical Document. Influenza virus characterisation. Summary Europe, July 2011. http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/1108_SUR_Influenza_virus_characterisation_July.pdf (vizitat 15.09.2012).

85. Furuse Y. et al. Occurrence of Mixed Populations of Influenza A Viruses That Can Be Maintained through Transmission in a Single Host and Potential for Reassortment. In: J. Clin. Microbiol., 2010, 48 (2), p. 369. Doi: 10.1128/JCM.01795-09 <http://jcm.asm.org/content/48/2/369.full.pdf+html> (vizitat 13.11.2013).

86. Nguyen H.T., Fry A.M., Gubareva L.V. Neuraminidase inhibitor resistance in influenza viruses and laboratory testing methods. In: Antivir Ther,

2012, 17 (1 Pt B): 159-173. Doi: 10.3851/IMP2067. www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22311680 (vizitat 03.12.2013).

87. Garcia Vanessa and Aris-Brosou Stéphane. Comparative Dynamics and Distribution of Influenza Drug Resistance Acquisition to Protein M2 and Neuraminidase Inhibitors. In: *Mol. Biol. Evol.*, 2013. Doi: 10.1093/molbev/mst204.

<http://mbe.oxfordjournals.org/content/early/2013/11/07/molbev.mst204.full.pdf+html> (vizitat 13.11.13).

88. Wang J. et al. Structure and inhibition of the drug-resistant S31N mutant of the M2 ion channel of influenza A virus. In: *PNAS*, 2013, vol. 110, no. 4, p. 1315-1320. Doi: 10.1073/pnas.1216526110. www.pnas.org/content/110/4/1315.full.pdf+html (vizitat 13.11.13).

89. Sharma M. et al. Drug sensitivity, drug-resistant mutations, and structures of three conductance domains of viral porins. In: *Biochimica et Biophysica Acta*, 2010, 1808 (2011), p. 538-546. Doi: 10.1016/j.bbame.2010.07.015. www.physics.fsu.edu/ (vizitat 20.11.13).

90. Rossman J.S. et al. Influenza Virus M2 Ion Channel Protein Is Necessary for Filamentous Virion Formation. In: *Journal of Virology*, 2010, vol. 84, no. 10, p. 5078-5088. Doi: 10.1128/JVI.00119-10. <http://jvi.asm.org/content/84/10/5078> (vizitat 20.11.13).

91. Stouffer A.L. et al. The Interplay of Thermodynamic Stability, Functional Tuning, and Drug Resistance in the Evolution of the M2 Proton Channel From the Influenza A Virus. In: *Structure*, 2008, 16 (7), p. 1067-1076. Doi:10.1016/j.str.2008.04.011. www.ncbi.nlm.nih.gov/ (vizitat 20.11.13).

92. Cady S.D. et al. Structure of the amantadine binding site of influenza M2 proton channels in lipid bilayers. In: *Nature*, 2010, vol. 463, p. 689-693. Doi:10.1038/nature08722. www.public.iastate.edu/ (vizitat 20.11.13).

93. Rosenberg M.R. and Casarotto M.G. Coexistence of two adamantane binding sites in the influenza A M2 ion channel. In: *PNAS Early Edition*, 2010, 1-6. Doi: 10.1073/pnas.1002051107 www.pnas.org/content/early/2010/07/14/1002051107.full.pdf (vizitat 20.11.13).

94. Pizzorno A., Abed Y., Boivin G. Influenza drug resistance. In: *Semin Respir Crit Care Med*, 2011, 32 (4), p. 409-422. www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21858746 (vizitat 09.12.2013).

95. Hurt A.C. et al. Oseltamivir resistance and the H274Y neuraminidase mutation in season, pandemic and highly pathogenic influenza viruses. In: *Drugs*, 2009, 69 (18), p. 2523-2531. Doi: 10.2165/11531450-000000000-00000. www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19943705 (vizitat 13.11.13).

96. Chao D.L. et al. The global spread of drug-resistant influenza. In: *J. R. Soc. Interface* 2012, 9, p. 648-656. Doi: 10.1098/rsif.2011.0427.

<http://rsif.royalsocietypublishing.org/content/9/69/648.full.pdf+html> (vizitat 13.11.13).

97. Sheu T.G. et al. Dual Resistance to Adamantanes and Oseltamivir Among Seasonal Influenza A(H1N1) Viruses: 2008-2010. In: *JID*, 2011, 203, p. 13-17. Doi: 10.1093/infdis/jiq005. <http://jid.oxfordjournals.org/content/203/1/13.full.pdf+html> (vizitat 20.11.13).
98. Dapat I.C. et al. Genetic Characterization of Human Influenza Viruses in the Pandemic (2009-2010) and Post-Pandemic (2010-2011) Periods in Japan. In: *PLoS ONE* 2012, 7 (6): e36455. Doi: 10.1371/journal.pone.0036455. www.plosone.org/article/info%3ADoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0036455 (vizitat 24.04.2013).
99. Leang S.K. et al. Influenza antiviral resistance in the Asia-Pacific region during 2011. In: *Antiviral Research*, 2013, Vol. 97, Issue 2, p. 206-210. www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166354212002963 (vizitat 09.12.2013).
100. Takayama I. et al. Rapid detection of the SN neuraminidase mutation in influenza A(H1N1)pdm0909 virus by one-step duplex RT-PCR assay. In: *Journal of Virological Methods*, 2013, Vol. 188, Issues 1-2, p.73-75. www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166093412004417 (vizitat 09.12.2013).
101. Neuraminidase Inhibitor Susceptibility Network (NISN). An Overview of Antiviral Drug Resistance. Data presented at Options for the Control of Influenza VII. Hong Kong, September 2010. www.isirv.org/site/images/stories/avg-documents/Publications/nisn_options_report_dec2010.pdf (vizitat 13.11.13).
102. LeGoff J. et al. I223R Mutation in Influenza A(H1N1)pdm0909 Neuraminidase Confers Reduced Susceptibility to Oseltamivir and Zanamivir and Enhanced Resistance with H275Y. In: *PLoS ONE* 2012, 7 (8): e37095. Doi:10.1371/journal.pone.0037095. www.plosone.org/article/info%253ADoi%252F10.1371%252Fjournal.pone.0037095 (vizitat 24.04.2013).
103. Okomo-Adhiambo M. et al. Detection of E119V and E119I Mutations in Influenza A(H3N2) Viruses Isolated from an immunocompromised Patient: Chlanhes in Diagnosis of Oseltamivir Resistance. In: *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 2010, p. 1834-1841. Doi: 10.1128/AAC.01608-09. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2863645/pdf/1608-09.pdf (vizitat 03.12.2013).
104. Ciancio B.C. et al. Oseltamivir-resistant influenza A(H1N1) viruses detected in Europe during season 2007-2008 had epidemiologic and clinical characteristics similar to circulating susceptible A(H1N1)viruses. In: *Euro Surveill.*, 2009, 14 (46): pii=19412. www.eurosurveillance.org/images/dynamic/EE/V14N46/art19412.pdf (vizitat 13.11.2013).
105. Janies D.A. et al. Selection for resistance to oseltamivir in seasonal and pandemic H1N1 influenza and widespread co-circulation of the lineages. In: *International Journal of Health Geographics* 2010, 9:13. Doi: 10.1186/1476-072X-9-13. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2882220/pdf/1476-072X-9-13.pdf (vizitat 12.11.2013).

106. Triana-Baltzer G. et al. Phenotypic and genotypic characterization of influenza virus mutants selected with the sialidase fusion protein DAS181. In: *J Antimicrob Chemother*, 2011, 66, p. 15-28, doi: 10.1093/jac/dkq387. <http://jac.oxfordjournals.org/> (vizitat 10.06.2013).

107. Arellano-Galindo J. et al. Point Mutations and Antiviral Drug Resistance. 2012 www.intechopen.com/pdfs/33172/InTech_Point_mutations_and_antiviral_drug_resistance.pdf (vizitat 12.11.2013).

108. Hurt A.C. et al. Antiviral resistance during the 2009 influenza A H1N1 pandemic: public health, laboratory, and clinical perspectives. In: *The Lancet Infectious Diseases*, 2012, Vol. 12, Issue 3, p. 240-248. [www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099\(11\)70318-8/fulltext](http://www.thelancet.com/journals/laninf/article/PIIS1473-3099(11)70318-8/fulltext) (vizitat 08.12.2013).

109. Doyle T. et al. Universal anti-neuraminidase antibody inhibiting all influenza A subtypes. In: *Antiviral Research*, 2013, 100, p. 567-574. Doi: 10.1016/j.antiviral.2013.09.018. www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0166354213002660 (vizitat 02.12.2013).

110. Hurt A. Influenza antivirals and resistance: the next 10 years? In: *Expert Rev. Anti Infect. Ther.*, 2012, 10 (11), p. 1221-1223. Doi: 10.1586/ERI.12.125. www.expert-reviews.com/toc/eri/10/11 (vizitat 03.12.2013).

111. Poland G.A., Jacobson R.M., and Ovsyannikova I.G. Influenza Virus Resistance to Antiviral Agents: A Plea for Rational Use. In: *Clinical Infectious Diseases*, 2009, 48, p. 1254-1256. Doi: 10.1086/598989. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2831648/> (vizitat 02.08.2012).

112. Monto A.S. Implications of Antiviral Resistance of Influenza Viruses. In: *Clinical Infectious Diseases*, 2009, 48, p. 397-399. Doi: 10.1086/596312. <http://cid.oxfordjournals.org/content/48/4/397.full.pdf+html> (vizitat 02.08.2012).

113. Hayden F.G. and de Jong M. Emerging Influenza Antiviral Resistance Threats. In: *The Journal of Infectious Diseases*, 2011, 203, p. 6-10. Doi: 10.1093/infdis/jiq012. <http://jid.oxfordjournals.org/content/203/1/6.full.pdf+html> (vizitat 13.11.2013).

114. ECDC Interim Guidance. Public health use of influenza antivirals during influenza pandemics. www.ecdc.europa.eu (vizitat 13.11.13).

115. Mak P.W.Y., Jayawardena Sh., and Poon L.L.M. The Evolving Threat of Influenza Viruses of Animal Origin and the Challenges in Developing Appropriate Diagnostics. In: *Clinical Chemistry*, 2012, 58:11, p. 1527-1533. Doi: 10.1373/clinchem.2012.182626. www.clinchem.org/content/58/11/1527.full.pdf (vizitat 02.12.2013).

116. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Role of Laboratory Diagnosis of Influenza. *Seasonal Influenza (Flu)*, 2009.

- <http://www.cdc.gov/flu/professionals/diagnosis/labrole.htm> (vizitat 21.07.2011).
117. Zambon M. et al. Diagnosis of Influenza in the Community. Relationship of Clinical Diagnosis to Confirmed Virological, Serologic, or Molecular Detection of Influenza. In: *Arch Intern Med*, 2001, 161, p. 2116-2122. <http://archinte.jamanetwork.com/> (vizitat 02.04.2013).
118. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Rapid Diagnostic Testing for Influenza: Information for Health Care Professionals, 2009. <http://www.cdc.gov/flu/professionals/diagnosis/rapidclin.htm#table> (vizitat 02.12.2013).
119. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Guidance for Clinicians on the Use of Rapid Influenza Diagnostic Tests, 2011. http://www.cdc.gov/flu/professionals/diagnosis/clinician_guidance_ridt.htm#Figure1 (vizitat 02.12.2013).
120. WHO information for laboratory diagnosis of pandemic (H1N1)2009 virus in humans – revised. 23.11.2009. www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/WHO_Diagnostic_RecommendationsH1N1_20090521.pdf (vizitat 15.05.2010).
121. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Influenza Symptoms and the Role of Laboratory Diagnostics, 2011. <http://www.cdc.gov/flu/professionals/diagnosis/labrole.htm> (vizitat 25.03.2012).
122. Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Interim Recommendations for Clinical Use of Influenza Diagnostic Tests During the 2009-2010 Influenza Season, 2009. <http://www.cdc.gov/flu/professionals/diagnosis/labrole.htm> (vizitat 25.05.2010).
123. Petric M., Comanor L., and Petti C. Role of the Laboratory in Diagnosis of Influenza during Seasonal Epidemics and Potential pandemics. In: *The Journal of Infectious Diseases* 2006, 194 (Suppl 2), p. S98-110. http://jid.oxfordjournals.org/content/194/Supplement_2/S98.full.pdf+html (vizitat 02.12.2013).
124. Kumar S. and Henrickson K. Update on Influenza Diagnostics: Lessons from the Novel H1N1 Influenza A Pandemic. In: *Clinical Microbiology Reviews*, 2012, Vol. 25, No. 2, p. 344-361. Doi: 10.1128/CMR.05016-11. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3346302/pdf/zcm344.pdf (vizitat 02.12.2013).
125. Katz J.M., Hancock K., Xu X. Serologic assays for influenza surveillance, diagnosis and vaccine evaluation. In: *Expert Rev Anti Infect Ther.*, 2011, 9 (6), p. 669-83. Doi: 10.1586/eri.11.51. www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21692672 (vizitat 23.12.2013).
126. Hancock K. et al. Cross-Reactive Antibody Responses to the 2009 Pan-

demic H1N1 Influenza Virus. In: *The New England Journal of Medicine* 2009, 361, p. 1945-52. Doi: 10.1056/NEJMoa0906453. www.nejm.org/Doi/pdf/10.1056/NEJMoa0906453 (vizitat 24.12.2013).

127. Сборник методических рекомендаций по выделению вирусов, ИФ и ПЦР-диагностике гриппа и вводу данных сигнального надзора в системе on-line. Министерство Здравоохранения и Социального Развития ФГБУ Научно-Исследовательский Институт Гриппа, Национальный Центр по Гриппу ВОЗ, Санкт-Петербург, 2011, 68 стр.

128. Krauss S., Walker D., Webster R.G. Influenza virus isolation. In: *Methods Molecular Biology*, 2012, 865, p. 11-24. Doi: 10.1007/978-1-61779-621-0_2.

www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22528151 (vizitat 09.12.2013).

129. Даниленко Д.М. и др. Сравнительное изучение чувствительности клеточных линий различного происхождения к вирусам пандемического гриппа H1N1vб вирусам гриппа птиц, свиней и человека. В: *Вопросы вирусологии*, 2011, № 6, стр. 14-19.

130. WHO Global Influenza Surveillance Network. Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza. World Health Organization, 2011, 139 p.

131. Ramakrishnan M.A. et al. The Feasibility of Using High Resolution Genome Sequencing of Influenza A Viruses to Detect Mixed Infections and Quasispecies. In: *PLoS ONE*, 2009, 4 (9): e7105. Doi: 10.1371/journal.pone.0007105.

<http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0007105> (vizitat 09.12.2013).

132. Dwyer D.E. et al. Laboratory diagnosis of human seasonal and pandemic influenza virus infection. Supplement. In: *The Medical Journal of Australia*, 2006, Vol. 185, No. 10, p. S48-S53. www.mja.com.au/journal/2006/185/10 (vizitat 18.01.2011).

133. Lindsay L.L. et al. Avian Influenza: Mixed Infections and Missing Viruses. In: *Viruses*, 2013, 5, p. 1964-1977. Doi: 10.3390/v5081964. www.mdpi.com/1999-4915/5/8/1964 (vizitat 09.12.2013).

134. CHP molecular diagnostic protocols for the detection of human swine influenza virus type A (subtype H1) revision 2 (16 December 2009). The Virology Division, Public Health Laboratory Services Branch, Centre for Health Protection (CHP), Department of Health, Hong Kong SAR, China.

http://www.chp.gov.hk/files/pdf/CHP_Protocols_for_the_Detection_of_Human_Swine_influenza.pdf (vizitat 12.03.2010).

135. Steininger Ch. et al. Effectiveness of Revers Transcription-PCR, Virus Isolation, and Enzyme-Linked Immunosorbent Assay for Diagnosis of Influenza A Virus Infection in Different Age Groups. In: *Journal of Clinical Microbiology*,

2002, 40 (6), p. 2051-2056. Doi: 10.1128/JCM.40.6.2051-2056.2002. <http://jcm.asm.org/content/40/6/2051.full.pdf+html> (vizitat 09.12.2013).

136. Ellis J.S. and Zambon M.C. molecular diagnosis of influenza. In: *Reviews in Medical Virology*, 2002, 12: 375-389. Doi: 10.1002/rmv.370.

www.interscience.wiley.com/Doi/10.1002/rmv.370/pdf (vizitat 18.01.2011).

137. Beck E.T., Henrickson K.J. Molecular Diagnosis of Respiratory Viruses. In: *Future Microbiology*, 2010, 5 (6), p. 901-916. www.medscape.com/viewarticle/723583_print (vizitat 01.12.2013).

138. Poon L. et al. Rapid Detection of Reassortment of Pandemic H1N1/2009 Influenza Virus. In: *Clinical Chemistry*, 2010, 56:8, p. 1340-1344.

www.clinchem.org/content/56/8/1340.full.pdf+html (vizitat 02.12.2013).

139. Poon L. et al. Molecular Detection of a Novel Human Influenza H1N1 of Pandemic Potential by Conventional and Real-Time Quantitative RT-PCR Assays. In: *Clinical Chemistry*, 2009, 55:8, p. 1555-1558. www.clinchem.org/content/55/8/1555.full.pdf+html (vizitat 01.12.2013).

140. Ребриков Д.В. и др. ПЦР «в реальном времени». Москва, «БИНОМ. Лаборатория знаний», 2009, 216 стр.

141. Mak P. et al. Rapid Genotyping of Swine Influenza Viruses. In: *Emerg Infect Dis*, 2011, 17 (4), p. 691-694. Doi: 10.3201/eid1704.101726.

www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3377423/ (vizitat 02.12.2013).

142. Raboni S.M. et al. Laboratory Diagnosis, Epidemiology, and Clinical Outcomes of Pandemic Influenza A and Community Respiratory Viral Infections in Southern Brazil. In: *Journal of Clinical Microbiology*, 2011, 49 (4), p. 1287-1293.

<http://jvi.asm.org/content/49/4/1287.full.pdf+html> (vizitat 02.12.2013).

143. Wang R. and Taubenberger J.K. Methods for molecular surveillance of influenza. In: *Expert Rev Anti Infect Ther.*, 2010, 8 (5), p. 517-527. Doi: 10.1586/eri.10.24. www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2882197/pdf/nihms205258.pdf (vizitat 02.12.2013).

144. Inoue E. et al. Full genomic amplification and subtyping of influenza A virus using a single set of universal primers. In: *Microbiol Immunol*, 2010, 54, p. 129-134. Doi: 10.1111/j.1348-0421.20009.00193.x. www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20236422 (vizitat 02.12.2013).

145. Deng Y., Cladwell N., Barr I. Rapid Detection and Subtyping of Human Influenza A Viruses and Reassortants by Pyrosequencing. In: *PLoS ONE*, 2011, 6 (8):e23400. Doi: 10.1371/journal.pone.0023400. <http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0023400> (vizitat 02.12.2013).

146. World Health Organization and Centers for Disease Control and Prevention, *Influenza Laboratory Course Manual*. Atlanta, Georgia, USA, May 5-9, 2003, 300 p.

147. van Zyl G. Laboratory Findings. In: Influenza Report by Kamps B.S., Hoffmann C., Preiser W., 2006, p. 150-158. <http://www.influenzareport.com/ir/lab.htm> (vizitat 12.03.2010).

148. Beaman M., Leung M. Pandemic influenza testing at the coalface: time for reassessment? In: *Med J Aust*, 2010, 192 (2), p. 102-104. www.mja.com.au/journal/2010/192/2 (vizitat 29.11.2013).

149. Kaore N.M. et al. Laboratory Diagnosis of Novel H1N1 Virus. In: *JK Science*, Oct-December 2009, Vol. 11, No. 4, p. 172-174.

<http://www.jkscience.org/current/6+Swine+Flu+Emerging+Threats.pdf> (vizitat 12.03.2010).

150. Matrosovich M. et al. Overexpression of the α -2,6-Sialyltransferase in MDCK Cells Increases Influenza Virus Sensitivity to Neuraminidase Inhibitors. In: *Journal of Virology*, 2003, 77 (15), p. 8418-8425. Doi: 10.1128/JVI.77.15.8418-8425.2003.

<http://jvi.asm.org/content/77/15/8418.full.pdf> (vizitat 10.10.2013).

151. Govorkova E.A. et al. African Green Monkey Kidney (vero) cells provide an alternative host system for influenza A and B viruses. In: *Journal of Virology*, 1996, 70 (8), p. 5519-5524. <http://jvi.asm.org/content/70/8/5519.full.pdf> (vizitat 06.02.2014).

152. Жирнов О.П. и др. Патогенетическое действие пандемического вируса гриппа H1N1 при размножении в культурах клеток человека. В: *Вопросы вирусологии*, 2013, №4, стр. 20-28.

153. Zhirnov O.P. et al. Structural and evolutionary characteristics of HA, NA, NS and M genes of clinical influenza A/H3N2 viruses passaged in human and canine cells. In: *J Clin Virol*, 2009, no.45 (4), p. 322-333. Doi: 10.1016/j.jcv.2009.05.030.

www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/19546028 (vizitat 09.12.2013).

154. Li D. et al. In Vivo and In Vitro Alterations in Influenza A/H3N2 Virus M2 and Haemagglutinin Genes: Effect of Passage in MDCK-SIAT1 Cells and Conventional MDCK Cells. In: *J. Clin. Microbiol.*, 2009, 47 (2), p.466-468. Doi: 10.1128/JCM.00892-08. <http://jcm.asm.org/content/47/2/466.full.pdf+html> (vizitat 13.11.2013).

155. Dubalari V. ș.a. Monitorizarea virusologică cu caracteristica antigenică și filogenetică a tulpinilor gripale izolate în perioada postpandemică. În: *Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină, Materialele Conferinței a VII-a a medicilor-infecționiști din Republica Moldova*, nr.5(44), 2012, p. 95-98.

156. Spînu C. ș.a. Măsurile de control și răspuns la gripă realizate prin actualul sistem de supraveghere. În: *Bacteriologia, Virusologia, Parazitologia, Epidemiologia, Conferința Națională de Epidemiologie*, Iași, 10-12 noiembrie 2011, Vol. 56, C09.

157. Eder V. Caracteristica antigenică și genotipică a virusurilor gripale identificate în perioadele prepandemică, pandemică și postpandemică în Republica Moldova. În: Curierul Medical, ISSN 1857-0666, April 2014, Vol. 57, No. 2, p. 50-59.

158. Spînu C. ș.a. Gripa pandemică A(H1N1) în Republica Moldova. În: Buletinul AȘM, Științe medicale, Nr. 5 (28), 2010, p. 109-119.

159. Инструкция по применению иммуноглобулинов диагностических флуоресцирующих сухих (ИФ-Г); утв. Главным Государственным врачом Российской Федерации, 30.01.2009 г. №01-11/4-09.

160. Масалова О.В. и др. Выявление консервативных и переменных эпитопов гемагглютинина штаммов пандемического вируса гриппа A(H1N1) pdm099 с помощью моноклональных антител. В: Вопросы вирусологии, 2014, №3, стр. 34-40.

161. Dubalari V. ș.a. Rezultate privind investigarea bolnavilor cu gripă prin tehnici de biologie moleculară. În: Bacteriologia, Virusologia, Parazitologia, Epidemiologia, Conferința Națională de Epidemiologie, Iași, 10-12 noiembrie 2011, Vol. 56, P38.

162. Гланц С. Медико-биологическая статистика. Москва, Практика, 1999 г., 460 с.

163. Pandemic influenza preparedness planning. Report on the second joint WHO/European Commission workshop, Copenhagen, 24-26 October 2005. WHO 2006. http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0019/90451/E88206.pdf (vizitat 01.11.2014).

164. WHO Influenza Center Report September 2009. MRC National Institute for Medical Research. http://www.nimr.mrc.ac.uk/documents/about/interim_report_sep_2009.pdf (vizitat 01.11.2014).

165. WHO Influenza Center. Report prepared for the WHO annual consultation on the composition of the influenza vaccine for the Northern Hemisphere. February 2010. MRC National Institute for Medical Research.

http://www.nimr.mrc.ac.uk/documents/about/interim_report_feb_2010.pdf (vizitat 03.11.2014).

166. Tse H. et al. Structural basis and sequence co-evolution analysis of the hemagglutinin protein of pandemic influenza A/H1N1 (2009) virus. Original Research. In: Experimental Biology and Medicine, 2011, 236, p. 915-925. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21727184> (vizitat 09.12.2013).

167. WHO Preliminary review of D222G amino acid substitution in the haemagglutinin of pandemic influenza A(H1N1)2009 viruses. 28 December 2009. http://www.who.int/csr/resources/publications/swineflu/cp165_2009_2812_review_d222g_amino_acid_substitution_in_ha_h1n1_viruses.pdf (vizitat 03.11.2012).

168. ECDC Influenza virus characterization, Summary Europe, January 2011 (Technical Document). http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/influenza/epidemiological_data/Pages/Influenza_virus_characterisation.aspx (vizitat 03.11.2012).

169. Chutinimitkul S. al. Virulence-Associated Substitution D222G in the Hemagglutinin of 2009 Pandemic Influenza A(H1N1) Virus Affects Receptor Binding. In: Journal of Virology, Nov. 2010, p. 11802-11813 (Doi:10.1128/JVI.01136-10).

<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/20844044> (vizitat 03.11.2012).

170. Daput I.C. et al. Genetic Characterization of Human Influenza Viruses in the Pandemic (2009-2010) and Post-Pandemic (2010-2011) Periods in Japan. In: PloS ONE 2012, 7(6): e36455. Doi:10.1371/journal.pone.0036455.

<http://www.plosone.org/article/info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0036455> (vizitat 03.11.2012).

171. Pandemic (H1N1)2009 in the European Region. WHO, 2010. <http://www.euro.who.int/en/health-topics/communicable-diseases/influenza/pandemic-h1n1-2009> (vizitat 04.11.2014).

172. Summary of the first post-pandemic influenza season in the WHO European region: 2010-2011. WHO, 2011.

www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0010/153379/flu_2010-2011_summary.pdf?ua=1 (vizitat 04.11.2014).

173. WHO/Europe interim recommendations on influenza vaccination during the 2010/2011 winter season.

http://www.euro.who.int/_data/assets/pdf_file/0004/122467/Flu_vaccine_recom.pdf (vizitat 06.11.2014).

174. Spînu C. et al. The significance of the influenza, ARI and SARI surveillance system in Republic of Moldova. Poster. 3rd International Influenza Meeting, Muenster, Germany. September 2nd-4th, 2012, P88.

175. Спыну К.И., П.Г. Скоферца, Едер В.А., и др. Результаты внедрения системы эпиднадзора за гриппом, ОРВИ и ТОРИ в Республике Молдова. В: Тези Доповідей: Науково-практична конференція «СУЧАСНИЙ СТАН ТА ПРОБЛЕМИ ІНФЕКЦІЙНОЇ ЗАХВОРЮВАНОСТІ В УКРАЇНІ», Київ, 10 жовтня 2012, стр. 24-25.

176. Cojocar u R. et al. Improvement of the influenza, ARI and SARI surveillance system in Republic of Moldova. Poster. European Scientific Conference on Applied Infectious Disease Epidemiology (ESCAIDE), 24-26 October 2012, Edinburgh, UK. Abstract book, p. 99.

177. WHO Influenza Center. Report prepared for the WHO annual consultation on the composition of the influenza vaccine for the Northern Hemisphere. February 2012. MRC National Institute for Medical Research.

http://www.nimr.mrc.ac.uk/documents/about/interim_report_feb_2012.pdf (vizitat 03.11.2014).

178. Spînu C., Eder V., Bahnarel I. et al. Evaluation of ILI, ARI and SARI surveillance system in the Republic of Moldova in the 2012-2013 season. In: Romanian Archives of Microbiology and Immunology, July – September 2013, Vol. 72, Issue 3, p. 183-185.

179. Cojocaru R., Spînu C., Eder V. et al. Strengthening of the surveillance system for influenza, ARI and SARI in the Republic of Moldova. In: Options for the Control of Influenza, Cape Town, South Africa, 5-10 September 2013, Abstract LBA-P2-017, p. 643.

180. Spînu C., Grama O., Eder V. et al. Studying and evaluating of influenza, ARI and SARI morbidity evolution with control and response measures achieving in 2012-2013 epidemic season in the Republic of Moldova. In: Archives of the Balkan Medical Union, ISSN 0041-6940, September 2013, Vol. 48, No. 3-Supplement, p.487-491.

181. Spînu C. et al. The results of the implementation epidemiological surveillance system and control and response measures to influenza, acute viral respiratory infections (ARI) and severe acute respiratory infection (SARI). В: Актуальные Вопросы Эпидемиологии, Материалы Научно-Практической Конференции с Международным Участием, Посвященной 90-летию Института НИИ Эпидемиологии, Вирусологии и Медицинской Паразитологии им. А.Б. Алексаняна, Ереван, 2013, стр. 237-239.

182. Spînu C., Scoferța P., Eder V. et al. Evaluation of the influenza, acute respiratory infections and severe acute respiratory infections by the surveillance system in the Republic of Moldova. In: Curierul Medical, ISSN 1857-0666, October 2013, Vol. 56, No. 5, p. 133-137.

183. WHO. Weekly epidemiological record. No. 10, 2012, 87, 81-96 <http://www.who.int/wer/2012/wer8710.pdf?ua=1> (vizitat 13.11.2014).

184. Joint WHO Regional Office for Europe/ECDC meeting on Influenza Surveillance. Report. 29-31 May, 2013, Istanbul, Turkey.

http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0007/155509/e96072.pdf (vizitat 09.12.2013).

185. WHO Influenza Center. Report prepared for the WHO annual consultation on the composition of the influenza vaccine for the Southern Hemisphere 2014. September 2013. MRC National Institute for Medical Research. <http://www.nimr.mrc.ac.uk/documents/about/NIMR-report-Sep2013final.pdf> (vizitat 13.11.2014).

186. Spînu C., Scoferța P., Eder V. et al. Gripa, infecțiile respiratorii virale acute și infecțiile respiratorii acute severe în Republica Moldova, sezonul 2013-2014: măsuri de control și răspuns. Sănătate Publică, Economie și Management în Medicină, Materialele Conferinței Centrul de Sănătate Publică din Municipiul Chișinău – 70 ani de ani la straja sănătății, nr. 6 (57), 2014, p. 57-61.

187. ECDC. Surveillance report. Influenza virus characterisation. Summary

Europe, May 2014. <http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/influenza-characterisation-report-may-2014.pdf> (vizitat 24.11.2014).

188. Spinu C, Eder V., Scoferts P. et al. Phenotypic and genotypic significance of influenza viruses identified in the Republic of Moldova. Poster. 4th International Influenza Meeting, Muenster, Germany, 21-23 September, 2014, P98, p.145.

189. WHO Influenza Center. Report prepared for the WHO annual consultation on the composition of the influenza vaccine for the Northern Hemisphere 2014/15. February 2014. MRC National Institute for Medical Research. London, UK. <http://www.nimr.mrc.ac.uk/documents/about/NIMR-report-Feb2014-web.pdf> (vizitat 24.11.2014).

190. Spinu C., Eder V., Scoferta P. et al. Clinical and epidemiological importance of genotypic and phenotypic characteristic of influenza viruses identified in the Republic of Moldova. In: Bacteriologia, Virusologia, Parazitologia și Epidemiologia. A VII-a Conferință Națională de Microbiologie și Epidemiologie, 2014. Vol. 59, nr. 3-4, p. 31.

191. Broberg E. et al. Start of the 2014/15 influenza season in Europe: drifted influenza A(H3N2) viruses circulate as dominant subtype. În: Euro Surveill. 2015; 20(4):pii=21023. IF = 4.659. <http://www.eurosurveillance.org/ViewArticle.aspx?ArticleId=21023>.

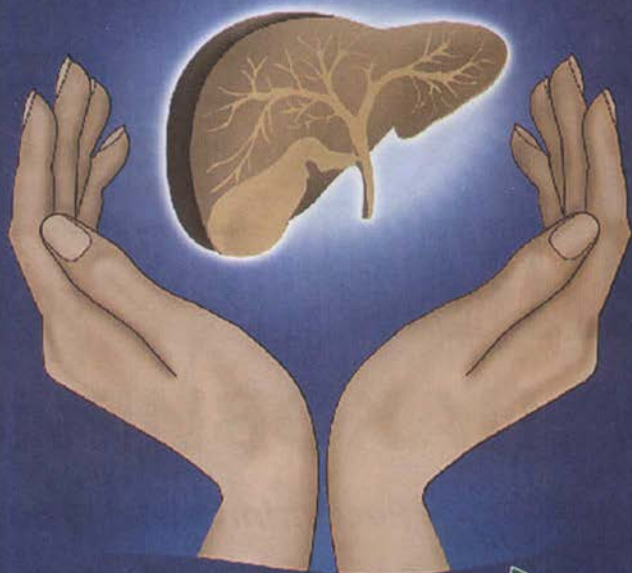
192. Spînu C., Pînzaru Iu., Gheorghîța S. (Monografie) Gripa: Măsuri de supraveghere, control și răspuns. Chișinău, 2017, 264 p.

193. Pînzaru Iu., (Monografie) Igiena muncii și starea de sănătate a angajaților întreprinderilor de procesare a cărnii., Chișinău, 2018, 312 p.

194. European medicines agency (science medicines health), 26 April 2018 EMA/CHMP/BWP 209019/2018, Committee for Medicinal Products for Human use. BWP Ad-hoc influenza Working Group. Amended¹ EU recommendations for the seasonal influenza vaccine composition for the season 2018./2019, 4 p.

PACOVIRINĂ

Comprimate 50 mg



- ✓ TRATAMENT ȚINTĂ ÎN HEPATITELE VIRALE B ȘI C, HERPES PRIMAR ȘI RECIDIVANT, GRIPĂ
- ✓ ANTIVIRAL
- ✓ IMUNOMODULATOR
- ✓ INTERFERONOGEN


**PRODUS
100%
NATURAL**

Î.M. "FARMACO" S.A.

MD-2023, Republica Moldova, Chișinău, str. Vadul-lui-Vodă, nr.2
Tel.: (373 22) 49 79 33; Fax: (373 22) 47 20 74; www.farmaco.md



FARMACO
PENTRU SĂNĂTATEA TA



PACOVIRINĂ

Pacovirini capsulae 50 mg

30 capsule

COMPONENȚA:

1 capsulă conține:

substanța activă: pacovirina
cu conținut de 65%
tomatozidă (în recalcul la 100%

tomatozidă uscată) - 0,05 g;

substanțe auxiliare: celuloză
microcristalină,

stearat de calciu, amidon de cartofi.

50 mg



ПАКОВИРИН

Pacovirini capsulae 50 mg

30 капсул

СОСТАВ:

1 капсула содержит:

активное вещество: паковирин,
содержащего 65%

томатозиды (в пересчете на 100%
томатозид сухой) - 0,05 г;

вспомогательные вещества:
целлюлозы микрокристаллической,

стеарата кальция,
крахмала картофельного.

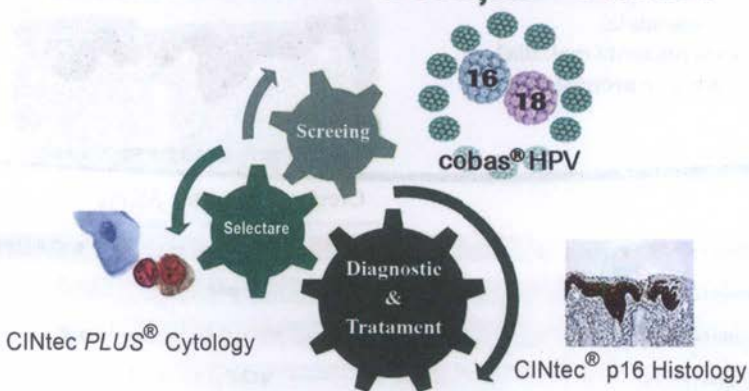
50 мг

**Mai mult de jumătate din femei Diagnosticate tardiv
Vor Deceda**



Screeningul corect poate preveni 100% cazuri de cancer de col uterin.

Soluția - CINtec



Acum - pentru că mâine poate fi deja prea târziu



IM Becor SRL
Str. Calea Orheiului 111/5, mun. Chișinău
Tel. 022 406282
Email: becordtm@gmail.com

cobas[®]
Life needs answers

De care răspunsuri avem nevoie?

cobas® HPV

Răspunde la:
Este prezentă cauza
cancerului cervical?



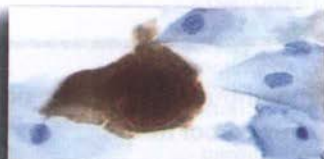
cobas x 480



cobas z 480

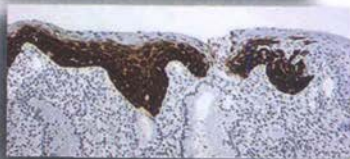
CINtec PLUS

Răspunde la:
Sunt prezente celule cu potențial
oncogen, metaplazate?

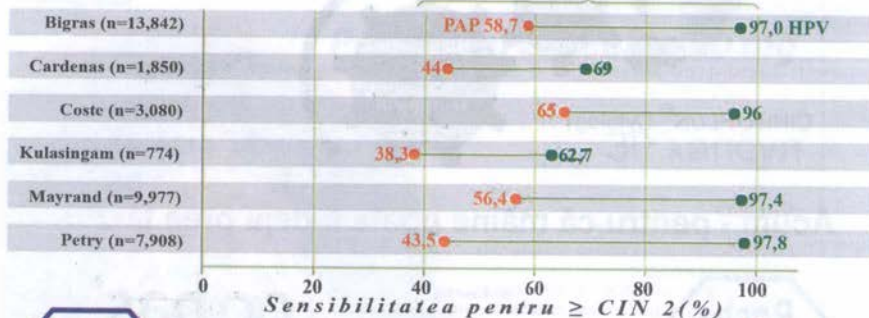


CINtec Histology

Răspunde la:
Este prezentă maladia?
Care este pronosticul?



Creșterea în medie: 35,7%



IM Becor SRL
Str. Calea Orheiului 111/5, mun. Chișinău
Tel. 022 406282
Email: becordtm@gmail.com

cobas®
Life needs answers