

Evaluation of the influenza, acute respiratory infections and severe acute respiratory infections by the surveillance system in the Republic of Moldova

*C. Spinu, P. Scoferta, V. Eder, I. Gostev, I. Spinu, E. Casiadi

National Center of Public Health, Chisinau, the Republic of Moldova

*Corresponding author: cspinu@cnspl.md. Article received July 17, 2013; accepted September 15, 2013

Abstract

The article presents a weekly clinical-epidemiological and virological evolution of influenza, acute respiratory infections (ARI) of the upper respiratory tract and severe acute respiratory infections (SARI) in the seasons of 2012-2013. Influenza has been detected mainly in people aged 15 to 64 with its regional distribution and a moderate impact on the health care system. The incidence of influenza in this season has been 7.5 times as much as in the last season. The leading role of the influenza virus A(H1N1)pdm and B with the little involvement of the influenza virus A(H3N2) has been established in the structure of the influenza epidemic. By the antigenic structure, the isolated in the Republic of Moldova influenza viruses have been similar with the influenza viruses strains introduced in the influenza vaccine in 2012-2013 seasons. ARI morbidity beginning from the 40th week of 2012 was increasing, then it slightly reduced in the 1st week of 2013, and again there was its peak in the 8th week of 2013 followed by a gradual reduction. ARI have been registered in all the regions of Moldova. The highest morbidity level in the country has been registered in Balti and the lowest – in Briceni, affecting mainly the children aged 0 to 14. The level of ARI morbidity in the mentioned period has increased the epidemic threshold by 1.5 times in comparison with the same period of the previous season. The SARI morbidity has been registered in all the administrative territories with the highest level of morbidity in Balti and the lowest – in Dubasari, affecting both adults and children. The SARI morbidity level beginning from the 40th week of 2012 was increasing, reaching its peak in the 8th week of 2013, then it reduced. The SARI morbidity during the evaluated period has been 1.3 times as much as in the same period of the 2011-2012 seasons.

Key words: influenza, respiratory infections, morbidity, influenza viruses.

Evaluarea sistemului de supraveghere la gripă, infecții acute ale căilor respiratorii superioare și infecții respiratorii acute severe în Republica Moldova

Introducere

Infecțiile acute ale căilor respiratorii superioare (IACRS), reprezintă un grup de maladii infecțioase poli etiologice, care afectează preponderent căile respiratorii și care apar la persoane de diferite vârste dar, în special, afectează copiii și persoanele de vârstă înaintată. Anual, afecțiunile respiratorii generează importante pierderi economice, exces de mortalitate în grupuri specifice de vârstă și risc, dimensiunea acestora fiind comparabile doar cu cea a afecțiunilor cardiovasculare.

În ceea ce privește incidența, IACRS ocupă primul loc, reprezentând în unele țări până la 95,0% din bolile infecțioase. Cauza IACRS este bacteriile, micoplazmele, hlamidiile, însă cea mai mare parte o reprezintă virusurile. Astăzi, sunt cunoscute circa 200 de virusuri, potențiali agenți patogeni ai IACRS, în special, virusurile gripale A, B, C, virusurile paragripale tip I, II, III, adenovirusurile (49 de serovariante), virusul respirator sincițial, reovirusurile (3 serovariante), rinovirusurile (114 serovariante), coronavirusurile, metapneumovirusul uman și altele [1]. Cea mai importantă semnificație în afecțiunile respiratorii îl au virusurile gripale, în special de tip A. Virusurile gripale cauzează anual epidemii și, la o anumită perioadă de timp, pandemii devastatoare cu pierderi dezastruoase. Aceste circumstanțe impun crearea unor strategii de prevenire și control permanent atât la nivel național, regional, cât și internațional prin sisteme speciale de supraveghere ale gripei.

În această lucrare, sunt prezentate rezultatele săptămânale de monitorizare clinico-epidemiologică și virusologică a gripei, IACRS și SARI în sezonul săptămâna 40/2012 - săptămâna 16/2013 în Republica Moldova.

Material și metode

Supravegherea epidemiologică s-a realizat conform ordinului Ministerului Sănătății în toate teritoriile administrative și 9 puncte santinelă ale Republicii Moldova [2].

Detectarea virusurilor în materialul patologic de la bolnavi s-a realizat prin tehnici de biologie moleculară (Real Time RT-PCR), utilizând echipamentul Real Time System CFX 96 (Bio-Rad), cu truse de amplificare Real Time RT-PCR elaborate de CDC (Atlanta, SUA) și recomandate de OMS pentru laboratoarele de referință din lume [3].

Izolarea virusurilor gripale pe culturi celulare MDCK și MDCK-SIAT s-a efectuat conform metodologiei recomandate de OMS [4], identificarea tulpinilor izolate s-a realizat prin testul de hemaglutinoinhibare cu seruri imune de referință față de virusurile gripale A (H1N1), A (H3N2) și B, oferite de CDC (Atlanta, SUA) [5].

Determinarea sensibilității tulpinilor izolate la remediile antigripale (Oseltamivir, Zanamivir), s-a efectuat prin testul de inhibare a neuraminidazei conform metodei recomandate de OMS [6], în colaborare cu Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Microbiologie-Imunologie Cantacuzino, România.

Estimarea indicilor morbidității prin gripă, IACRS și SARI la 100 000 populație s-a efectuat după metoda descrisă [7].

Rezultate și discuții

Primele două cazuri de gripă clinică, în perioada săptămâna 40/2012 - săptămâna 20/2013 au fost înregistrate în raionul Dondușeni, (la un copil cu vârsta cuprinsă între 5-14 ani și un alt caz la o persoană mai mare de 65 de ani). În săptămâna 02/2013 a fost înregistrat un caz de gripă clinică, care prin teste de laborator (RT-PCR) s-a confirmat ca gripă de tip B. În săptămâna 03/2013 au fost înregistrate două cazuri de gripă clinică (un caz în mun. Chișinău și altul în raionul Comrat), care au fost confirmate ca gripă de tip A(H1N1)pdm și B. Din săptămâna 04/2013 morbiditatea prin gripă s-a aflat în creștere, atingând apogeul în săptămâna a 8/2013 (12,8⁰/₀₀₀₀), după care morbiditatea s-a aflat într-o descreștere succesivă, reducându-se în săptămâna a 16/2013 până la 0,6⁰/₀₀₀₀ cazuri. În fig. 1 este prezentată evoluția săptămânală a morbidității prin gripă înregistrată în perioada săptămânile 40/2012-16/2013 în Republica Moldova.

Pe parcursul perioadei nominalizate, în Republica Moldova, au fost înregistrate 2492 de cazuri de gripă clinică: în mun. Chișinău - 1286 de cazuri, în mun. Bălți - 163 și în raioanele: Ungheni - 396, Florești - 207, Călărași - 135, Orhei - 63, Dondușeni - 43, Ialoveni - 33, Strășeni - 37, Comrat - 16, Fălești - 15, Șt. Vodă - 15, Nisporeni - 13, Soroca - 12, Hâncești - 11, Ciadâr-Lunga - 8, Edineț - 7, Rezina - 6, Taraclia - 6, Glodeni - 5, Anenii-Noi - 4, Cahul - 3, Telenești - 3, Sângerei - 2, Dubăsari - 2 și Cantemir - 1 caz. Conform grupurilor de vârstă, gripa s-a repartizat în modul următor: copii de 0-4 ani - 259 de cazuri; 5-14 ani - 560 de cazuri; persoane cu vârsta cuprinsă între 15-29 de ani - 670 de cazuri; 30-64 de ani - 892 de cazuri și ≥ 65 de ani - 111 cazuri.

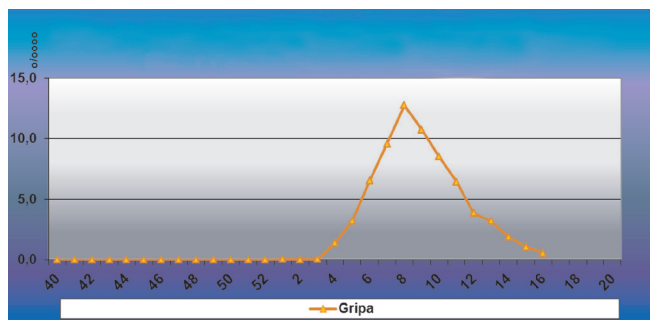


Fig. 1. Morbiditatea prin gripă în Republica Moldova, la 100 000 populație, săptămânile 40/2012-16/2013.

Gripa, în sezonul nominalizat, a afectat preponderent persoanele cu vârsta cuprinsă între 15-64 de ani (62,68%), copii (0-14 ani) constituind doar 32,86%, iar persoanele ≥ 65 de ani - 4,45% din numărul total de gripă clinică înregistrată. Cea mai înaltă morbiditate prin gripă s-a înregistrat în raionul

Ungheni (337,31⁰/₀₀₀₀), iar cea mai joasă – în raionul Căteușeni (1,5⁰/₀₀₀₀ cazuri). În 11 raioane (Basarabeasca, Briceni, Căușeni, Cimișlia, Criuleni, Drochia, Leova, Ocnița, Râșcani, Șoldănești și Vulcănești) ale Republicii Moldova, cazuri de gripă clinică nu au fost înregistrate. În perioada săptămânilor 40/2012-16/2013, morbiditatea prin gripă s-a majorat de 7,5 ori față de aceeași perioadă a sezonului precedent.

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

Morbiditatea prin IACRS din săptămâna 40/2012 s-a aflat într-o creștere succesivă, reducându-se neesențial în săptămâna 01/2013, după care din nou s-a aflat în creștere, atingând apogeul în săptămâna 08/2013 (468,6⁰/₀₀₀₀), după care a urmat o reducere treptată. În fig. 2 este prezentată evoluția săptămânală a morbidității prin IACRS în sezonul nominalizat.

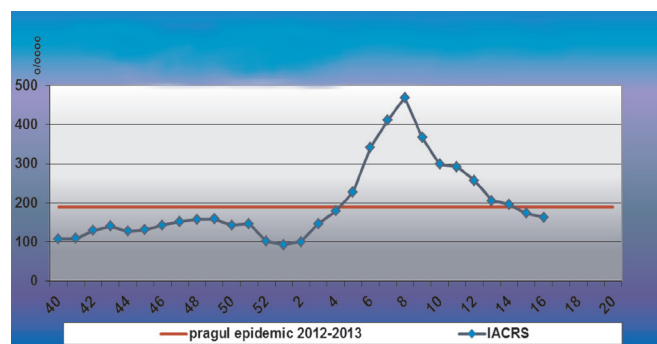


Fig. 2. Morbiditatea prin IACRS în Republica Moldova, la 100 000 populație, săptămânile 40/2012-16/2013.

IACRS s-au înregistrat în toate teritoriile administrative ale Republicii Moldova, însă intensitatea procesului epidemic în diferite localități a variat. Cea mai înaltă morbiditate prin IACRS s-a înregistrat în mun. Bălți (11857,8⁰/₀₀₀₀), iar cea mai joasă - în raionul Briceni (682,08⁰/₀₀₀₀). Preponderent, IACRS au afectat copiii (0-14 ani), ponderea cărora în săptămânile 40-52/2012 a constituit în mediu 63,0%, iar în săptămânile 1-16/2013- 56,8%. Morbiditatea prin IACRS a depășit pragul epidemic (189,17⁰/₀₀₀₀) în săptămânile 5-14/2013, majorându-se de 1,5 ori față de aceeași perioadă a sezonului precedent.

Incidența prin SARI din săptămâna 40/2012 s-a aflat în creștere, cu o reducere neesențială în săptămâna 52/2012, după care din nou s-a aflat în creștere, atingând apogeul în săptămâna 08/2013 (76,6⁰/₀₀₀₀). În următoarele săptămâni, morbiditatea prin SARI s-a aflat într-o descreștere succesivă,

reducându-se în săptămâna 16/2013 până la 40,5⁰/₀₀₀₀ cazuri. În fig. 3 este prezentată evoluția săptămânală a morbidității prin SARI în sezonul curent.

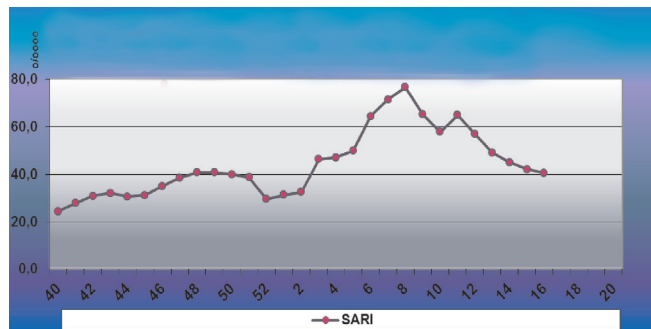


Fig. 3. Morbiditatea prin SARI în Republica Moldova, la 100 000 populație, săptămânile 40/2012-16/2013.

Tabelul 1

Rezultatele investigațiilor de laborator ale exsudatelor nazofaringiene de la bolnavii cu gripă, IACRS și SARI la prezența virusurilor gripale prin tehnici de biologie moleculară (RT-PCR)

Diagnosticul clinic	IACRS	Gripă	SARI	Total
Nr. prob. examinate	369	176	98	643
A H1N1 pdm	41	55	17	113
B	32	53	11	96
A H3N2	11	7	4	22
AD	16	-	3	19
RSV	16	-	1	17
P1	1	-	-	1
P2	1	-	-	1
P3	6	-	-	6
AD + P2	2	-	-	2
AD + P3	4	-	-	4
A H1N1 pdm + B	1	1	2	4
AD + RSV	2	-	-	2
RV	2	-	-	2
Meta	1	-	-	1

Legendă: IACRS – infecții acute ale căilor respiratorii superioare, SARI – infecții respiratorii acute severe (pneumonii, bronhopneumonii acute, bronșiolite), A(H1N1)pdm – virus gripal, B – virus gripal, A/H3N2) – virus gripal, AD – adenovirusuri, RSV – virus respirator sincițial, P1,P2,P3 – virusuri paragripale tip1, 2 și 3, AD+P2 – adenovirusuri + virus paragripal tip 2, AD+P3 – adenovirusuri + virus paragripal tip 3, A(H1N1) pdm+B – virusuri gripale tip A(H1N1) pdm+virus gripal tip B, AD+RSV – adenovirusuri + virus respirator sincițial, RV – rinovirusuri, Meta – metapneumovirus uman, - Investigații nu au fost efectuate.

SARI s-au înregistrat în toate teritoriile administrative, cea mai înaltă morbiditate a fost în mun. Bălți (2959,92⁰/₀₀₀₀) și cea mai joasă în raionul Dubăsari (133,53⁰/₀₀₀₀). SARI au afectat atât adulții, cât și copiii (0-14 ani), însă ponderea morbidității la copii în săptămânile 40-52/2012 a constituit în medie 60,5%, iar în săptămânile 1-16/2013 – 51,9%. Pon-

derea morbidității prin SARI la persoanele cu vârsta ≥ 65 de ani în săptămânile 40-52/2012 a constituit în medie 6,7%, iar în săptămânile 1-16/2013 – 7,68%. Nivelul morbidității prin SARI în perioada evaluată s-a majorat de 1,3 ori față de aceeași perioadă a sezonului 2011-2012.

Pentru confirmarea diagnosticului clinic și determinarea virusurilor circulante la bolnavii cu gripă, IACRS și SARI au fost investigate 643 de probe de exsudate nazofaringiene, inclusiv, 176 de probe de la bolnavii cu diagnosticul prezumtiv de gripă, 369 cu IACRS și 98 de probe de la bolnavii cu SARI. În tabelul 1 sunt prezentate rezultatele acestor investigații.

La investigarea a 643 de probe de material patologic recoltat de la bolnavii cu diagnosticul prezumtiv gripă, IACRS și SARI, în 294 de probe (45,7%) au fost detectați agenți patogeni ai gripei și infecțiilor acute ale căilor respiratorii superioare (IACRS). Din 369 de probe de la bolnavii cu diagnosticul prezumtiv IACRS, virusurile gripale au fost detectate în 85 (23,0%) cazuri. La 176 de pacienți cu diagnosticul gripă, virusurile gripale au fost detectate în 116 (65,9%) cazuri, iar la cei cu diagnosticul SARI (98 de bolnavi) 34 (34,7%) cazuri. Investigațiile efectuate au demonstrat că gripa, în perioada săptămânilor 40/2012-16/2013, a fost cauzată etiologic de trei virusuri gripale: A(H1N1) pdm, B și A(H3N2), cu predominarea agentului gripal A(H1N1)pdm. Ponderea virusului gripal A(H1N1)pdm în structura etiologică a gripei a constituit 48,0%, virusul B – 40,8%, A(H3N2) – 9,3% și a virusurilor A(H1N1)pdm+B – 1,7%.

Pe culturi celulare MDCK au fost izolate și identificate 8 tulpini de virusuri gripale. Două tulpini au fost identificate ca virus gripal: A/California/07/09 (H1N1) – like, trei – ca virus A/Victoria/361/2011 (H3N2); și trei tulpini de virus gripal tip B: o tulpină – B/Wisconsin/1/2010-like – B-Yamagata/16/88 – lineage, a doua – B/Brisbane/60/2008 – like – B/Victoria/2/87 – lineage și a treia – B/Florida/4/2006 – B/Yamagata/16/88 – lineage. Tulpinile izolate au fost studiate la sensibilitate față de remediile medicamentoase Oseltamivir și Zanamivir. Toate tulpinile au fost sensibile la aceste remedii antivirale.

Virusurile gripale izolate în Republica Moldova vor fi transmise la Centrul Colaborativ de Gripă din Londra (Marea Britanie) pentru confirmare, studierea aprofundată și includerea lor în arborele filogenetic global, întru evaluarea tulpinilor gripale candidate la includerea lor în cocktailul vaccinal pentru următorul sezon gripal.

Programul global de supraveghere a gripei este unul din cele mai vechi programe elaborate de OMS. Supravegherea gripei a fost inițiată și organizată de OMS încă în 1947 prin crearea unei rețele de centre naționale și laboratoare internaționale de referință, cu elaborarea unei metodologii standardizate de activitate. Timp de 4 ani, în rețea au fost incluse mai mult de 60 de laboratoare din 40 de țări [8].

Anual, OMS monitorizează circulația și variabilitatea antigenică a virusurilor gripale, în vederea evidențierii variantelor cu potențial pandemic și epidemic, ulterior utilizate pentru prepararea vaccinului antigripal.

Obiectivele supravegherii gripei includ:

- monitorizarea circulației virusurilor umane și animale;

- supravegherea evoluției unor indicatori specifici și nespecifici ai infecției gripale.

Monitorizarea circulației virusurilor umane și animale permite depistarea precoce a tulpinilor cu potențial epidemic (modificări antigenice minore de tip „drift”) și pandemic (modificări antigenice majore de tip „shift”). La moment, funcționează o rețea, care numără 141 de centre naționale de gripă din 111 țări și 4 centre de referință din: Londra (Marea Britanie), Atlanta (SUA), Tokyo (Japonia) și Melbourne (Australia), al cincilea centru se află în Memphis (SUA), care monitorizează circulația virusurilor gripale animale [9]. Programul funcționează în modul următor: centrele naționale de gripă din fiecare țară izolează, identifică, studiază sensibilitatea la antivirale a diferitor tulpini de virus gripal, care circulă la moment în populația umană pe tot globul (prin izolarea lor pe culturi celulare sau ouă embrionare de găină) și le expediază în cele 4 centre de referință la gripă pentru confirmare și studiu aprofundat. În aceste centre, se realizează analiza moleculară și antigenică a tulpinilor de virus gripal prin metode RT-PCR și tehnici de secvențiere; se studiază nivelul modificărilor genotipice și fenotipice, evoluția lor la nivel de „shift” și „drift”, care ar putea evolua și modifica structura antigenică a tulpinilor izolate pentru selectarea tulpinilor ulterior propuse pentru „cocktailul vaccinal”, recomandat de OMS pentru următorul sezon epidemic.

Laboratoarele specializate elaborează truse de diagnostic precalificate de instituțiile de profil ale OMS, care permit rețelei de laboratoare într-un algoritm standardizat să determine virusurile gripale circulante.

Principalul indicator de supraveghere al gripei, IACRS și SARI este monitorizarea numărului de persoane cu diagnostic clinic de infecție respiratorie (gripă, IACRS și SARI) în baza definiției de caz suspect, probabil și confirmat, realizat prin intermediul rețelei de supraveghere epidemiologică de tip santinelă, care reprezintă o structură de unități santinelă, compuse dintr-o rețea de medici de familie din orașe și sate, o stație de ambulanță, un spital/secție de boli infecțioase, farmacia indicatoare, unități preșcolare, școlare și industriale. Fiecare unitate santinelă colectează săptămânal date privind indicatorii specifici: numărul cazurilor înregistrate, spitalizate și decedate din cauza infecțiilor respiratorii – gripă, IACRS și SARI conform grupurilor de vârstă (0-4, 5-14, 15-29, 30-64 și ≥ 65 de ani); și nespecifici: absenteism școlar și industrial, numărul de unități medicamentoase eliberate de farmaciile indicatoare, concedii de scurtă durată acordate de medicii de familie, solicitări de ambulanță, numărul de internări în secțiile/spitalul de boli infecțioase, numărul de tratamente cu remedii antigripale (amantadin, oseltamivir, zanamivir). În unitățile santinelă, de la bolnavii cu gripă, IACRS și SARI se colectează material patologic (exsudate nazofaringiene) pentru examenul de laborator. Datele săptămânale, inclusiv ale rezultatelor examinării de laborator, din sistemul național santinelă se transmit pe site-ul EuroFlu (WHO/Europe influenza surveillance). În baza datelor recepționate, se apreciază răspândirea geografică a morbidității, evoluția manifestării, tendința și intensitatea procesului epidemic, impactul asupra

serviciilor de sănătate, virusurile gripale dominante, codominante, rezistența la antivirale etc.

În prezent funcționează două sisteme: unul global (WHO Global Influenza Surveillance Network) și altul regional (European Influenza Surveillance Network), care urmăresc evoluția gripei prin conectarea Centrelor naționale de gripă, centrelor regionale de referință și ale altor instituții integrate în sistemul de supraveghere a gripei, IACRS și SARI [9, 10].

Actualmente, sistemul de sănătate al Republicii Moldova dispune de un sistem de supraveghere la gripă, infecții acute ale căilor respiratorii superioare (IACRS) și infecții respiratorii acute severe (SARI), creat cu suportul Băncii Mondiale și ajustat la exigențele OMS, ECDC și CDC, care este conectat la rețeaua europeană EuroFlu și globală FluNet al OMS. Acest sistem include și Centrul Național de Gripă al Republicii Moldova, care a fost recunoscut și aprobat la 18 martie 2013 de OMS și este atestat ca membru al Sistemului Global de Supraveghere a Gripei. Centrul Național de Gripă al Republicii Moldova dispune de un nivel de biosecuritate BSL-2/BSL-2+ și este dotat cu echipament modern, consumabile, personal calificat, capabil să realizeze tehnici de biologie moleculară și de virologie clasică.

Concluzii

1. În perioada săptămânilor 40/2012-16/2013, gripa a avut o răspândire geografică regională cu o intensitate medie a procesului epidemic și un impact mediu asupra sistemului de sănătate. În 11 teritorii administrative ale Republicii Moldova, cazuri de gripă clinică nu au fost înregistrate. Gripa a afectat preponderent persoanele cu vârsta cuprinsă între 15 și 64 de ani. Cea mai înaltă morbiditate prin gripă s-a înregistrat în raionul Ungheni, iar cea mai joasă – în raionul Cantemir. În sezonul nominalizat, gripa a fost etiologic cauzată de virusurile gripale A(H1N1)pdm, B și A(H3N2), cu predominarea agentului gripal A(H1N1)pdm.

2. Ponderea virusurilor gripale A(H1N1)pdm, B, A(H3N2) și A(H1N1)pdm+B în structura etiologică a gripei a constituit respectiv 48,0%, 40,8%, 9,3% și 1,7%. Conform structurii antigenice, virusurile gripale izolate au corespuns tulpinilor incluse în componența vaccinului antigripal pentru sezonul 2012-2013. Tulpinile de virusuri gripale izolate au fost sensibile la remediile antigripale Oseltamivir și Zanamivir.

3. IACRS s-a înregistrat în toate teritoriile administrative ale țării, cu cea mai înaltă morbiditate în mun. Bălți și cea mai joasă în raionul Briceni. Infecțiile nominalizate au afectat preponderent copiii (0-14 ani). În perioada nominalizată, nivelul morbidității prin IACRS s-a majorat de 1,5 ori față de aceeași perioadă a sezonului 2011-2012, depășind pragul epidemic în săptămânile 5-14/2013.

4. SARI (pneumonii, bronhopneumonii și bronșiolite) s-au înregistrat în toate teritoriile administrative cu cea mai înaltă morbiditate în mun. Bălți și cea mai joasă - în raionul Dubăsari. Nivelul morbidității prin SARI s-a majorat de 1,3 ori față de aceeași perioadă a sezonului precedent. Preponderent au fost afectați copiii (0-14 ani).

5. Implementarea sistemului de supraveghere a gripei, IACRS și SARI ne-a permis de a aprecia răspândirea geografică, evoluția manifestării, intensitatea și tendința procesului epidemic, impactul asupra sistemului de sănătate, virusurile gripale dominante, codominante și locul tulpinilor izolate în arborele filogenetic global, ulterior utilizat în aprecierea virusurilor gripale incluse în vaccinul gripal. Datele obținute au stat la baza elaborării și realizării măsurilor de control și răspuns la infecțiile nominalizate întru reducerea riscului de infectare, răspândire și diminuare a morbidității prin gripă, IACRS și SARI.

References

- Alexandrescu V, Tecu C, Mihai M.E. Infecții respiratorii virale non-gripale [Non-influenza viral respiratory infections]. București, 2009.
- 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 [The order of the Health Ministry on the improvement of monitoring system of influenza and acute respiratory infections in the Republic of Moldova.] Available from: http://ms.gov.md/_files/9543ord%2520824%2520din%252031.10.11.doc
- CDC Real-Time RT-PCR. Protocol for detection and characterization of swine influenza (version, 2009).
- Virus isolation in cell culture in the manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza. World Health Organization. 2011;35-8.
- Identification of the haemagglutinin subtype of viral isolates by haemagglutination inhibition testing. In: Manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza. World Health Organization. 2011;43-57.
- Use of neuraminidase inhibition assays to determine the susceptibility of influenza viruses to antiviral drugs. In: manual for the laboratory diagnosis and virological surveillance of influenza. World Health Organization. 2011;103-16.
- Vasilev K, Shlyahov E. Metody issledovaniya v epidemiologii [Research methods in epidemiology]. Chișinău: Cartea Moldoveneasca, 1971.
- Spînu C, Scoferța P, Romancenco E, et al. Infecția cu virusuri gripale umane (aspecte epidemiologice, clinice, de laborator, tratament și profilaxie). Ghid practic [Infection with human influenza viruses (epidemiological, clinical, laboratory, treatment and prophylaxis issues. Practical guide)]. Chișinău, 2009.
- WHO Global Influenza Surveillance Network [web site]. Geneva, World Health Organization (<http://www.who.int/csr/disease/influenza/surveillance/en/index.html>, accessed 25 March 2010)
- European Influenza Surveillance Network (EISN) [web site]. European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). <http://www.ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EISN/Pages/home.aspx>, accessed 25 March 2010.

