

ARTICOL DE CERCETARE

Infecțiile respiratorii acute severe asociate cu gripa la copii în cadrul sistemului santinelă de supraveghere în Republica Moldova

Ala Donos^{1*}, Constantin Spînu^{†2}, Veronica Eder^{†2},
Petru Scoferța^{†2}, Igor Spînu^{†2}, Stela Gheorghita³,
Igor Gostev^{†2}, Oxana Pirvu^{†2}

¹Departamentul de pediatrie, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova;

²Centrul Național de Sănătate Publică, Chișinău, Republica Moldova;

³Biroul Regional Moldova al OMS.

Autor corespondent:

Ala Donos, dr. șt. med., conf. univ.

Departamentul de pediatrie

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”

bd. Ștefan cel Mare și Sfânt, 165, Chișinău, Republica Moldova, MD-2004

e-mail: ala.donos@usmf.md

Ce nu este, deocamdată, cunoscut la subiectul abordat

Variabilitatea genetică a virusurilor gripale are un rol important asupra evoluției procesului epidemic și a impactului lor asupra sănătății publice. Sistemul santinelă de supraveghere a virusurilor gripale la nivel local, regional și mondial permite argumentarea și organizarea măsurilor medico-maneriale și antiepidemice anticipative.

Ipoteza de cercetare

Sistemul santinelă de supraveghere a tulpinilor de virusuri gripale permite anticiparea evoluției procesului epidemic și propune măsuri curativ-profilactice, care au un impact pozitiv asupra sistemului de sănătate.

Noutatea adusă literaturii științifice din domeniu

Sunt expuse rezultatele analizei epidemiologice și virologice a SARI asociate cu gripa, în cadrul sistemului santinelă de supraveghere, cu evaluarea particularităților antigenice, genotipice și fenotipice ale tulpinilor de virusuri gripale A(H1N1)pdm09, A(H3N2) și B, izolate și identificate din probele prelevate de la copii în sezoanele epidemice 2012-2015 în Republica Moldova.

Rezumat

Introducere. Patologia respiratorie acută are cea mai înaltă incidență la copii, cea mai vulnerabilă vârstă cea de până la 5 ani. Cazurile clinice de maximă dificultate sunt infecțiile

RESEARCH ARTICLE

Severe acute respiratory infections associated with influenza in children under the sentinel surveillance system in Republic of Moldova

Ala Donos^{1*}, Constantin Spînu^{†2}, Veronica Eder^{†2},
Petru Scoferța^{†2}, Igor Spînu^{†2}, Stela Gheorghita³,
Igor Gostev^{†2}, Oxana Pirvu^{†2}

¹Department of pediatrics, Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy, Chisinau, Republic of Moldova;

²Public Health National Center, Chisinau, Republic of Moldova;

³WHO Regional Center Moldova.

Corresponding author:

Ala Donos, PhD, associate professor

Department of pediatrics

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy

165, Stefan cel Mare si Sfânt ave., Chisinau, Republic of Moldova, MD-2004

e-mail: ala.donos@usmf.md

What is not known yet, about the topic

Genetic variability of influenza viruses has an important role on the evolution of the epidemic process and their impact on public health. The sentinel surveillance of influenza viruses at local, regional and global levels argues measures that allow to better management of the epidemic process.

Research hypothesis

Sentinel surveillance system of viruses strains allows seizing anticipation of epidemic progress and proposes curative and preventive measures, which should have a positive impact on the health system.

Article's added novelty on this scientific topic

Are presented the results of epidemiological and virological analysis of SARI associated with influenza in the sentinel surveillance system, assessment antigenic, genotypic and phenotypic particularities of strains of influenza virus A(H1N1)pdm09, A(H3N2) and B, isolated and identified from samples taken from children in epidemic seasons 2012-2015 in Republic of Moldova.

Abstract

Introduction. Acute respiratory pathology has the highest incidence in children, the most vulnerable are still those aged up to 5 years. Extremely difficult are the clinical cases with se-

respiratorii acute severe (SARI), manifestate prin pneumonii și bronhopneumonii, și care sunt asociate cu gripa.

Material și metode. Metoda esențială folosită – supravegherea santinelă epidemiologică; tehnici de biologie moleculară în timp real (rRT-PCR) în detectarea virusurilor în materialul biologic (exsudate nazo-faringiene) la copii; izolarea virusurilor gripale pe culturi de celule MDCK și MDCK-SIAT1 după metodologia OMS; identificarea, prin testul de hemaglutinoinhibare cu antiseruri de referință pentru virusurile gripale A(H1N1)pdm09, A(H3N2) și B, oferite de Centrul de Colaborare al OMS, Institutul National de Cercetări în Medicină (Londra, Marea Britanie).

Rezultate. SARI asociate cu gripa amenință sănătatea și viața copiilor; unui risc major sunt supuși copiii cu vârsta de 0-4 ani. Tulpinile de virusuri gripale A(H1N1)pdm09, A(H3N2) și B izolate de la copii cu SARI, sunt similare cu tulpinile respective, incluse în formula vaccinului antigripal, recomandat de Organizația Mondială a Sănătății (OMS) pentru sezoanele analizate în acest studiu.

Concluzii. Identificarea și evaluarea proprietăților fenotipice, genotipice și antigenice ale virusurilor gripale au o importanță majoră în contextul corectitudinii politicii de utilizare a vaccinului antigripal în imunizarea sezonieră obligatorie a copiilor, optimizării managementului și profilaxiei gripei, inclusiv, în asocieri cu SARI, pronosticării procesului epidemic, precum și reducerii impactului negativ asupra sistemului de sănătate.

Cuvinte cheie: infecții respiratorii acute severe la copii, virusuri gripale, supraveghere, sezon epidemic.

Introducere

Afecțiunile acute respiratorii sunt cele mai răspândite patologii la copii. Gripa, infecțiile respiratorii acute sunt cauza de deces anual a 2,5 mln de copii (OMS, 2011, 2014). Afecțiunile respiratorii acute sunt cauzele principale de morbiditate și mortalitate la copii în primii ani de viață. Complicația cea mai frecventă și mai severă este pneumonia. Gripa și infecțiile respiratorii virale acute (IRVA) sunt cele mai răspândite maladii infecțioase pe glob, care, adesea, declanșează pneumonia. De asemenea, la nivel global, virusul gripal este al doilea patogen cel mai frecvent identificat la copii cu infecții respiratorii severe acute (SARI) – pneumonii, bronhopneumonii [1]. Ponderea acestor infecții în structura bolilor infecțioase în unele țări constituie până la 95,0%. Anual, gripa și IRVA produc importante pierderi economice prin rata înaltă de îmbolnăviri, număr mare de spitalizări cu complicații severe și decese [2]. Procesul epidemic al gripei se manifestă prin epidemii anuale, în urma variațiilor antigenice minore și pandemii, la un interval de timp de 10-40 de ani, în urma variației antigenice majore și apariției unei noi variante de virusuri gripale, care anterior nu au circulat în populația umană. În timpul epidemiilor de gripă este afectată până la 5,0-15,0%, iar în timpul pandemiilor – până la 50,0% din populația unei țări [3].

Luând în considerație modificarea permanentă a aparatului genetic al virusului gripal, riscul apariției unor noi variante

vere acute respiratory infections (SARI), manifested by pneumonia and bronchopneumonia associated with influenza.

Material and methods. Essential method used is the sentinel epidemiological surveillance; molecular biology techniques in real time (rRT-PCR) to detect viruses in biological material (nasopharyngeal exudates); isolation of influenza viruses in cell cultures MDCK and MDCK-SIAT1 after WHO methodology; identification by the hemagglutination inhibition test with reference antisera for influenza A(H1N1)pdm09, A(H3N2) and B, provided by the WHO Collaborating Centre, National Institute of Health Researches (London, UK).

Results. SARI associated with influenza, threatens the health and lives of children, with a major risk are faced the children aged 0-4 years. Strains of influenza virus A(H1N1)pdm09, A(H3N2) and B, isolates from children with SARI, are similar to the respectively strains included in the influenza vaccine formula recommended by the World Health Organization (WHO) for the seasons analyzed in this study.

Conclusions. The obtained results shows, that the identification and evaluation of phenotypic, genotypic and antigenic properties of the influenza viruses, have a major importance, in the context of fairness policy, for the use of influenza vaccine in compulsory seasonal immunization of the children, optimizing the management of treatment and prophylaxis of influenza, including in combination with SARI, foreseeing epidemic process and reducing the negatively impact on the health system.

Key words: severe acute respiratory infections in children, influenza virus, surveillance, epidemic season.

Introduction

Acute respiratory diseases are the most common diseases in children. Influenza, acute respiratory infections are the leading causes of death of 2.5 million children annually (WHO 2011, 2014). Acute respiratory diseases are the leading causes of morbidity and mortality in children in the early years. The most frequent and severe complication is pneumonia. Influenza and acute viral respiratory infections are the most widespread infectious diseases around the globe, which often triggers pneumonia. Also, globally, influenza is the second most common pathogen identified in children with SARI (pneumonia, bronchopneumonia) [1]. The share of these infections in the structure of infectious diseases in some countries is up to 95.0%. Annual, flu and SARI suggests significant economic losses by the high rate of illness, a big number of hospitalizations with severe complications and deaths [2]. The epidemic process of influenza is manifested by annual epidemics, which are explained by the minor antigenic variations and pandemics at 10-40 years, after major antigenic variation and the emergence of new variation of influenza viruses, which has not previously circulated in the human population. During influenza epidemics are affected up to 5.0 to 15.0%, and during pandemics – to 50.0% of a country's population [3].

Considering permanently change in the genetic apparatus of the flu virus, the risk of new variations of influenza virus

de virus gripal cu potențial pandemic, dezvoltarea rezistenței la antivirale, se cere o monitorizare permanentă a situației epidemiologice și a circulației virusurilor gripale, pentru a depista la timp apariția de noi variante de virus gripal, inclusiv cu structura antigenică și genotipică modificate, pentru a selecta corect tulpinile de virusuri gripale componente ale cocktailului vaccinului gripal pentru sezonul epidemic viitor, precum și a tratamentului cazurilor de gripă.

În contextul celor menționate, OMS a recomandat tuturor Centrelor Naționale de Gripă din lume să realizeze supravegherea gripei, infecțiilor respiratorii virale acute (IRVA) și SARI după următoarele standarde: răspândirea geografică, intensitatea și tendința procesului epidemic, pragul epidemic, tulpinile de virusuri gripale dominante/codominante, rezistența la antivirale, impactul asupra sistemului de sănătate, cu scop de pronosticare a situației epidemiologice și realizare a măsurilor de prevenție, în funcție de situația creată, prin elaborarea vaccinurilor sezoniere specifice [4, 5].

În această lucrare, sunt expuse rezultatele analizei epidemiologice și virusologice a SARI asociate cu gripa, în cadrul sistemului santinelă de supraveghere, cu evaluarea particularităților antigenice, genotipice și fenotipice ale tulpinilor de virusuri gripale A(H1N1)pdm09, A(H3N2) și B, izolate și identificate din probele prelevate de la copii în sezoanele epidemice: 2012-2013, 2013-2014, 2014-2015 în Republica Moldova.

Material și metode

Supravegherea epidemiologică s-a realizat conform ordinului Ministerului Sănătății în 9 puncte santinelă ale Republicii Moldova, în perioada sezoanelor reci 2012-2013, 2013-2014 și 2014-2015 [6].

Detectarea virusurilor gripale în materialul biologic (exsudat nazo-faringian), prelevat de la copiii cu SARI din grupurile de vârstă 0-4 ani și 5-17 ani, s-a realizat prin tehnici de biologie moleculară (rRT-PCR), utilizând echipamentul *CFX96 Real Time System* (Bio-Rad) cu truse de amplificare, elaborate de CDC (Atlanta, SUA) și recomandate pentru laboratoarele de referință din lume [7].

Izolarea virusurilor gripale pe culturi celulare MDCK și MDCK-SIAT1 s-a efectuat conform metodologiei recomandate de OMS [8]; identificarea tulpinilor izolate s-a realizat prin testul de hemaglutinoinhibare (RIHA) cu antiseruri de referință față de virusurile gripale A(H1N1)pdm09, A(H3N2) și B, oferite de Centrul de Colaborare pentru gripă al OMS, Institutul Național de Cercetări în Medicină (Londra, Marea Britanie), cu realizarea ulterioară a analizei genetice prin utilizarea tehnicilor de secvențiere a genelor HA și NA ale virusurilor gripale respective [9].

Determinarea sensibilității tulpinilor izolate la remediile antigripale (Oseltamivir, Zanamivir) s-a efectuat prin testul de inhibare a neuraminidazei după metoda recomandată de OMS, în colaborare cu Institutul Național de Cercetări în Medicină din Londra, Marea Britanie [10].

Estimarea incidenței prin SARI asociate cu gripa la copii (raportat la 100.000 de populație), s-a efectuat după metoda descrisă în Manualul privind estimarea poverii gripei, OMS [11, 12].

with pandemic potential, development of resistance to antivirals, requires a constant monitoring of the epidemiological situation and the circulation of influenza viruses, to detect in time the emergence of new variations of flu virus, including modified antigenic and genetic structure, to select correctly the strains of influenza virus, the vaccine cocktail components for next epidemic season and to manage the treatment of flu cases.

To this end, the WHO recommended, to all National Centers of Influenza in the world, to oversee the surveillance of influenza, viral respiratory acute infections, following standards: geographical spread, intensity and tendency of epidemic process, epidemic threshold, strains of dominant/codominant influenza viruses, antiviral resistance, the impact on the health system for predicting the epidemiological situation and elaboration of the preventive measures depending on the arises situation by creating specific seasonal vaccines [4, 5].

In this article are presented the results of epidemiological and virological analysis of SARI associated with influenza in the sentinel surveillance system, assessment antigenic, genotypic and phenotypic particularities of strains of influenza virus A(H1N1)pdm09, A(H3N2) and B, isolated and identified from samples taken from children in epidemic seasons: 2012-2013, 2013-2014, 2014-2015 in Republic of Moldova.

Material and methods

Epidemiological surveillance was realized according to the order of Ministry of Health of the Republic of Moldova 9 points sentinel, during cold seasons 2012-2013, 2013-2014 and 2014-2015 [6].

Detection of influenza viruses in biological material (nasopharyngeal exudate), taken from children with SARI, from 0-4 and 5-17 years of age group, was achieved by molecular biology techniques (rRT-PCR) using equipment CFX96 Real time System (Bio-Rad) amplification kits, developed by CDC (Atlanta, USA) and recommended by the reference laboratories in the world [7].

Isolation of influenza viruses in MDCK and MDCK-SIAT1 cell cultures was performed according to the methodology recommended by WHO [8], identification of isolates strains was performed by hemagglutinin inhibition test (RIHA) with reference antisera, against influenza A(H1N1)pdm09, A(H3N2) and B provided by Collaborating Centre for influenza of WHO, National Institute for Research in Medicine (London, UK) with further realization of genetic analysis used for sequencing genes HA and NA techniques of concerned influenza viruses [9].

Determining sensibility of isolates strains to flu remedies (Oseltamivir, Zanamivir) was conducted by neuraminidase inhibition test according to the method recommended by WHO, in collaboration with the National Institute for Medical Researches in London, UK [10].

Estimating the incidence of SARI associated with influenza in children per 100,000 population was performed by method described in the book about estimating the burden of influenza, WHO [11, 12].

Rezultate

Rezultatele analizei epidemiologice a SARI asociate cu gripa în sezoanele reci 2012-2013, 2013-2014 și 2014-2015 denotă faptul, că cei mai afectați au fost copiii din grupurile de vârstă 0-4 ani și 5-17 ani. Astfel, în sezonul epidemic 2012-2013, incidența prin SARI asociată cu gripa la copiii cu vârsta 0-4 ani, a constituit 330,0 la 100 mii de populație, pe când în grupul de vârstă 5-17 ani, incidența a fost 0 (zero) (Tabelul 1).

Tabelul 1. Estimarea incidenței prin SARI[†] asociate cu gripa la copii.

Indicatorii	Sezonul 2012-2013		Sezonul 2013-2014		Sezonul 2014-2015	
	0-4 ani	5-17 ani	0-4 ani	5-17 ani	0-4 ani	5-17 ani
Nr. de cazuri SARI, total	3190	56	3168	16	3645	72
Nr. de cazuri SARI, pozitive la prezența virusurilor gripale	7	1	7	0	7	3
Populația acoperită, estimativ	89584	151353	81583	150226	81595	138841
Incidența (SARI asociată cu gripa, la 100.000 populație)	330	0	459	0	344,0	7,0

Notă: [†] – infecții respiratorii acute severe.

O situație similară s-a observat și în sezonul 2013-2014, unde incidența prin SARI asociată cu gripa la copiii din grupul de vârstă 0-4 ani, a constituit 459,0 la 100.000 de populație, iar în grupul de vârstă 5-17 ani, de asemenea, a fost 0 (zero) (Tabelul 1). Acest fapt indică la o sporire de 1,4 ori a incidenței prin SARI asociate cu gripa la copiii de 0-4 ani, comparativ cu sezonul 2012-2013, ceea ce a permis de a aprecia severitatea evoluției sezonului epidemic 2013-2014 la contingentul dat de copii.

Incidența prin SARI asociate cu gripa la copiii din grupul de vârstă 0-4 ani în sezonul 2014-2015 a constituit 344,0 la 100.000 de populație, atestându-se o reducere de 0,7 ori. În ceea ce privește grupul de vârstă 5-17 ani, incidența a constituit 7,0 la 100.000 de populație (Tabelul 1), fapt care poate fi argumentat prin creșterea morbidității generale, în legătură cu creșterea incidenței factorilor de risc biologici și socio-economici [13, 14].

În cadrul sistemului santinelă de supraveghere la prezența virusurilor gripale în materialul biologic (exsudat nazo-farin-gian), prelevat de la copiii din grupul de vârstă 0-4 ani cu SARI (pneumonii, bronhopneumonii), au fost investigate 32 de specimene în sezonul 2012-2013, 66 de specimene – în 2013-2014 și 82 de specimene – în 2014-2015. Iar în grupul de vârstă 5-17 ani, au fost testate 5, 12 și 13 specimene, respectiv, sezoanelor nominalizate mai sus. Detecția virusurilor gripale prin metoda molecular-biologică în timp real (rRT-PCR) a permis efectuarea ulterioară a analizei antigenice, genotipice și fenotipice a tulpinilor de virusuri gripale A(H1N1)pdm09, A(H3N2) și B, izolate pe culturi celulare din probele native.

Results

The results of epidemiological analysis of SARI associated with influenza during cold seasons 2012-2013, 2013-2014 and 2014-2015 reveals the fact that the most affected were children of 0-4 and 5-17 age groups. Thus, in 2012-2013 epidemic season incidence of SARI associated with influenza in children 0-4 years aged was 330.0 per 100,000 population, while in the 5-17 age group, incidence was 0 (zero) (Table 1).

Table 1. Estimating incidence of SARI associated with influenza in children.

Indicators	Season 2012-2013		Season 2013-2014		Season 2014-2015	
	0-4 years	5-17 years	0-4 years	5-17 years	0-4 years	5-17 years
Number of SARI cases, total	3190	56	3168	16	3645	72
Number of SARI cases positive to influenza viruses	7	1	7	0	7	3
Population coverage, estimated	89584	151353	81583	150226	81595	138841
Incidence (SARI associated with influenza at 100,000 people)	330	0	459	0	344,0	7,0

Note: [†] – severe acute respiratory infections.

A similar situation was observed in the 2013-2014 season, where the incidence of SARI associated with influenza in children of 0-4 age group was 459.0 per 100 000 population, and in the 5-17 age group, it was also 0 (zero) (Table 1). This indicates an increase of 1.4 times of the incidence of SARI associated with influenza in 0-4 years children, compared with the 2012-2013 season, which allowed to appreciate the severity of epidemic evolution of the 2013-2014 season, to the given contingent of children.

The incidence of SARI, associated with influenza in children in the age group 0-4 years, in 2014-2015 season, was 344.0 per 100,000 population, attesting a reduction of 0.7 times. Regarding the age group 5-17 years, the incidence was 7.0 per 100,000 population (Table 1), which can be argued by increasing overall morbidity, related to the increased incidence of biological and socio-economic risk factors [13, 14].

In the sentinel surveillance system to the presence of influenza viruses in biological material (nasopharyngeal exudate) taken from children in the age group 0-4 years with SARI (pneumonia, bronchopneumonia) were investigated 32 specimens in 2012-2013 season, 66 specimens – in 2013-2014 and 82 specimens – in 2014-2015 season. While in the 5-17 age group were tested 5, 12 and 13 specimens in mentioned above seasons. Detection of influenza viruses by the molecular-biological method in real time (rRT-PCR) allowed to conduct further analysis of antigenic, genotypic and phenotypic strains of influenza virus A(H1N1)pdm09, A(H3N2) and B, isolates in cell cultures of native samples.

During winter 2012-2013, at the children, from named

În perioada sezonului rece 2012-2013, la copiii din grupurile nominalizate, au fost identificate virusurile gripale A(H1N1)pdm09 și A(H3N2). Evaluarea rezultatelor privind particularitățile antigenice ale virusurilor gripale circulante în Republica Moldova a fost efectuată cu utilizarea diferitor paneele de seruri standard, specifice fiecărui tip/subtip de virus gripal, produse de Centrul de Colaborare pentru Gripă al OMS, Institutul Național de Cercetări în Medicină, Londra, Marea Britanie.

Astfel, particularitățile antigenice ale virusurilor gripale A(H1N1)pdm09, izolate din probele prelevate de la copii, 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, cu serul de referință A/Bayern/69/2009, o reactivitate puțin redusă a prezentat tulpina A/Moldova/258/2013. 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,

groups, were identified influenza A(H1N1)pdm09 and A(H3N2). Evaluation of the results, regarding the antigenic particularities of the influenza viruses, circulating in Republic of Moldova, was performed with use of various panels of sera standard specific to each type/subtype of influenza virus, produced by Collaborating Centre for Influenza of WHO, National Institute for Researches in Medicine, London UK.

So, antigenic particularities of influenza viruses A(H1N1)pdm09, isolated from samples, taken from children, were evaluated using the panel of reference sera 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. Generally, all influenza strains that was tested, reacted with presented panel. But, with the serum reference A/Bayern/69/2009, a reduced reactivity has the A/Moldova/258/2013 strain. This, probably, was due to belonging tested viruses to genetic group 6C, but the A/Bayern/69/2009 strain is not a part of this genetic group, although, is antigenic similar to the A/California/7/2009 vaccine strain (Table 2) [15-20].

Strains of influenza A(H3N2) have been characterized anti-

Tabelul 2. Particularitățile antigenice ale virusurilor gripale A(H1N1)pdm09 identificate la copii, sezonul epidemic 2012-2013.

Table 2. Antigenic particularities of influenza viruses A(H1N1)pdm09 identified in children, 2012-2013 epidemic season.

Virusuri / Viruses	Data colec- tării probei / Date of sample collection	Istoricul pasajelor / History of passages	Titrul de inhibare a hemaglutinării (1:≤40) / The titre of hemagglutination inhibition (1:≤40)								
			Seruri de referință (seruri de dihoze) / Reference sera (ferrets sera)								
			A/Cal 7/09 F30/11	A/Bayern 69/09 F11/11	A/Lviv N6/09 C4/09/34	A/Chch 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
Grupul genetic / Genetic group											
Virusuri de referință / Reference viruses											
A/California/7/2009	2009-04-09	E1/E2	1280	1280	1280	640	1280	640	640	1280	640
A/Bayern/69/2009	2009-07-01	MDCK5/ MDCK1	160	320	160	80	40	80	80	80	40
A/Lviv/N6/2009	2009-10-27	MDCK4/S1/ MDCK3	640	1280	640	320	160	160	160	160	320
A/Christchurch/16/2010	2010-07-12	E2/E2	1280	1280	2560	5120	2560	2560	1280	5120	2560
A/Hong Kong/3934/2011	2011-03-29	MDCK2/ MDCK4	640	160	640	640	1280	640	640	1280	1280
A/Astrakhan/1/2011	2011-02-28	MDCK1/ MDCK5	1280	640	1280	1280	2560	1280	1280	2560	5120
A/St. Petersburg /27/2011	2011-02-14	E1/E3	2560	2560	2560	1280	2560	2560	5120	5120	5120
A/St. Petersburg /100/2011	2011-03-14	E1/E2	1280	640	1280	1280	2560	2560	2560	5120	2560
A/Hong Kong/5659/2012	2012-05-21	MDCK4/ MDCK1	1280	640	2560	1280	2560	1280	1280	5120	2560
Virusuri testate (grup genetic) / Tested viruses (genetic group)											
A/Moldova/317/2013 (6C)	2013-03-04	MDCK1/ MDCK1	640	1280	1280	640	1280	640	640	1280	1280
A/Moldova/258/2013 (6C)	2013-02-27	MDCK3	640	320	640	640	1280	1280	1280	2560	1280
A/Moldova/157/2013 (6C)	2013-02-12	MDCK3	1280	640	1280	1280	2560	1280	2560	2560	2560
A/Moldova/158/2013	2013-02-12	MDCK3	1280	640	1280	640	2560	1280	1280	2560	2560
A/Moldova/229/2013 (6C)	2013-02-18	MDCK3	1280	640	1280	640	2560	1280	2560	2560	2560
A/Moldova/433/2013 (6C)	2013-03-29	MDCK3	1280	640	1280	640	2560	1280	2560	5120	5120

este antigenic similară tulpinii vaccinale *A/California/7/2009* (Tabelul 2) [15-20].

Tulpinile de virus gripal A(H3N2) au fost caracterizate antigenic 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 (Tabelul 3).

Datorită faptului că în sezonul epidemic 2013-2014 în Republica Moldova s-au aflat în circulație predominant tul-

genic, using the panel of standart sera *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* – showing a slightly reduced reactivity. At the same time, it has been noticed, that a moderate reactivity have the virus strains that were tested against the *A/Victoria/361/2011* vaccine strain and other similar antigenic strains belonging to the same genetic group 3C (Table 3).

Because the 2013-2014 epidemic season, in Moldova were circulating strains of influenza virus A(H3N2), including the children, they were characterized antigenically with the panel of reference sera *A/Perth/16/2009*, *A/Stockholm/18/2011*, *A/*

Tabelul 3. Caracteristica antigenică a virusurilor gripale A(H3N2) identificate la copii, sezonul epidemic 2012-2013.

Table 3. Antigen characteristic of influenza viruses A(H3N2) identified in children, 2012-2013 epidemic season.

Virusuri / Viruses	Data colectării probei / Date of sample col- lection	Istoricul pasajelor / History of passages	Titrul de inhibare a hemaglutinării (1:≤40) / The titre of hemagglutination inhibition (1:≤40)										
			Seruri de referință (seruri de dihoire) / Reference sera (ferrets sera)										
			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 F/35/12 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
Grupul genetic / Genetic group													
Virusuri de referință / Reference viruses													
A/Perth /16/2009	2009-07-04	E3/E2	640	40	160	160	80	160	320	320	320	320	80
A/Victoria /208/2009	2009-06-02	E3/E2	640	2560	640	1280	1280	1280	2560	1280	1280	5120	2560
A/Alabama /5/2010	2010-07-13	MK1/C2/ SIAT2	<	<	40	80	80	80	160	160	160	160	40
A/Stockholm /18/2011	2011-03-28	SIAT5	40	80	40	320	80	80	320	160	320	320	160
A/Iowa /19/2010	2010-12-30	E3/E2	320	640	320	640	640	640	1280	1280	1280	2560	640
A/Victoria /361/2011	2011-10-24	E3/E2	320	320	160	160	320	1280	640	320	160	1280	640
A/Berlin /93/2011	2011-12-07	NVD3/ SIAT5	160	160	160	320	160	320	1280	640	640	1280	320
A/Victoria /361/2011	2011-10-24	MDCK2 /SIAT2	40	80	80	160	80	80	640	320	320	640	160
A/Athens /112/2012	2012-02-01	SIAT6	160	160	320	640	320	320	1280	1280	1280	1280	640
A/Texas /50/2012	2012-04-15	E5/E1	320	640	320	640	640	640	1280	1280	1280	2560	1280
A/Hawaii /22/2012	2012-07-09	E4/E1	320	640	320	640	640	640	1280	640	1280	2560	2560
Virusuri testate / Tested viruses													
A/Moldova /326/2013	2013-03-07	MDCK2/ SIAT1	<	80	40	160	80	80	320	320	160	320	160
A/Moldova /242/2013	2013-02-22	MDCK2/ SIAT1	40	80	40	320	80	80	320	320	320	320	160
A/Moldova /235/2013	2013-02-21	MDCK2/ SIAT3	<	<	<	160	80	160	640	320	640	640	320
A/Moldova /440/2013	2013-04-02	SIAT2	<	40	40	40	80	320	320	320	640	640	320

pinile de virus gripal A(H3N2), inclusiv, la copii, ele 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) (Tabelul 4).

Rezultatele analizei antigenice au atestat faptul că tulpinile de virus gripal A(H3N2) izolate și identificate la copii cu SARI (grupele de vârstă de 0-4 ani și 5-17 ani), au prezentat o reactivitate moderată practic cu toate serurile de referință, cu excepția tulpinii 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 (Tabelul 4) [21-24].

În sezonul 2014-2015, particularitățile antigenice ale virusurilor gripale A(H1N1)pdm09 izolate și identificate de la

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) (Table 4).

Antigenic analysis results have confirmed that strains of influenza A(H3N2), isolated and identified in children with SARI (0-4 and 5-17 age groups) showed a moderate reactivity with almost all reference sera, excluding the A/Perth/16/2009 vaccine strain in the 2010-2011 season, which proves that the strains of flu viruses evolve over time by „antigenic drift” – minor antigenic variation, characteristic to almost all over the types of influenza viruses, this is due to point mutation in the viral genome. However, it may notice the antigen similarity with the A/Texas/50/2012 strain vaccines and other strains of the panel of standard sera, the A/Moldova/696/2013 strain, isolated and identified in December 2013 as the more representative. This can be explained by membership strains of influenza A(H3N2) in this study at 3C.3 genetic group (Table 4) [21-24].

In the 2014-2015 season, antigenic specificities of influenza viruses A(H1N1)pdm09 isolated and identified in children, were evaluated using the panel of reference sera A/California/7/2009, A/Bayern/69/2009, A/Lviv/N6/2009, A/Christchurch/16/2010, A/Astrakhan/1/2011, A/St. Peters-

Tabelul 4. Caracteristica antigenică a virusurilor gripale A(H3N2), identificate la copii în sezonul epidemic 2013-2014.

Table 4. Antigen characteristic of influenza viruses A(H3N2) in children identified in the 2013-2014 epidemic season.

Virusuri / Viruses	Grupul ge- netic / Genetic group	Data colec- tării probei / Date of sample col- lection	Istoricul pasajelor / History of passages	Titrul de inhibare a hemaglutinării (1:≤40) / The titre of hemagglutination inhibition (1:≤40)									
				Seruri de referință (seruri de dihoire) / Reference sera (ferrets sera)									
				A/ Perth 16/09 F35/11	A/Stock 18/11 F28/11 3A	A/Iowa 19/10 F15/11 6	A/Vic 361/11 T/C F11/13 3C.1	A/Ath- ens 112/12 F16/12 3B	A/Texas 50/12 Egg F42/13 3C.1	A/Sa- mara 73/13 F24/13 3C.3	A/Ser- bia NS- 210/13 F39/13 3C.3	A/HK 146/13 F40/13 3C.2	NIB-85 F45/13 3C.3
Virusuri de referință / Reference viruses													
A/Perth/16/2009		2009-07-04	E3/E3	640	160	160	160	320	160	160	80	160	160
A/Stockholm/18/2011	3A	2011-03-28	SIAT4	80	640	320	320	640	320	1280	320	320	320
A/Iowa/19/2010	6	2010-12-30	E3/E2	320	1280	1280	1280	2560	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
A/Athens/112/2012	3B	2012-02-01	SIAT4	80	320	160	640	640	320	640	320	320	320
A/Texas/50/2012	3C.1	2012-04-15	E5/E2	640	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	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
A/Hong Kong/146/2013	3C.2	2013-01-11	E5/E1	320	2560	1280	640	1280	640	1280	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
Virusuri testate / Tested viruses													
A/Moldova/696/2013	3C.3	2013-12-17	MDCK2/ SIAT1	40	160	160	320	640	160	640	320	320	320
A/Moldova/7/2014	3C.3	2014-01-15	SIAT2	<	80	80	160	320	80	320	80	80	80

copii, 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/Astrakhan/1/2011, A/St. Petersburg/27/2011, A/St. Petersburg/100/2011, A/Hong Kong/5659/2012 și A/South Africa/3626/13. În linii generale, toate tulpinile de virus gripal testate au reacționat cu panelul dat, prezentând similaritate antigenică cu tulpina vaccinală A/California/7/2009. Totodată, s-a atestat și o similaritate antigenică cu tulpina A/South Africa/3626/13, fapt datorat apartenenței virusurilor testate la grupul genetic 6B, din care face parte și această tulpină de referință (Tabelul 5) [26].

De rând cu identificarea tulpinilor de virus gripal A(H1N1)pdm09, la copii s-a identificat și virusul gripal de tip B. Particularitățile antigenice ale virusurilor gripale de tip B, izolate și identificate în Republica Moldova în sezonul epide-

burg/27/2011, A/St. Petersburg/100/2011, A/Hong Kong/5659/2012 and A/South Africa/3626/13. Generally, all influenza strains tested reacted with given panel, showing antigenic similarity with the vaccine strain A/California/7/2009. However, it has been proven an antigenic similarity with A/South Africa/3626/13, due to belonging tested viruses to the genetic group 6B, from which belongs this reference strain (Table 5) [26].

Along with the identification of influenza virus strains A(H1N1)pdm09 in children, was identified an influenza type B. Antigenic particularities of type B influenza viruses, isolated and identified in Republic of Moldova in 2014-2015 epidemic season, were studied at reaction RHA1 using the panel of reference sera B/Florida/4/2006, B/Brisbane/3/2007, B/Wisconsin/1/2010, B/Stockholm/12/2011 B/Estonia/55669/2011, B/

Tabelul 5. Particularitățile antigenice ale virusurilor gripale A(H1N1)pdm09 identificate la copii, sezonul epidemic 2014-2015.

Table 5. Antigenic particularities of influenza viruses A(H1N1)pdm09 identified in children, in 2014-2015 epidemic season.

Virusuri / Viruses	Data colectării probei / Date of sample col- lection	Istoricul pasajelor / History of passages	Titrul de inhibare a hemaglutinării (1:≤40) /The titre of hemagglutination inhibition (1:≤40)								
			Seruri de referință (seruri de dihoire)/Reference sera (ferrets sera)								
			A/Cal 7/09 F29/11	A/Bayern 69/09 F11/11	A/Lviv N6/09 F14/13	A/Chch 16/10 F15/14 Group 4	A/Astrak 1/11 F22/13 Group 5	A/St. P 27/11 F23/11 Group 6	A/St. P 100/11 F24/11 Group 7	A/HK 5659/12 F30/12 Group 6A	A/Sth Afr 3626/13 F3/14 Group 6B
Grupul genetic / Genetic group											
Virusuri de referință / Reference viruses											
A/California/7/2009	2009-04-09	EP1/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/S1/ 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 (grupul genetic) / Tested viruses (genetic group)											
A/Moldova/050.05/2015 (6B)	2015-01-28	MDCK1/ MDCK1	2560	1280	1280	1280	2560	2560	5120	2560	2560
A/Moldova/024.04/2015	2015-01-19	MDCK1/ MDCK1	1280	1280	1280	1280	2560	1280	5120	2560	2560
A/Moldova/085.07/2015	2015-02-06	MDCK3/ MDCK2	2560	640	640	1280	2560	2560	5120	2560	2560
A/Moldova/086.07/2015 (6B)	2015-02-06	MDCK2/ MDCK1	1280	640	640	1280	2560	1280	2560	2560	1280
A/Moldova/090.07/2015	2015-02-06	MDCK2/ MDCK1	1280	1280	1280	1280	2560	2560	5120	2560	2560
A/Moldova/158.08/2015 (6B)	2015-02-19	MDCK1/ MDCK1	2560	640	1280	1280	2560	2560	5120	5120	2560
A/Moldova/107.07/2015 (6B)	2015-02-09	MDCK3/ MDCK1	1280	640	640	640	2560	1280	5120	2560	1280
A/Moldova/125.07/2015	2015-02-13	MDCK2/ MDCK1	2560	1280	1280	1280	2560	2560	5120	5120	2560

mic 2014-2015, au fost studiate în reacția RHA1 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/Massachusetts/02/2012*, *B/Phuket/3073/2013*, *B/Hong Kong/3417/2014*, prezentând o reactivitate relativ redusă față de tulpina de referință *B/Estonia/55669/2011*. 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 respectiv, precum și cu tulpina de referință *B/Phuket/3073/2013* – componenta vaccinului trivalent, recomandat de OMS pentru Emisfera de Nord în sezonul 2015-2016 [26]. 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 3, frecvent întâlnit la virusurile gripale de tip B, linia *B/Yamagata*, circulante în sezonul 2014-2015 în alte țări ale Europei (Tabelul 6) [26].

Rezultatele analizei genetice au atestat că tulpinile de virus gripal A(H1N1)pdm09 izolate și identificate din probele relevante de la copii în sezonul 2012-2013, au făcut 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 (Tabelul 2). 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 [15-20]. Însă, tulpinile de virus gripal A(H1N1)pdm09, izolate și identificate din probele prelevate de la copii în sezonul 2014-2015, analizate la nivel genetic în arborii filogenetici (genele HA și NA), confirmă similaritatea antigenică a tulpinilor de virus gripal A(H1N1)pdm09 cu același virus vaccinal de referință *A/California/7/2009*, dar cu apartenența la grupul genetic 6B, fapt caracteristic și pentru tulpinile acestui virus gripal circulant în alte țări, la nivel global, în sezonul respectiv (Figura 1) [26].

Analiza de secvențiere a genelor HA și NA ale virusurilor gripale A(H3N2), izolate și identificate la copiii cu SARI în sezonul 2013-2014, a indicat la apartenența ambelor gene la grupul genetic 3C.3 – conține HA ce codifică substituția aminoacidului T128A (rezultă în pierderea situsului de glicozilare) și substituțiile A43S și M18K în gena HA1, iar în gena NA – substituțiile S335G și E381K (Figura 2) [24].

Rezultatele analizei filogenetice a tulpinilor de virus gripal de tip B, izolate de la copiii cu SARI în sezonul 2014-2015, au scos în evidență faptul că tulpinile cercetate au făcut parte din grupul genetic 3, similar cu tulpinile de virus gripal B, circulant pe mapamond (Figura 3) [26].

Este necesar de menționat, că tulpinile izolate de virusuri gripale de la copiii cu SARI, în testul de inhibare a neuraminidazei, au fost sensibile la remediile antigripale Oseltamivir și Zanamivir și sunt similare cu tulpinile de virusuri gripale, incluse în formula vaccinului antigripal, recomandat de OMS pentru sezoanele nominalizate în lucrare [20, 24, 26]. Rezultatele obținute demonstrează că identificarea și evaluarea

Massachusetts/02/2012, *B/Phuket/3073/2013*, *B/Hong Kong/3417/2014*, showing a relatively low reactivity to reference strain *B/Estonia/55669/2011*. Meanwhile, tested influenza strains, showed a moderate reactivity to *B/Massachusetts/02/2012* strain, that was recommended by WHO to be introduced in the composition of influenza trivalent vaccine for the respectively season and the *B/Phuket/3073/2013* reference strain, WHO recommended trivalent vaccine composition for Northern Hemisphere in 2015-2016 season [26]. The results of antigenic characterization, demonstrated that tested influenza strains, were antigenically similar to reference strains belonging line *B/Yamagata/16/1988* (*B/Yamagata*) and taking part of the genetic group 3, frequent met in influenza viruses of type B line, *B/Yamagata*, assets in 2014-2015 season in other European countries (Table 6) [26].

The results of genetic analysis have confirmed that strains of influenza virus A(H1N1)pdm09, isolated and identified from samples taken from children in 2012-2013 season, were a part of the genetic group 6C, while being antigenically similar to the vaccine strain *A/California/7/2009*, respectively, with other reference strains that are part of the genetic June (Table 2). Interestingly, the majority of strains of influenza virus A(H1N1)pdm09 assets in different countries, during the reporting period, were positioned in genetic groups 6 and 7 [15-20]. However, strains of influenza virus A(H1N1)pdm09, isolated and identified from samples taken from children in 2014-2015 season, analyzed at the genetic level in phylogenetic trees (HA and NA genes) confirms antigenic similarity of strains of influenza virus A(H1N1)pdm09 with the same vaccine reference virus *A/California/7/2009*, but belonging to genetic group 6B, which is typical for circulating strains of this influenza virus in other countries, in the respectively season (Figure 1) [26].

Analysis of the genes sequence, HA and NA of influenza viruses A(H3N2), isolated and identified in children with SARI in 2013-2014 season, indicated the belonging of both genes at the genetic group 3C.3 – containing HA, that encode T128 amino acid substitution (this results in loss of the glycosylation site) and A43S and M18K substitutions in HA1 gene, and the gene NA – S335G and E381K substitutions (Figure 2) [24].

The results of phylogenetic analysis of strains of influenza B virus, isolated from children with SARI in 2014-2015 season, revealed that studied strains were a part of the genetic group 3, similar to the strains of influenza virus B, world-wide circulating (Figure 3) [26].

It is necessary to note, that isolates strains of influenza viruses in children with SARI, in the neuraminidase inhibition test, were susceptible to anti-flu remedies (Oseltamivir and Zanamivir) and are similar to strains of flu viruses, included in the formula of influenza vaccine, recommended by WHO for the seasons nominated in this article [20, 24, 26]. The obtained results, shows that the identification and evaluation of phenotypic, genotypic and antigenic properties of influenza viruses are of a major importance, in the context of fairness

proprietăților fenotipice, genotipice și antigenice ale virusurilor gripale au o importanță majoră în contextul corectitudinii politicii de utilizare a vaccinului antigripal în imunizarea sezonieră obligatorie a copiilor, optimizării managementului tratamentului și profilaxiei gripei, inclusiv, în asociere cu SARI, pronosticării procesului epidemic, precum și reducerii impactului negativ asupra sistemului de sănătate.

policy, for the use of influenza vaccine, in compulsory seasonal immunization of children, optimizing the management of treatment and prophylaxis of influenza, including in association with SARI, foreseeing epidemic and reducing the burden on the health system.

Tabelul 6. Particularitățile antigenice ale tulpinilor de virus gripal B, linia B/Yamagata, izolate și identificate la copii în sezonul 2014-2015.

Table 6. Antigenic particularities of influenza B strains, line B/Yamagata, isolated and identified in children in 2014-2015 season.

				Titlul de inhibare a hemaglutinării (1:≤40) / The titre of hemagglutination inhibition (1:≤40)										
				Seruri de referință (seruri de dihoire) / Reference sera (ferrets sera)										
Virusuri / Viruses	Grup gene- tic / Genetic group	Data / Date	Istoricul pasajelor / History of passages	B/Fl ^{1,3} 4/06 SH479	B/Fl ¹ 4/06 F1/10	B/Bris 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/Mass ² 02/12 T/C F15/13	B/Phuket ² 3073/13 Egg F36/14	B/Phu- ket ² 3073/ 13 T/C F35/14	B/HK ⁴ 3417/14 Egg St Judes F715/14
<i>Virusuri de referință (grup genetic) / Reference viruses (genetic group)</i>				1	1	2	3	3	2	2	2	3	3	3
B/Florida /4/2006	1	2006-12-15	E7/E1	2560	640	640	320	320	80	1280	320	320	40	320
B/Brisbane /3/2007	2	2007-09-03	E2/E3	1280	320	640	80	160	40	640	160	160	20	320
B/Wisconsin /1/2010	3	2010-02-20	E3/E3	640	160	320	320	160	20	320	80	160	40	320
B/Stockholm /12/2011	3	2011-03-28	E4/E1	1280	160	160	80	160	10	160	80	80	40	320
B/Estonia /55669/2011	2	2011-03-14	MDCK2/ MDCK3	640	80	160	40	40	160	80	640	80	80	320
B/Massachusetts /02/2012	2	2012-03-13	E3/E3	2560	320	640	160	160	80	640	320	160	20	320
B/Massachusetts /02/2012	2	2012-03-13	MDCK1/C2/ MDCK3	2560	640	640	320	160	320	640	1280	320	160	640
B/Phuket /3073/2013	3	2013-11-21	E4/E3	640	160	160	160	160	20	160	80	160	40	320
B/Phuket /3073/2013	3	2013-11-21	M2/M2	1280	320	320	320	160	320	320	640	640	1280	640
B/Hong Kong /3417/2014	3	2014-06-04	E4/E1	160	80	80	80	40	10	80	80	80	40	320
<i>Virusuri testate / Tested viruses</i>														
B/Moldova /156.08/2015		2015-02-17	MDCK1/ MDCK1	320	80	80	80	80	40	80	160	160	160	320
B/Moldova /105.07/2015	3	2015-02-11	MDCK2/ MDCK1	640	160	160	160	160	80	320	320	320	320	640
B/Moldova /081.07/2015		2015-02-09	MDCK2/ MDCK1	640	80	160	160	80	80	160	160	160	320	320
B/Moldova /087.07/2015		2015-02-09	MDCK2/ MDCK1	320	80	160	160	80	80	160	160	320	320	320
B/Moldova /128.08/2015		2015-02-06	MDCK1/ MDCK1	320	80	80	80	40	40	80	80	80	160	320
B/Moldova /075.06/2015		2015-02-05	MDCK1/ MDCK1	320	80	80	80	80	40	80	80	160	160	320
B/Moldova /057.06/2015	3	2015-02-03	MDCK1/ MDCK1	640	160	160	160	80	80	160	320	320	160	640
B/Moldova /059.06/2015		2015-02-03	MDCK1/ MDCK1	640	160	160	320	160	80	160	320	320	320	640
B/Moldova /060.06/2015		2015-02-03	MDCK2/ MDCK1	320	80	160	160	80	40	80	160	160	160	320

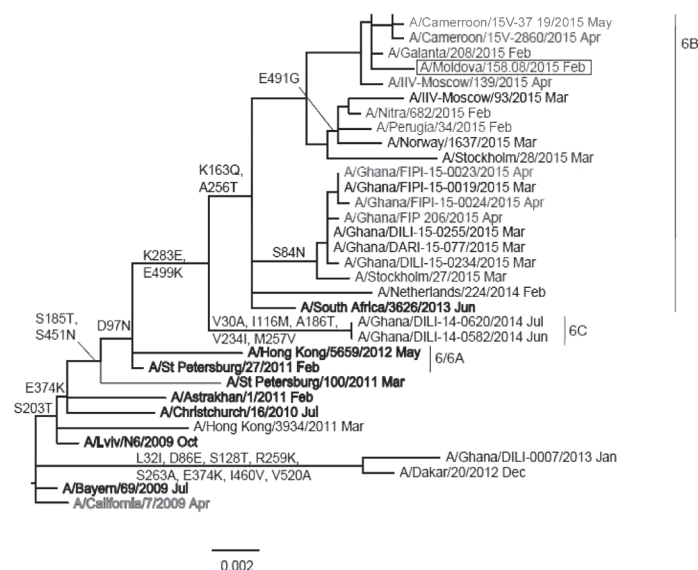


Fig. 1 Fragment din comparația filogenetică a tulpinilor de virus gripal A(H1N1)pdm09, gena HA, izolate de la copii cu SARI în sezonul 2014-2015.

Fig. 1 Fragment of phylogenetic comparison of strains of influenza virus A(H1N1)pdm09, HA gene, isolated from children with SARI in 2014-2015 season.

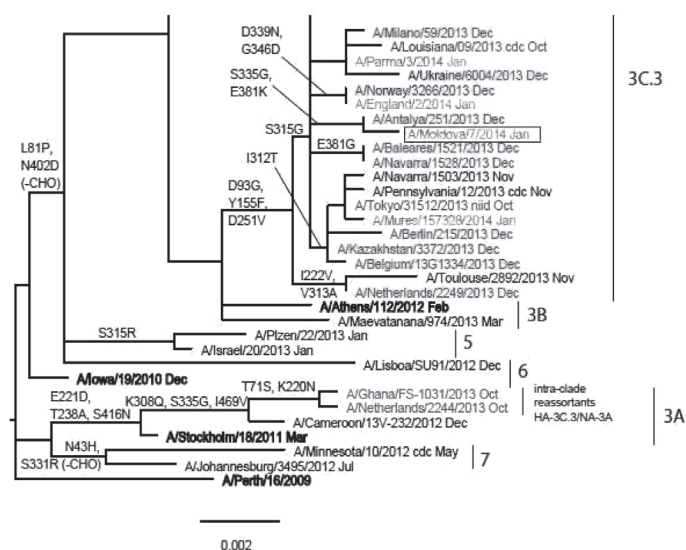


Fig. 2 Fragment din comparația filogenetică a tulpinilor de virus gripal A(H3N2), gena NA, izolate de la copii cu SARI în sezonul 2014-2015.

Fig. 2 Fragment of phylogenetic comparison of strains of influenza virus A(H3N2), NA gene, isolated from children with SARI in 2014-2015 season.



Fig. 3 Fragment din comparația filogenetică a tulpinilor de virus gripal de tip B (B/Yamagata), gena HA, izolate de la copii cu SARI în sezonul 2014-2015.

Fig. 3 Fragment of phylogenetic comparison of strains of influenza virus B(B/Yamagata), HA gene, isolated from children with SARI in 2014-2015 season.

Discuții

Copiii sunt una dintre cele mai vulnerabile categorii de populație și cel mai expuși la diferite provocări – gripa fiind una din ele. SARI sunt parte a îmbolnăvirilor sezonului rece și, de regulă, acestea sunt asociate cu diferite forme de gripă. Cea mai înaltă morbiditate respiratorie cât și mortalitate

Discussion

Children are one of the most vulnerable categories of population and the most exposed to different challenges – influenza being one of them. SARI illnesses are part of cold season and usually it is associated with various forms of influenza. The highest respiratory morbidity as the mortality is encountered

tate o prezintă copilul mic, în asociere cu diferite comorbidi-tăți [27].

Studiul epidemiologic de supraveghere santinelă în sezoa-nele 2012-2013, 2013-2014 și 2014-2015 confirmă utilitatea și semnificația acestei supravegheri cu impact local, regional și global. Pe durata studiului, s-a atestat circulația a trei tipuri de virusuri – A (H1N1)pdm09, A(H3N2) și virusul gripal de tip B, izolate de la copiii cu SARI. În grupul de vârstă 0-4 ani, spre deosebire de contingentul de copii cu vârsta 5-17 ani, îmbol-năvirile sunt semnificative prin prezența SARI, precum și în asociere cu gripa. În toate sezoanele examinate, numărul total de SARI în rândul copiilor cu vârsta 0-4 ani era în creștere, de la 3190 de cazuri la 3645, comparativ cu grupul de vârstă 5-17 ani, unde cazurile SARI, per total, sunt mai puține (respectiv, de la 56 la 72 de cazuri). Incidența prin SARI asociată cu gripă la 100.000 populație la copii în grupul de vârstă 0-4 ani, este la cote înalte pe toată perioada de studiu (respectiv, 330, 459 și 344), pe când în grupul de vârstă 5-17 ani, este stabil – zero. Acest fapt se datorează, în mare parte, contactului tot mai larg în colectivități ale copiilor de vârstă mică. Paralel, este impor-tant de a lua în calcul și particularitățile morfofuncționale ale sistemului de apărare în creștere și maturizare, care își lasă amprenta asupra morbidității.

Concluzii

1) Incidența prin SARI asociată cu gripa la copii, a fost cea mai înaltă în sezonul 2013-2014, pe când în sezoanele 2012-2013 și 2014-2015 a fost mai joasă, în special, la copiii de 0-4 ani.

2) La copiii cu SARI, au fost identificate virusurile gripale A(H1N1)pdm09, A(H3N2) și B, particularitățile antigenice și genetice ale cărora au scos în evidență similaritatea lor cu tulpinile de virusuri gripale vaccinale, recomandate de OMS pentru a fi incluse în componența vaccinului gripal pentru sezoanele respective, argument obiectiv în favoarea obligativității vaccinale a populației, în special, a copiilor, luând în consi-derație vulnerabilitatea lor sporită la vârste mici.

3) Tulpinile de virusuri gripale, izolate de la copiii cu SARI, au fost sensibile la remediile antigripale Oseltamivir și Zana-mivir, fapt ce ne permite a le recomanda în tratamentul copii-lor cu SARI, asociate cu gripa.

4) Datele obținute au stat la baza elaborării și realizării măsurilor de control și răspuns la infecțiile nominalizate întru reducerea riscului de infectare, răspândire, precum și la dimi-nuarea morbidității prin SARI în Republica Moldova.

Lista abrevierilor

CDC – Centrul de Control și Prevenire a Maladiilor, Atlanta, SUA;
ECDC – Centrul European de Control și Prevenire al Mala-diilor;
EISN – Sistemul European de Supraveghere a Gripei;
HA – hemaglutinină;
HAU – unități de hemaglutinare;
IRVA – infecții respiratorii virale acute;
MDCK – linie de celule Madin-Darby Canine Kidney;

in young children, in association with various comorbidi-ties [27].

Sentinel epidemiological surveillance in 2012-2013, 2013-2014 and 2014-2015 seasons, confirms the usefulness and significance of this supervision at a local, regional and global levels. During the study period was certified circulation of three types of viruses – A(H1N1)pdm09, A(H3N2) and influ-enza B virus, isolated from children with SARI. In the 0-4 age group, otherness, the contingent of children 5-17 aged, is a sig-nificant presence of SARI illness as well as in association with influenza. In all examined seasons, the total number of SARI among the children aged 0-4 years is up from 3190 to 3645 cases compared with the 5-17 age group, overall SARI cases are fewer (i.e. from 56-72 cases). The incidence of SARI associ-ated with influenza to 100,000 children in the 0-4 age group is at high levels throughout the study (i.e. 330, 459 and 344), while in the 5-17 age group it is fixed – zero. This is largely due to wider contact in communities of all children, parallel is important to consider the morpho-functional particularities of maturation system that is in growth, and that leave their mark on morbidity.

Conclusions

1) The incidence of SARI associated with influenza in chil-dren, was the highest in 2013-2014 and 2012-2013 seasons, while in 2014-2015 was lower, especially in children of 0-4 years.

2) In children with SARI were identified influenza A(H1N1)pdm09, A(H3N2) and B, which antigenic and genetic particu-larities, revealed their similarity to the influenza virus vaccine strains, recommended by WHO to be included in the composi-tion of influenza vaccine for those seasons, objective argument in favor of the obligatory vaccination of the population, espe-cially for children, and taking into consideration their vulner-ability.

3) Strains of flu viruses, isolated from children with SARI, were susceptible to flu remedies (Oseltamivir and Zanamivir), which allows us to recommend it in the treatment of children with SARI associated with influenza.

4) The obtained data, formed the base of the development and implementation of control measures and response to nominees infections, in order to reduce the risk of infection and spread, and the morbidity by SARI in Republic of Moldova.

Abbreviations

CDC – Center for Disease Control and Prevention, Atlanta, USA;
ECDC – European Centre for Disease Prevention and Con-trol;
EISN – European Influenza Surveillance System;
HA – hemagglutinin;
HAU – hemagglutination units;
IRVA – acute viral respiratory infections;
MDCK – Madin-Darby Canine Kidney cell line;
MDCK-SIAT1 – Madin-Darby Canine Kidney cell line chan-ged in position 5, 6 of the sialyl transferase;

MDCK-SIAT1 – linie de celule Madin-Darby Canine Kidney, modificate în poziția 5, 6 a sialil transferazei;

NA – neuraminidază;

OMS – Organizația Mondială a Sănătății;

RIHA – reacția de inhibare a hemaglutinării;

rRT-PCR – reacția de polimerizare în lanț, în timp real;

SARI – infecții respiratorii acute severe (l. engl. *Severe Acute Respiratory Infections*).

Referințe/references

1. Nair H., *et al.* Global burden of respiratory infections due to seasonal influenza in young children: a systematic review and meta-analysis. *Lancet*, 2011; 378 (9807): 1917-30. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22078723> (vizitat 30.01.2016)
2. Alecsandrescu V., Tecu C., Mihai M.-E. Infecții respiratorii virale non-gripale. București, 2009, p. 4.
3. Spînu C. *et al.* Infecția cu virusuri gripale umane. Aspecte epidemiologice, clinice, de laborator, tratament și profilaxie. Ghid practic nr. 1. MS RM, Chișinău, 2009, p. 99.
4. WHO Regional Office for Europe guidance for sentinel influenza surveillance in humans. WHO, 2011. http://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0020/90443/E92738.pdf
5. WHO Global Influenza Surveillance Network (web site), Geneva, World Health Organization <http://www.who.int/csr/disease/influenza/surveillance/en/index.html> (vizitat 09.07.2014).
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”. <http://ms.gov.md/files/95430rd%2520824%2520din%252031.1011.doc>
7. CDC Real-Time Protocol for detection and characterization of swine influenza (version 2009).
8. Virus isolation in cell culture. Book for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza. WHO Global Influenza Surveillance Network, 2011, p. 35-38.
9. Identification of the haemagglutinating subtype of viral isolates by haemagglutination inhibition testing. Book for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza. WHO Global Influenza Surveillance Network, 2011, p. 43-57.
10. Use of neuraminidase inhibition assays to determine the susceptibility of influenza viruses to antiviral drug. Book for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza. WHO Global Influenza Surveillance Network, 2011, p. 103-116.
11. Book for Estimating Disease Burden Associated With Seasonal Influenza. WHO, 2015.
12. Prisacari V. Epidemiologie generală. Bazele medicinei prin dovezi. Biblioteca Meșterul Manole, Chișinău, 2012, p. 44.
13. 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. *Romanian Archives of Microbiology and Immunology*, 2013; 72 (3): 183-185.
14. Cojocaru R., Spînu C., Eder V. *et al.* Strengthening of the surveillance system for influenza, ARI and SARI in the Republic of Moldova. Options for the Control of Influenza, Cape Town, South Africa, 5-10 September 2013, Abstract LBA-P2-017, p. 643.
15. Spînu C., Grama O., Eder V. *et al.* Studying and evaluating of influenza, ARI and SARI morbidity evolution with control and response measures achieving, 2012-2013 epidemic season, in the Republic of Moldova. *Archives of the Balkan Medical Union*, 2013; 48 (suppl. 3): 487-491.
16. 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). 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.
17. 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. *Curierul Medical*, 2013; 56 (5): 133-137.
18. WHO. Weekly epidemiological record. No. 10, 2012, 87, 81-96 <http://www.who.int/wer/2012/wer8710.pdf?ua=1> (vizitat 13.11.2014)
19. 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).
20. 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).
21. 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*, 2014; 6 (57): 57-61.
22. 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).
23. Spînu C., Eder V., Scoferța P. *et al.* Phenotypic and genotypic significance of influenza viruses identified in the Republic of Moldova. Poster. 4-th International Influenza Meeting, Muenster, Germany, 21-23 September, 2014, P98, p.145.
24. Report prepared for the WHO annual consultation on the composition of influenza vaccine for the Northern Hemisphere 2014/15. WHO Influenza Centre, London. <http://www.nimr.mrc.ac.uk/documents/about/NIMR-report-Feb2014-web.pdf>
25. European Influenza Surveillance Network (EISN). European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) <http://www.ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EISN/Pages/home.asp> (vizitat 24.11.2014)
26. WHO Worldwide Influenza Centre. Report prepared for the WHO annual consultation on the composition of the influenza vaccine for the Southern Hemisphere 2016. September 2015. The Francis Crick Institute, Mill Hill Laboratory, London, UK. https://www.crick.ac.uk/media/273950/crick_sep2015_vcm_report_to_post.pdf (vizitat 20.01.2016)
27. Donos A. Pneumonia comunitară și afecțiunile respiratorii recurente. Chișinău, 2015, 288 p.