

**ACADEMIA DE ȘTIINȚE A MOLDOVEI  
INSTITUTUL DE MICROBIOLOGIE ȘI BIOTEHNOLOGIE  
MINISTERUL SĂNĂTĂȚII AL REPUBLICII MOLDOVA  
CENTRUL NAȚIONAL DE SĂNĂTATE PUBLICĂ**

Cu titlu de manuscris  
CZU: 578.82/.83 (043.2)

**EDER VERONICA**

**STUDIAREA ȘI EVALUAREA VIRUSURILOR GRIPALE ÎN  
PERIOADELE PANDEMICĂ ȘI INTEREPIDEMICĂ**

**163.04 – MICROBIOLOGIE**

**Autoreferatul tezei de doctor în științe biologice**

**CHIȘINĂU, 2015**

Teza a fost elaborată în cadrul Centrului Controlul Bolilor virale al Centrului Național de Sănătate Publică al Ministerului Sănătății, Republica Moldova.

**Conducător științific:**

**SPÎNU Constantin**, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar, Laureat al Premiului Național, Om Emerit, CNSP

**Referenți oficiali:**

**GUDUMAC Valentin**, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar, Om Emerit  
**BĂLAN Greta**, doctor în științe medicale, conferențiar universitar

**Componența consiliului științific specializat:**

**RUDIC Valeriu, președinte**, doctor habilitat în șt. biologice, profesor universitar, academician  
**CILOCI Alexandra, secretar științific**, doctor în științe biologice, conferențiar cercetător  
**ROȘCIN Iurie**, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar  
**DIUG Eugen**, doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar  
**BORTĂ Vasile**, doctor în științe medicale, conferențiar universitar  
**VOLOSCIUC Leonid**, doctor habilitat în științe biologice, profesor cercetător

Susținerea va avea loc la „09” iulie 2015 orele 13.00  
în ședința Consiliului științific specializat D 09. 163.04 – 02  
din cadrul Institutului de Microbiologie și Biotehnologie al Academiei de Științe a Moldovei,  
MD-2028, Chișinău, str. Academiei 1, et. 3, sala 352  
Tel/fax (+373 22) 72 57 54, e-mail: [microbiotech@yahoo.com](mailto:microbiotech@yahoo.com)

Teza de doctor și autoreferatul pot fi consultate la Biblioteca Științifică Centrală „A. Lupan” a Academiei de Științe a Moldovei (str. Academiei 5, MD-2028, Chișinău) și pe pagina web a C.N.A.A. ([www.cnaa.md](http://www.cnaa.md)).

Autoreferatul a fost expediat la „05” iunie 2015

Secretar științific  
al Consiliului științific specializat,  
doctor în științe biologice, conferențiar cercetător

**CILOCI Alexandra**

Conducător științific,  
doctor habilitat în științe medicale, profesor universitar,  
Laureat al Premiului Național, Om Emerit

**SPÎNU Constantin**

Autor

**Eder Veronica**

## REPERE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII

**Actualitatea temei.** Gripa și IACRS sunt maladii infecțioase cu impact global, ce evoluează în epidemii sau/și pandemii soldate cu mortalitate crescută, iar virusurile gripale reprezintă o problemă permanentă de sănătate publică pentru umanitate și eforturile de a preveni îmbolnăvirile și răspândirea acestora sunt constante, dar și considerabile. Variația antigenică și circulația virusurilor gripale între specii sunt cauza izbucnirilor epidemice care au loc anual, îmbolnăvirile fiind favorizate de răspunsul imun neadecvat [1-3].

Epidemiile de gripă se înregistrează în fiecare an datorită variației antigenice minore (*antigenic drift*). Virusurile cu deosebiri genotipice și fenotipice semnificative (variații antigenice majore – *antigenic shift*) apar la intervale neregulate de timp (10-40 de ani). Aceste modificări sunt responsabile de apariția marilor pandemii de gripă [1, 2-5].

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 [2, 5, 6].

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.

**Descrierea situației în domeniul de cercetare și identificarea problemelor de cercetare.** Literatura actuală de specialitate scoate în evidență importanța studierii particularităților virusurilor gripale, factori cauzali ai infecțiilor gripale, întru determinarea factorilor determinanți în transmisia virusului de la o specie la alta, factorilor ce influențează 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, în special, pentru elaborarea măsurilor de control și răspuns.

Astfel, diagnosticul de laborator la gripă realizat prin supravegherea virusologică a virusurilor gripale circulante în Republica Moldova din cadrul sistemului 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.

Reieșind din cele expuse, lucrarea este consacrată studierii și evaluării particularităților antigenice, fenotipice și genotipice ale virusurilor gripale circulante, întru optimizarea supravegherii epidemiologice și a măsurilor de răspuns. Luând în considerație potențialul epidemic/pandemic ale anumitor tipuri/subtipuri de virusuri gripale, inclusiv impactul socio-economic al acestora asupra sănătății publice se impune necesitatea studierii și evaluării virusologice a tulpinilor de virusuri gripale izolate și identificate, inclusiv și în Republica Moldova.

**Scopul lucrării.** Studierea și evaluarea caracteristicilor antigenice, fenotipice și genotipice ale tulpinilor de virusuri gripale izolate și identificate în perioadele pandemică și interepidemică în Republica Moldova întru argumentarea măsurilor de sănătate cu optimizarea sistemului național de supraveghere epidemiologică și virusologică a gripei.

**Obiectivele lucrării:**

1. Determinarea și evaluarea tipurilor și subtipurilor de virusuri gripale evidențiate în perioada de studiu.
2. Studierea și evaluarea particularităților antigenice ale tulpinilor de virusuri gripale în perioadele pandemică și interepidemică.
3. Studierea și evaluarea particularităților genetice ale tulpinilor de virusuri gripale A și B în baza genelor HA și NA în perioadele precăutate în studiu.
4. Analiza caracteristicilor fenotipice cu evaluarea sensibilității tulpinilor de virusuri gripale la remediile antivirale de ultimă generație (oseltamivir, zanamivir) în perioadele evidențiate.
5. Valorificarea rezultatelor obținute întru optimizarea supravegherii epidemiologice și virusologice a gripei.

**Metodologia cercetării științifice.** Studiul efectuat a inclus metode de laborator: virusologice, imunologice și tehnici de biologie moleculară; metode descriptive, analitice și statistice. Studiul s-a axat pe evaluarea particularităților antigenice, fenotipice și genotipice ale virusurilor gripale circulante în Republica Moldova în perioadele pandemică și interepidemică. În premieră pentru Republica Moldova pentru diagnosticarea gripei s-au utilizat tehnicile de biologie moleculară. Pe parcursul realizării studiului, a fost elaborat și perfecționat algoritmul de investigații la gripă ajustat la recomandările OMS și rigorile impuse de pandemia din 2009-2010.

Valorificarea sistemului național de supraveghere la gripă, racordat la exigențele OMS, ECDC și CDC, contribuie la identificarea și studierea tulpinilor de virusuri gripale în cadrul GISRS/GISN al OMS 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 [7].

Veridicitatea rezultatelor obținute în acest studiu a fost evaluată prin prisma panzelor 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 (EQAP) organizate în cadrul Rețelei GISRS al OMS și CDC (CDC Influenza Molecular Diagnostic Performance Evaluation Panel) cu obținerea scorului maxim pentru fiecare panel.

**Noutatea și originalitatea științifică.** În premieră pentru Republica Moldova, au fost obținute rezultate originale privind particularitățile antigenice, genotipice și fenotipice ale virusurilor gripale circulante în perioadele pandemică și interepidemică. Utilizarea, de rând cu metodele clasice, a tehnicilor de performanță de biologie moleculară (rRT-PCR, genotipare, secvențiere) în studierea tulpinilor de virusuri gripale a permis aprecierea și evaluarea poziției acestor virusuri în arborii filogenetici globali pentru fiecare genă în parte – circumstanțe extrem de importante pentru argumentarea formulei cocktailului vaccinal. Analiza și evaluarea susceptibilității tulpinilor de virusuri gripale circulante a demonstrat sensibilitatea lor la remediile antivirale de ultimă generație, abordare de o importanță majoră pentru perfecționarea măsurilor de control și răspuns.

**Problema științifică soluționată importantă** constă în evidențierea și evaluarea particularităților antigenice, genotipice și fenotipice ale virusurilor gripale circulante în Republica Moldova, care au servit ca argumente și suport metodic întru perfecționarea continuă a sistemului de supraveghere epidemiologică, clinică și virusologică la gripă, infecțiile acute ale căilor respiratorii superioare (IACRS) și infecțiile respiratorii acute severe (SARI) implementat și racordat la exigențele Organizației Mondiale a Sănătății (OMS), Centrul European de Prevenire și Control al Maladiilor (ECDC) și Centrele de Prevenire și Control al Maladiilor (CDC, Atlanta, SUA).

**Semnificația teoretică.** Acest studiu a evidențiat particularitățile antigenice, genotipice și fenotipice ale virusurilor gripale circulante în Republica Moldova, ceea ce a permis de a identifica și evalua locul tulpinilor identificate în arborele filogenetic global, circumstanțe extrem de importante pentru argumentarea formulei vaccinului gripal.

**Valoarea aplicativă a lucrării.** Rezultatele obținute pe parcursul realizării acestui studiu au permis de a evidenția particularitățile virusologice, de evoluție a procesului epidemic prin gripă în perioadele pandemică și interepidemică – elemente importante utilizate ulterior în perfecționarea sistemului național de supraveghere la gripă, IACRS și SARI ajustat la exigențele OMS, CDC și ECDC. Grație perfecționării, în corespundere cu strategiile organismelor internaționale nominalizate, sistemul de supraveghere autohton a fost integrat în rețelele de supraveghere european EuroFlu/TESSy și global FluNet.

Sistemul de supraveghere nominalizat permite de a evalua în timp real particularitățile tulpinilor de virusuri gripale circulante, potențialul lor epidemic/pandemic, sensibilitatea la antivirale, pronosticul situației epidemiologice, volumul de investigații cu realizare măsuri specifice și nespecifice de profilaxie în situații de urgență.

**Principalele rezultate științifice înaintate spre susținere.**

1. Rezultatele diagnosticului de laborator al gripei în perioadele: pandemică – sezonul 2008-2009 (perioada pre-pandemică), sezonul 2009-2010 (pandemică), sezonul 2010-2011 (post-pandemică) și interepidemică (sezoanele 2011-2012, 2012-2013 și 2013-2014).
2. Particularitățile antigenice ale tulpinilor de virusuri gripale circulante în perioadele nominalizate în Republica Moldova.
3. Determinarea poziției tulpinilor de virusuri gripale izolate și identificate în perioadele pandemică și interepidemică în arborii filogenetici globali în baza particularităților genotipice.
4. Evaluarea particularităților fenotipice privind sensibilitatea la remediile antivirale a virusurilor gripale circulante în Republica Moldova în perioadele evidențiate.

**Implementarea rezultatelor științifice:** Rezultatele obținute urmare a realizării cercetărilor științifice în cadrul acestui studiu au servit la perfecționarea sistemului de supraveghere clinico-epidemiologică și virusologică la gripă, IACRS și SARI prin implementarea de noi metode standardizate de diagnostic al gripei, recunoașterea de către organismele internaționale nominalizate a subdiviziunii de profil a CNSP ca Centru Național de Gripă și prin aprobarea unui șir de acte normative, în special, a Planului-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 și a Ordinului 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 infecțiilor gripale, IACRS și SARI pentru organizarea

măsurilor adecvate de prevenire și control și în contextul integrării în rețelele de supraveghere regionale (EuroFlu/TESSy) și globale (FluNet) ale Organizației Mondiale a Sănătății.

**Aprobarea rezultatelor științifice.** Direcțiile studiate și rezultatele obținute la realizarea acestui studiu au fost prezentate și discutate în cadrul forurilor științifice naționale și internaționale: Conferința Științifico-Practică cu Participare Internațională „CMP Chișinău trecut, prezent și viitor”, Chișinău, 23 octombrie 2009; A doua Conferință Națională de Microbiologie și Epidemiologie, Sinaia, România, 14-16 octombrie 2010; Congresul Național de Microbiologie și Conferința Națională de Epidemiologie, Iași, România, 10-12 noiembrie 2011; International Conference on Emerging Infectious Diseases, Atlanta, Georgia, USA, March 11-14, 2012; Conferința a VII-a a medicilor-infecționiști din Republica Moldova, Chișinău, 2012; European Scientific Conference on Applied Infectious Disease Epidemiology (ESCAIDE), Edinburgh, UK, 24-26 October 2012; The second isirv-Antiviral Group Conference in conjunction with NIHE. Severe Influenza: Burden, Pathogenesis and Management, Hanoi, Viet Nam, 29th – 31st October 2012; Options for the Control of Influenza, Cape Town, South Africa, 5-10 September 2013; The XIX-th Session of the Balkan Medical Days and the Second Congress of Emergency Medicine of the Republic of Moldova, Chisinau, Republic of Moldova, 22-24 September 2013; Congresul specialiștilor din domeniul Sănătății Publice și Management Sanitar din Republica Moldova, Chișinău 25-26 octombrie 2013; A XII-a Ediție a Salonului Internațional al Cercetării, Inovării și Inventicii „PRO INVENT 2014”, Cluj-Napoca, România, 19-21 martie 2014; The XVIII-th International Exhibition of Research, Innovation and Technological Transfer „INVENTICA 2014”, Iasi, Romania, 2-4 July 2014; 4th International Influenza Meeting, Muenster, Germany, September 21-23, 2014; Conferința Centrul de Sănătate Publică din municipiul Chișinău – 70 de ani la Straja Sănătății, Chișinău, Republica Moldova, 22 octombrie 2014; A VII-a Conferință Națională de Microbiologie și Epidemiologie, București, România, 12-14 Noiembrie 2014; Salonul Internațional de Inventică PRO INVENT, Ediția a XIII-a, Cluj-Napoca, România, 25-27 martie 2015.

Rezultatele cercetărilor au fost discutate și aprobate la ședința Centrului Controlul Bolilor virale al Centrului Național de Sănătate Publică (Proces verbal nr. 3 din 16.12.2014), la ședința Consiliului științific al CNSP (Proces verbal nr. 1 din 20.01.2015) și la ședința Seminarului Științific de profil, specialitatea 163.04 – Microbiologie, din cadrul Institutului de Microbiologie și Biotehnologie al AȘM (Proces verbal nr. 2 din 02.04.2015).

**Publicații la tema tezei.** Rezultatele cercetărilor sunt reflectate în 28 lucrări științifice (2 din ele fără coautori), inclusiv: 6 articole în reviste științifice naționale, 2 articole în reviste științifice internaționale (cotate ISI IF = 4.659 și SCOPUS), 1 teză a comunicării la nivel național, 17 teze

ale comunicărilor internaționale, 1 brevet de invenție MD 782 Z publicat în „Buletinul Oficial de Proprietate Industrială” (BOPI) nr. 6, 30 iunie 2014.

**Volumul și structura tezei.** Teza este scrisă în limba română, tehnoredactată la calculator, compartimentată tradițional și include: foaia de titlu, foaia privind dreptul de autor, rezumatul în limbile română, rusă și engleză, lista abrevierilor, cuprins, introducere, cuvinte cheie, 4 capitole, concluzii generale și recomandări practice, referințe bibliografice, anexe, declarația privind asumarea răspunderii, CV-ul autorului. Teza este expusă pe 118 pagini de text cules la calculator în editorul Word, este ilustrată cu 22 tabele, 47 figuri, 9 anexe. Teza este fundamentată pe 191 referințe bibliografice.

**Cuvinte cheie:** virusuri gripale, HA, NA, grup genetic, sensibilitate la antivirale.

## CONȚINUTUL TEZEI

În **Introducere** sunt argumentate actualitatea și importanța problemei, necesitatea cercetării științifice efectuate. Este reflectată situația actuală în domeniu, sunt formulate scopul și obiectivele cercetării, inovația științifică, semnificația teoretică și valoarea aplicativă a lucrării.

### 1. EVOLUȚIA CAPACITĂȚILOR DE DIAGNOSTIC PRIVIND STUDIAREA ȘI EVALUAREA PARTICULARITĂȚILOR ETIOLOGICE ALE INFECȚIILOR GRIPALE

Acest capitol cuprinde o sinteză a bazelor teoretice și experiențelor practice ale specialiștilor în domeniu, rezultatele cercetărilor științifice privind etiologia infecțiilor gripale, particularitățile antigenice, fenotipice și genotipice ale virusurilor, metodologia existentă în lume la acest capitol. Sunt expuse principalele repere existente în domeniul de cercetare la nivel național, european și mondial. Sunt descrise studii științifice importante, efectuate în ultimii 10 ani, privind evaluarea particularităților virusurilor gripale circulante la nivel de mapamond. Sunt argumentate scopul și obiectivele tezei prin analiza profundă a referințelor bibliografice recente ale savanților contemporani cu renume internațional [2-4, 7, 8].

În concluzii sunt nominalizate premisele care au stat la baza inițierii acestui studiu.

### 2. MATERIALE ȘI METODE DE CERCETARE

Întru realizarea scopului și obiectivelor lucrării, liniaritatea cercetărilor organizate și desfășurate a inclus următoarele procedee: studierea surselor bibliografice naționale și internaționale la tema tezei; stabilirea obiectivelor și scoaterea în evidență a problemelor; determinarea eșantionului de studiu și a volumului investigațiilor; realizarea cercetării; evaluarea datelor; prelucrarea statistică și interpretarea rezultatelor obținute; implementarea în practică.



În scopul inițierii unui studiu de o autenticitate înaltă, volumul eșantionului reprezentativ a fost calculat utilizând formula clasică [9]. Inclusiv, la calcularea volumului eșantionului de cercetare au fost luate în considerație mai multe aspecte: numărul de probe investigate per an/sezon, pentru metoda de virusologie clasică - probele pozitive cele mai reprezentative (cu cel mai mic Ct din reacția rRT-PCR, gen, vârstă, distribuție geografică) și respectiv numărul de tulpini de virusuri gripale care au fost obținute în urma izolării pe culturi celulare în perioadele precăutate în studiu. În calitate de materiale de studiu au fost folosite: produsul biologic din 9799 de probe codificate (exsudate nazofaringiene), 127 tulpini de virusuri gripale izolate din probele pozitive la prezența ARN virusurilor gripale circulante, 78 tulpini cercetate pentru evaluarea particularităților genotipice ale virusurilor gripale la nivelul genei HA și 71 tulpini evaluate genetic pentru gena NA.

Rezultatele obținute în urma investigațiilor au fost introduse în baza de date electronice și prelucrate cu ajutorul programelor computerizate Microsoft Excel, BioEdit și MEGA 5.2.

### **3. STUDIAREA ȘI EVALUAREA TULPINILOR DE VIRUSURI GRIPALE IZOLATE ȘI IDENTIFICATE ÎN PERIOADA PANDEMICĂ**

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).

#### **3.1. Particularitățile virusurilor gripale 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 [3-5, 10].

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.

Analiza rezultatelor investigațiilor acestui studiu a demonstrat că gripa și IRVA, 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%) (Tabelul 3.1).

Tab. 3.1. 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 prin tehnici de imunofluorescență. 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 (Tabelul 3.1). Virusurile gripale identificate în perioada nominalizată au avut o pondere de: 63,8% pentru A(H3N2), 32,0% - tip B și doar 4,2 % iau revenit virusurilor gripale A(H1N1) sezoniere (Figura 3.1).

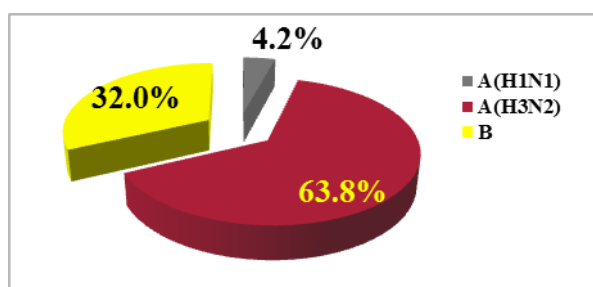


Fig.3.1. Ponderea virusurilor gripale din totalul de probe pozitive detectate în sezonul epidemic 2008-2009.

#### ➤ Evaluarea particularităților antigenice ale virusurilor gripale

Virusurile gripale A(H3N2) izolate au avut o reactivitate slabă cu antiserurile de referință din panelul standard. 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. 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 [10, 11].

Rezultatele testării tulpinilor izolate de virus gripal de tip B au atestat că antigenic ele au fost similare cu tulpina B/Shandong/7/97 și cu tulpina virală B/Brisbane/60/08 – tulpină de referință, de asemenea, inclusă în formula 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.

➤ **Evaluarea particularităților genotipice ale tulpinilor de virusuri gripale**

Comparația filogenetică a tulpinilor de virusuri gripale A(H3N2), circulante în Republica Moldova în perioada estimată, a demonstrat că ele se includ în grupul genetic atribuit cladei 10 a tulpinii virale A/Brisbane. Clada 10 a fost formată, la rândul ei, de secvențele genei HA caracterizate de substituțiile aminoacizilor E62K, N144K, K158N, iar secvențele genei NA 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.

Comparația filogenetică a tulpinilor de virusuri gripale de tip B a demonstrat apartenența tulpinilor izolate în Republica Moldova la linia B/Victoria. 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, iar secvențele genei NA – substituții ale aminoacizilor în pozițiile D329N, A358E, cu efecte antigenice minore, relevând apartenența acestui tip de virus gripal la linia B/Victoria/2/87.

**3.2. Rezultatele determinării caracteristicilor tulpinilor de virusuri gripale în perioada pandemică**

Perioada pandemică, în Republica Moldova, s-a caracterizat prin răspândire geografică extinsă, intensitate foarte înaltă și tendință în creștere a procesului epidemic, fapt care a avut un impact esențial asupra sistemului de sănătate, cu înregistrarea a 43 cazuri de deces [10, 12].

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)pdm – au fost investigate 6818 probe (Tabelul 3.2).

Tab. 3.2. 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)pdm	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
<b>Total</b>	<b>4295</b>	<b>1629</b>	<b>37,9</b>	<b>955</b>	<b>489</b>	<b>51,2</b>	<b>1568</b>	<b>598</b>	<b>38,1</b>	<b>6818</b>	<b>2716</b>	<b>39,8</b>

Virusul gripal A(H1N1)pdm a fost detectat în 1629 (37,9%) de specimene, codificate, cu material biologic colectate de 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





















































