

Școala Doctorală în Domeniul Științe Medicale

Cu titlu de manuscris

CZU: 616.98:578.823.91-06:616.34-022.1-053.3(043.2)

ALSALIEM TATIANA

**IMPACTUL CLINICO – EPIDEMIOLOGIC URMARE A
VACCINĂRII ÎN INFECȚIA CU ROTAVIRUSURI LA COPIII
SUGARI**

322.01 - PEDIATRIE ȘI NEONATOLOGIE

Rezumatul tezei de doctor în științe medicale

Chișinău, 2020

Teza a fost elaborată în cadrul Departamentului Pediatrie, IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova, Consorțiul fondator al Școlii doctorale în domeniul Științe medicale.

Conducător:

Donos Ala,
dr. hab. șt. med., profesor universitar.

Conducător prin cotutelă:

Spînu Constantin,
dr. hab. șt. med., profesor universitar,
academician al AȘM, Om Emerit.

Membrii comisiei de îndrumare:

Revenco Ninel,
dr. hab. șt. med., profesor universitar.
Țurea Valentin,
dr. hab. șt. med., profesor universitar.
Mihu Ion,
dr. hab. șt. med., profesor universitar.

Susținerea va avea loc la data de 09.09.2020, ora 14:30 în incinta USMF „Nicolae Testemițanu”, bd. Ștefan cel Mare și Sfânt 165, biroul 205, în ședința Comisiei de susținere publică a tezei de doctorat, aprobată prin decizia Consiliului Științific al Consorțiului din 04.02.2020 (*proces verbal nr. 9*).

Teza de doctor în științe medicale și autoreferatul pot fi consultate la biblioteca IP Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” și pe pagina web a ANACEC (www.cnaa.md).

Componența Comisiei de susținere publică a tezei de doctorat:

Președinte:

Palii Ina,
dr. hab. șt. med., profesor universitar.

Membri:

Donos Ala,
dr. hab. șt. med., profesor universitar.
Spînu Constantin,
dr. hab. șt. med., profesor universitar,
academician al AȘM, Om Emerit.
Guragata Ana,
Dr. șt. med., conferențiar universitar.
Revenco Ninel,
dr. hab. șt. med., profesor universitar.
Bucov Victoria,
dr. hab. șt. med., profesor universitar.
Moraru Evelina,
dr. hab. șt. med., profesor universitar.

Autor: Alsaliem Tatiana

© Alsaliem Tatiana, 2020

CUPRINS

REPERELE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII.....	3
ACTUALITATEA ȘI IMPORTANȚA PROBLEMEI ABORDATE.....	3
METODOLOGIA CERCETĂRII ȘTIINȚIFICE.....	4
CONȚINUTUL TEZEI.....	8
1. Aspecte contemporane privind infecția cu rotavirusuri la sugari.....	8
2. Material și metode de cercetare.....	9
3.Particularitățile clinico-epidemiologice și paraclinice în infecția cu rotavirusuri la sugari.....	12
4. Caracteristicile echilibrului acido-bazic, a genotipurilor rotavirale și structura etiologică a mixt-infecției cu rotavirusuri.....	24
CONCLUZIILE PRINCIPALE ALE TEZEI.....	31
BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ.....	32
LISTA PUBLICAȚIILOR LA TEMA TEZEI.....	34

REPERE CONCEPTUALE ALE CERCETĂRII

Actualitatea și importanța temei

Rotavirusurile (RV) sunt una din cele mai frecvente cauze ale gastroenteritei acute (GEA) la nivel mondial, afectând 95,0% dintre copiii până la vârsta de cinci ani. La nivel global, se estimează, că infecția cu rotavirusuri provoacă 3,6 milioane episoade de GEA pe an [1, 2]. Până la implementarea imunizării rotavirale, anual, în întreaga lume, erau spitalizați mai mult de 2 milioane de copii cu GEA cauzată de rotavirusuri [2, 3].

Până la vârsta de 5 ani, practic toți copiii au suportat infecția cu rotavirusuri (IRV), aceasta fiind prima cauză a diareei severe cu deshidratare la sugari în întreaga lume. În țările cu venituri mici, vârsta medie a infectării primare cu rotavirusuri are loc între 6 și 9 luni (80,0% dintre cazuri apar la sugari sub 1 an), în timp ce în țările cu venituri mari primul episod uneori apare la vârsta de 2-5 ani, copiii fiind cei mai afectați (65,0% din cazuri fiind constatate la sugari) [3, 4].

În ciuda progresului considerabil, boala diareică rămâne a patra cea mai frecventă cauză de mortalitate și a doua cea mai frecventă cauză de morbiditate la nivel mondial la copiii cu vârsta mai mică de 5 ani. Rotavirusurile sunt asociate cu aproximativ o treime din toate bolile diareice severe la copiii mici, cu estimări recente ale mortalității anuale asociate cu rotavirus cuprinsă între 453 000 (2008), 197 000 (2010) și 173 000 (2011) [1, 3, 5].

Începând cu 2009, Organizația Mondială a Sănătății (OMS) a recomandat ca vaccinurile contra rotavirusuri să fie incluse în programele naționale de imunizare în fiecare țară și ca această măsură să fie considerată o prioritate a sănătății publice [2, 4, 6].

Evaluarea morbidității la copiii cu vârsta sub un an, marchează o incidență crescută a infecțiilor cel mai frecvent întâlnite, ceea ce determină formarea sănătății societății și a viitoarelor generații. În gastroenterita acută, primar rotavirusurile sunt achiziționate prin contact cu ființa bolnavă [1, 4, 7]. Rotavirusurile sunt depistate și în coprofiltratele copiilor cu gastroenterocolită de etiologie nedeterminată, având rolul primordial în identificarea infecțiilor gastrointestinale grave, cu etiologie greu de stabilit [3, 5].

Problema infecției cu rotavirusuri rămâne actuală pe parcursul ultimilor decenii, din momentul descoperirii acesui virus, infecția cu rotavirusuri fiind prezentă cu o incidență crescută, în special printre copiii cu vârsta sub 5 ani [8,9]. Fiecare copil poate suporta de la un episod de boală până la câteva episoade, cel mai frecvent în primii 5 ani de viață, caracterizându-se printr-o incidență mare de cazuri grave, cu complicații, în lipsa terapiei. Impactul clinic în infecția cu rotavirusuri este cu afectări intestinale și nonintestinale, cu implicarea nu doar a mucoasei tractului gastrointestinal, ci și a altor sisteme. La sugari, gravitatea infecției cu rotavirusuri este determinată în special de genotipul și fenotipul acestei afecțiuni, care determină severitatea sindromului de deshidratare și celui toxic [9, 10].

Prezentul studiu a fost inițiat pentru a stabili impactul clinico-evolutiv al infecției cu rotavirusuri (IRV) la sugarii vaccinați și nevaccinați, și varietatea genotipică și fenotipică în condițiile Republicii Moldova.

Lucrări științifice care au avut obiect de studiu unele aspecte ale infecției cu rotavirusuri la copii au fost realizate de către Konstantinos Karampatsas, 2018; Nigel A. Cunliffe, 2010; Anca I. A., 2014; Vesikari T. et al, 2014. Totuși, lucrări integrale, care să abordeze atât impactul clinico-evolutiv, cât și varietatea genotipică și fenotipică a infecției cu rotavirusuri la sugari în literatura de specialitate sunt relativ puține [5, 26, 27].

Descrierea situației în domeniul de cercetare și identificarea problemelor de cercetare: La nivel global, boala diareică acută (BDA) este una din cele 5 cauze de decese la copilul cu vârsta de până la 5 ani. Acest fapt este motivul de instituire a programului Organizației Mondiale a Sănătății de combatere a diareei la această vârstă [4].

Boala diareică la sugar, manifestată prin enterită și gastroenterită acută, forme severe cu sindrom de deshidratare acută (SDA) și sindrom toxiinfecțios (STI), are, de regulă, o etiologie nedeterminată la peste o treime de cazuri.

Conform datelor Organizației Mondiale a Sănătății, în Europa, infecțiile tractului gastrointestinal cauzează anual circa 10 027 de decese la copiii cu vârsta de până la 5 ani. În total, la copii, anual, se înregistrează 2,8 mln de îmbolnăviri prin infecție cu rotavirusuri, mai mult de 200 de decese, cu 87 000 de spitalizări în țările europene [5, 6].

Scopul prezentului studiu: estimarea impactului clinico-epidemiologic a vaccinării sugarilor contra infecției cu rotavirusuri în dependență de genotipurile rotavirusurilor identificate în Republica Moldova.

Obiective generale:

1. Studiarea și identificarea particularităților clinico-epidemiologice și evolutive ale infecției cu rotavirusuri la sugarii vaccinați și neimunizați în dependență de genotipurile rotavirusurilor.
2. Identificarea și evaluarea particularităților microbiotei intestinale și a severității maladiei la sugari în dependență de aplicarea vaccinului rotaviral.
3. Studiarea și stabilirea corelației dintre modificările hidro-electrolitice ale lacunei anionice și manifestările clinice la sugarii din studiu.
4. Evaluarea impactului implementării măsurilor de supraveghere de tip sentinelă asupra evoluției particularităților clinico-epidemiologice ale infecției cu rotavirusuri la sugari.

Ipoteza de cercetare constă în aceea că genotipul și fenotipul rotavirusurilor determină severitatea evoluției gastroenteritei la sugari prin prezența sindromului de deshidratare și toxiinfecțios de diferit grad.

Metodologia generală a cercetării se bazează pe studiarea și identificarea particularităților clinico-epidemiologice și evolutive ale IRV la sugarii cu diferite genotipuri. Evidențierea peisajului intestinal și studiarea interconexiunii acestora cu modificările hidro-electrolitice ale lacunei anionice și valorile pH-ului în mediile biologice la sugarii cu infecție cu rotavirusuri. Am efectuat supraveghere pentru copii cu diaree acută (definită ca ≥ 3 scaune libere într-o perioadă de 24 de ore și cu debut < 7 zile înainte de vizita la spital), conform protocolului recomandat de OMS.

După consimțământul scris al părinților, s-a efectuat chestionarea lor anamnetică, examenul clinic și investigațiile paraclinice ale copiilor. Istoricul vaccinărilor a fost obținut din înregistrările păstrate la centrele de sănătate sau la cabinetele medicului de familie unde s-a administrat vaccinul. Fișele de vaccinare la clinică au fost identificate pe baza numelui copilului inclus în studiu, sexului și datei nașterii. Dintre metodele de investigare au fost utilizate: examenul virusologic în infecția cu rotavirusuri cu utilizarea reacției serologice ELISA (Enzyme-Linked-Immunosorbent-Assay), evidențierea genotipurilor prin reacția de amplificare genică PCR, determinarea agenților bacterieni patogeni prin examenul microbiologic al florei intestinale și aprecierea antibioretistenței. Probele de scaun au fost colectate în 48 de ore de la internare. Eșantioanele au fost păstrate la 2°C – 8°C înainte de a fi transferate săptămânal în laboratorul microbiologic din cadrul Agenției Naționale pentru Sănătate publică. Testarea rotavirusului a fost efectuată folosind un test de imunoenzimă disponibil comercial (ProSpecT;

Oxoid, Cambridge, Regatul Unit). Procesarea statistică a datelor colectate a fost realizată cu ajutorul programelor: SPSS Statistics pentru Windows, versiunea 20 și Microsoft Excel 2010, cu aplicarea setului de programe statistice *SPSS v18.0*, *QUANTO v1.2*, *Review Manager (RevMan) v5.1*, *GMDR software Beta 0.9*.

Noutatea științifică.

- Cercetează infecția cu rotavirusuri multiaspectual și cu aplicarea principiilor sistemice în boala diareică acută la copiii cu vârsta sub un an.
- Elaborează o metoda de diagnostic precoce și diferențial, în baza scorului Vesikari și a acidozei metabolice, în infecția cu rotavirusuri cu diferite genotipuri și fenotipuri ale rotavirusurilor la sugari.
- Determină evaluarea gravității infecției cu rotavirusuri provocate de diferite genotipuri la sugarii vaccinați și nevaccinați.
- De comun cu subdiviziunile (laboratorul microbiologic și secția de supraveghere epidemiologică a bolilor cu factor de transmitere alimentar și hidric) din cadrul Agenției Naționale pentru Sănătate Publică am participat la perfecționarea sistemului de supraveghere de tip sentinelă a infecției rotavirale la sugari pe compartimentul clinic al problemei subiectului studiat.

Problema științifică importantă soluționată:

- În parteneriat cu laboratorul microbiologic din cadrul Agenției Naționale pentru Sănătate Publică și secția de supraveghere epidemiologică a bolilor cu factor de transmitere alimentar și hidric, suntem parte a sistemului de supraveghere sentinelă monitorizat de biroul regional al Organizației Mondiale a Sănătății în măsura activității noastre clinice și de colectare a biomaterialului; am beneficiat de investigațiile prin testele de biologie moleculară în stabilirea genotipului și fenotipului infecției cu rotavirusuri la sugari efectuate în laboratorul de referință al Organizației Mondiale a Sănătății din Minsk.
- Am realizat caracteristica clinico-evolutivă și a severității după scorul Vesikari în raport cu varietatea genotipică și fenotipică a virusurilor.
- Cercetarea clinico–paraclinică a pacienților cu genotipuri și fenotipuri diferite, s-a soldat cu elaborarea metodelor de diagnostic precoce și diferențial al infecției cu rotavirusuri în baza scorului Vesikari și a acidozei metabolice la copiii sugari cu infecție cu rotavirusuri (Brevet de Invenție nr. 9365, din 04. 07. 2019 și Certificat de Inovator nr. 5716, din 10. 06. 2019).

Semnificația teoretică a studiului.

Semnificația teoretică a cercetării constă în argumentarea teoretică a impactului clinico-epidemiologic urmare a vaccinării sugarilor contra infecției cu rotavirusuri, etiologic cauzată de diferite genotipuri.

Abordarea sistemică în studierea infecției cu rotavirusuri la copiii sugari s-a completat cu metode originale de diagnostic precoce și diferențial, în stabilirea particularităților clinico – evolutive ale bolii la cei vaccinați/nevaccinați, în raport cu varietatea genotipică.

Valoarea aplicativă a lucrării:

- Contribuții la fortificarea instruirii pediatrilor în problemele abordării infecției intestinale cu rotavirusuri la copiii cu vârsta sub un an.
- Elaborarea unui algoritm de diagnostic precoce și diferențial al infecției cu rotavirusuri la sugari, în baza studiului și evaluării particularităților clinico-epidemiologice.
- Întocmirea și implementarea noului Protocol Clinic Național „Infecția cu rotavirusuri la copiii sugari” (Seminarul Științific de Profil Pediatrie și neonatologie din 5 martie 2020).

- Fortificarea profilaxiei IRV prin dovada științifică obiectivă a eficacității clinice a vaccinului și necesității vaccinării profilactice cu vaccinul Rotarix rotaviral din Programul Național de Imunizare din țară.
- Utilizarea datelor obținute în procesul de instruire preuniversitar și universitar, a studenților și personalului medical vizați în problema abordată.

Rezultatele principale înaintate spre susținere:

1. Aprecierea impactului clinico-epidemiologic, urmare a vaccinării sugariilor contra infecției cu rotavirusuri, etiologic determinată de diferite genotipuri.
2. Importanța datelor privind varietatea genotipică a rotavirusurilor, peisajului microflorei intestinale și semnificației lacunei anionice în boala diareică acută la sugari.
3. Utilizarea datelor clinico-epidemiologice, inclusiv prin tehnici de biologie moleculară în selectarea utilizării vaccinului rotaviral la sugari.
4. Completarea sistemului de supraveghere de tip sentinelă a infecției cu rotavirusuri la copiii sugari, urmare a identificării și evaluării particularităților clinico-epidemiologice.

Implementarea rezultatelor științifice:

I Întocmirea și implementarea Protocolului Clinic Național „Infecția cu rotavirusuri la copiii sugari” (Seminarul Științific de Profil Pediatrie și neonatologie din 5 martie 2020).

II Implementarea în secția Boli diareice acute la sugari și la Clinica Departamentului Pediatrie al USMF „Nicolae Testemițanu” a metodei de diagnostic precoce în baza scorului Vesikari al infecției cu rotavirusuri la sugarii cu boală diareică acută (Certificat de Inovator nr. 5716 din 10.06.2019).

III Aplicarea în practică a metodei de diagnostic diferențial în baza evaluării echilibrului acido-bazic și a lacunei anionice în infecția cu rotavirusuri la sugarii din secția Boli diareice acute la sugari și secția de Reanimare și Terapie Intensivă, Clinica Departamentului Pediatrie al USMF „Nicolae Testemițanu” (Hotărâre pozitivă a Brevetului de Invenție nr. 9365 din 04.07.2019).

Aprobarea rezultatelor. Rezultatele cercetărilor realizate au fost prezentate și discutate la: Conferința științifică a cadrelor științifico-didactice și studenților Anale Științifice USMF “N. Testemițanu”. Chișinău, 19-21 octombrie 2016; Conferința Națională cu participare internațională Zilele Pediatriei Ieșene “N.N.Trifan”, 20-22 octombrie, Iași 2016, Ediția XXIX-a și 5-7 octombrie, Iași 2017, Ediția XXX-a; Conferința Internațională de Pediatrie organizată în contextul anului Nicolae Testemițanu, organizată de către Societatea de Pediatrie din Moldova în comun cu Societatea Română de Pediatrie, 15-16 septembrie, Chișinău 2017; Conferința Națională de Pediatrie cu participare Internațională Probleme și căi de soluționare în asistența medicală a copiilor, 9-10 septembrie, Chișinău 2016 (teză); The 8th International Medical Congress for Students and Young Doctors „MedEspera”, 3-5 mai, Chișinău 2018.

Studiul a fost realizat în baza temei aprobate la Ședința Departamentului Pediatrie, IP USMF „Nicolae Testemițanu”, din 21.12.2016, proces-verbal nr. 7, la Ședința Seminarului Științific de profil Pediatrie și neonatologie, IP USMF „Nicolae Testemițanu”, din 15.03.2017, proces-verbal nr. 02, și la Consiliul Științific, IP USMF „Nicolae Testemițanu”, din 15.03.2017, proces-verbal nr. 4/7.10.

Teza a fost discutată, aprobată și recomandată spre susținere la ședința Departamentului Pediatrie al IP Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova (proces-verbal nr. 4 din 18.12.2019) și la Seminarul Științific de Profil Pediatrie și Neonatologie al IP USMF Nicolae Testemițanu din 04.03.2020, proces-verbal nr. 2.

Publicații. La tema cercetată au fost publicate 6 articole integrale, 10 teze, 5 rapoarte, 7 postere, 1 certificat de inovator și 1 brevet de invenție.

Volumul și structura tezei. Teza este perfectată conform tipului tradițional complex, fiind expusă pe 100 pagini și conține: introducere, 4 capitole, fiecare conținând de la trei la cinci subcapitole, concluzii generale, recomandări, bibliografie cu 136 surse. Anexele în număr de 11 sunt expuse pe 11 pagini. Iconografia include 23 tabele și 41 figuri, în total expuse pe 22 pagini (25 % din volumul părții de bază a tezei).

Cuvinte-cheie: infecție cu rotavirusuri, copii sugari, genotip, impact, vaccinare.

La teza realizată a fost obținut Avizul pozitiv al Comitetului de Etică a Cercetării (Proces verbal nr. 54 din 13 februarie 2017).

CONȚINUTUL TEZEI

1. ASPECTE CONTEMPORANE PRIVIND INFECȚIA CU ROTAVIRUSURILA SUGARI

Rotavirusurile (RV) sunt una din cele mai frecvente cauze ale gastroenteritei acute (GEA) la nivel mondial, afectând 95,0% dintre copiii pînă la vârsta sub cinci ani. La nivel global, estimativ, infecția cu rotavirusuri provoacă 3,6 milioane episoade de GEA anual [5]. Pînă la implementarea imunizării rotavirale, erau spitalizați mai mult de 2 milioane de copii cu GEA de etiologie rotavirală [6].

Majoritatea copiilor au suportat unul sau câteva episoade de infecție cu rotavirusuri, aceasta fiind prima cauză a diareei severe cu deshidratare la sugari, în lume. În țările cu venituri mici, vârsta medie a infectării primare cu rotavirusuri are loc între 6 și 9 luni (80,0% dintre cazuri apar la sugari sub 1 an), în timp ce în țările cu venituri mari primul episod uneori apare la vârsta de 2-5 ani, cei mai afectați (65,0 % din cazuri) fiind de asemenea la sugari) [3, 4, 7, 10].

Organizația Mondială a Sănătății (OMS) estimează că pînă la apariția vaccinului rotaviral (în anul 2008) au existat aproximativ 453.000 de decese printre copiii cu gastroenterită cauzată de rotavirusuri (GERV) la nivel mondial. Acest indicator a reprezentat aproximativ 5,0% din decesele atestate la copii, cu o rată specifică de mortalitate de 86 de decese la 100.000 de copii sub 5 ani [9]. Circa 90% din decesele cauzate de rotavirus au loc în țările din Africa și Asia, fiind într-o legătură strînsă cu calitatea nesatisfăcătoare a asistenței medicale. La nivel de țară, cea mai mare rată a mortalității specifice variază de la 474/100.000 (Afganistan) pînă la mai puțin de 1/10.000 (63 țări); în 4 țări : Afganistan, Burundi, Somalia și Chad rata mortalității constituie cca 300/100.000 [8].

Într-un raport recent al supravegherii de tip sentinelă a rotavirusurilor de către spitalele a 35 de țări, cele mai importante din cele 6 regiuni cu niveluri economice diferite, se arată că în medie 40,0% din spitalizările cu diaree la copiii cu vârsta < 5 ani au fost cauzate de rotavirusuri [9]. Foarte puține studii descriu epidemiologia GERV în Europa Centrală și de Est. Proporțiile GERV din toate GEA raportate pentru România în ultimul deceniu au variat între 15,0-50,0%, cel mai mare număr de cazuri fiind atestat în lunile ianuarie și mai. Cea mai mare povară a GERV a fost observată la copiii cu vârste cuprinse între 6-12 luni [10, 11].

Infecția cu rotavirusuri este cunoscută și sub denumirea de diaree infantilă (deoarece aproape toți copiii sunt infectați în primii ani de viață), sau diaree de iarnă (deoarece în Statele Unite, boala apare mai des în timpul iernii, totodată lunile cu cea mai mare frecvență sunt noiembrie - mai). Este o boală extrem de contagioasă și imprevizibilă și poate duce la deshidratare severă și chiar la deces. Rotavirusurile sunt endemice la nivel mondial; infecția este asociată cu rate mari de morbiditate în întreaga lume și cu rate mari de mortalitate în țările în curs de dezvoltare. În Statele Unite, infecția cu rotavirusuri este responsabilă pentru aproximativ 3 milioane de cazuri de diaree și aproximativ 55.000 de spitalizări cu diaree și deshidratare la copiii de pînă la 5 ani în fiecare an, deși această boală provoacă relativ puține decese în această țară. În țările în curs de dezvoltare, însă, gastroenterita cauzată de rotavirusuri reprezintă mai mult de 800.000 de decese pe an printre copii, din cauza alimentației deficitare și a îngrijirii defectuoase [7, 12].

Forma severă de infecție cu rotavirusuri se atestă în primii 2 ani de viață, inclusiv peste jumătate din spitalizările legate de rotavirusuri care apar în primul an de viață și 91,0% din spitalizările legate de rotavirusuri depistate pînă la vârsta de 2 ani. Vom menționa că numai 14,0%

din spitalizări au apărut înainte de vârsta de 6 luni. Prin urmare, un program de vaccinare cu doze administrate în primele 16 săptămâni de viață au potențialul de a preveni majoritatea cazurilor severe de rotavirusuri. Studiile demonstrează, de asemenea, că în timp ce în China există variații naturale și temporale ale tulpinilor de rotavirusuri circulante, tulpinile locale predominante sunt aceleași cu cele care sunt dominante la nivel global [13, 14].

Rețeaua de supraveghere EuroRotaNet (European Rotavirus Network) a fost inițiată în 2007 și cuprinde 16 țări: Austria, Belgia, Bulgaria, Danemarca, Finlanda, Franța, Germania, Grecia, Ungaria, Italia, Lituania, Olanda, Slovenia, Spania, Suedia și Regatul Unit [15, 28]. Obiectivele acestui proiect: dezvoltarea metodelor și elaborarea algoritmilor pentru testarea eficientă a rotavirusurilor G și P; descrierea detaliată a epidemiologiei moleculare a infecțiilor cu rotavirusuri în Europa; monitorizarea eficacității metodelor de genotipare actuale și supravegherea schimbărilor evolutive asociate cu modificările genetice; monitorizarea apariției și răspândirii a noi tulpini de rotavirusuri în Europa [28].

Conform acestei rețele de supraveghere, în Europa circulă o diversitate foarte vastă de tulpini de rotavirusuri. Dacă până în 2014-2015 genotipul G1 P[8] a fost cel mai răspândit în acest teritoriu, atunci în 2016-2017 a scăzut prevalența acestuia. În perioada 2016-2017, G2 P[4] a fost tipul de rotavirusuri predominant (35,0%), dar și cel mai frecvent detectat în 4 țări din cele 16 supravegheate [16, 28].

În Finlanda, declinul tulpinilor G1 P[8] nu a fost însoțit de înlocuirea lui cu un alt tip, dar cu o diversitate mai mare de tulpini în general. În Spania și Germania, în anul 2016, cea mai mică rată de tulpini întâlnite a avut G3 P[8] [15].

În țara noastră informații similare sunt absente, ceea ce a și generat necesitatea realizării acestui studiu.

2. MATERIAL ȘI METODE DE CERCETARE

Pentru realizarea scopului și obiectivelor ce ne-am propus, am realizat un studiu analitic de cohortă prospectiv. El se bazează pe investigarea unui grup mare de pacienți cu infecție cu rotavirusuri pe parcursul aflării lor în staționar. Supravegherea pacienților incluși în studiu s-a realizat în diferite perioade de timp, criteriu specific pentru cercetările numite „observaționale prospective” și de importanță în analiza metodelor de diagnostic și tratament [17].

Studiul de cohortă prospectiv s-a efectuat în perioada anilor 2012– 2016 și a cuprins 193 copii cu vârsta de până la 1 an cu infecție rotavirală, care au urmat tratament în secția Boli diareice acute, din cadrul IMSP Spitalul Clinic Municipal de Copii nr 1. Ei au fost divizați în lotul de bază - 72 copii cu infecție cu rotavirusuri vaccinați, și lotul martor, constituit din 121 copii cu infecție cu rotavirusuri nevaccinați vs specificul genotipului și fenotipului rotavirusurilor.

Studiul clinic a fost efectuat în cadrul proiectului multicentric demarat de Misiunea Regională a OMS din Republica Moldova, fiind parte a datelor Organizației Mondiale a Sănătății referitor la genotipare și fenotipare IRV la sugari.

În cadrul studiului au fost respectate regulile de internare conform Hotărârii Guvernului Republicii Moldova (Ordinul Ministerului Sănătății nr. 232 din 20.06.2008 și a ordinului nr. 985 din 19.12.2011 cu privire la implementarea sistemului de supraveghere epidemiologică sentinelă la infecția cu rotavirusuri în Republica Moldova), în cadrul proiectului național de implementare asistemului de supraveghere sentinelă în infecția cu rotavirusuri la copiii sugari. Documentația medicală, în sine, a cuprins evaluarea datelor anamnestice, antecedentelor personale, examenul

clinic, rezultatele analizelor de laborator biochimice, bacteriologice, examinări virusologice, imunoenzimatice și de biologie moleculară [18].

Supravegherea copiilor cu diaree acută s-a realizat conform ordinului MS și protocolului instituțional al SCMC nr. 1, „Boala diareică acută la sugari”. Luând în considerare particularitățile de vârstă ale sistemului imun, accentul în cercetare s-a pus pe copiii sugari, deoarece anume la acest grup de vârstă infecția cu rotavirusuri creează complicații grave [18, 19].

Eșantionul probabil (193 sugari cu infecție cu rotavirusuri) supus cercetării a inclus un număr ce depășea cel necesar investigării, ceea ce influențează pozitiv credibilitatea rezultatelor obținute. Studiul de cohortă este un studiu în care populația investigată este alcătuită din persoane care sunt clasificate ca expuse sau neexpuse la un anumit factor (grupuri de comparare). În elaborarea studiului de cohortă, se cere să expunem clar ipoteza de cercetare și să specificăm relația care se așteaptă să se stabilească între grupurile expuse și problema de sănătate analizată. Astfel, au fost create două loturi de studiu: lotul de bază și lotul martor (control), în funcție de statutul vaccinal al sugariilor [17, 18],.

Numărul necesar de pacienți cu infecție cu rotavirusuri s-a calculat în baza formulei respective [17, 20]:

$$n = \frac{1}{(1-f)} \times \frac{2(Z_{\alpha} + Z_{\beta})^2 \times P(1-P)}{(P_0 - P_1)^2}$$
$$n = \frac{1}{(1-0.1)} \times \frac{2(1.96 + 0.84)^2 \times 0.625 \times 0.375}{(0.50 - 0.75)^2} = 65$$

unde:

P_0 = Conform datelor bibliografice [21] reușita tratamentului la pacienții cu infecție cu rotavirusuri nevaccinați constituie în mediu 50.0% ($P_0=0.50$).

P_1 = În lotul de cercetare pacienți cu infecție cu rotavirusuri vaccinați, reușita tratamentului va fi de 75.0% ($P_1=0.75$)

$P = (P_0 + P_1)/2 = 0.625$

Z_{α} – valoarea tabelară. Când semnificația statistică este de 95.0%, atunci coeficientul $Z_{\alpha} = 1.96$

Z_{β} – valoarea tabelară. Când puterea statistică a comparației este de 80.0%, atunci coeficientul $Z_{\beta} = 0.84$

f = Proporția subiecților care se așteaptă să abandoneze studiului din motive diferite de efectul investigat $q = 1/(1-f)$, $f=10,0\%$ (0,1).

Așadar, lotul de cercetare L_1 va fi compus din cel puțin de 65 pacienți cu infecție cu rotavirusuri vaccinați și lotul de control L_0 va include nu mai puțin de 65 pacienți cu infecție cu rotavirusuri nevaccinați.

În urma determinării statutului vaccinal al fiecărui pacient, grupul de studiu a fost divizat în lotul de bază, care a inclus 72 de sugari cu infecție cu rotavirusuri vaccinați, și lotul martor, constituit din 121 de sugari cu infecție cu rotavirusuri nevaccinați.

Criteriile de includere în studiu au fost stabilite conform cazului cadru inclus în protocolul de supraveghere a GEARV la copii (OMS 2012) [19]:

1. Acordul informat din partea părintelui sau a reprezentantului legal al pacientului.
2. Vârsta cuprinsă între 2 și 12 luni.
3. Diaree cu minim 3 scaune în ultimele 24 de ore, dar nu mai mult de 7 zile.
4. Pacienți examinați în primele 24 de ore de la internare.

Criterii de excludere a pacienților din cercetare au fost:

1. Pacienți cu infecție cu rotavirusuri cu comorbidități severe.
2. Lipsa acordului informat din partea reprezentantului legal al copilului.
3. Pacienți mai mici de 2 luni și mai mari de 12 luni.
4. Pacienți cu diaree mai puțin de 3 scaune lichide în ultimele 24 de ore.

Copiii din lotul martor, aveau vârsta medie de $7,2 \pm 2,91$ luni, dintre care 71,9% erau băieți și 28,1% fete. Vârsta medie a copiilor din lotul de bază era de $6,8 \pm 2,79$ luni, dintre care 51,2% erau de băieți și 48,6% fete.

Pentru evaluarea interrelațiilor IRV loturile au fost ulterior analizate după sex și vârsta copiilor. În ambele loturi de studiu prevalează copii de sex masculin. Din cei 121 de copii din lotul martor cu infecție cu rotavirusuri nevaccinați, băieții au constituit 71,9% și fetele 28,0%. În lotul de bază (72 copii) proporția era diferită: cu infecție cu rotavirusuri vaccinați au fost diagnosticați 51,3% pacienți de sex masculin și 48,6% de sex feminin.

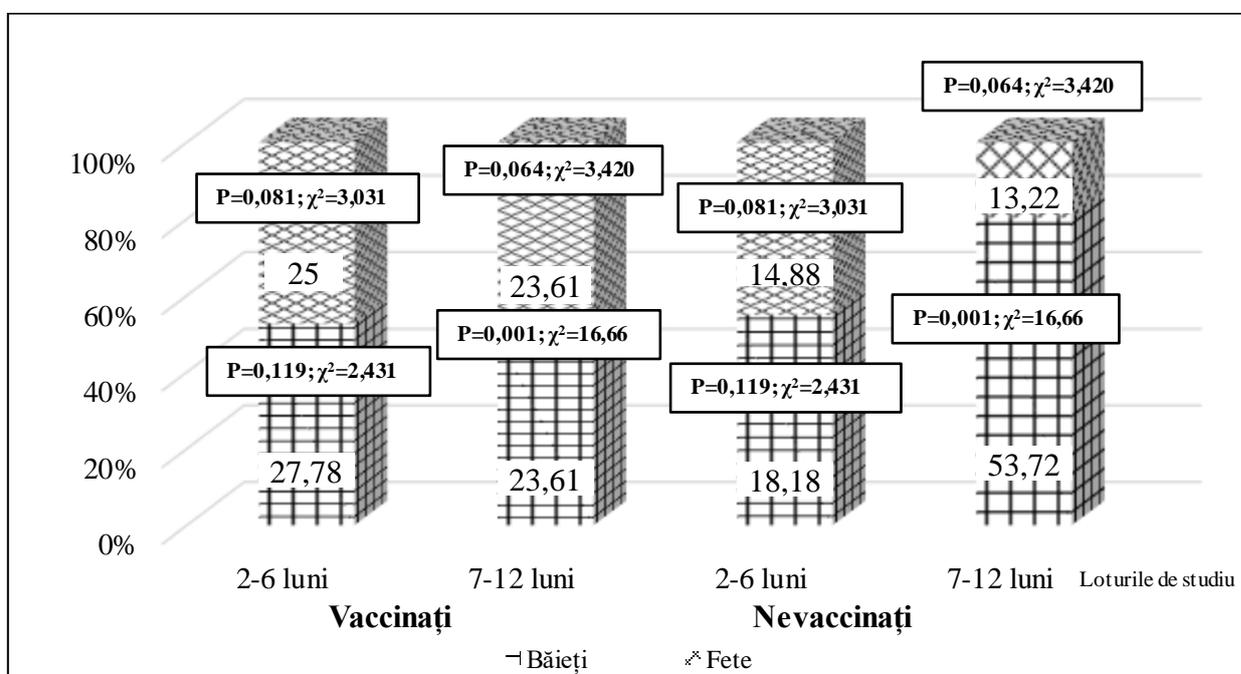


Figura 1. Repartizarea copiilor din ambele loturi conform vârstei și sexului

Remarcăm faptul că, în lotul martor, numărul băieților a depășit numărul de fete, constituind 71,9% vs 28,0% ($p=0,004, \chi^2=8,23$), iar în lotul de bază diferența de sex a constituit doar 2,7%, de asemenea, în favoarea băieților.

Conform divizării pe vârste, sugarii din ambele loturi au fost împărțiți în grupuri de la 2 luni până la 6 luni și de la 7 la 12 luni. În lotul martor predomină copiii mai mari de 6 luni, cu 66,9%, față de cei până la 6 luni, care constituie 33,0%. În lotul de bază un procent mai mare au constituit copiii sub 6 luni - 52,7%, față de cei peste 6 luni cu 47,2%.

Schema de vaccinare constă în administrarea a două doze de vaccin, a câte 1,5 ml soluție. Prima doză se administrează începând cu vârsta de 6 - 8 săptămâni de viață a copilului. Între doze trebuie să existe un interval de cel puțin 4 săptămâni. Este de preferat ca schema de vaccinare să fie administrată înainte de vârsta de 16 săptămâni, dar trebuie finalizată înainte de vârsta de 24 săptămâni. Rotarix se administrează numai pe cale orală.

3. PARTICULARITĂȚILE CLINICO-EPIDEMIOLOGICE ȘI PARACLINICE ÎN INFECȚIA CU ROTAVIRUSURI LA SUGARI

Aspecte epidemiologice ale infecției cu rotavirusuri la sugari în Republica Moldova.

Sezonalitatea IRV în Republica Moldova a atins punctul maxim în lunile reci ale anului, astfel, în februarie pe perioada anilor 2012-2016, frecvența bolii a constituit 22,3% în lotul de bază și 22,2% în lotul martor. În lunile ianuarie, februarie, martie s-a atestat o frecvență între de cca 19,8, 22,3 și 21,4%, în aprilie și mai, constituind un procent mai mic 9,9 și 9,0% din totalul copiilor din lotul martor. Numărul minim de îmbolnăviri cu IRV la copii s-a atestat în perioada de vară (0 - 2,5%).

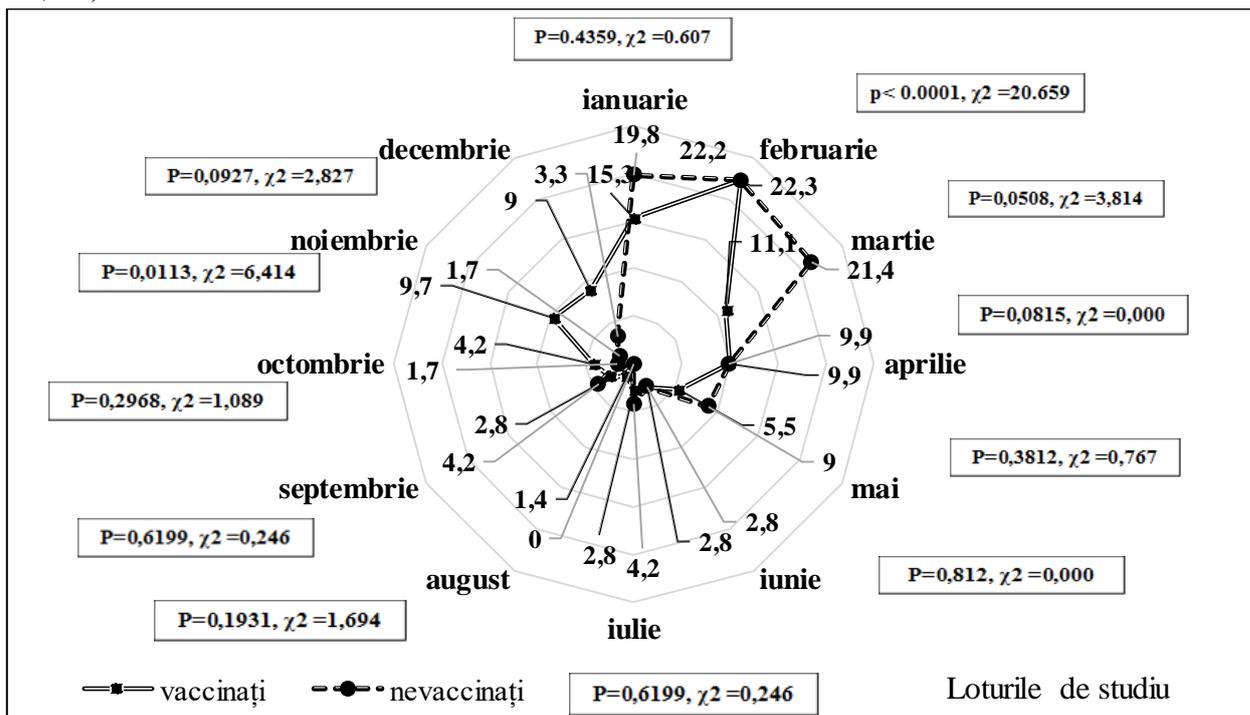


Figura 2. Distribuția sezonieră a infecției rotavirale (%)

În lotul de bază infecția cu rotavirusuri și-a păstrat aceeași sezonalitate, cu limitele maxime atinse în lunile reci, ianuarie și februarie, atingând 15,3%, respectiv, 22,2%, noiembrie, decembrie – 9,7% și 9,0%. Vara IRV a fost depistată cu o frecvență între 1,4% și 2,8%.

În zonele cu climă continentală, infecția cu rotavirusuri apare mai frecvent în anotimpul rece. În Republica Moldova, maximele morbidității și toate izbucnirile de IRV au fost înregistrate în lunile octombrie – mai. În tropice, indiferent de sezon, odată cu scăderea temperaturii, frecvența cazurilor de IRV crește [18].

Aspecte clinice ale infecției cu rotavirusuri la sugari

Starea gravă a copiilor în momentul internării a fost determinată de prezența vomelor repetate, scaunelor lichide frecvente și a febrei înalte, ceea ce conduce foarte rapid la deshidratare, în special în cazul sugarilor. În momentul internării predomină semnele clinice de afectare a sistemului gastrointestinal. Astfel, pacienții nevaccinați au prezentat în 49,0% cazuri greață, comparativ cu cei vaccinați, la care greața s-a depistat în 16,0% (figura 3).

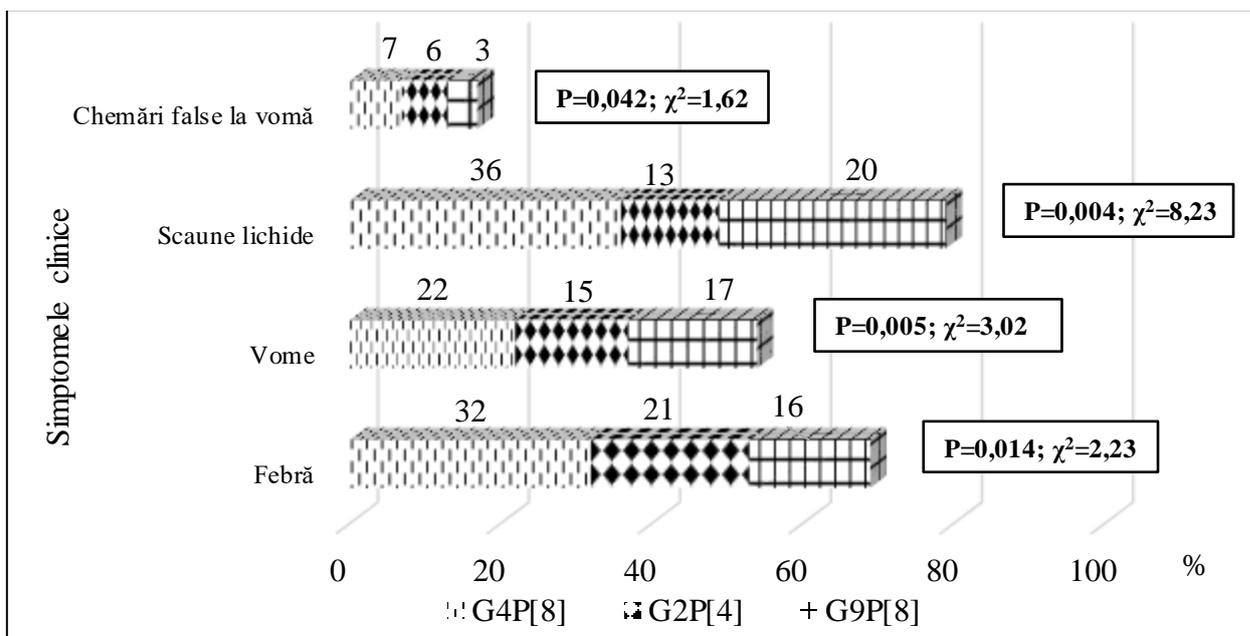


Figura 3. Frecvența manifestărilor clinice în funcție de genotipurile virusului la copiii vaccinați

Voma s-a constatat în 62,0% cazuri la copiii nevaccinați vs 54,0% la cei vaccinați. În lotul martor, febra și scaunele lichide, ca și celelalte simptome, au avut o frecvență mai înaltă, comparativ cu copiii din lotul de bază, cu aproximativ 10,0-15,0%.

Diversitatea particularităților clinice condiționează tergiversarea diagnosticului etiologic al gastroenteritei, care poate fi atât virală, cât și bacteriană, precum și mixtă.

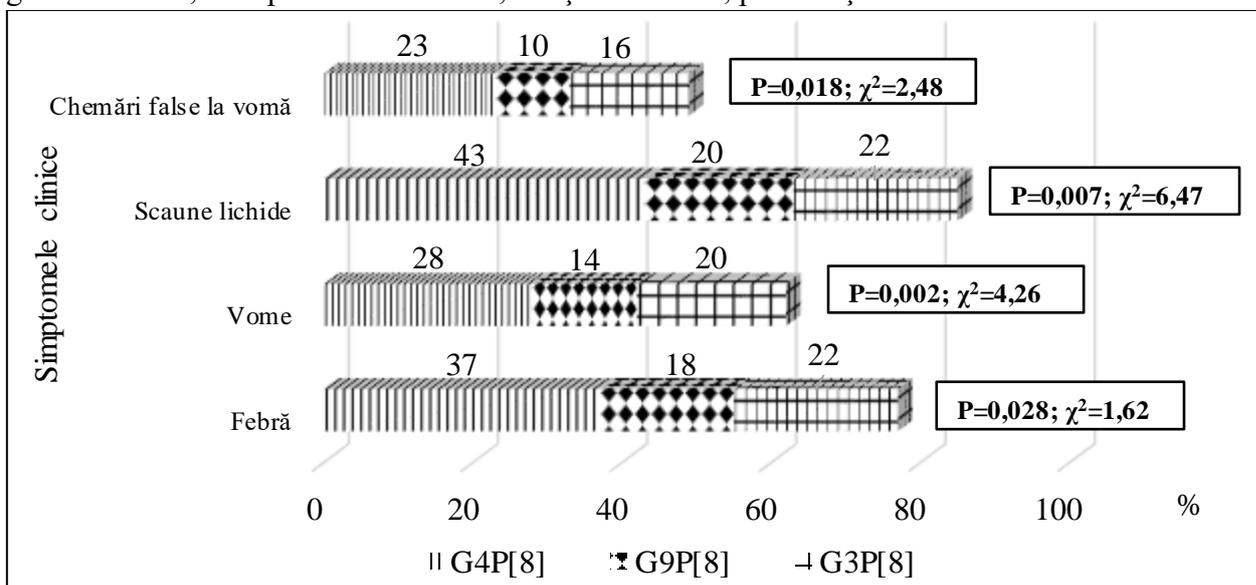


Figura 4. Frecvența manifestărilor clinice în funcție de genotipurile virusului la copiii nevaccinați

Deshidratarea a avut o frecvență destul de mare, în special în lotul de control. Astfel, conform diagnosticului clinic de bază stabilit, infecția cu rotavirusuri a decurs mai complicat la copiii nevaccinați. În lotul de control, 46,4% copii au avut GEA cu deshidratare moderată vs 23,6% vaccinați ($\chi^2= 9.91$, $P = 0.0016$). Deshidratarea severă s-a constatat de 4 ori mai frecvent, față de grupul de bază, constituind 4,1% cazuri la nevaccinați, comparativ cu 1,4% la cei vaccinați ($\chi^2=1.09$, $P = 0.2960$). Enterita acută manifestată prin deshidratare moderată a constituit 5,6% la

copiii vaccinați, depășind cu 2,3% cazurile întâlnite în lotul de bază. Indicii bolii diareice acute de etiologie rotavirală după diagnosticul de bază sunt redați în figura 5.

La debutul bolii copii cu 12 vome s-au atestat numai în lotul celor nevaccinați (1,4%) versus absența cazurilor de vomă în grupul copiilor vaccinați. Cei cu 8 vome la debut au avut o incidență de 6 ori mai mare, comparativ cu grupul de lucru (12,0% față de 2,6%).

În lotul de bază, 28,0% copii au avut câte 3 vome, pe când în lotul martor s-a atestat un debut mai grav, acuzând în medie câte 4 vome – 26,7%, indicele maxim 12 vome.

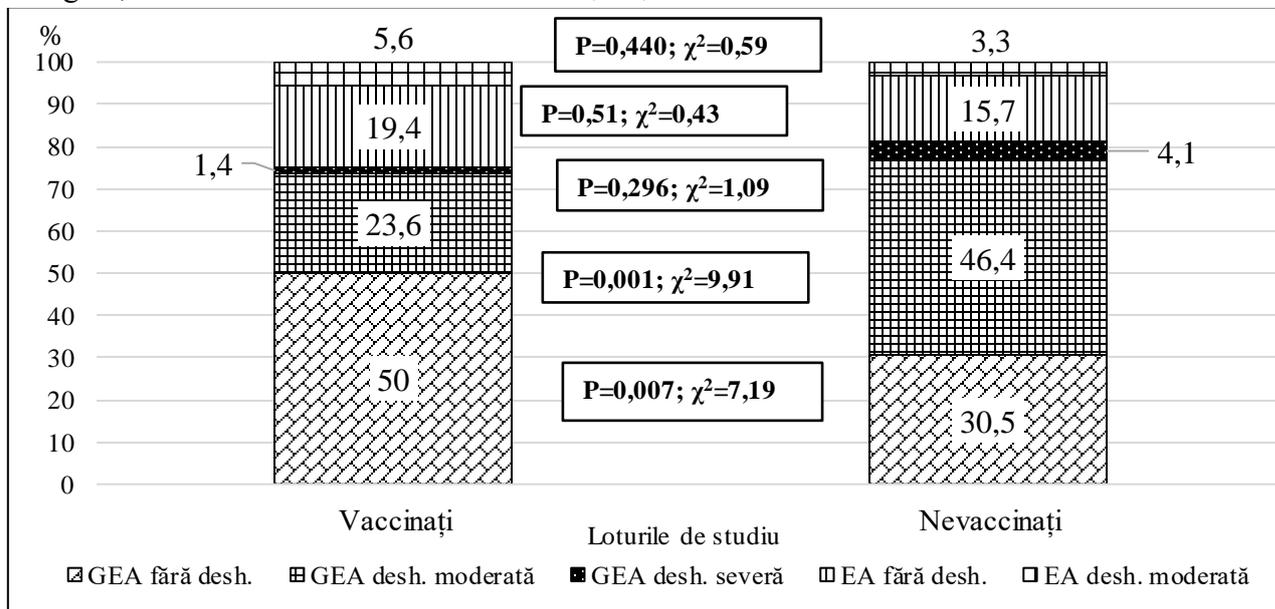


Figura 5. Distribuția cazurilor de boală diareică acută cauzată de rotavirusuri după diagnosticul clinic

IRV la sugarii din loturile de studiu s-a manifestat prin febră mare, vome și diaree, dureri abdominale, inapetență. Prezența scaunului lichid a fost diagnosticată în 100% cazuri în ambele loturi, iar voma s-a întâlnit mai frecvent la copiii nevaccinați, cu o incidență de 80,0%, comparativ cu cei vaccinați, unde s-a constatat în 69,4% cazuri. Febra a fost un simptom comun, fiind prezentă cu valorisimilare în ambele loturi (76,9% - la pacienții nevaccinați față de 75,0% la cei vaccinați). Durerea abdominală s-a depistat la toți pacienții nevaccinați. La copiii vaccinați, durerea abdominală diagnosticat în 2/3 din cazuri. În ceea ce privește caracterul diareei, scaunele apoase erau dominante, constituind 95,0% la nevaccinați și 83,3% la copiii vaccinați. Scaune semilichide în lotul de control și cel de bază a avut cote nesemnificative de pacienți (2,5% față de 16,7%) și doar în 2,5% cazuri la copiii nevaccinați s-a constatat scaun lichid spumos. Caracteristica clinică a loturilor de studiu este expusă în figura 6.

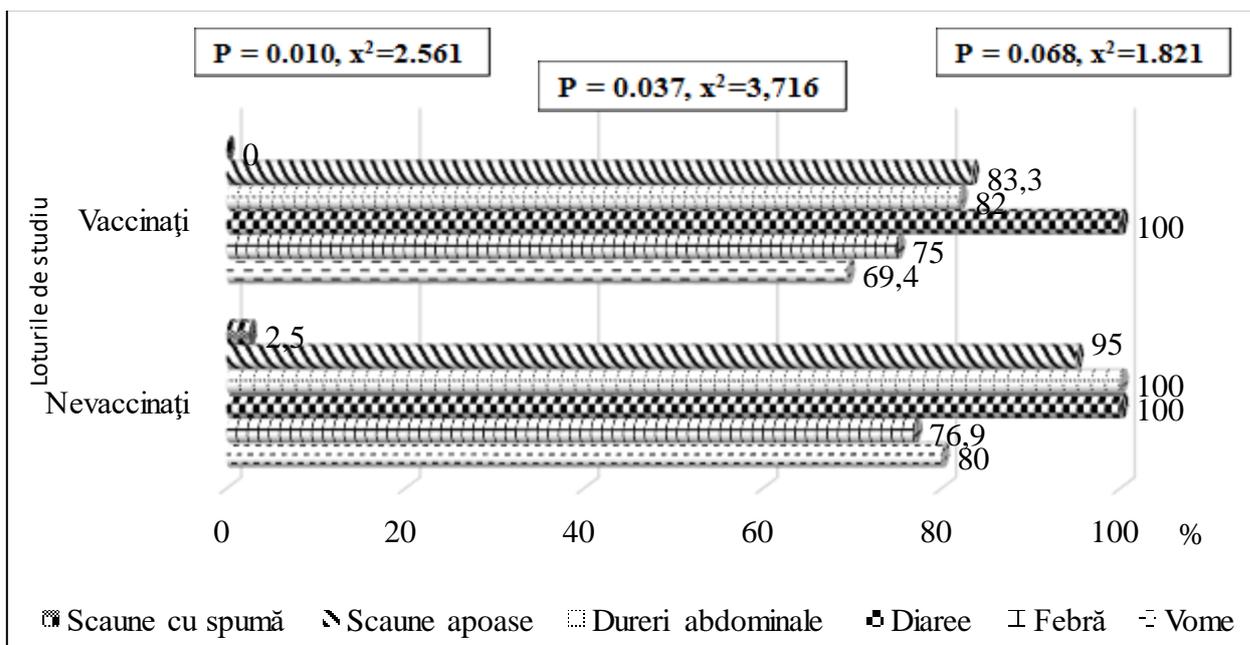


Figura 6. Caracteristica clinică a loturilor de studiu

Sistemul Vesikari [19] de evaluare a gravității clinice a infecției cu rotavirusuri este recunoscut, în prezent, ca fiind cel mai exact sistem pentru utilizare în studiul rotavirusurilor în regiunile evaluate. În plus, acest sistem este o măsură compusă care ține cont de manifestările clinice ale rotavirusului în scopul identificării episoadelor grave. Sistemul include șapte parametri, care cuprind simptomele esențiale: diaree, vomă, febră, deshidratare, durata diareei și a vomei, rehidratarea. Scorul Vesikari prevede trei grade de deshidratare drept unul dintre parametri. Utilizarea scorului Vesikari pentru stabilirea gravității evoluției infecției rotavirusale la sugarii din studiu [19] (tabelul 1).

Tabelul 1. Severitatea tabloului clinic în IRV la sugarii investigați conform scorului Vesikari

Parametri	Nevaccinați		Vaccinați		Nevaccinați		Vaccinați	
Nr. de scaune/zi	0	1-3	0	4-5	≥6			
	-	24	8	-	33	15	64	49
Durata diareei (zile)	0	1-4		0	5		≥6	
	-	77	38	-	33	27	11	7
Nr. de vome/zi	0	1		0	2-4		≥5	
	33	19	11	40	42	18	20	10
Durata vomei (zile)	0	1		0	2		≥3	
	33	46	24	40	20	10	15	6
Febra (°C)	0	37,1-38,4		0	38,5-38,9		≥39	
	28	65	31	33	14	7	9	6
Gr. de deshidratare	0	ușor		0	mediu		sever	
	31	56	20	-	61	20	4	1
Rehidratarea parenterală (ore)	0	24 ore		0	48 ore		≥72 ore	
	29	20	18	35	31	15	35	10

Din tabelele 1 și 2 se observă o diferență mare a indicilor obținuți în lotul de bază și în lotul de control, atestându-se o evoluție mai gravă a simptomelor la copiii nevaccinați. Astfel, conform scorului Vesikari, un scor înalt de severitate au acumulat 35,0% dintre copiii nevaccinați vs 13,0% de copii vaccinați. Un scor mediu de severitate a fost apreciat la 45,0% copii din lotul de control și 34,0% copii din lotul de bază. Iar un grad ușor de evoluție s-a atestat la mai mult de jumătate (53,0%) dintre copiii primului lot, comparativ cu 20,0% copii din lotul II. Rezultatele acestui scor demonstrează faptul că la copiii nevaccinați infecția cu rotavirusuri a decurs sever (35,0%) de 2,6 ori mai frecvent decât la copiii vaccinați (13,0%).

Tabel 2. **Rezultatele scorului Vesikari**

Scorul Vesikari	<7	7-10	>11	X ²	P
Nevaccinați	24(20,0 %)	55(45,0 %)	42(35,0 %)	3,503	0,002
Vaccinați	38(53,0 %)	24(34,0 %)	10(13,0 %)	2,932	0,071

Durata maximă a spitalizării pacienților incluși în studiu a fost 10 zile, constituind 5,0% în lotul martor vs 4,2% în lotul de bază, 9 zile au necesitat tratament în staționar 6,6% din copiii nevaccinați, și de 2 ori mai puțin - 5,5% copii vaccinați. Aceeași relație s-a atestat și privind durata de tratament de 8 zile, ea constituind 9,7% în lotul I și 11,6% în lotul II. O diferență mai semnificativă la acest parametru s-a constatat la copiii care s-au aflat în staționar doar 4 zile (8,3% vaccinați vs 1,7% nevaccinați).

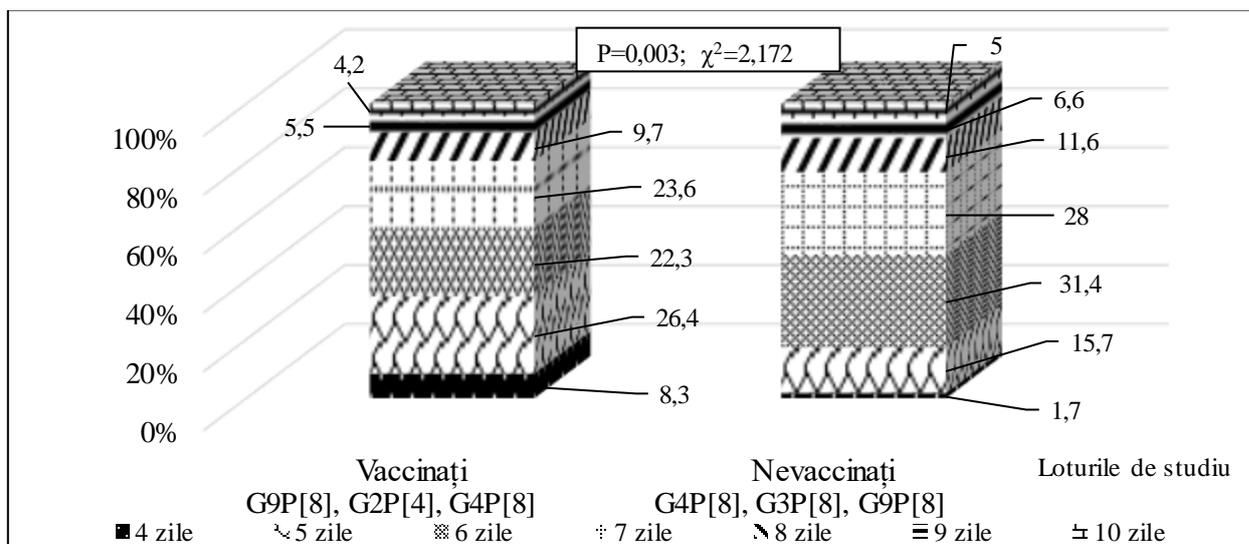


Figura 7. **Indicii severității infecției cu rotavirusuri în raport cu durata spitalizării în ambele loturi de studiu**

Criteriile clinico-paraclinice de gravitate în infecția cu rotavirusuri la copiii sugari:

Gravitate medie – starea generală bună, absența ochilor înfundați, bea bine, plica cutanată revine la normal până la 2 secunde, scorul Vesicari mai mic de 7 puncte, echilibrul acido-bazic denotă modificări nesemnificative (pH-ul=7,35-7,4, lacuna anionică ≤ mEq/l).

Severă – starea generală alterată, copil agitat, neliniștit, irascibil, ochi înfundați, bea cu lăcomie, sete, plica cutanată revine la normal lent (mai mult de 2 sec.), Scorul Vesicari este 7-11 puncte, modificări semnificative ale echilibrului acido-bazic (pH-ul ≤7,35, Lacuna anionică ≥ 12 mEq/l, HCO₃⁻ <22 mmol/l).

Foarte severă – starea generală gravă, copil letargic sau fără conștiință, ochi înfundați, nu poate bea sau bea cu dificultate, plica cutanată revine la normal foarte lent (mult peste 2 sec.), Scorul Vesicari este mai mare de 11 puncte, modificări considerabile ale echilibrului acido-bazic (pH-ul <7,35, BE depășește -2 mmol/l, lacuna anionică > 16 mEq/l, HCO₃⁻ <22 mmol/l, cationii și anionii constituie valori deviate de la normă).

Structura comorbidităților în loturile de studiu a fost destul de variată. În majoritatea cazurilor pacienții prezentau patologia sistemului respirator: afectarea căilor respiratorii superioare și inferioare (laringotraheite, bronșite acute simple, bronșite acute obstructive, pneumonii, bronhopneumonii) (figura 8). În lotul de control patologii respiratorii s-au atestat în 61,1% cazuri, iar în cel de bază 52,7% cazuri.

Afecțiuni ale sistemului gastrointestinal s-au constatat 57,8% cazuri la copiii nevaccinați și în 37,5% la cei vaccinați. Au fost frecvent diagnosticate și dereglări metabolice, preponderent în lotul martor - de 1,4 ori (38,8%) mai mult decât la copiii din lotul de bază – constituind 27,7% cazuri.

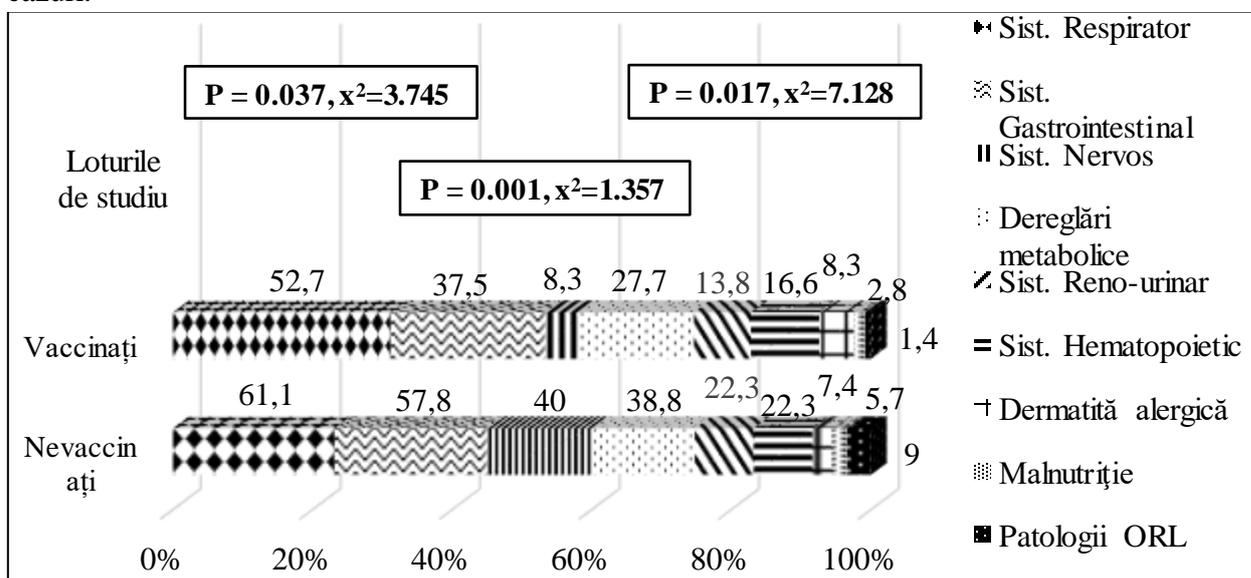


Figura 8. Structura comorbidităților în infecția cu rotavirusuri la pacienții investigați

Afectarea sistemului nervos central în infecția cu rotavirusuri la copiii nevaccinați a fost determinată în 40,0% cazuri ($p=0,001, \chi^2=1,357$), manifestându-se prin convulsii febrile, encefalopatii toxiinfecțioase, encefalopatii hipoxiischemice, ceea ce reprezintă o creștere de 4 ori mai mult față de copiii vaccinați (8,3%).

Boli ale sistemul renourinar (infecții urinare) și tulburări hematopoietice (în special anemii) s-au depistat aproape în număr egal la pacienții cu infecție cu rotavirusuri. Astfel, la copiii nevaccinați incidența în patologia renourinară și cea hematopoietică la copiii cu durata de spitalizare de 10 zile, a constituit 22,3%, fiind manifestată prin anemie postinfecțioasă, pe când la copiii vaccinați aceste afecțiuni aveau o frecvență de 13,8% și 16,6% cazuri ($p=0,037, \chi^2=3,745$).

Mult mai rar s-au depistat: dermatita alergică - 8,3% vs 7,4%, malnutriția - 2,8% vs 5,7 %, și patologii ORL (otorinolaringologice) – 1,4% vs 9,0% ($p=0,017, \chi^2=7,128$).

Caracteristica modificărilor paraclinice și a particularităților imagistice

Modificările hematologice la copiii cu infecție cu rotavirusuri au fost studiate prin efectuarea hemoleucogramei cu aprecierea nivelului hemoglobinei, al leucocitelor și vitezei de sedimentare a hematiilor (VSH) în perioada de manifestări clinice ale infecției gastrointestinale.

Cu ajutorul hemoleucogramei, prin aprecierea nivelului hemoglobinei și al eritrocitelor, s-a determinat prezența anemiei carentiale ($Hb < 110$ g/l) de 1,4 ori mai frecvent (27,3%) în lotul copiilor nevaccinați, comparativ cu lotul de bază, unde cazurile de anemie au constituit 19,4% ($p=0,004$, $\chi^2=1,253$). Acest fapt denotă o evoluție a infecției rotvirale mult mai severă în lotul martor, cu pierderi mari de componente nutritive necesare sugarilor și/sau o absorbție precară a acestora.

În grupul copiilor nevaccinați, nivelul mediu al hemoglobinei a constituit $118,54 \pm 1,07$ g/l, numărul eritrocitelor $4,22 \pm 0,14 \times 10^{12}/l$. În grupul copiilor vaccinați, nivelul mediu al hemoglobinei a constituit $120,25 \pm 1,43$ g/l și al eritrocitelor $4,0 \times 10^{12}/l$ ($p > 0,05$).

Nivel crescut de leucocite ($> 15 \times 10^9/l$) la copiii nevaccinați s-a constatat în 8,3% cazuri, iar la cei vaccinați – în 5,5% cazuri. Acest fapt denotă asocierea unui proces infecțios bacterian cu o frecvență mai mare în lotul de control ($p=0,014$, $\chi^2=2,781$).

Viteza de sedimentare a hematiilor (VSH) a atins valori maxime printre copiii nevaccinați, constituind 50 mm/h, pe când la cei vaccinați maxima a fost 44 mm/h. VSH-ul argumentează amploarea procesului inflamator patologic, fapt confirmat de datele clinice ale severității și complexității cazurilor cercetate.

În grupul copiilor nevaccinați, numărul mediu al leucocitelor în hemoleucogramă a constituit $7,47 \pm 0,82 \times 10^9/l$, totodată la copiii vaccinați acest parametru nu a prezentat diferențe semnificative – $7,8 \pm 1,24 \times 10^9/l$ ($P > 0,05$). În ambele loturi de studiu, atât la copiii nevaccinați, cât și la cei vaccinați, nivelul leucocitelor erau în limitele normei.

Examenul sumar al urinei a evidențiat la copiii nevaccinați leucociturie, atingând valoarea maximă 500, în medie – $170,7 \pm 3,3$. La sugarii vaccinați valoarea medie a leucocituriei a constituit $70,3 \pm 2,5$. Analiza generală de urină a evidențiat de asemenea corpi cetonici (acetonurie) ceea ce ne denotă prezența dereglărilor metabolice. În lotul martor o acetonurie marcantă (150 mg/dl) s-a depistat de 1,7 ori mai rar decât în lotul de bază, ea constituind 0,8% cazuri vs 1,4% în lotul de bază ($p=0,682$, $\chi^2=1,164$). O valoare de 15 mg/dl s-a depistat de 1,4 ori mai frecvent (19,8%) la copiii nevaccinați comparativ cu 13,8% cazuri la cei vaccinați ($p=0,295$, $\chi^2=1,115$).

Apariția cetonuriei este rezultatul acumulării excesive a corpiilor cetonici în organism, ei fiind eliminați cu urina. Cetoacidoza nondiabetică apare atunci, când organismul consumă rezervele de energie provenite din arderea grăsimilor, în loc de glucoză, care este de obicei sursa de energie obișnuită. Cetoacidoza denotă o afectare a pancreasului care poate apărea în urma suportării gastroenterocolitei [19, 20]. Dereglările metabolice manifestate prin cetonurie la pacienții cu infecție cu rotavirusuri sunt expuse în figura 9.

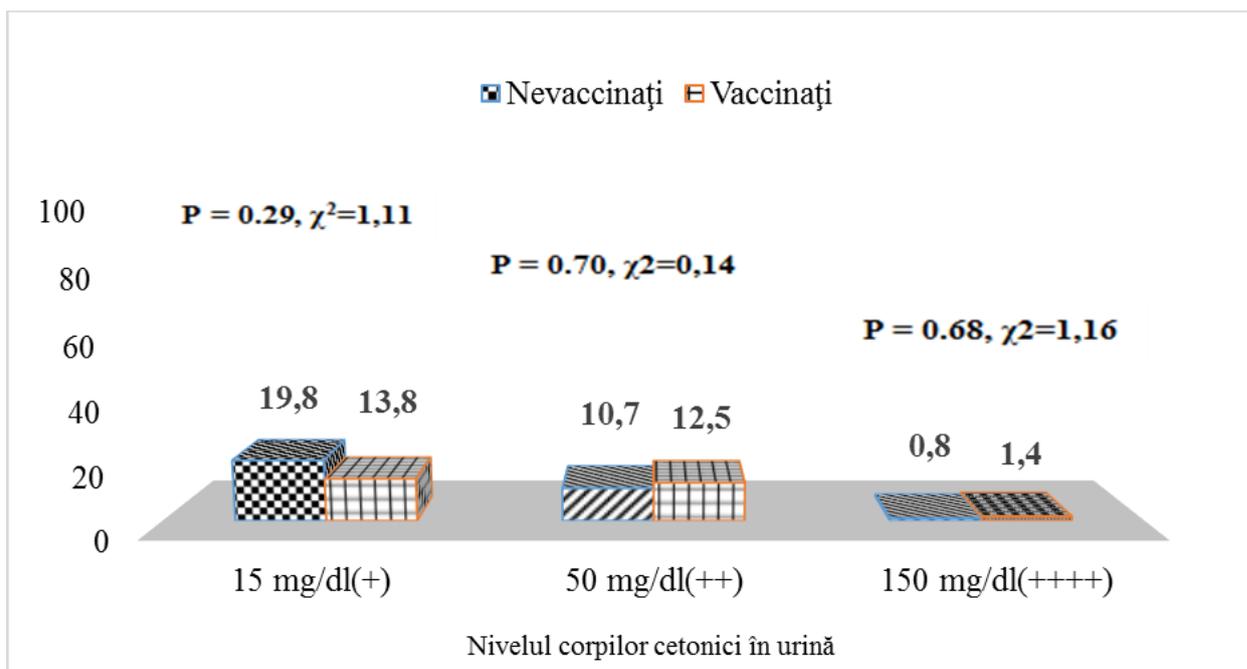


Figura 9. Distribuția cazurilor de acetonurie în funcție de statutul vaccinal al pacienților cu diaree cauzată de rotavirusuri

Cetoacidoza pronunțată a fost semnificativ mai frecventă la pacienții vaccinați, în timp ce la copiii nevaccinați a predominat o acetonurie nesemnificativă.

Probele biochimice efectuate la copiii cu infecție cu rotavirusuri au relevat o creștere ușoară a nivelului mediu al ALT, în special la sugarii nevaccinați – de $38 \pm 0,89$ U/L (N=33 U/L) vs $31,63 \pm 1,90$ U/L (N=33 U/L) la cei vaccinați. De asemenea, a fost înregistrat un nivel mediu de calciu scăzut de $2,00 \pm 0,02$ mmol/l (N = 2,20-2,60 mmol/l) în ambele loturi. Indicele glucozei a avut o medie ușor scăzută la copiii nevaccinați, constituind $3,38 \pm 0,18$ vs $4,67 \pm 0,42$ sugarii vaccinați.

Din cauza duratei scurte de spitalizare, nivelul proteinei generale a suferit schimbări nesemnificative, constituind 59,9 g/l vs 60,53 g/l), iar calciul a avut valori medii egale în ambele loturi, fiind mai mici de limita de jos a normei.

Analizând rezultatele testelor biochimice ale sângelui la copiii din studiu, am constatat că în lotul de control mai mult de jumătate din copii (57,8%) au avut transaminazele hepatice crescute, ceea ce denotă o afectare tranzitorie a ficatului, ca rezultat al complicațiilor asociate infecției cu rotavirusuri (sindrom de intoxicație, de deshidratare), comparativ cu lotul de bază, unde enzimele hepatice au crescut în 37,5% cazuri.

Printr-o analiză mai amplă a corelației dintre diagnosticul clinic al pacienților cu infecție cu rotavirusuri și creșterea transaminazelor hepatice am constatat că 57,0% au avut dereglări metabolice, 52,5% - patologii ale sistemului respirator. Indici aproximativ egali au prezentat copiii cu patologii ale sistemului hematopoietic (28,5%), patologii ale sistemului renourinar (25,7%) și tulburări ale sistemului nervos. O incidență scăzută printre copiii cu transaminazele hepatice crescute au avut pacienții cu otită (8,4%), dermatită alergică și malnutriție (câte 4,2%).

Toți copiii la care s-a constatat creșterea nivelului transaminazelor hepatice au fost investigați, prin teste serologice specifice la infecția cu citomegalovirus, herpes, la hepatitele virale B, C. Probabilitatea acestor infecții a fost exclusă. Astfel, din cei 27 copii vaccinați, la 24 (88,8%)

au fost excluse infecția cu CMV, cu herpes și hepatitele virale. Doar la trei copii infecția CMV a fost prezentă.

Printre cei 70 de copii nevaccinați, cu valori crescute ale transaminazelor hepatice, la 65 copii (92,8%) au fost excluse infecțiile CMV, herpesul și hepatitele. La 2 copii s-a confirmat prezența CMV, la un copil - CMV și herpesul, 1 copil – herpesul și un copil - hepatita virală B.

Creșterea transaminazelor în studiul nostru a corelat cu deshidratarea și cu dereglările electrolitice. Concluzia a fost că indici crescuți ai transaminazelor sunt patognomici pentru pacienți spitalizați cu gastroenterită rotavirală cu evoluție de gravitate medie și severă, complicată cu sindrom de deshidratare acută și sindrom toxiinfecțios.

Pentru aprecierea modificărilor organelor interne legate de evoluția gravă a infecției rotavirale copiilor incluși în studiu li s-a efectuat ultrasonografia organelor abdominale și a rinichilor. Analiza statistică a rezultatelor obținute a evidențiat unele diferențe între loturile studiate.

Așadar, în lotul de control hepatomegalia s-a întâlnit cu o frecvență de 18,1%, comparativ cu 16,0% în lotul de bază ($p=0,023$, $\chi^2=0,452$). De aproximativ 4 ori mai frecvent s-au constatat schimbări reactive în ficat la copiii nevaccinați decât la cei vaccinați - 5,0% vs 1,3% ($p=0,201$, $\chi^2=0,391$). Numărul de cazuri depistate primar cu deformarea vezicii biliare la copiii din lotul de control s-a dublat versus cei din lotul de bază, constituind 5,7% și, respectiv, 2,6% cazuri ($p=0,297$, $\chi^2=0,621$).

Valori aproximativ egale în ambele loturi de studiu aveau schimbările reactive în pancreas - 13,8% vs 14,0% ($p=0,038$, $\chi^2=1,280$) și pieloectazia depistată primar - 5,5% vs 5,7% ($p=0,002$, $\chi^2=3,721$). Alte patologii (splenomegalie, rinichi dublu, rinichi unic ș.a.) s-au depistat în 11,5 % cazuri la copiii nevaccinați vs 5,8% vaccinați. Mai mult de jumătate dintre copii vaccinați (55,0%) nu au prezentat schimbări la ultrasonografia abdominală, precum și cea renală. Iar printre cei nevaccinați, acest indicator a constituit 40,0 % ($p=0,389$, $\chi^2=1,048$).

Pentru determinarea steatoreii au fost apreciate cantitativ lipidele din masele fecale: grăsimile neutre și acizii grași. Pacienții cu infecție rotavirală nevaccinați au înregistrat preponderent GN (grăsimi neutre) în cantitate mică (36,3% cazuri) valori moderate de GN - 47,1% cazuri și mari - în la 16,6%. În lotul de bază indicii respectivi au fost: grăsimi neutre în cantitate mică - 48,8%, cantitate medie - 40,2%, iar în cantitate mare - 11,0%.

Acizi grași (AG) în lotul de control s-au constatat în cantitate mică la 91,7% copii investigați și în cantitate medie la 8,3%. În lotul de bază rezultatul a fost: indici reduși - 87,0% cazuri și indici medii - 13,0% cazuri.

Excesul de leucocite din masele fecale este un semn al unui proces inflamator. Analiza coprogramei a arătat că mai mult de 10 leucocite în c/v (6,6% cazuri) s-au atestat la copiii nevaccinați vs 2,7% la cei vaccinați. Deci, în lotul II este triplu numărul de cazuri cu proces inflamator a intestinului subțire, ceea ce denotă prezența unei infecții bacteriene.

Prezența celulozei în coprogramă în lotul copiilor nevaccinați s-a atestat în cantitate moderată în 3,0% cazuri și în cantitate mică la 97,0%. La copiii vaccinați indicele mediu al celulozei în coprogramă s-a dublat constituind 6,0% (tabelul3).

Tabelul 3. Indicii coprogramei la sugarii cu infecție cu rotavirusuri investigați

Caracteristica coprogramei	Nevaccinați (n=121), %	Vaccinați (n=72), %	X ²	P
Celuloză: Mică	97,0	93,0	2.163	0.0271
- Medie	3,0	6,0	4.273	0.0037
- Mare	-	-	0.513	0.3287
GN: Mică	36,3	48,8	1,271	0.2491
- Medie	47,1	40,2	0.628	0.3186
- Mare	16,6	11,0	8.241	0.0024
AG: Mică	91,7	87,0	3.528	0.0205
- Medie	8,3	13,0	2.591	0.0528
- Mare	-	-	3.469	0.0003
Leucocite (>10)	6,6	2,7	0.261	0.0251
Eritrocite	4,1	1,4	8.295	0.0247
Levuri	10,7	8,3	3.418	0.0038

Pentru confirmarea etiologiei rotavirale a gastroenterocolitei acute a fost efectuat examenul virusologic de biologie moleculară pentru identificarea rotavirusului, cu utilizarea reacției imunoenzimatice ELISA, precum și determinarea genotipurilor și fenotipurilor rotavirusurilor prin reacția de polimerizare în lanț (PCR). În funcție de rezultatele obținute s-au format grupurile de lucru.

La 35 de copii vaccinați din cei 72 și la 77 din cei 121 nevaccinați s-a efectuat neurosonografia. Rezultatele neurosonografiei sunt diverse. Astfel, indicii crescuți ai pulsației venei cerebrale s-au depistat 60,2% cazuri la copiii nevaccinați vs 41,4 % la copiii vaccinați.

Ventriculomegalie s-a constatat cu o frecvență mai mare de 6 ori la copiii nevaccinați față de cei vaccinați, constituind 12,9% vs 2,8% (p=0,016, $\chi^2=3,517$). Alte manifestări ultrasonografice (prezența pseudochisturilor, unor formațiuni) s-au diagnosticat cu o frecvență dublă în lotul de bază, constituind 20,0%, față de 10,3% în lotul de control (p=0,142, $\chi^2=8,239$). Infecția cu rotavirusuri a decurs fără afectări ale sistemului nervos central la 16,6% copiii nevaccinați și la 35,8% la pacienții vaccinați (p=0,001, $\chi^2=1,318$).

Tabelul 6. „Profilul“ pacientului cu GEARV raportat la statutul vaccinal al acestuia

Statut vaccinal	Nevaccinat	Vaccinat
Vârsta medie(luni)	7,4±0,26	4,8±0,32
Sex	masculin	masculin
Luna diagnosticului	februarie	februarie
Diaree apoasă	≥6 scaune/zi	4-5 scaune/zi
Vărsături	≥5 ori /zi	2-4 vome /zi
Febră	38,5-38,9° C	37,1-38,4° C
SDA	medie și severă	ușoară
Transaminazele ↑	57,8%	37,5%
Acetonurie	ușoară(+)	medie(++)
Rehidratarea	≥72 ore	≤24 ore

Așadar, „profilul“ pacientului nevaccinat cu IRV este: vârsta medie de 7,4 luni cu prevalența băieților și vârful de incidență al infecției în luna februarie (22,3%). Clinic, acesta a prezentat diaree apoasă cu mai mult de 6 scaune în zi, mai mult de 5 vome în 24 de ore, temperatură febrilă și SDA medie și severă. Paraclinic, a prezentat creșterea transaminazelor hepatice (57,8% cazuri), acetonurie ușoară și a necesitat rehidratare > 72 de ore.

Profilul pacientului vaccinat din cercetarea noastră este mai favorabil, manifestându-se clinic prin prezența a 4-5 scaune hidrice pe zi, 2-4 vome în 24 de ore, temperatură subfebrilă și SDA ușoară. Paraclinic, creșterea transaminazelor hepatice a constituit doar 37,5%, cu o acetonurie medie și necesitatea unei durate de < 24 de ore.

În baza particularităților clinice depistate și a scorului Vesikari calculat în cadrul studiului, am realizat un algoritm de diagnostic precoce al IRV (figura 10). Investigațiile au arătat că sugarii cu infecție rotavirală au un scor Vesikari de grad sever (≥ 11 puncte), pe când ceilalți sugari, au acumulat un punctaj Vesikari ce corespunde gradului ușor și mediu (<7 și respectiv, 7-10 puncte).

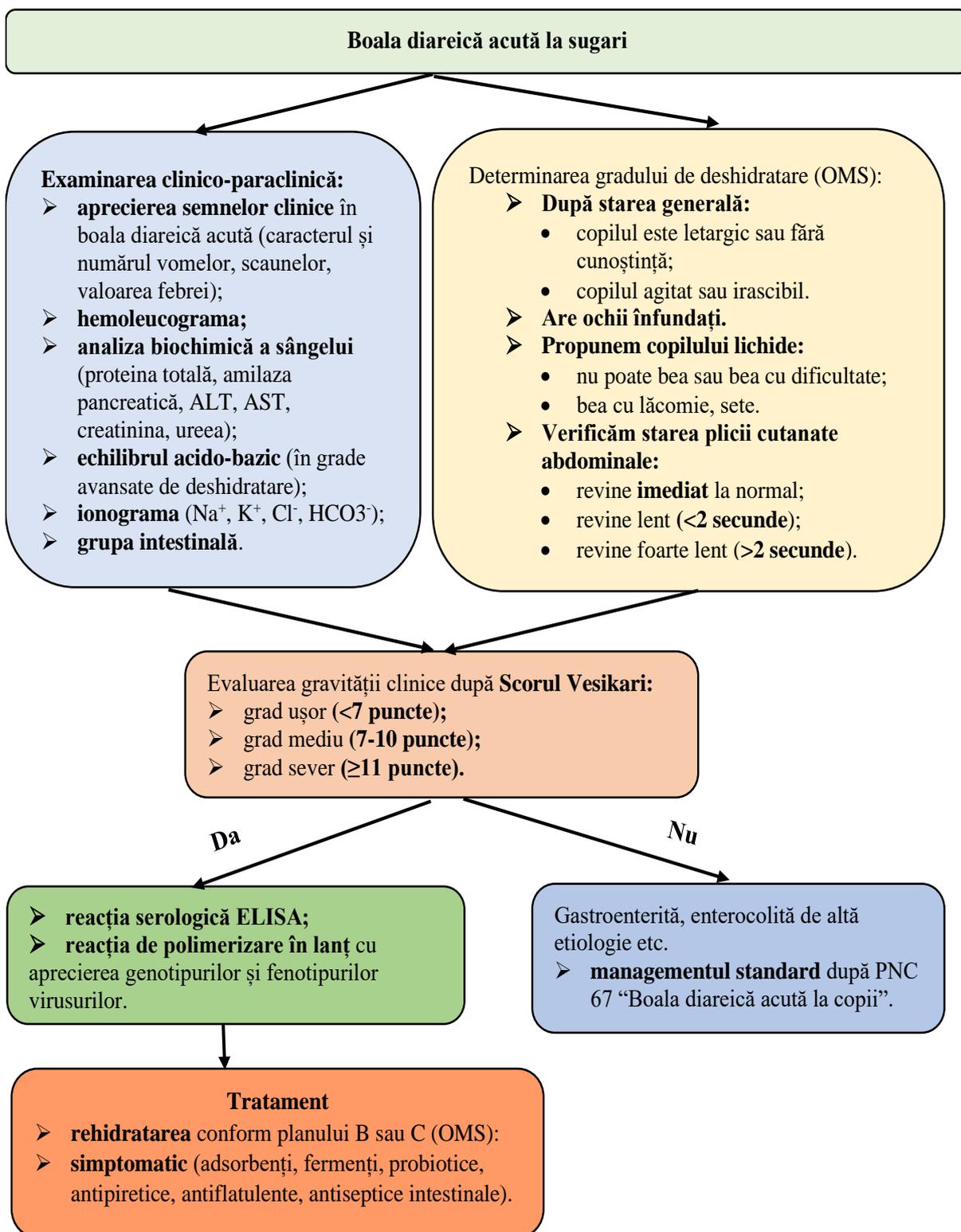


Figura 10. Algoritmul de diagnostic precoce al infecției cu rotavirusuri la sugari

4. CARACTERISTICILE ECHILIBRULUI ACIDO-BAZIC, GENOTIPURILOR ROTAVIRALE ȘI STRUCTURA ETIOLOGICĂ A MIXT-INFECȚIEI CU ROTAVIRUSURI

Modificările echilibrului acido-bazic în infecția cu rotavirusuri la sugari

Monitorizând echilibrul acido-bazic al pacienților, am reușit să demonstrăm gravitatea evoluției infecției cu rotavirusuri, stabilind tipul dereglărilor metabolice și necesitatea terapiei de rehidratare. Dintre copiii celor 2 loturi de studiu, au fost examinați câte 22 copii din fiecare lot cu modificări ale echilibrului acido-bazic, cu forme severe și grad avansat de deshidratare.

La copiii nevaccinați s-a depistat o stare de acidoză metabolică, având media pH-ului sangvin de $7,28 \pm 0,87$, pe când, la cei vaccinați, valoarea medie a pH-ului s-a încadrat în limitele normale, fiind de $7,42 \pm 1,25$ (tabelul 6).

Cel mai important ion extracelular este sodiul, având o contribuție majoră în determinarea osmolarității serice. Sodiul, potasiul și calciul sunt elementele determinante pentru funcția neuromusculară, echilibrul acido-bazic, reacțiile chimice celulare și pentru fuziunea membranelor [20].

Tabelul 6. Indicii echilibrului acido-bazic în ambele loturi cercetate (valorile medii)

Indici	pH (7,35-7,45)	Na ⁺ mmol/l (132-144)	K ⁺ mmol/l (3,6-4,8)	Ca ⁺⁺ mmol/l (2,20- 2,60)	Cl ⁻ mmol/l (96-105)	HCO ₃ ⁻ mmol/l (22-28)	BE ⁻ mmol/l (0±2)	AnGap (mEq/l) (16)
Lot I	$7,42 \pm 1,25$	$134 \pm 0,23$	$3,9 \pm 1,35$	$2,3 \pm 0,35$	$106 \pm 0,24$	$21,9 \pm 0,15$	$1,4 \pm 0,03$	$7,9 \pm 1,34$
Lot II	$7,28 \pm 0,87$	$137 \pm 0,12$	$7,28 \pm 0,87$	$137 \pm 0,12$	$7,28 \pm 0,87$	$137 \pm 0,12$	$7,28 \pm 0,87$	$137 \pm 0,12$

Valoarea medie a sodiului la copiii din ambele loturi de studiu a fost în limitele normei, constituind $137 \pm 0,12$ mmol/l, în lotul copiilor nevaccinați, iar la cei vaccinați – $134 \pm 0,23$ mmol/l. Potasiul, de asemenea, a avut valori normale în ambele loturi, la copiii nevaccinați constituind $3,8 \pm 0,96$ mmol/l, iar la cei vaccinați – $3,9 \pm 1,35$ mmol/l. În diareea datorată malabsorbției de glucide, gastroenteritele virale pierd lichide hipotone, ceea ce duce la menținerea natriului în limitele normei sau la creșterea acestuia.

Calciul prezenta valori scăzute în lotul copiilor nevaccinați, media constituind $2,0 \pm 1,32$ mmol/l, iar la copiii vaccinați au avut media calciului a constituit $2,3 \pm 0,35$ mmol/l.

Bicarbonatul (HCO₃⁻) a avut valori scăzute de $17,8 \pm 0,35$ mmol/l la copiii nevaccinați și de $21,9 \pm 0,15$ mmol/l la cei vaccinați.

BE (excesul de baze) – indică deficitul de baze, când valoarea este negativă sau excesul de baze, când valoarea este pozitivă. Astfel, rezultatele analizei echilibrului acido-bazic al pacienților din studiul nostru au evidențiat un deficit de baze în lotul II ($-3,6 \pm 0,06$ mmol/l) și un exces de baze în lotul I ($1,4 \pm 0,03$ mmol/l), în timp ce valorile normale sunt $-2 - 2$ mmol/l.

Lacuna anionică plasmatică (AnGap) reprezintă diferența dintre cationii și anionii determinați uzual în plasma în grupele de studiu și de control. Scăderea acestui indice este cauzată de stările hipoproteinemice (carență alimentară în proteine, diminuarea absorbției alimentelor, deficiența sintezei de proteine sau, mai bine zis, pierderea de proteine și electroliți prin diaree acută. Aceasta face posibilă constatarea acestui fenomen în diareea acută cauzată de infecția cu rotavirusuri la sugari.

Dereglările metabolice în IRV la sugari pot evolua cu lacuna anionică normală, adică până la 16 mEq/l sau cu nivel peste 16 mEq/l. Dereglările metabolice cu lacuna anionică normală se constată în caz de diaree și alte stări patologice. Dereglările metabolice cu lacuna anionică mare apare ca rezultat al sindromului toxiinfecțios și al altor tipuri de intoxicații [16].

Pentru o analiză mai detaliată a devierilor echilibrului acido-bazic, care este esențial în stabilirea complicațiilor survenite în urma infecției cu rotavirusuri, am evaluat corelația acestora cu statutul vaccinal al copiilor sugari cu infecție cu rotavirusuri.

Prin efectuarea calculului lacunei anionice din echilibrul acido-bazic am stabilit tipul dereglărilor metabolice la pacienții cu infecție cu rotavirusuri investigați, fapt utilizat ulterior în ajustarea tratamentului deshidratării acestor copii.

Valoarea medie a lacunei anionice determinată la sugarii nevaccinați s-a dovedit a fi egală cu 15,1 mEq/l, în timp ce la sugarii cu infecție cu rotavirusuri vaccinați media lacunei anionice a constituit 7,9 mEq/l. O creștere de 1,9 ori a lacunei anionice s-a constatat în grupul martor.

Vom remarca că valoarea maximă a lacunei anionice care a depășit 16 mEq/l s-a depistat la 6,6 % copii nevaccinați, față de grupul de sugari vaccinați, în care lacuna anionică cu valori maxime de 10,2 mEq/l s-a atestat în 2,4 % cazuri.

Structura etiologică a mixt-infecției cu rotavirusuri în loturile de studiu

În grupul celor nevaccinați, din cei 37 de copii cu infecție viral-bacteriană agenții patogeni depistați mai frecvent au fost *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis* și *Citrobacter freundii*.

Klebsiella pneumoniae, *Escherichia coli* și alți membri ai familiei Enterobacteriaceae sunt agenți patogeni umani obișnuiți care au dobândit o rezistență largă la antibiotice [21]. Distrugerea microbiotei intestinale normale de către antibiotice permite acestor bacterii condiționat patogene să se extindă în cantități mari în colon, măbind semnificativ riscul de creștere a fluxului sangvin și de generalizare a procesului inflamator.

Flora bacteriană asociată determinată în ambele loturi este destul de variată, fiind alcătuită din flora condiționat patogenă și cea patogenă: *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Staphylococcus aureus*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli* atipică h+, *Klebsiella oxytoca*.

Astfel, o combinație a rotavirusului cu *Klebsiella pneumoniae* și *Klebsiella oxytoca* era prezentă la 24,3% copii nevaccinați, în timp ce la cei vaccinați această combinație s-a întâlnit în 16% cazuri ($p=0,4780$, $\chi^2=0,504$).

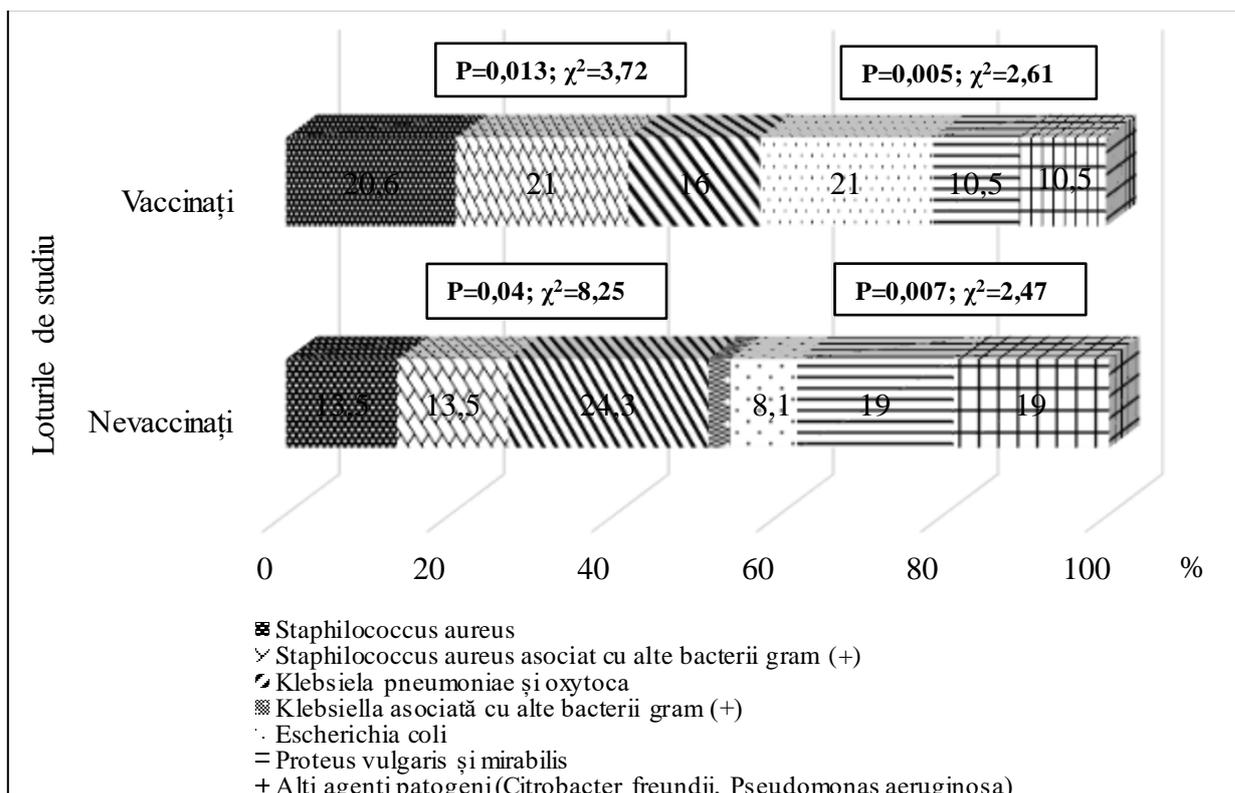


Figura 11. Indicii infecției viral-bacteriene la pacienții din ambele grupuri de studiu

În lotul I, cu un procentaj egal, situându-se pe I loc, s-au depistat *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* asociat cu alte bacterii gram (+) și *Escherichia coli*, constituind 21%. Cel mai rar, a fost depistată *Klebsiella* asociată cu alte bacterii gram (+), constituind la copiii nevaccinați 2,7%, iar la cei vaccinați 0%. Structura etiologică a infecției rotavirale este redată în figura 11.

Pe locul II după frecvență s-a situat combinația rotavirus + *Proteus mirabilis* și *Proteus vulgaris* cu 19% cazuri în lotul II și 10,5% - în lotul I ($p=0,4169$, $\chi^2=0,659$). *Staphylococcus aureus*, *Staphylococcus aureus* asociat cu alte bacterii gram(+) în lotul II s-a asociat rotavirusului în procentaj egal, constituind 13,5% ($p=0,4730$, $\chi^2=0,515$), iar *Escherichia coli* - în 8,1% cazuri ($p=0,1705$, $\chi^2=1,879$). Alți agenți patogeni asociați infecției rotavirale s-au depistat în 19 % cazuri la copiii nevaccinați și în 10,5 % cazuri la cei vaccinați ($p=0,4169$, $\chi^2=0,659$). Evoluția bolii la copiii cu mixt-infecție este mai gravă, generând sindrom toxiinfecțios și complicându-se cu deshidratare moderată și/sau severă în cele mai multe cazuri.

Spectrul genotipic al infecției cu rotavirusuri la sugarii vaccinați și nevaccinați

Cercetarea noastră a inclus efectuarea investigațiilor molecular-genetice prin denaturarea ARN-ului, urmat de PCR transcriptaza inversă (RT-PCR) folosind kitul “ProSpecT ROTAVIRUS Kit” (producător - Zhejiang Orient Gene Biotech Co., LTD). Ca rezultat, am reușit identificarea și secvențierea ARN-ului viral la copiii cu IRV. Acest lucru a fost efectuat separat, în funcție de statutul vaccinal al fiecărui copil cu infecție rotavirală și manifestările clinice.

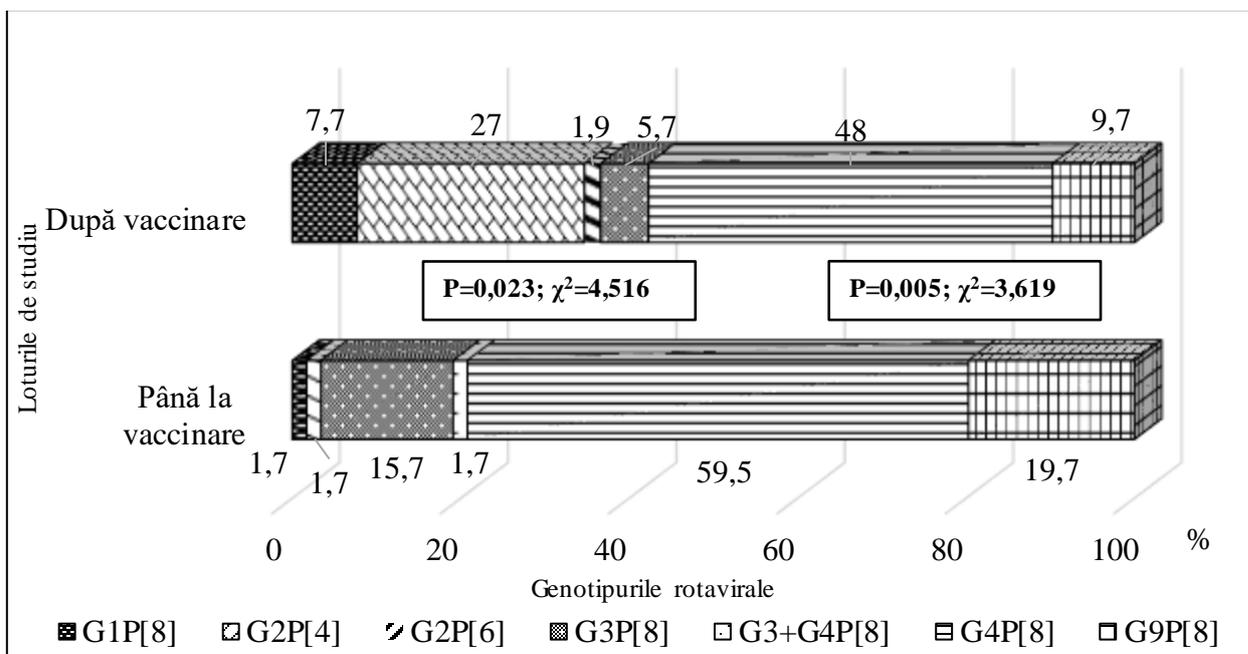


Figura 12. Evaluarea varietății și frecvenței genotipurilor rotavirusurilor la pacienții investigați, până și după vaccinare (%)

În lotul II, pe primul loc s-a situat genotipul G4 [P8] constituind 59,5% ($p=0.2310$, $\chi^2=1.435$), pe locul doi s-a plasat G9 P[8] cu 19,7% ($p=0.1453$, $\chi^2=2.121$), fiind urmat de G3 P[8] cu 15,7% ($p=0.0962$, $\chi^2=2.768$). Celelalte 3 genotipuri întâlnite la copiii nevaccinați – G1 P[8] ($p=0.1356$, $\chi^2=2.228$), G2 P[4] ($p=0.0001$, $\chi^2=14.525$) și G3+G4P[8] ($p=0.3886$, $\chi^2=0.743$) au constituit câte 1,7% dintre cazuri ($p=0.0001$, $\chi^2=14.525$).

În lotul copiilor vaccinați a predominat doar genotipul G4 P[8] cu 48% ($p=0.2310$, $\chi^2=1.435$), celelalte inversându-se. Astfel, 27% au revenit genotipului G2 P[4] ($p=0.0001$, $\chi^2=14.525$), 9,7% - G9 P[8] ($p=0.1453$, $\chi^2=2.121$), G1 P[8] s-a întâlnit cu o frecvență de 7,7% ($p=0.1356$, $\chi^2=2.228$), iar G3 P[8] – de 5,7% ($p=0.0962$, $\chi^2=2.768$).

Din numărul total de probe genotipate incidența pentru genotipurilor identificate la pacienții cu infecție cu rotavirusuri în perioada prevaccinală, cele mai frecvent întâlnite genotipuri au fost G4P[8], G3 P[8] și G9P[8]. În perioada postvaccinală frecvența acestora a scăzut pe primul loc situându-se genotipurile G2 P[4] și G4 P[8]. Incidența genotipurilor identificate la pacienții cu infecție cu rotavirusuri până și după vaccinare este prezentată în figura 1. Drept rezultat, s-a determinat predominarea genotipurilor G4P[8]; G9P[8]; G3P[8] la copiii nevaccinați și a genotipurilor G4P[8]; G2P[4] și G1P[8] la cei vaccinați.

Efectuând analiza simptomatologiei clinice a pacienților cu infecție rotavirală în raport cu genotipul virusului, am observat că o evoluție mai gravă a prevalat la copiii la care s-a depistat genotipul G4P[8], pe locul II situându-se G9P[8]. Starea gravă a acestor pacienți s-a manifestat prin scaune lichide în 90,0 % cazuri, vome în aproximativ 48,0 % și febră în peste 50,0 % cazuri.

Pe locul III după gravitate s-a stabilit genotipul G2P[4], unde, printre simptome au prevalat scaunele lichide cu 73,0 %, urmate de dureri abdominale cu 48,0 %, apoi febra și vomele cu 34,0 %, respectiv, 26,0 % cazuri.

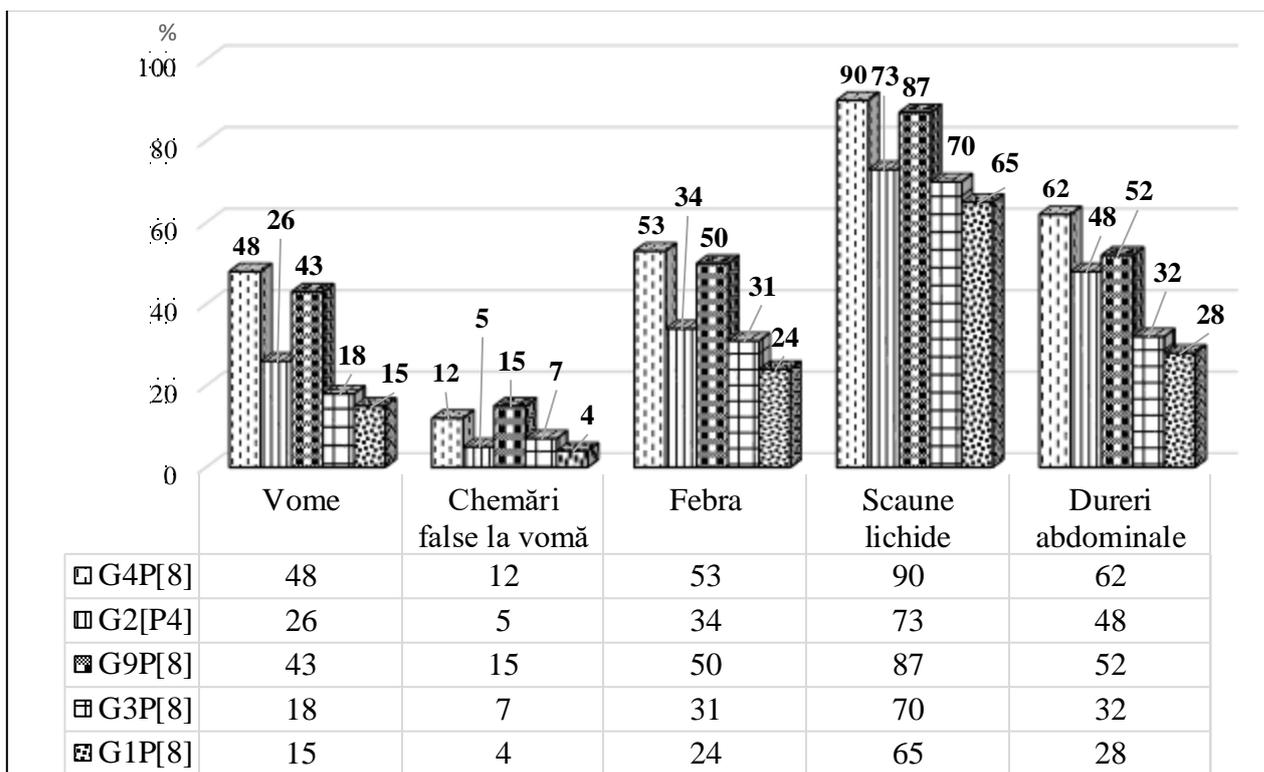


Figura 13. Caracteristica simptomatologiei clinice în funcție de genotipul rotaviral

Sindromul de deshidratare acută, în raport cu genotipurile rotavirale, de asemenea, au avut aceeași ordine. Dintre cei 83 copii cu deshidratare medie și severă, un număr de cazuri maxim s-a întâlnit la copiii cu genotipul G4P[8], constituind puțin peste jumătate din cazuri – 52,0 % ($p=0,136$, $\chi^2=1,931$), pe locul II s-a situat G9P[8] cu 28,0 % cazuri ($p=0,039$, $\chi^2=2,903$). Aceste genotipuri erau urmate de G2P[4] și G3P[8], cu 12,0 % și respectiv – 5,0 % cazuri ($p=0,254$, $\chi^2=0,571$) (figura 14).

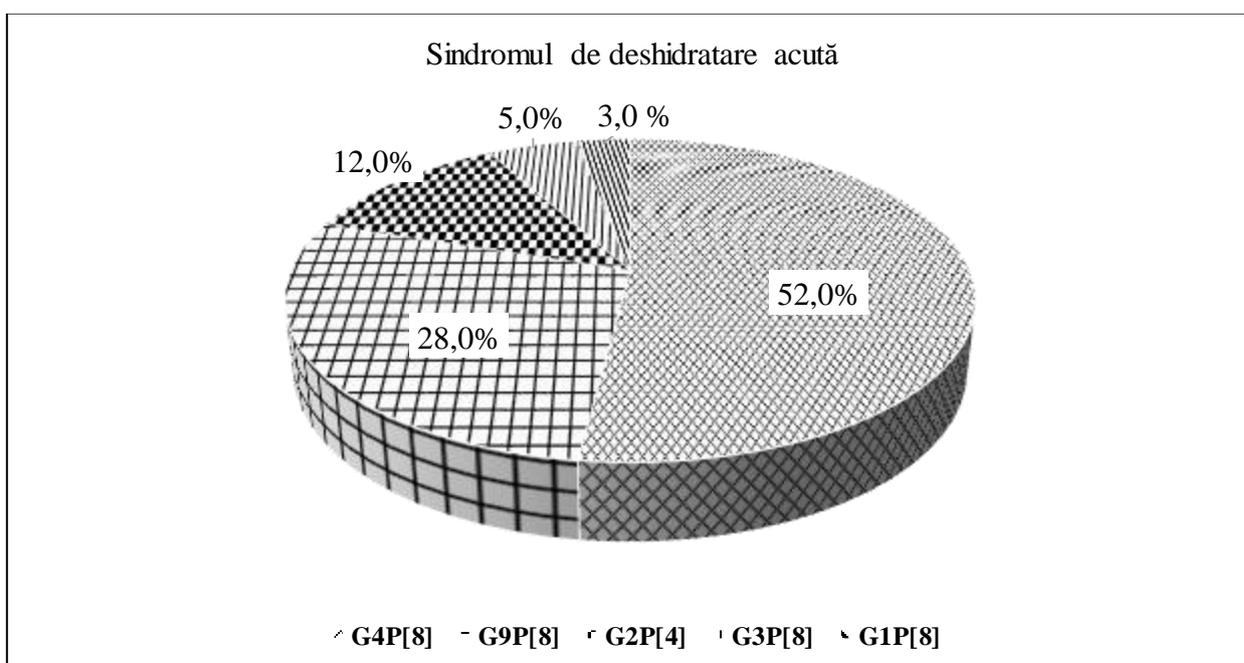


Figura 14. Sindromul de deshidratare acută în raport cu genotipurile rotavirale la copiii din studiu

Analizând genotipurile rotavirale care au circulat pe parcursul anilor 2012-2016 în Republica Moldova, observăm că, în anii 2012-2014, locul I l-a ocupat genotipul G4P[8], fiind urmat de G9P[8].

În anul 2013, s-a înregistrat și G3P[8], care în 2014 și 2015 nu s-a depistat, regăsindu-se iarăși în 2016 cu o incidență de 20,0 % cazuri. Dacă la copiii nevaccinați G4P[8] s-a întâlnit cu o frecvență mai mare de 80,0 %, atunci la copiii vaccinați acest genotip a scăzut de 2 ori. G2P[4] în anul 2014 s-a înregistrat cu o frecvență de 20,0 %, în 2015 acest genotip s-a triplat, ca în anul 2016 să dispară în totalitate. Astfel, dacă în perioada prevaccinală s-au determinat 3 genotipuri: G1P[8], G9P[8] și G4P[8], mai mult de 80,0 % revenindu-i lui G4P[8], atunci, în perioada postvaccinală, s-a modificat varietatea genotipică a rotavirusurilor întâlnite în 2012.

Datele obținute în studiul nostru privind genotipul și fenotipul virusurilor au fost utilizate ca bază științifică în selectarea vaccinului antirotaviral introdus în Programul Național de Imunizări. În componența vaccinului Rotarix s-au inclus următoarele tulpini rotavirale: G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8] și G9P[8]. Republica Moldova a fost prima țară a Regiunii Europene a OMS [18] care a introdus vaccinarea împotriva rotavirusurilor în programul său de imunizare de rutină la copil. Aceste rezultate indică în mod constant un impact profund al programului asupra bolii cu rotavirusuri la copiii mici din republică.

Pe parcursul cercetării, am observat că la copiii cu infecție cu rotavirusuri, în urma efectuării echilibrului acido-bazic și calculului lacunei anionice, rezultatul s-a dovedit a fi mai mare de 12 mEq/l. Acest fapt demonstrează că pacienții în cauză au avut acidoză metabolică cu lacuna anionică mare, ceea ce denotă prezența unei infecții virale cu sindrom toxiinfecțios pronunțat și o stare generală gravă. Astfel, după examinarea clinică, investigațiile paraclinice, aprecierea semnelor de deshidratare (conform OMS), se recomandă a analiza rezultatul echilibrului acido-bazic, a calcula lacuna anionică și a stabili tipul dereglărilor metabolice. Stabilind corect tipul dereglărilor metabolice, este posibilă suspectarea unei etiologii virale a gastroenteritei sau enterocolitei la sugari cu ajustarea conduitei medicale în infecția cu rotavirusuri.

Republica Moldova a fost prima țară a Regiunii Europene a OMS [18] care a introdus vaccinarea împotriva rotavirusurilor în programul său de imunizare de rutină la copil. Aceste rezultate indică în mod constant un impact profund al programului asupra bolii cu rotavirusuri la copiii mici din republică.

Pe parcursul cercetării, am observat că la copiii cu infecție cu rotavirusuri, în urma efectuării echilibrului acido-bazic și calculului lacunei anionice, rezultatul s-a dovedit a fi mai mare de 12 mEq/l. Acest fapt demonstrează că pacienții în cauză au avut acidoză metabolică cu lacuna anionică mare, ceea ce denotă prezența unei infecții virale cu sindrom toxiinfecțios pronunțat și o stare generală gravă. Astfel, după examinarea clinică, investigațiile paraclinice, aprecierea semnelor de deshidratare (conform OMS), se recomandă a analiza rezultatul echilibrului acido-bazic, a calcula lacuna anionică și a stabili tipul dereglărilor metabolice. Stabilind corect tipul dereglărilor metabolice, este posibilă suspectarea unei etiologii virale a gastroenteritei sau enterocolitei la sugari cu ajustarea conduitei medicale în infecția cu rotavirusuri.

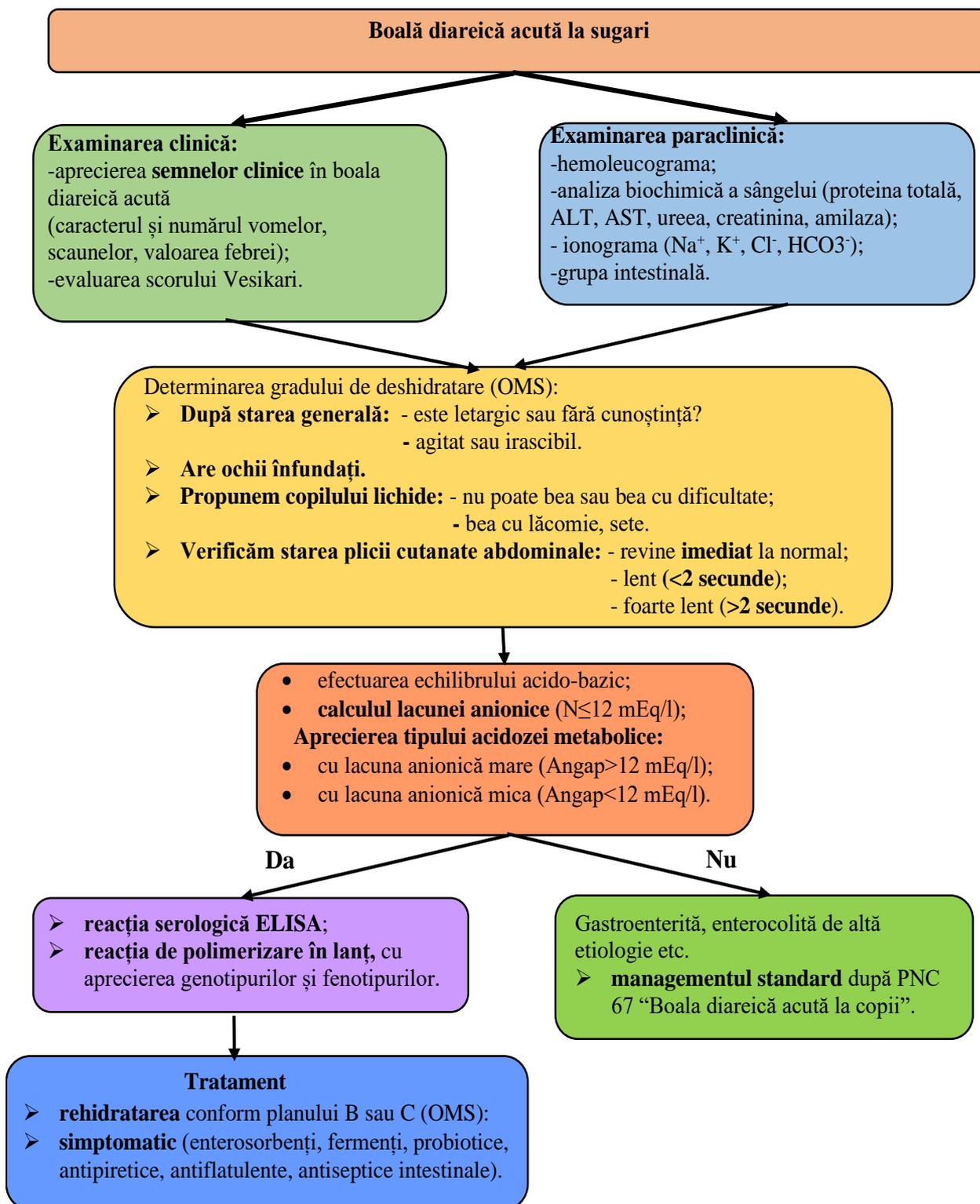


Figura 15. Algoritm de diagnostic diferențial al infecției cu rotavirusuri la sugari

CONCLUZII GENERALE

1. Conform studiului clinico-epidemiologic incidența de vârf a infecției cu rotavirusuri a fost identificată în luna februarie, în ambele loturi pe parcursul perioadei iarnă-primăvară. Infecția cu rotavirusuri mai frecvent a evoluat la băieți cu vârsta mai mare de 6 luni. Evoluția clinică a infecției cu rotavirusuri: medie, gravă și foarte gravă s-a prezentat în dependență de genotipurile virusurilor rotavirale: G4P[8], G9P[8], G2P[4] și G3P[8] identificate la copiii sugari.

2. Polimorfismul manifestărilor clinice în infecția cu rotavirusuri identificată în loturile de studiu, conform scorului Vesikari, demonstrează în grupul celor nevaccinați domină o evoluție gravă și foarte gravă a entității, care este de 2,85 ori mai mare decât în grupul celor vaccinați ($p < 0,005$).

3. Parametrii coprogramei (valori crescute a leucocitelor, eritrocitelor, grăsimi neutre) identificați la copiii nevaccinați au fost statistic mai semnificativi în lotul martor ($p < 0,005$, $\chi^2 = 0,397$), ceea ce a argumentat amploarea procesului inflamator masiv la copiii nevaccinați comparativ cu cei vaccinați ($p = 0,315$, $\chi^2 = 1,273$). Creșterea nivelului transaminazelor (TGO și TGP) în grupul celor nevaccinați, a demonstrat un element nefavorabil de prognostic manifestat printr-o evoluție mai gravă și o durată de manifestare clinică mai mare a infecției cu rotavirusuri la sugari ($p < 0,026$).

4. Dereglările echilibrului acido-bazic ($\text{pH} < 7,35$, $\text{AnGap} > 16 \text{ mmol/l}$, $\text{HCO}_3^- < 22 \text{ mmol/l}$, anionii măsurabili deviați de la limitele normei) sunt mai pronunțate în lotul celor nevaccinați, comparativ cu lotul de bază ($p < 0,002$, $\chi^2 = 1,761$). Acidoza metabolică drept criteriu determinant în aprecierea severității evoluției clinice a infecției cu rotavirusuri a fost cu lacuna anionică semnificativ sporită ($> 16 \text{ mEq/l}$) la copiii nevaccinați ($p < 0,043$, $\chi^2 = 0,7431$) mai frecvent fiind determinate genotipurile G4P[8], G9P[8] și G3P[8], pe când la copiii vaccinați (G2P[4], G9P[8] și G4P[8]) valoarea maximă a fost în limitele normei ($\text{AnGap} \leq 12 \text{ mmol/l}$).

5. Determinarea prin tehnici de biologie moleculară a genotipurilor circulante a infecției cu rotavirusuri (G4, G9, G3) în populația de copii sugari a servit dovadă argumentată științific, clinic și prin tehnici moderne alegerea, implementarea și confirmarea eficacității vaccinului Rotarix din Calendarul Național de Imunizări. Fapt confirmativ cu impact clinic în reducerea considerabilă a morbidității infecției cu rotavirusuri la sugari (cu 40 %) prin gastroenterită la copiii vaccinați.

BIBLIOGRAFIE SELECTIVĂ

1. Anca IA, Furtunescu FL, Plesca DO, Streinu-Cercel AE, Rugina SR. Hospital-based surveillance to estimate the burden of rotavirus gastroenteritis in children below five years of age in Romania. *GERMS*. 2014;4(2):30-40. Disponibil la: doi: 10.11599/germs.2014.1053.
2. Surajudeen AJ, Chijioke UA, Olabode VR, Jim MB. Incidence of rotavirus infection in children with gastroenteritis attending Jos university teaching hospital, Nigeria. *Virol Journal*. 2011; 8: 233. Disponibil la: doi:10.1186/1743-422X-8-233.
3. Sanderson CE et al. Global review of rotavirus morbidity and mortality data by age and WHO region. *Report to WHO / IVB*. 2011. Disponibil la: http://www.who.int/entity/immunization/sage/meetings/2012/april/presentations_background_docs/en/.
4. World Health Organization estimate for January 2012. Disponibil la: http://www.who.int/immunization_monitoring/burden/rotavirus_estimates/en/index.html.
5. World Health Organization Geneva. *Organisation mondiale de la Santé Genève*. 2008; No 47, p. 421-425.
6. Ogilvie IK, Khoury HY, El Khoury AC, Goetghebeur MM. Burden of rotavirus gastroenteritis in the pediatric population in Central and Eastern Europe: erotype distribution and burden of illness. *Human Vaccines and Immunotherapeutics*. 2011;7(5):523–33.
7. Lesanu GE, Becheanu CA, Vlad RM, Pacurar DV, Tincu IF, Smadeanu RE. Clinical characteristics of rotavirus diarrhea in hospitalized Romanian infants. *Pediatrics Infectious Diseases Journal*. 2013;32:89–91.
8. Joshua GE, Betty MD, Patrick OR, George OA, Carlene SF, James NT. Rotavirus prevalence and seasonal distribution post vaccine introduction in Nairobi county Kenya. *The Pan African Medical Journal*. 2019; 33: 269. Disponibil la: doi: 0.11604/pamj. 2019.33.269.18203.
9. Mateusz HA, Chandresh NL et al. Global Review of the Age Distribution of rotavirus disease in children aged < 5 years before the introduction of rotavirus vaccination. *Clinical Infectious Diseases, Review of Rotavirus in Children CID*. 2019; 46:261. Disponibil la: doi:110.1093/cid/ciz060.
10. Platts-Mills JA, Babji SE, Bodhidatta LU et al. Pathogen-specific burdens of community diarrhoea in developing countries: a multisite birth cohort study (MAL-ED). *Lancet Glob Health*. 2015; 3:e564–75.
11. Mohamed NF. Rotavirus gastroenteritis among hospitalized children under 5 years of age in the Middle Eastern and North African Region: a review. *Eastern Mediterranean Health Journal*. 2018; Disponibil la: <https://doi.org/10.26719/emhj.18.054>.
12. Howidi M, Balhaj G, Haseen H, Gopala K et al. Burden and genotyping of rotavirus disease in the United Arab Emirates. *Human Vaccin Immunotherapeutic Journal*. 2014;10:2284-89.
13. Benhafid M, Rguig A, Trivedi T, Elqazoui M, Teleb N, Mouane N et al. Monitoring of rotavirus vaccination in Morocco: establishing the baseline burden of rotavirus disease. 2012; 30 (46): 6515 – 20. Disponibil la: <http://dx.doi.org/10.1016/j.vaccine.2012.08>.
14. El Qazoui M, Oumzil H, Baassi L, El Omari N, Sadki K, Amzazi S et al. Rotavirus and norovirus infections among acute gastroenteritis children in Morocco. *BMC Infect Dis*. 2014;14(1):300. Disponibil la: <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2334-14-300>.

15. Tayeb HT, Balkhy HH, Aljuhani SM, Elbanyan E, Alalola S, Alshaalan M. Increased prevalence of rotavirus among children associated gastroenteritis in Riyadh Saudi Arabia. *Virologie Journal*. 2011;8:548-231.
16. Aly M, Al Khairy A, Al Johani S, Balkhy H. Unusual rotavirus genotypes among children with acute diarrhea in Saudi Arabia. *BMC Infectious Diseases*. 2015;15:192.
17. Modaress S, Rahbarimanesh AA, Edalat R, Sohrabi A, Modarres S, Gomari H et al. Human Rotavirus Genotypes Detection among Hospitalized Children, A study in Tehran, Iran. *Arch Iran Med*. 2011;14:39–45.
18. Mousavi Nasab SD, Sabahi F, Makvandi M, Mirab Samiee S, Nadji SA, Ravanshad M. Epidemiology of Rotavirus-Norovirus Co-Infection and Determination of Norovirus Genogrouping among Children with Acute Gastroenteritis in Tehran, Iran. *Iran Biomed Journal*. 2016;20:280–6.
19. Durmaz R, Kalaycioglu AT, Acar S, Bakkaloglu Z, Karagoz A, Korukluoglu G et al. Turkish Rotavirus Surveillance Network: Prevalence of rotavirus genotypes in children younger than 5 years of age before the introduction of a universal rotavirus vaccination program: report of rotavirus surveillance in Turkey. *PLoS One*. 2014;9:e113674.
20. Bozdayi G, Altay A, Yahiro T, Ahmed S, Meral M, Dogan B, et al. Re-emergence of genotype G9 during a five-and-a-half-year period in Turkish children with rotavirus diarrhea. *Arch Virol*. 2016;161:2879-84.
21. WHO. Estimated rotavirus deaths for children under 5 years of age: 2013. Disponibil la: https://www.who.int/immunization/monitoring_surveillance/burden/estimates/rotavirus/en/
22. Dan W, Catherine Y, Zun-Dong Y. The Public Health Burden of Rotavirus Disease in Children <5 Years of Age and Considerations for Rotavirus Vaccine Introduction in China. *Pediatric Infectious Diseases Journal*. 2016 Dec; 35(12): e392–e398. Disponibil la: https://journals.lww.com/pidj/Fulltext/2016/12000/The_Public_Health_Burden_of_Rotavirus_Disease_in.20.aspx.
23. Matthijssens J, Bilcke J, Ciarlet M, et al. Rotavirus disease and vaccination: impact on genotype diversity. *Future Microbiology*. 2009;4:1303–1316. Disponibil la: <https://www.futuremedicine.com/doi/10.2217/fmb.09.96>.
24. Gregory CJ, Wang HQ, Tate JE. Building rotavirus laboratory capacity to support the Global Rotavirus Surveillance Network. *Wkly Epidemiol Rec*. 2013;88:217–223. Disponibil la: <https://europepmc.org/article/PMC/6502223>.
25. Read J, Pitzer V, uncliffe N, French N. EuroRotaNet. Available from: [http:// www.eurorota.net/](http://www.eurorota.net/); (Accessed: 11 Nov 2014).
26. Iturriza-Gomara M, Dallman T, Banyai K, Bottiger B, Buesa J, Diedrich S et al. Rotavirus surveillance in Europe, 2005-2008: web-enabled reporting and real-time analysis of genotyping and epidemiological data. *Journal Infectious Disease*. 2009;200(s1) Suppl 1;S215-21. Disponibil la: doi: 10.1086/605049 PMID: 19821712
27. Hungerford D, Vivancos R. EuroRotaNet. n-season and out-of-season variation of rotavirus genotype distribution and age of infection cross 2 European countries before the introduction of routine vaccination, 2007/08 to 2012/13. *Euro Surveillance*. 2016;21(2): pii=30106. Disponibil la: doi: <http://dx.doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2016.21.2.30106>.
28. Tomomi K, Nobuhiko O. Passive surveillance of rotavirus gastroenteritis-associated hospitalization using nationwide administrative databases in Japan. Disponibil la: <https://doi.org/10.1016/j.jiac.2018.11.003>.

LISTA PUBLICAȚIILOR LA TEMA TEZEI

- **Articole în reviste științifice peste hotare:**

- ✓ **articole în reviste din străinătate recenzate**

1. **Alsaliem T.**, Donos A., Iliev A-M., Bozomitu L. Aspecte clinico-epidemiologice ale infecției determinate de rotavirus la sugari în Republica Moldova. *Revista Pediatriu.ro*, 18 decembrie 2019; DOI: 10.26416/Pedi.56.4.2019.2792, ISSN 1841-5164 (B+ conform Colegiului Medicilor din România).
2. **Alsaliem T.**, Donos A., Iliev A-M., Bozomitu L. The characteristics of genotypes and phenotypes of rotavirus infection within sentinel surveillance in the Republic of Moldova. *Revista Pediatriu.ro*, 18 decembrie 2019; DOI: 10.26416/Pedi.56.4.2019.2793, ISSN 1841-5164 (B+ conform Colegiului Medicilor din România).

- **Articole în reviste științifice naționale acreditate:**

- ✓ **articole în reviste de categoria B**

3. Bîrcă I., **Alsaliem T.**, Spînu C., Donos A., Burduniuc O. Aspecte epidemiologice și clinico-evolutive ale infecției rotavirale la copiii sugari în republica Moldova. *Buletinul Academiei de Științe a Moldovei. Științe Medicale*. 2017; 1(53): 33, ISSN 1857-0011.
4. **Alsaliem T.**, Donos A., Spînu C., Revenco N., Țurea V., Mișu I., Cojocaru R., Gheorghiu S., Iliev A-M. Analiza comparativă a caracteristicilor infecției rotavirale la sugarii vaccinați și nevaccinați: studiu prospectiv, descriptiv. *Moldovan Journal of Health Sciences (Revista de Științe ale Sănătății din Moldova)*. 2019; 2(19): 5-12, ISSN 2345-1467.

- ✓ **articole în reviste de categoria C**

5. **Alsaliem T.** Aspecte imunologice ale interacțiunii rotavirusului cu mucoasa intestinală la sugari. *Revista medicală științifico-practică ArtaMedica*. 2017; 4(65): 55-57, ISSN 1810-1852.
6. **Alsaliem T.**, Donos A., Tagadiuc O., Revenco N., Spînu C., Iliev A-M. Metodă de diagnostic diferențial al infecției rotavirale în baza acidozei metabolice la sugar. *Buletin Oficial de Proprietate Intelectuală 11*. 2019; p. 52 - 53; <http://agepi.gov.md/ro/services/biblioteca-pi>.

- **Rezumate/abstracte/teze în lucrările conferințelor științifice:**

- ✓ **internaționale**

7. Donos A., **Alsaliem T.**, Gangur L. Particularități actuale în boala diareică acută la sugar. *Materialele Conferinței Naționale cu participare internațională Zilele Pediatriei Ieșene "N.N.Trifan"*. Iași; 20-22 octombrie 2016. Ediția XXIX-a, p. 65.
8. **Alsaliem T.**, Donos A. Infecția rotavirală la copii: evoluția clinico-paraclinică vs vaccinare. *Materialele Conferinței Naționale cu participare internațională Zilele Pediatriei Ieșene "N.N.Trifan"*. Iași; 5-7 octombrie 2017. Ediția XXX-a, p. 13.
9. **Alsaliem T.**, Donos A., Guragata A., Ciumas E. Особенности клинического течения ротавирусной инфекции у невакцинированных детей до года в Молдове. *Materialele*

Conferinței științifico-practice de pediatrie cu participare internațională. Harkov, Ucraina; 22-23 martie 2018, p. 10.

10. Guragata A., Donos A., **Alsaliem T.**, Iliev A-M. Некротический острый гастроэнтероколит с обезвоживанием III степени. *Materialele Conferinței științifico-practice de pediatrie cu participare internațională*. Harkov, Ucraina, 22-23 martie 2018, p. 67.
11. **Tatiana Alsaliem**, Ala Donos, Stela Gheorghita, Radu Cojocaru, Albina-Mihaela Iliev. Rotaviral genotype in acute intestinal infection in sentinel surveillance of infants from republic of Moldova. Scientific journal „*Biological markers in fundamental and clinical medicine*” (official specialized scientific journal of The Czech Republic, registration number MK CR E 22955). Vol. 3. No. 2, 2019. P. 18-20. ISSN 2570-5911 (print); ISSN 2570-5903 (on-line); DOI: 10.29256.

✓ **naționale**

12. Donos A., **Alsaliem T.**, Gangur L. Particularitățile de vârstă și gender ale infecției rotavirale la sugari. *Materialele Conferinței Naționale de Pediatrie cu participare internațională “Probleme și căi de soluționare în asistența medicală a copiilor”*. Chișinău, 9-10 septembrie 2016, p. 22-23.
13. **Alsaliem T.** Infecția rotavirală: evoluția clinico-paraclinică la sugari *Materialele Conferinței Internaționale de Pediatrie în contextul anului Nicolae Testemițanu*. Chișinău, 15-16 septembrie 2017, p. 44.
14. **Alsaliem T.** Genotipul rotaviral în infecția intestinală acută în supravegherea sentinelă a copiilor sugari din Republica Moldova. *Materialele Congresului Internațional pentru studenți și tineri medici MedEspera*. Chișinău, 3-5 mai 2018, p. 65. ISBN 978-9975-47-174-9.
15. **Alsaliem T.**, Donos A., Tagadiuc O., Revenco N., Spînu C., Iliev A-M. Metodă de diagnostic diferențial al infecției rotavirale în baza acidozei metabolice la sugar. *Materialele Expoziției Internaționale Specializate INFOINVENT*. Chișinău, 20 noiembrie 2019, p. 117-118.

Brevete de invenții, patente, certificate de înregistrare, materiale la saloanele de invenții:

16. **Alsaliem T.**, Donos A., Tagadiuc O., Revenco N., Spînu C., Iliev A-M. Metodă de diagnostic diferențial al infecției rotavirale în baza acidozei metabolice la sugar. Brevet de invenție MD. BOPI nr.11/2019, p. 52.
17. Donos A., Tagadiuc O., Revenco N., Spînu C., **Alsaliem T.** Metodă de stabilire precoce a tipului acidozei metabolice în infecția rotavirală la sugari. Certificat de inovator nr. 5716.

• **Participări cu comunicări la forumuri științifice:**

✓ **internaționale**

18. Donos A., **Alsaliem T.**, Gangur L. Particularități actuale în boala diareică acută la sugar. *Conferința Națională cu participare internațională Zilele Pediatriei Ieșene “N. N. Trifan”*. Ediția XXIX-a. Iași, 20-22 octombrie 2016.
19. **Alsaliem T.**, Donos A. Infecția rotavirală la copii: evoluția clinico-paraclinică versus vaccinare. *Conferința Națională cu participare internațională Zilele Pediatriei Ieșene “N. N. Trifan”*. Ediția XXX-a. Iași, 5-7 octombrie 2017.

✓ **naționale**

20. **Alsaliem T.** Aspecte clinico-evolutive ale infecției rotavirale la sugari. *Anale Științifice ale USMF “N. Testemițanu”*. Chișinău, 19-21 octombrie 2016.

21. **Alsaliem T.**, Donos A. Infecția rotavirală: evoluția clinico-paraclinică la sugari. *Conferința Internațională de Pediatrie în contextul anului Nicolae Testemițanu*. Chișinău, 15-16 septembrie 2017.
22. **Alsaliem T.** Genotipul rotaviral în infecția intestinală acută în supravegherea sentinelă a copiilor sugari din Republica Moldova. *Congresul Internațional pentru studenți și tineri medici MedEspera*. Chișinău, 3-5 mai 2018.
- **Participări cu postere la forumuri științifice:**
 - ✓ **internaționale**
23. Donos A., **Alsaliem T.**, Revenco N., Spînu C., Fortună N. Noi abordări metodice de ultimă generație în diagnosticul infecției rotavirale la copiii sugari. *Expoziția europeană a creativității și inovării Euroinvent*. Iași, România, 27 mai 2017.
24. **Alsaliem T.**, Donos A., Tagadiuc O., Revenco N., Spînu C., Iliev A-M. Metodă de diagnostic diferențial al infecției rotavirale în baza acidozei metabolice la sugar. *XVI Edition INFOINVENT International Specialized The Exhibition*, Chișinău, noiembrie 2019.
25. **Alsaliem T.**, Donos A., Tagadiuc O., Revenco N., Spînu C., Iliev A-M. Differential Diagnostic Method of Rotaviral Infection Based on Metabolic Acidosis in Infants. *The International Student Innovation and Scientific Research Exhibition „Cadet INOVA,20”*. Sibiu, România, 26-28 martie, 2020.
26. Donos A., Iliev A-M., Spînu C., Spînu Ig., **Alsaliem T.**, Serbulenco A., Suveică L. Method of treatment of community pneumonia with respiratory recurrence in childrens. *The²⁴ International Exhibition of Inventics „INVENTICA 2020”*, Iași, România, 29-31 iulie 2020.
27. **Alsaliem T.**, Donos A., Tagadiuc O., Revenco N., Spînu C., Iliev A-M. Differential Diagnostic Method of Rotaviral Infection Based on Metabolic Acidosis in Infants. *The¹⁰ European Exhibition of Creativity and Innovation „EUROINVENT”*. Iași, România, 21-23 mai 2020.
28. Donos A., Iliev A-M., Spînu C., Spînu Ig., **Alsaliem T.**, Serbulenco A., Suveică L. Method of treatment of community pneumonia with respiratory recurrence in childrens. *The¹⁰ European Exhibition of Creativity and Innovation „EUROINVENT”*. Iași, România, 21-23 mai 2020.
- ✓ **naționale**
29. **Alsaliem T.** Diplomă de excelență pentru valorificarea rezultatelor în practica medicală privind infecția rotavirală la copii. *Forumul inventatorilor români*. Chișinău, 15-18 decembrie 2017.
30. **Alsaliem T.**, Donos A., Tagadiuc O., Revenco N., Spînu C., Iliev A-M. Metodă de diagnostic diferențial al infecției rotavirale în baza acidozei metabolice la sugar. *Expoziția Internațională Specializată INFOINVENT*. Chișinău, 20-23 noiembrie 2019.