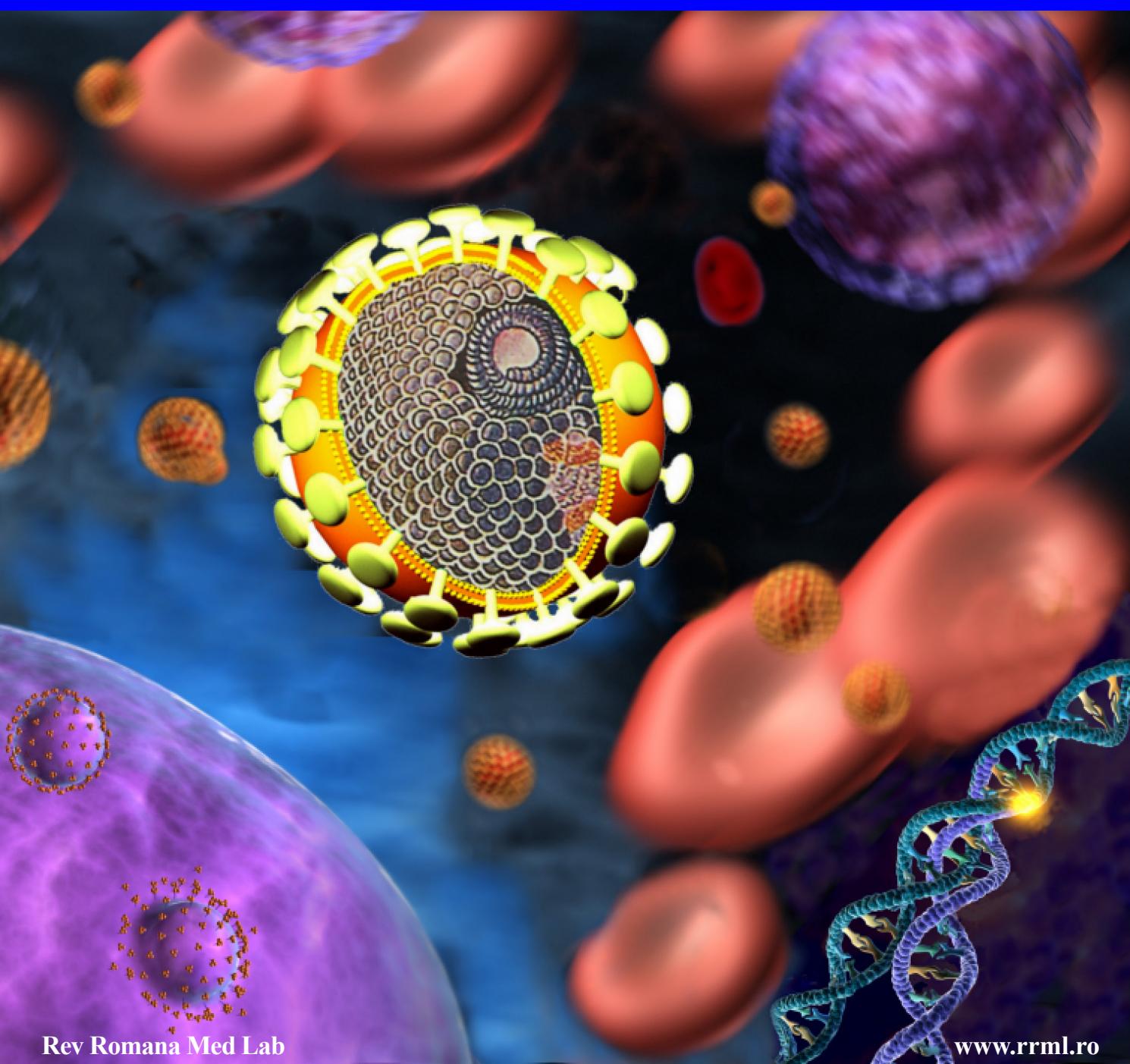


REVISTA ROMÂNĂ DE MEDICINĂ DE LABORATOR

Romanian Journal of Laboratory Medicine

SUPLIMENT 1 - VOL. 30, Nr. 2, APRILIE 2022

ISSN 1841-6624 • ISSN online: 2284-5623



Rev Romana Med Lab

www.rrml.ro

**REVISTA ROMÂNĂ DE
MEDICINĂ DE LABORATOR**

Supliment 1 la Vol. 30, Nr. 2, Aprilie, 2022

Advisory Board

William Au (University of Texas, USA, Shantou University Medical College, China)
Maurizio Ferrari (Univ. „Vita-Salute San Raffaele”, Milan, Italy)
Steliana Huhulescu (Institut für med. Mikrobiologie und Hygiene, Vienna, Austria)
Trefor Higgins (DynaLIFE Dx Laboratories, Edmonton, Canada)
Janos Kappelmayer (Univ. Debrecen, Hungary)
Gabor Kovacs (Univ. Pecs, Hungary)
Laszlo Muszbek (Univ. Debrecen, Hungary)
Manuela Neuman (Institute of Drug Research, Univ. of Toronto, Canada)
Francisco Nogales (Universidad de Granada, Spain)
Vladimir Palicka (Univ. Hradek Kralove, Praga, Czech Republic)
Grazyna Odrowaz-Sypniewska (Nicolaus Copernicus University, Torun, Poland)
Dan Simionescu (Clemson University, USA)
Ana Maria Simundic (Univ. Zagreb, Croatia)
Cristina Skrypnyk (Arabian Gulf University, Manama, Bahrain)
Robert Soslow (Memorial Sloan Kettering Cancer Center, New York, USA)
Horia Stănescu (University College London, UK)
Cătălina Suzana Stîngu (Universitätsklinikum Leipzig, Germany)
Franc Strle (University Medical Centre Ljubljana, Slovenia)
Alexandru Șchiopu Jr. (Lund University, Malmö, Sweden)
Angela Borda (UMFST Târgu Mureş)
Eugen Carasevici (UMF „Gr. T. Popa” Iaşi)
Petru Cianga (UMF „Gr. T. Popa” Iaşi)
Daniel Coriu (UMF „Carol Davila” Bucureşti)
Alis Dema (UMF „Victor Babeş” Timişoara)
Olga Dorobăt (Institutul Național de Boli Infectioase „Matei Balș”)
Vlad Gorduza (UMF „Gr. T. Popa” Iaşi)
Nicolae Hâncu (UMF „Iuliu Hatieganu”, Cluj-Napoca)
Monica Licker (UMF Timișoara)
Claudiu Mărgăritescu (UMF Craiova)
Marius Măruşteri (UMFST Târgu Mureş)
Ioana Neagoe (UMF „Iuliu Haţieganu” Cluj-Napoca)
Dan Otelea (Institutul Național de Boli Infectioase „Matei Balș”)
Ioan Victor Pop (UMF „Iuliu Haţieganu” Cluj-Napoca)
Adrian Streinu-Cercel (UMF „Carol Davila” Bucureşti)
Margit Ţerban (UMF „Victor Babeş” Timișoara)

ASOCIAȚIA DE MEDICINĂ DE LABORATOR DIN ROMÂNIA
CCAMF - UMF Tîrgu Mureș
Str. Gh. Marinescu 38, Et 3, Cam. 107,
Tîrgu Mureș, 540139
Tel/fax 40 265 20 89 42/40 265 20 89 52
www.rrml.ro, www.almr.ro, www.raml-conference.ro



REVISTA ROMÂNĂ DE MEDICINĂ DE LABORATOR

Romanian Journal of Laboratory Medicine

Publicație Oficială a ASOCIAȚIEI DE MEDICINĂ DE LABORATOR DIN ROMÂNIA
Supliment 1 la Vol. 30, Nr. 2, Aprilie, 2022

Comitetul de redacție

Redactor șef
Minodora Dobreanu

Redactor adjunct
Adrian Man

Redactori de specialitate
Claudia Bănescu
Ioana Brudască
Simona Cernea
Adela Boilă
Daniela Cristina Dimitriu
Doina Ramona Manu
Cristina Mambet
Alina Scridon Șerban
Cristina Elena Selicean
Edit Szekely
Camil Vari

Redactori tehnici
Adrian Man
Mihaela Iancu
Marius Marusteri
Adrian Năznean
Aurora Pașcan
Anișoara Pop
Emanuela Tegla
Marian Pop

Secretariat redacție
Adina Huțanu

Creditări RRML

ISI Web of Knowledge - Începând cu anul 2008, RRML este indexată în ISI Web of Knowledge - Web of Science - Science Citation Index Expanded (Clarivate Analytics). Factor impact 2019: 0,945

Index Copernicus Master journal List - din anul 2009.

CNCSIS - Din anul 2008, RRML este inclusă în categoria A de publicații a CNCSIS, cu codul CNCSIS 739.

CM R - RRML a fost inclusă în Nomenclatorul Publicațiilor Medicale al CMR începând cu anul 2007. Medicii abonați la această publicație sunt creditați cu 10 credite EMC.

OBBCSS R - Începând cu anul 2007, OBBCSSR a creditat RRML cu 7 credite EMC.

Directory of Open Access Journals (DOAJ) - Începând cu 2016 RRML este indexată în DOAJ, SCImago (SJR)

Table of contents

A XIII-a Conferința Națională a Asociației de Medicină de Laborator din România cu participare internațională	S5
Organizers /Organizatori	S6
Abstracts / Rezumate[*]	S7
Authors Index / Index de autori	S109
Information and Guidelines for Authors	S113

^{*} The responsibility for the content of the abstracts belongs entirely to the authors.



Asociația de Medicină de Laborator din România



International Federation
of Clinical Chemistry
and Laboratory Medicine



EUROPEAN FEDERATION OF CLINICAL CHEMISTRY
AND LABORATORY MEDICINE

VOLUM DE REZUMATE

A XIII-a Conferință Națională a Asociației de Medicină de Laborator din România cu participare internațională

Președinte AMLR:
Dr. Cristina MAMBET

Președinte Conferință:
Prof. Dr. Minodora DOBREANU

25-27 Mai 2022, Brașov, România

Comitet de organizare | Organizing Committee**UMFST George Emil Palade TÎRGU MUREŞ**

Minodora DOBREANU

Adrian MAN

Adina HUȚANU

Oana OPREA

Marta Andrea FODOR

Ion-Bogdan MĂNESCU

Ramona URZICĂ

UMF Carol Davila BUCUREŞTI

Cristina MAMBET

Ariadna RĂDULESCU

UMF Grigore T Popa IAŞI

Cristina DIMITRIU

UMF Iuliu Hațieganu CLUJ NAPOCA

Ioana BRUDAŞCĂ

Cristina SELICEAN

UMF Victor Babeş TIMIŞOARA

Camelia VIDIȚĂ-GURBAN

Comitet științific | Scientific Committee

Ioana BRUDAŞCĂ

Eugen CARASEVICI

Petru CIANGA

Irina CODIȚĂ

Daniel CORIU

Minodora DOBREANU

Cristina DIMITRIU

Iuliu Ivanov

Monica LICKER

Cristina MAMBET

Tudor Rares OLARIU

Cristina SELICEAN

C01. EVALUAREA PROGNOSTICULUI PE BAZA ANOMALIILOR GENOMICE ÎN LEUCEMIA ACUTĂ MIELOIDĂ PEDIATRICĂ ȘI LEUCEMIA MIELOMONOCITARĂ JUVENILĂ

Anca Coliță^{1,2}, Andrei Coliță^{1,2}

¹Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București

²Clinica de Pediatrie, Institutul Clinic Fundeni, București

³Clinica de Hematologie, Spitalul Clinic "Colțea", București

În oncologia pediatrică leucemia este cel mai frecvent tip de cancer, iar leucemia acuta mieloidă (LAM) este responsabilă de 15-20% din toate cazurile de leucemie a copilului. Deși în ultimile decade s-a obținut o îmbunătățire semnificativă a prognosticului copiilor cu orice tip de leucemie, ratele de recădere în LAM pediatrică sunt încă crescute, în jur de 25-30%, conferind o evoluție nefavorabilă.

În ceea ce privește profilul de anomalii genomice ce induc LAM au fost raportate diferențe între adulți și copii. În timp ce la adult LAM se dezvoltă prin acumularea de mutații dobândite de-a lungul vieții, LAM pediatrică este cauzată de mai puține evenimente genetice, dar cu un efect negativ mai pronunțat. În acest context, o mai bună caracterizare a profilului de aberații moleculare în LAM pediatrică rămâne o provocare pentru îmbunătățirea stratificării prognostice.

Au fost identificate opt categorii funcționale de gene ce pot fi afectate de mutații somaticce recurente și fuziuni genice în LAM: molecule de semnalizare, factori epigenetici ce controlează metilarea ADN-ului sau structura cromatinei, factori de transcripție, supresori tumorali, complexul de coezine, factori cu rol în splicing-ul ARNm și gena NPM1. Clasificarea din 2016 a LAM furnizată de Organizația Mondială a Sănătății (OMS) a inclus câteva anomalii genetice cu relevanță prognostică majoră – cum ar fi inv(16) (p13.1q22)/CBFB–MYH11, t(8;21)(q22;q22)/RUNX1–RUNX1T1, mutațiile NPM1 izolate și mutațiile bialelice CEBPA. Categoria de gene implicate în controlul semnalizării kinazelor (NRAS/KRAS, FLT3, KIT) este cel mai frecvent afectată de mutații.

Neoplaziile mieloide cu predispoziție genetică, purtătoare de mutații ale liniei germinale asociate cu afecțiuni familiale ale trombocitelor, sindromul Noonan, sindroame de insuficiență medulară, afecțiuni ale biologiei telomerelor și altele, au fost de asemenea incluse în clasificarea OMS 2016.

Leucemia mielomonocitară juvenilă (LMMJ) este o neoplazie pediatrică rară, inclusă în categoria de graniță sindrom mielodisplazic / neoplasm mieloproliferativ. LMMJ se caracterizează prin mutații ale genelor implicate în calea de semnalizare RAS. În plus, pot fi întâlnite anomalii de cariotip și modificări epigenetice. Genele RAS (NRAS, KRAS și PTPN11) suferă fie mutații la nivelul germinale, rezultând de obicei un sindrom mieloproliferativ tranzitoriu cu evoluție favorabilă, fie mutații somaticce asociate cu o formă agresivă de LMMJ.

Introducerea secvențierii de nouă generație (NGS) în neoplaziile mieloide s-a dovedit a fi benefică pentru copiii cu LAM, permisind o îngrijire mai bună și o înțelegere mai profundă a subtipurilor genetice rare de LAM. Testarea NGS ajută la identificarea unui număr de mutații critice pentru diagnostic și evaluarea prognosticului, fiind complementară testelor convenționale, cum ar fi hibridizarea fluorescentă in situ și reacția PCR precedată de revertranscriere.

Cuvinte cheie: leucemie acută mieloidă pediatrică, leucemie mielomonocitară juvenilă, secvențiere de nouă generație

Referințe:

1. Stratmann S, Yones SA, Mayrhofer M, et al. Genomic characterization of relapsed acute myeloid leukemia reveals novel putative therapeutic targets. *Blood Adv.* 2021 Feb 9;5(3):900-912
2. Goel H, Rahul E, Gupta I, et al. Molecular and genomic landscapes in secondary & therapy related acute myeloid leukemia. *Am J Blood Res.* 2021 Oct 15;11(5):472-497
3. Gupta AK, Meena JP, Chopra A, et al. Juvenile myelomonocytic leukemia-A comprehensive review and recent advances in management. *Am J Blood Res.* 2021;11(1):1-21

GENOMIC-GUIDED PROGNOSIS IN PEDIATRIC ACUTE MYELOID LEUKEMIA AND JUVENILE MYELOMONOCYTIC LEUKEMIA

In pediatric oncology leukemia is the most frequently occurring cancer, and acute myeloid leukemia (AML) accounts for 15% to 20% of all leukemia cases. Despite the significant prognostic improvement achieved over the past decades in children with any type of leukemia, the rates of relapse in pediatric AML are still high, around 25-30%, conferring a poor outcome.

Concerning the profile of genomic anomalies leading to AML, differences between children and adults are reported. While adult AML results from an accumulation of mutations acquired during lifetime, childhood AML is caused by fewer more critical genetic events. In this respect, a deeper characterization of molecular anomalies in childhood AML to improve risk stratification and outcome remains challenging.

Eight functional categories of genes have been shown to be affected by recurrent somatic mutations and gene fusions in AML: signaling molecules, epigenetic factors controlling DNA methylation or chromatin structure, transcription factors, tumor suppressors, cohesin complex, mRNA splicing factors, and the NPM1 gene. The 2016 classification of AML provided by the World Health Organization (WHO) have been incorporated several recurrent genetic anomalies with major prognostic relevance - such as inv(16)(p13.1q22)/CBFB-MYH11, t(8;21)(q22;q22)/RUNX1–RUNX1T1, single NPM1 mutations and CEBPA biallelic mutations. The category of genes involved in kinase signaling (NRAS/KRAS, FLT3, KIT) is most frequently affected by mutations.

Myeloid neoplasms with a germline predisposition carrying inherited mutations associated with familial platelet disorders, Noonan syndrome, bone marrow failure syndromes, telomere biology disorders, and others, have been also included in the WHO 2016 classification.

Juvenile myelomonocytic leukemia (JMML) is a rare pediatric neoplastic disease, being included in the WHO category of myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms. JMML is characterized by mutations in genes involved in the RAS pathway. Additionally, karyotype abnormalities and epigenetic alterations may be encountered in JMML. The RAS genes (NRAS, KRAS, and PTPN11) are affected either by germline mutations usually leading to a transient myeloproliferative disorder with favorable outcome, or by somatic mutations associated with an aggressive JMML.

The application of next-generation sequencing (NGS) in myeloid neoplasms has proven beneficial for children with AML, allowing a better care and gaining insight into rare genetic subtypes of AML. NGS

testing aids in identification of mutations that are critical in diagnosis and prognosis assessment, complementing the conventional tests, such as fluorescence in situ hybridization and reverse transcription-PCR.

Keywords: pediatric acute myeloid leukemia, juvenile chronic myelomonocytic anemia, next-generation sequencing

C02. NEOPLASMELE MIELOIDE – ACEEAȘI MUTAȚIE, BOLI DIFERITE – IMPORTANȚA DIAGNOSTICULUI MOLECULAR ÎN ALEGAREA TERAPEUTICĂ

Andra-Daniela Marcu^{1,2}, Cristina Georgiana Jercan^{1,2}, Ana-Maria Marcu¹, Ana Maria Bica^{1,2}, Letitia-Elena Radu^{1,2}, Andreea Nicoleta Serbanica^{1,2}, Cristina Mambet^{2,3}, Carmen C. Diaconu³, Minodora Asan¹, Anca Gheorghe¹, Codruta Popa¹, Mihaela Dragomir¹, Cerasela Jardan^{1,2}, Anca Colita^{1,2}

¹ Clinica de Pediatrie, Institutul Clinic Fundeni, București

² Universitatea de Medicina și Farmacie „Carol Davila”, București

³ Institutul de Virusologie „Ştefan S. Nicolau”, București

Introducere: Neoplasmele mieloide, incluzând leucemia acută mieloidă (LAM) și leucemia mielomonocitară juvenilă (LMMJ) sunt boli rare în populația pediatrică, adesea cu prognostic negativ. Heterogene morfologic, imunofenotipic și genetic, acestea necesită analize complexe, atât la diagnostic cât și pe durata monitorizării. Tratamentul cu viză curativă este reprezentat de transplantul de celule stem hematopoietice (TCSH), iar terapia epigenetică oferă rezultate promițătoare.

Obiectiv: Importanța testării prin secvențiere de nouă generație (NGS) în neoplaziile mieloide pediatrice.

Material și metodă: Vă prezentăm 2 cazuri diagnosticate în Clinica de Pediatrie a Institutului Clinic Fundeni: 1 LMMJ și 1 LAM. Diagnosticul și tratamentul au fost realizate în conformitate cu protocoalele internaționale. NGS a fost efectuat utilizând un panel de 54 de gene. Pacienții au fost monitorizați încă dinainte și după TCSH în vederea evaluării răspunsului molecular și genetic. Pacienților li s-a administrat terapie epigenetică și infuzie de limfocite de la donator (DLI) în funcție de necesitate.

Rezultate: Primul pacient a fost diagnosticat în cadrul clinicii noastre cu NRAS-LMMJ la vîrstă de 11 luni. S-a inițiat chimioterapie orală în așteptarea unui transplant. Neavând donator compatibil, pacientul a efectuat TCSH haploidinic de la tată, însă a obținut chimerism mixt ce a condus la pierderea progresivă a grefonului. Având mutație NRAS, s-a putut lua în considerare tratamentul cu azacitidină ca terapie de bridging pentru cel de-al doilea transplant. A efectuat TCSH allogeneic neînrudit și a obținut chimerism 100% de la donator precum și remisiune genetică completă menținută timp de 3 ani. Fiind monitorizat periodic, detectia chimerismului mixt a impulsat administrarea preventivă a combinației de azacitidină și DLI, cu recuperarea completă a chimerei.

Cel de-al doilea caz este al unei fetițe în vîrstă de 5 luni diagnosticată cu LAM-M5, rearanjare a genei MLL, cu risc înalt. Analiza NGS a detectat o mutație NRAS cu frecvență alelică de 93.1% precum și o mutație secundară ASXL1. S-a inițiat chimioterapie conform protocolului internațional și s-a obținut remisiune completă cu negativarea NGS încă dinainte de TCSH neînrudit. Pacienta este acum la 1

an de la transplant și are chimerism 98% de la donator. Întrucât se cunoaște substratul genetic, pacienta beneficiază de azacitidină în doze reduse și DLI în scop profilactic.

Concluzii: Analiza NGS este esențială pentru diagnostic, monitorizare și asocieri terapeutice în aceste boli rare și cu potențial fatal pentru pacienții de vârstă pediatrică.

Cuvinte cheie: neoplazie mieloidă, secentiere de noua generație, pediatrie

MYELOID NEOPLASMS – SAME MUTATION, DIFFERENT DISEASES – IMPORTANCE OF MOLECULAR DIAGNOSIS IN CHOOSING THERAPY

Introduction: Myeloid neoplasms, including acute myeloid leukemia (AML) and juvenile myelomonocytic leukemia (JMML) are rare diseases in children, usually with poor prognosis. They are heterogeneous regarding morphology, immunophenotype and genetics and require a complex set of analysis at diagnosis and monitoring. The gold standard treatment is represented by hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) and epigenetic therapy has promising **Results**.

Aim: Importance of Next Generation Sequencing (NGS) in pediatric myeloid neoplasms.

Material and method: We present 2 cases diagnosed in the Pediatric Department of Fundeni Clinical Institute: 1 JMML and 1 AML. Diagnosis and treatment were established according to international consensus. NGS was performed using a panel of 54 genes. The patients were monitored before and after HSCT to evaluate molecular alterations and genetic response. They received epigenetic treatment and donor lymphocytic infusion (DLI) when necessary.

Results: The first patient is an 11-month-old boy who was diagnosed in our clinic with NRAS-JM-ML. He started oral chemotherapy while waiting for transplantation. Not having a compatible donor available, he underwent haploidentical HSCT from his father, but obtained mixed chimerism and progressively lost the graft. Being NRAS positive, epigenetic treatment with azacytidine was considered as bridging therapy for second transplant. Unrelated allogeneic HSCT was performed, and the patient achieved 100% donor chimerism and complete genetic remission for 3 years. Detection of mixed chimerism led to administration of preemptive azacytidine and DLI with complete recovery of chimerism.

The second patient is a 5-month-old girl, diagnosed with high-risk AML-M5 with MLL gene rearrangement. NGS detected a mutation in NRAS gene with 93.1% allelic frequency and a secondary mutation in ASXL1 gene. She started chemotherapy according to international protocol and she achieved complete remission and negative NGS testing before unrelated allogeneic HSCT. The patient is now 1 year after transplant and has 98% donor chimerism. Therefore, knowing her genetic background, prophylactic low dose azacytidine and DLI were administered to prevent disease relapse after HSCT.

Conclusions: NGS analysis is essential for diagnosis, monitoring and treatment guidance for these rare and potentially fatal diseases in very young children.

Keywords: myeloid neoplasm, next generation sequencing, pediatrics

C03. DIAGNOSTICUL IMUNOFENOTIPIC AL LEUCEMIILOR ACUTE MIELOIDE LA COPII PRIN CITOMETRIE IN FLUX

Mihaela Mențel^{1,2*}, Claudia E. Gorovei¹, Mihaela Zlei¹, Loredana M. Dragoș¹, Elena Nisioi¹, Irina C. Văcărean-Trandafir², Iuliu C. Ivanov¹, Silvia Dumitraș³, Anca V. Ivanov³, Ingrith C. Miron³, Daniela Jitaru¹

¹Laboratorul de analize medicale, Institutul Regional de Oncologie, Iași

²Centrul de cercetare TRANSCEND, Institutul Regional de Oncologie, Iași

³Departamentul de Hematologie și Oncologie Pediatrică, Spitalul Clinic de Urgențe pentru Copii „Sf. Maria” Iași

Introducere / Obiectiv: Diagnosticul leucemiilor acute, conform indicățiilor OMS se face prin integrarea datelor clinice, morfolo-
gice, imunofenotipice și a modificărilor citogenetice sau moleculare. Celule hematopoietice exprimă markeri proteici, ce pot fi identificați prin citometrie în flux, utilizând anticorpi monoclonali specifici marcați fluorescent. În acest studiu am realizat analiza retrospectivă a cazurilor de leucemie acută pediatrică, care au venit în centrul nostru pentru diagnostic prin imunofenotipare și biologie moleculară.

Metode: Proto-coalele Euroflow (EF) s-au utilizat pentru imunofenotipare, atât pentru marcarea și achiziția probelor (1), cât și pentru setarea echipamentelor (2). Analiză datelor s-a realizat cu programele Kaluza și Infinicyt 1.8. Țintele moleculare s-au identificat prin extracție de ARN, urmată de *reacția în lanț a polimerazei cu trancripție inversă (RT-PCR)* și analiza fragmentelor obținute.

Rezultate: În perioada 2014-2021 au fost confirmate prin imunofenotipare 173 de cazuri de leucemie acută la copii, cu predominanță leucemiei cu precursori limfoizi B (n=111), urmată de leucemia acută mieloidă (LAM) (n=37). 43% dintre cazurile de LAM investigate prin biologie moleculară au prezentat una dintre mutațiile sau genele de fuziune analizate. Restul cazurilor au fost clasificate pe baza morfologiei și a caracteristicelor imunofenotipice a celulelor leucemice (blaști), care indică linia hematopoietică și gradul lor de maturare.

Concluzii: Imunofenotiparea prin citometrie în flux are avantajul atât de a diferenția celulele leucemice de precursorii normali, cât și posibilitatea de a identifica proteinele exprimate aberant. Astfel, imunofenotiparea are un rol important în încadrarea corectă a leucemiilor la diagnostic și este metoda care poate fi folosită la majoritatea cazurilor de LAM pentru evaluarea bolii minime măsurabile.

Cuvinte cheie: imunofenotipare; leucemie acută; citometrie în flux.

Referințe:

- van Dongen J, Lhermitte L, Böttcher S, Almeida J, van der Velden VHJ, Flores-Montero J, et al. EuroFlow Antibody Panels for Standardised NDimensional Flow Cytometric Immunophenotyping of Normal, Reactive and Malignant Leukocytes. Leukemia (2012) 26:1908–75. doi: 10.1038/leu.2012.120
- Kalina T, Flores-Montero J, Lecrevisse Q, Pedreira CE, van der Velden VHJ, Novakova M, et al. Quality Assessment Program for EuroFlow Protocols: Summary Results of Four-Year (2010-2013) Quality Assurance Rounds. Cytometry A (2015) 87:145–56. doi: 10.1002/cyto.a.22581

DIAGNOSIS OF ACUTE MYELOID LEUKEMIA IN CHILDREN BY FLOW CYTOMETRY IMMUNOPHENOTYPING

Introduction / Objective: The diagnosis of acute leukemias, according to the WHO indications is made by integrating clinical, morphological, immunophenotypic data and cytogenetic or molecular changes. Hematopoietic cells express protein markers, which can be identified by flow cytometry, using specific fluorescently labelled monoclonal antibodies. In this study we performed a retrospective analysis of pediatric acute leukemia cases, which came to our center for diagnosis by immunophenotyping and molecular biology.

Methods: Euroflow (EF) protocols were used for immunophenotyping, both for staining and acquiring samples (1) and for setting up instruments (2). Data analysis was performed with Kaluza and Infinicyt 1.8 software's. Molecular targets were identified by RNA extraction, followed by reverse transcription-polymerase chain reaction and fragment analysis.

Results: 173 cases of acute leukemia in children were confirmed by immunophenotyping between 2014-2021. The most common was leukemia with B lymphoid precursors (n=111), followed by acute myeloid leukemia (AML) (n=37). 43% of AML cases investigated by molecular biology showed one of the analyzed mutations or fusion genes. The rest of the cases were classified based on the morphology and immunophenotypic characteristics of leukemic cells (blasts), which indicate the hematopoietic cell line and their degree of maturation.

Conclusions: Immunophenotyping by flow cytometry has the advantage of both differentiating leukemic cells from normal precursors and the ability to identify aberrantly expressed proteins. Thus, immunophenotyping has an important role in the correct classification of leukemias in diagnosis and is the method that can assess the minimum measurable disease in most cases of AML.

Keywords: immunophenotyping; acute leukemia; flow cytometry.

C04 SEMNIFICATIA CLINICĂ A ANALIZEI MUTAȚIILOR GENETICE ÎN SINDROMUL MIELODISPLAZIC

Cristina Mambet^{1,2,3}, Anca Botezatu^{3,4}, Petruța Gurban³, Laura Georgiana Necula^{2,3}, Lilia Matei^{2,3}, Ioana Pitică^{2,3}, Saviana Nedeianu^{2,3}, Liliana Puiu^{2,3}, Mihaela Chivu-Economescu^{2,3}, Coralia Bleotu^{2,3}, Aurelia Tatic^{1,3,5}, Andrei Colita^{1,6}, Ana Maria Vladareanu^{1,7}, Gabriela Anton^{3,4}, Daniel Coriu^{1,3,5}, Carmen C. Diaconu^{2,3}, S.N. Constantinescu^{3,8,9}

¹*Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București*

²*Departamentul de Patologie Celulară și Moleculară, Institutul de Virusologie "Ştefan S. Nicolau", București*

³*MyeloAL Program, Institutul de Virusologie "Ştefan S. Nicolau", București*

⁴*Departamentul de Virusologie Medicală, Institutul de Virusologie "Ştefan S. Nicolau", București*

⁵*Centrul de Hematologie și Transplant Medular, Institutul Clinic Fundeni*

⁶*Clinica de Hematologie, Spitalul Clinic "Colțea", București*

⁷*Clinica de Hematologie, Spitalul Universitar de Urgență, București*

⁸*University Catholic of Louvain, de Duve Institute, Bruxelles, Belgia*

⁹*Ludwig Institute for Cancer Research, Bruxelles, Belgia*

Sindroamele mielodisplazice (SMD) reprezintă un grup heterogen de afecțiuni clonale ale celulei stem hematopoietice caracterizate prin modificări displazice ale uneia sau mai multor linii hematopoietice, eritropoieză ineficientă cu citopenii și un risc crescut de transformare în leucemie acută mieloidă.

Odată cu progresul tehnologiilor de secvențiere de nouă generație (NGS) profilul mutațional al SMD a fost bine caracterizat. Mutăriile somatice ce au fost identificate ca inițatoare de boală în SMD afectează gene implicate în controlul epigenetic (metilarea ADN-ului și modificări ale cromatinei), splicing-ul ARN-ului, semnalizarea intracelulară, reglarea complexului coesinelor și mecanismele de reparare a ADN-ului.

Recent, în urma integrării datelor furnizate de teste de genetică moleculară și analiza citogenetică, au fost descrise opt subgrupuri SMD asociate cu trăsături clinice și modele de evoluție specifice, având drept scop îmbunătățirea scorurilor de prognostic actuale.

Pe lângă o caracterizare succintă a peisajului genomic în SMD, vor fi prezentate câteva cazuri clinice pentru a sublinia importanța testării NGS în managementul personalizat al pacienților cu SMD.

Cuvinte cheie: sindroame mielodisplazice, secvențiere de nouă generație, mutării somatice

Mulțumiri: Programul Operațional Competitivitate A1.1.4. ID: P_37_798 MyeloAL-EdiaProT 149/26.10.2016, SMIS 106774

CLINICAL SIGNIFICANCE OF GENE MUTATIONAL ANALYSIS IN MYELODYSPLASTIC SYNDROME

Myelodysplastic syndromes (MDS) represent a heterogenous group of clonal hematopoietic stem cell disorders characterized by dysplasia in one or more hematopoietic lineages, ineffective hematopoiesis with cytopenias and an increased risk of transformation into acute myeloid leukemia.

With the advance of next-generation sequencing (NGS) technologies the mutational profile of MDS has been extensively characterized. Somatic mutations that were identified as drivers of MDS affect genes involved in the epigenetic control (DNA methylation and chromatin modification), RNA splicing, signaling transduction, cohesion regulation and DNA repair mechanisms.

Recently, by integrating data provided by molecular genetic tests and cytogenetic analysis, eight distinct MDS subgroups associated with specific clinical features and patterns of disease progression have been described, aiming to improve the current prognostic assessment.

In addition to an overview of the genomic landscape in MDS several cases will be presented to highlight the importance of targeted NGS in the personalized management of MDS patients.

Keywords: myelodysplastic syndromes, next-generation sequencing, somatic mutations

Acknowledgments: Funding from Competitiveness Operational Programme A1.1.4. ID: P_37_798 MyeloAL-EdiaProT 149/26.10.2016, SMIS 106774.

C05. UN CAZ NEOBIŞNUIT DE SINDROM MIELODISPLAZIC CU EXCES DE BLAŞTI ȘI FIBROZĂ MEDULARĂ PURTATOR DE MUTAȚIE JAK2 V617F

Roxana Catalina Ferea^{1,2}, Stejara-Nicoleta Mihai^{1,2}, Cristina Tatiana Enache^{1,2}, Cristina Mambet^{1,3}, Ana Maria Vladareanu^{1,2}

¹Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila" c

²Clinica de Hematologie, Spitalul Universitar de Urgență București

³Institutul de Virusologie "Stefan S. Nicolau", București

Sindromul mielodisplazic (SMD) cu exces de blaști (SMD-EB) este un subtip de SMD caracterizat printr-un procent de 5-19% mieloblaști în măduva osoasă și un risc crescut de transformare leucemică. Fibroza medulară a fost descrisa la aproximativ 15% din pacienții cu SMD (fibroză reticulinică grad 2 sau 3), majoritatea acestor cazuri fiind cu SMD-EB.

În cele ce urmează vom prezenta cazul unui pacient de sex masculin, în vîrstă de 74 de ani, cu splenomegalie, diagnosticat cu SMD-EB și fibroză medulară grad 2. Examenul săngelui periferic a evidențiat anemie macrocitară, neutropenie și valori normale ale numărului de trombocite. Examenul aspiratului medular relevă o hiperplazie granulocitară, cu 15% blaști și displazie multilineală. Biopsia osteomedulară confirmă diagnosticul de SMD, însotit de fibroză medulară grad 2. Examenul citogenetic descrie un mozaicism cu 47 XXY[2]/ 45 XY -7[1]/ 46 XY[17], indicator pentru un prognostic rezervat. Examenul de biologie moleculară decelează prezența mutației JAK2 V617F cu o încărcătură alelică de 80.7%. Nu au fost identificate mutații somatice adiționale la testarea prin sevențiere de nouă generație.

Mutația JAK2 V617F constituie un eveniment foarte rar în SMD, fiind descrisă la mai puțin de 5% din toate cazurile de SMD. Încărcarea alelică mare pune problema de diagnostic diferențial cu mielofibroza primară. În mod interesant, fratele pacientului a fost diagnosticat cu sindrom mielodisplazic/mieloproliferativ cu sideroblaști inelari și trombocitoză și este de asemenea purtător al mutației JAK2 V617F.

Impactul clinic al prezenței fibrozei medulare și mutației JAK2 V617F în contextul unui diagnostic de SMD-EB nu este cunoscut încă.

Cuvinte cheie: sindrom mielodisplazic, exces de blaști, mielofibroză, mutație JAK2 V617F

AN UNUSUAL CASE OF MYELODYSPLASTIC SYNDROME WITH EXCESS BLASTS AND FIBROSIS DISPLAYING JAK2 V617F MUTATION

Myelodysplastic syndrome (MDS) with excess blasts (MDS-EB) is a MDS subtype characterized by 5-19% myeloblasts in the bone marrow and a high risk of leukemic transformation. Bone marrow fibrosis was described in approximatively 15% of patients with MDS (grade 2 or 3 reticulin fibrosis) and most of these cases belong to the MDS-EB category.

We describe the case of a 74-year-old male patient with splenomegaly, diagnosed with MDS-EB and grade 2 myelofibrosis. The examination of peripheral blood indicated macrocytic anemia, neutropenia

and normal platelet count. The bone marrow aspirate smear showed a granulocytic hyperplasia, with 15% blasts and multilineage dysplasia. Bone marrow biopsy confirmed MDS diagnosis accompanied by grade 2 myelofibrosis. Cytogenetic examination revealed a mosaicism 47 XXY [2]/ 45 XY -7[1]/ 46 XY [17] which stands for a reserved prognosis. Molecular assays detected the presence of JAK2 V617F mutation with an allelic burden of 80.7%. No additional somatic mutations were detected at targeted next-generation sequencing analysis.

The JAK2 V617F mutation is a very rare event in MDS, being detected in less than 5% of all MDS cases. The high mutant allele burden requires differential diagnosis with primary myelofibrosis. Interestingly, patient's brother was diagnosed with an overlap myelodysplastic/myeloproliferative syndrome with ring sideroblasts and thrombocytosis, also carrying JAK2 V617F mutation.

The clinical impact of fibrosis and JAK2 V617F mutation in the context of MDS-EB is yet to be established.

Keywords: myelodysplastic syndrome, excess blasts, fibrosis, JAK2 V617F mutation

C06. PROLIFERARE GRANULOCITARĂ CE MIMEAZĂ LEUCEMIA MIELOIDĂ CRONICĂ ÎN ANEMIA REFRACTARĂ CU SIDEROBLAȘTI INELARI ȘI TROMBOCITOZĂ - PREZENTARE DE CAZ

**Stejara-Nicoleta Mihai^{1,2}, Roxana Cătălina Ferea^{1,2}, Cristina Tatiana Enache^{1,2}, Cristina
Mambet^{1,3}, Ana Maria Vlădăreanu^{1,2}**

¹Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila" c

²Clinica de Hematologie, Spitalul Universitar de Urgență București

³Institutul de Virusologie "Stefan S. Nicolau", București

Afectionile clonale de linie mieloidă asociate cu sideroblaști inelari (SI) includ următoarele entități ce prezintă un risc scăzut de transformare leucemică: anemia refractară cu sideroblaști inelari (ARSI), acum clasificată în rândul sindroamelor mielodisplazice (SMD) și ARSI cu trombocitoză (ARSI-T), acum aparținând categoriei sindroamelor de tip "overlap" sindrom mielodisplazic/neoplasm mieloproliferativ (SMD/NMP).

Vom caracteriza evoluția unei paciente de 81 de ani diagnosticată în urmă cu 5 ani cu SMD/NMP-SI-T, cu status negativ pentru mutațiile JAK2 V617F, CALR și MPL, tratată cu hidroxiuree, care prezintă recent leucocitoză pregnantă ($48.6 \times 10^3/\mu\text{L}$) și bazofilie, ce mimează un tablou caracteristic leucemiei mieloide cronice. Morfologia aspiratului medular a indicat o proliferare mieloidă marcată cu până la 80% serie granulocitară și deviere la stânga a formulei cu 3% blaști și 8% bazofile. Biopsia medulară a constatat o hiperplazie granulocitară acompaniată de megakariocite displazice și absența fibrozei, fiind sugestivă pentru SMD/NMP neclasificabil. Nu au fost descrise anomalii citogenetice, pacienta prezentând cariotip normal în celulele mononucleare din măduva osoasă. De asemenea nu au fost detectate rearanjamente genice BCR-ABL1.

Vom aduce în discuție necesitatea testării moleculare avansate, cu scopul elucidării mecanismelor genetice responsabile pentru progresia bolii, precum și impactul acestora asupra evoluției clinice.

Cuvinte cheie: mielodisplazie; mieloproliferare; sideroblaști inelari; trombocitoză

GRANULOCYTIC PROLIFERATION MIMICKING CHRONIC MYELOID LEUKEMIA IN REFRACTORY ANEMIA WITH RING SIDEROBLASTS AND THROMBOCYTOSIS – CASE REPORT

Clonal myeloid disorders associated with ring sideroblasts (RS) include the following entities displaying a low risk of leukemic transformation: refractory anemia with ring sideroblasts (RARS), now classified under myelodysplastic syndromes (MDS), and RARS with thrombocytosis (RARS-T), currently belonging to the overlap myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms (MDS/MPN).

We report the case of an 81-year-old female patient diagnosed five years ago with RARS-T, negative for JAK2 V617F, CALR, and MPL mutations, treated with hydroxyurea, that has recently experienced an increased WBC count ($48.6 \times 10^3/\mu\text{L}$) and basophilia mimicking chronic myeloid leukemia. Bone marrow aspirate examination indicated a myeloid proliferation with up to 80% granulocytes, neutrophil left shift with 3% blasts, and 8% basophils. Bone marrow biopsy revealed a granulocytic hyperplasia accompanied by dysplastic megakaryocytes, without fibrosis, suggestive for an unclassifiable MDS/ MPN. A normal karyotype was detected at cytogenetic analysis on bone marrow. Also, no BCR-ABL1 gene rearrangements were identified.

We will discuss the necessity of advanced molecular testing to elucidate the genetic basis that underlies the disease progression and the impact on clinical outcome.

Keywords: myelodysplasia; myeloproliferation; ring sideroblasts; thrombocytosis

C07 . EVALUAREA EXPRESIEI DE P-SELECTINĂ ÎN NEOPLASMELE MIELOPROLIFERATIVE FĂRĂ CROMOZOM PHILADELPHIA

Ariela Ligia Olteanu¹, Romeo-Gabriel Mihailă^{2,3}, Manuela Mihalache², Liliana Corina Mocanu⁴

^{1,4}*Laborator Clinic de Analize Medicale, Spitalul Clinic Județean de Urgență Sibiu, România;*

²*Universitatea „Lucian Blaga” Sibiu, Facultatea de medicină, România;*

³*Hematologie Clinică, Spitalul Clinic Județean de Urgență Sibiu, România;*

Introducere/ Obiectiv: Studiul a investigat gradul de activare a trombocitelor pacienților cu neoplasm mieloproliferativ fără cromozom Philadelphia (Ph-MPN) și răspunsul acestora la stimулare cu agonisti prin cuantificarea expresiei de P-selectină.

Metode/Metodologie: Au fost colectate probe de la 68 de pacienți cu Ph-MPN și de la 47 de subiecți sănătoși în tuburi conținând K2EDTA și citrat de Na 3,2% pentru determinarea hemoleucogramei, a testelor screening de coagulare și pentru măsurarea expresiei P-selectinei. Evaluarea expresiei de P-selectină

(CD62P) a fost efectuată cu flow-citometrul Cytomics FC 500 Beckman Coulter cu și fără stimulare, *in vitro*, cu thrombin-receptor activating peptide-6 (TRAP-6). Pentru studiul activării trombocitelor am folosit anticorpi monoclonali: CD41-PC5 (phycoerytrin-Cy5) și CD 62P-PE (phycoerythrin conjugated).

Rezultate: Am obținut rezultate semnificativ diferite statistic între lotul de pacienți și cel de control pentru expresia P-selectinei atât în cazul trombocitelor nestimulate cu TRAP-6 ($p=0.02$ -MW), cât și stimulate submaximal ($p=0.0001$ -T) și maximal ($p=0.0001$ -MW). Trombocitele pacienților cu tratament citoreductiv mai indelungat (>1 an) au avut o expresie mai scăzută de P-selectină și au fost mai puțin responsive la stimulare maximală cu TRAP-6 ($p=0.002$ -T). Expressia de P-selectină a fost mai crescută la pacienții cu dislipidemie ($p=0.049$ -MW) iar trombocitele fost semnificativ mai hiporesponsive la stimulare cu agonist ($p=0.001$ -T; $p=0.01$ -T).

Concluzii: Rezultatele obținute arată o scădere semnificativă a răspunsului trombocitelor din Ph-MPN în comparație cu cel al trombocitelor subiecților sănătoși la stimulare cu TRAP-6 posibil datorită preactivării trombocitelor, *in vivo*, precum și influența tratamentului citoreductiv asupra gradului de răspuns al trombocitelor la agonisti. Rezultatele susțin și influența dislipidemiei asupra activării trombocitelor în Ph-MPN.

Cuvinte cheie: P-selectina, Ph-MPN, activarea trombocitelor

EVALUATION OF P-SELECTIN EXPRESSION IN PHILADELPHIA-NEGATIVE MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASMS

Introduction/Objective: We aimed to investigate the level of platelet activation and the response of platelets to a specific stimulus in patients with Philadelphia-negative myeloproliferative neoplasms (Ph-MPN) assessing the P-selectin expression (CD62P) by flow cytometry.

Matherials and method: The samples were collected from 68 consecutive Ph-negative MPN patients and from 47 controls into K2EDTA and sodium citrate 3,2% tubes for blood cell counts, coagulation screening tests and measurement of P-selectin expression.

Analyses were performed by Cytomics FC 500 flow cytometer Beckman Coulter before and after *in vitro* platelets stimulation with thrombin-receptor activating peptide-6 (TRAP-6). For platelet activation studies, the following antibodies were used: anti-CD41-PC5 (phycoerytrin-Cy5) and anti-CD62P-PE phycoerythrin conjugated).

Results: The results for expression of P-selectin without and with stimulation were significantly different between patients and controls, without stimulation ($p=0.02$ -MW) and stimulated submaximal ($p=0.0001$ -T) and maximal ($p=0.0001$ MW). The patients receiving cytoreductive treatment for more than one year, showed a lower expression for P-selectin and their platelets were less responsive to the TRAP-6 maximal stimulation ($p=0.002$ -T). The patients with dyslipidemia showed higher level of P-selectin ($p=0.049$ -MW) and were less responsive to agonist stimulation *in vitro*. ($p=0.001$ -T; $p=0.01$ -T).

Conclusions: The platelet responsiveness to TRAP-6 was significantly lower in Ph-MPN in comparison with controls suggesting *in vivo* ongoing platelet activation. The length of the cytoreductive therapies influenced expression of P-selectin and the platelets response to the agonist activation. The association of dyslipidemia in Ph-MPN patients influence platelets activation.

Keywords: P-selectine, Ph-MPN, platelet activation

C08. EVALUAREA FACTORILOR DE PROGNOSTIC ÎN MIELOMUL MULTIPLU

Mihaela Popescu¹, Cristina Mambet^{2,3}, Lilia Matei³, Coralia Bleotu³, Carmen C. Diaconu³

¹ Secția de Hematologie, Spitalul Clinic Colentina, București

² Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București

³ Institutul de Virusologie "Stefan S. Nicolau", București

Mielomul multiplu (MM) este o neoplazie hematologică caracterizată prin proliferarea de plasmocite maligne cu acumularea acestora în măduva osoasă și țesuturi extramedulare, producție excesivă de proteine monoclonale și asocierea unor disfuncții de organ. Deși în ultimii ani au devenit disponibile mai multe opțiuni terapeutice ce au îmbunătățit semnificativ rata de supraviețuire, MM continuă să reprezinte pentru majoritatea pacienților o afecțiune incurabilă.

MM se distinge prin heterogenitate genetică, majoritatea pacienților prezintând anomalii reprezentate de translocații ce implică locusul lanțului greu al imunoglobulinelor (IgH), hiperdiploidie, variații ale numărului de copii și mutații somatice recurente care vor influența evoluția bolii și răspunsul la tratament. În plus, este descrisă coexistența unor subclone ce variază ca mărime și număr pe parcursul evoluției bolii.

Conform Sistemului Internațional Revizuit de Stadializare, nivelurile serice de albumină, β2-microglobulină și lactat dehidrogenază, alături de anomaliiile citogenetice detectate prin hibridizare fluorescentă in situ în interfază (iFISH), în plasmocitele izolate din măsuva osoasă, constituie biomarkeri cu valoare prognostică.

Deși iFISH poate identifica 90% dintre aberațiile cromozomiale întâlnite în MM, această tehnică este costisitoare, laborioasă, consumatoare de timp și sunt detectate doar câștigurile/pierderile de material genetic mai mari de 20-50kB. În unele studii, tehnica MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification) s-a dovedit a fi utilă în depistarea alterărilor genetice frecvente din MM.

Vor fi prezentate câteva cazuri clinice cu scopul de a ilustra valoarea testării MLPA în evaluarea prognostică a pacienților cu MM.

Cuvinte cheie: mielom multiplu, biomarkeri prognostici, iFISH, MLPA

ASSESSMENT OF PROGNOSTIC FACTORS IN MULTIPLE MYELOMA

Multiple myeloma (MM) is a hematological neoplasm characterized by proliferation of malignant plasma cells that accumulate in bone marrow and extramedullary tissues, excessive production of monoclonal proteins, and association of organ dysfunctions. Although the introduction of novel therapeutic agents in recent years has improved significantly the survival rate, MM still remains an incurable disease for the majority of patients.

MM is a genetically heterogeneous disease, and almost all MM patients carry abnormalities represented by translocations involving immunoglobulin heavy chain (IgH) locus, hyperdiploidy, copy number variations (CNV) and recurrent somatic mutations. These genetic events will influence the diseases

outcome and the therapeutic response. In addition, the coexistence of subclones that vary in size and number during disease evolution is described.

According to the Revised International Staging System, serum levels of albumin, β 2-microglobulin and lactate dehydrogenase, together with cytogenetic anomalies detected by interphase fluorescence in situ hybridization (iFISH) in plasma cells isolated from bone marrow, are biomarkers with prognostic value.

Although iFISH is able to identify 90% of chromosomal aberration in MM, it is an expensive, laborious, and time-consuming method and can detect gain/loss of sequences larger than 20–50 kb. In some studies, multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) technique proved to be useful in detection of common genetic alterations in MM.

Several clinical cases will be reported to illustrate the value of MLPA testing in prognostic assessment of MM patients.

Keywords: multiple myeloma, prognostic biomarkers, iFISH, MLPA

C09. IMPACTUL DELEȚIEI 16Q- FACTOR DE PROGNOSTIC NEGATIV ÎN MIELOMUL MULTIPLU

Loredana M. Dragoș^{1,2}, Iuliu C. Ivanov^{1*}, Elena Nisioi¹, Mihaela Mențel¹, Irina C. Văcărean Trandafir^{1,2}, Adriana Sireteanu¹, Amalia Titianu¹, Angela Dăscălescu¹, Daniela Jitaru¹, Lucian Gorgan^{2*}

¹Laboratorul de analize medicale, Institutul Regional de Oncologie, Iași;

²Departamentul de Genetică, Facultatea de Biologie, Universitatea Al. I. Cuza, Iași, România.

Introducere / Obiectiv: Pierderea brațului lung al cromozomului 16, în special când regiunile 16p12 (CYLD) și 16q23 (WWOX) sunt implicate, reprezintă un factor de prognostic negativ pentru pacienții cu mielom multiplu (MM) [1, 2]. În acest studiu ne propunem să evaluăm impactul asupra supraviețuirii, pe care îl are asocierea acestei variații a numărului de copii (CNV) cu alte anomalii genetice, la nivelul plasmocitelor (PC).

Metode: ADN-ul genomic a fost extras din celulele CD138+. Pentru detecția CNV recurente s-a utilizat kit-ul MLPA P425-B1. Imunofenotiparea s-a realizat conform protocoalelor EuroFlow[3]. Analiza statistică a datelor obținute s-a realizat cu ajutorul IBM SPSS Statistics 21.0 Software, R și Excel.

Rezultate: S-au analizat probele de la 100 pacienți diagnosticați cu MM, în cadrul Institutului Regional de Oncologie, Iași, România, în perioada 2017-2021. Del16q a fost detectată la 32% (n=32) dintre pacienți, care au avut o mediană a supraviețuirii generale (OS) de 23 luni ($p=0.042$) comparativ cu grupul de pacienți ce nu a prezentat aceasta deleție, cu o mediană a OS de 36 luni. Asocierile semnificativ statistice au fost cu: del13q (n= 24, supraviețuirea fără progresie (PFS) $p=0.006$ și OS $p=0.008$), lanțuri ușoare kappa (n=17, PFS $p=0.034$ și OS $p=0.012$), CD27+ (n=19, PFS $p=0.029$) și CD117+ (n=22, PFS $p=0.05$ și OS $p=0.020$). În cazul grupului cu PC diferențiate (CD19(-) CD81(-)), cel mai agresiv factor de prognostic a fost del16q ($p=0.026$ cu OS HR 6.01, 95%CI 0.99-36.4).

Concluzii: In grupul studiat, cel mai negativ factor de prognostic a fost asocierea dintre del16q și del13q, urmat de asocierea dintre del16q și lanțuri ușoare kappa.

Cuvinte cheie: mielom multiplu, deleția 16q, prognostic

Referințe:

1. Jenner, M.W., et al., Gene mapping and expression analysis of 16q loss of heterozygosity identifies WWOX and CYLD as being important in determining clinical outcome in multiple myeloma. *Blood*, 2007. 110(9): p. 3291-300.
2. Shah, V., et al., Prediction of outcome in newly diagnosed myeloma: a meta-analysis of the molecular profiles of 1905 trial patients. *Leukemia*, 2018. 32(1): p. 102-110.
3. Flores-Montero, J., et al., Immunophenotype of normal vs. myeloma plasma cells: Toward antibody panel specifications for MRD detection in multiple myeloma. *Cytometry B Clin Cytom*, 2016. 90(1): p. 61-72.

THE IMPACT OF DELETION 16Q – A POOR PROGNOSIS FACTOR IN MULTIPLE MYELOMA

Introduction / Objective: Loss of the long arm (q) of chromosome 16, especially when 16p12 (CYLD) and 16q23 (WWOX) are involved, is known to confer a poor prognosis to multiple myeloma (MM) patients [1, 2]. In this study we evaluated how the association of this copy number variation (CNV) with other plasma cell (PC) abnormalities affect the outcome.

Methods: Genomic DNA was isolated from purified CD138+ PC. For the detection of recurrent CNVs SALSA MLPA P425-B1 probe mix was used. Immunophenotyping was made according Euroflow (EF) protocols[3]. Statistical analyses were performed using the IBM® SPSS Statistics 21.0 Software, R and Excel.

Results: Samples from 100 patients diagnosed with MM at Regional Institute of Oncology, Iasi, Romania between 2017-2021 were submitted to analysis. Chromosome 16q deletion was detected in 32% patients (n=32), which had a median overall survival (OS) of 23 months ($p=0.042$) compared with the group without this deletion, which had a median OS of 36 months. Significant association was found with: del13q (n= 24, progression free survival (PFS) $p=0.006$ and OS $p=0.008$), kappa light chain (n=17, PFS $p=0.034$ and OS $p=0.012$), CD27+ (n=19, PFS $p=0.029$) and CD117+ (n=22, PFS $p=0.05$ and OS $p=0.020$). In the group of differentiated PCs (CD19(-) CD81(-)) the most aggressive factor was del16q ($p=0.026$ with OS HR 6.01, 95%CI 0.99-36.4).

Conclusions: The most unfavorable prognosis was given by the association between del16q and del13q, followed by the association of del16q with Kappa light chain.

Keywords: multiple myeloma, deletion 16q, prognosis.

P01. LEUCEMIE ACUTĂ MIELOIDĂ SAU LEUCEMIE ACUTĂ CU FENOTIP MIXT: O PROVOCARE ÎN STABILIREA DIAGNOSTICULUI

Raluca Suciu², Anca Gheorghe², Cătălin Șerban², Mihaela Dragomir², Silvia Aposteanu², Codruț Popa^{1,2}

¹*Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila”, București, România*

²*Centrul de Hematologie și Transplant Medular; Institutul Clinic Fundeni, București, România*

Introducere: Leucemia acută mieloidă (LAM) reprezintă o transformare malignă și o proliferare necontrolată a unei celule progenitoare mieloide anormal diferențiată cu minim 20% blaști mieloizi în sângele periferic sau în aspiratul medular.

Proteină de fuziune, AML1-ETO este produsul translocației cromozomiale t(8;21)(q22;q22) care apare frecvent în LAM cu diferențiere granulocitară. Prognosticul este bun, cu o rată mare de remisiune completă și răspuns favorabil pe termen lung.

Ultima clasificare WHO atestă că proliferarea mieloidă cu t(8;21)(q22;q22) e diagnosticată drept LAM fără a ține cont de procentul de blaști.

Metode: Citometria în flux deține un rol fundamental în diagnosticarea și subclasificarea LAM. Este de asemenea de nelipsit în stabilirea diagnosticului diferențial în cadrul bolilor ce asociază proliferarea mieloidă sau limfoidă.

Rezultate: În cadrul acestui studiu am analizat 7 pacienți, AML1-ETO pozitivi, diagnosticați cu LAM în perioada ianuarie 2020 - septembrie 2021 în cadrul Institutului Clinic Fundeni. Am evaluat expresia de CD19 și CD56 și am analizat caracterele imunofenotipice particulare observate la acești pacienți. Acest studiu cuprinde 2 pacienți cu LAM, 2 pacienți cu LAM (coexpresie de CD56 și CD19), 1 pacient cu LAM (coexpresie de CD19), 1 pacient cu LAM (coexpresie de CD56) și 1 pacient cu leucemie acută cu fenotip mixt (MPAL) (coexpresie de CD56 și alți markeri specifici).

Concluzii: După finalizarea algoritmului de diagnostic, s-au ivit câteva întrebări în ceea ce privește stabilirea corectă a acestuia, respectiv: LAM cu markeri aberanți (coexpresie de CD19 cu sau fără CD56) sau MPAL.

Cuvinte cheie: AML1-ETO, AML, MPAL

Referințe:

1. Wd T, Brambilla E, Hermelink HK, Eds HCC, Eble JN, Sauter G, et al. World Health Organization Classification of Tumours This book and all other volumes of the series can be purchased : From all countries. World Health Organization. 2017.
2. Yu G, Yin C, Wu F, Jiang L, Zheng Z, Xu D, et al. Gene mutation profile and risk stratification in AML1-ETO-positive acute myeloid leukemia based on next-generation sequencing. *Oncol Rep [Internet]*. 2019 [cited 2021 Nov 14];42(6):2333. Available from: /pmc/articles/PMC6826310/

ACUTE MYELOID LEUKEMIA OR MIXED PHENOTYPE ACUTE LEUKEMIA: CHALLENGE IN ESTABLISHMENT OF DIAGNOSTIC

Introduction: Acute myeloid leukemia (AML) is a malignant transformation and uncontrolled proliferation of an abnormally differentiated myeloid progenitor cell with more than 20% myeloid blasts in the peripheral blood or bone marrow.

A fusion protein, AML1-ETO is the product of the chromosomal translocation t(8;21)(q22;q22) that usually occurs in AML with granulocytic differentiation. The prognostic of this type of acute myeloid leukemia is good with a high rate of complete remission and favorable long-term outcome.

The last WHO Classification mentions that myeloid proliferation with t(8;21)(q22;q22) is considered to be acute myeloid leukemia without regard to blast cell count.

Methods: Multicolor flow cytometry plays an essential role in the diagnosis and subclassification of acute myeloid leukemia (AML). It is also required in order to establish the differential diagnostic between diseases that associate myeloid or lymphoid proliferations.

Results: In this study we have analyzed 7 patients, AML1-ETO positive, who were diagnosed with AML from January 2020 to September 2021 in Fundeni Clinical Institute. We have evaluated the expression of CD19 and CD56 and we have looked over the immunophenotyping features of these patients. This study encompasses 2 patients with AML, 2 patients with AML (aberrant co-expression of CD56 and CD19), 1 patient with AML (aberrant co-expression of CD19), 1 patient with AML (co-expression of CD56) and 1 patient with mixed phenotype acute leukemia (MPAL) (co-expression of CD56 and other specific markers).

Conclusions: After defining gating strategy, some questions were raised in order to establish the right criteria for the diagnosis of patients with AML (with aberrant co-expression of CD19, CD56) and of patients with MPAL.

Keywords: AML1-ETO, AML, MPAL

P02. INVESTIGAREA MOLECULARĂ DE RUTINĂ ÎN LEUCEMIA ACUTĂ MIELOBLASTICĂ

Elena Nisioi^{1,2}, Iuliu C. Ivanov^{1*}, Loredana M. Dragoș^{1,2}, Mihaela Mentel¹, Irina C. Vacarean Trandafir², Adriana Sireteanu¹, Amalia Titianu¹, Angela Dascalescu¹, Daniela Jitaru¹

¹Laborator de Diagnostic Medical, Institutul Regional de Oncologie, Iasi;

*²Departamentul de Genetică Moleculară, Facultatea de Biologie, Universitatea Al. I. Cuza, Iasi,
Romania*

Introducere / Obiectiv: Leucemia mieloidă acută (AML) este cea mai frecventă leucemie acută la adulți. Caracterizarea anomalilor moleculare recurente oferă baza pentru terapii țintite, cum ar fi tratamentul cu acidul trans retinoic (ATRA) și trioxidul de arsen în leucemia promielocitară acută sau

inhibitorii tirozin kinazei în AML cu mutații FLT3.1 O serie de alterări genice s-au dovedit a fi relevante din punct de vedere prognostic și au fost recunoscute în clasificarea OMS a AML ca entități separate.²

Metode / Metodologie: În studiul nostru au fost luate în considerație cazurile cu LAM diagnosticate în Institutul Regional de Oncologie în perioada 2019-2021. Pentru investigarea genelor de fuziune (AML ETO, PML RARA, INV16) s-a utilizat metoda PCR cu migrare în gel de agaroză iar pentru FLT3 ITD și NPM1 s-a realizat identificarea prin migrare capilară. În cazul FLT3 D835 s-a utilizat tehnica PCR RFLP.

Rezultate: Au fost investigați un număr de 385 probe, din care pozitive au fost 186. 6,2% au prezentat AML-ETO, 5,3% PML-RARA, 4,6% INV 16, 14,6% FLT3 ITD, 14,2% NPM1 și 9,7% FLT3 D835. Pentru FLT3 ITD s-a calculat încărcătura alelică (media a fost 0.53 variind între 0.03 -3.02). În grupul analizat au fost identificate 6 probe cu prezență suprapusă a fuziunii PML-RARA și mutațiile FLT3 sau NPM1.

Concluzii: O evaluare rapidă și corectă a markerilor moleculari este crucială pentru diagnosticarea și încadrarea în grupe de risc a pacienților cu LMA, permitând accesul la scheme de tratamente specifice.

Cuvinte cheie: Leucemia acută mieloblastică (LAM), migrare electroforetică, metoda RFLP.

Referințe:

1. Prada-Arismendy, J., J.C. Arroyave, and S. Röthlisberger, Molecular biomarkers in acute myeloid leukemia. Blood Rev, 2017. 31(1): p. 63-76.
2. Kühnl, A. and D. Grimwade, Molecular markers in acute myeloid leukaemia. Int J Hematol, 2012. 96(2): p. 153-63.

ROUTINE MOLECULAR INVESTIGATION IN ACUTE MYELOBLASTIC LEUKEMIA

Introduction / Objective: Acute myeloid leukemia (AML) is the most common acute leukemia in adults. Characterization of specific molecular abnormalities provides the basis for targeted therapies, such as treatment with trans retinoic acid (ATRA) and arsenic trioxide in acute promyelocytic leukemia or tyrosine kinase inhibitors in AML with FLT3 mutations.¹ A number of gene alterations have been shown to be prognostically relevant and have been recognized in the WHO classification of AML as separate entities. ²

Methods: In our study, the cases with AML diagnosed in the Regional Institute of Oncology in the period 2019-2021 were taken into account. For the investigation of fusion genes (AML ETO, PML RARA, INV16) procedure was based on PCR with agarose gel migration and for FLT3 ITD and NPM1 was used capillary migration. In the case of FLT3 D835, RFLP PCR with capillary electrophoretic migration was used.

Results: A total of 385 samples were investigated, of which 186 were positive. 6.2% presented AML ETO, 5.3% PML RARA, 4.6% INV 16, 14.6% FLT3 ITD, 14.2% NPM1 and 9.7% FLT3 D835. For FLT3 ITD the allelic load was calculated (average was 0.53 ranging from 0.03 -3.02). In the analysed group, 6 samples with the overlapping presence of PML-RARA fusion and FLT3 or NPM1 mutations were identified.

Conclusions: A rapid and accurate assessment of molecular markers is crucial for the diagnosis and inclusion of patients with AML in risk groups, allowing access to specific treatment regimens.

Keywords: Acute myeloblastic leukemia (AML), electrophoretic migration, RFLP method.

P03. EXPRESIA CD66C ȘI PREZENȚA REARANJAMENTULUI *BCR-ABL1* ÎN LEUCEMIA ACUTĂ LIMFOBLASTICĂ B: ANALIZA COMPARATIVĂ A DOUĂ CAZURI CLINICE

Karina-Alexandra Cojocaru¹, Vlad-Andrei Cianga^{2,3}, Mihaela Mențel², Iuliu Ivanov², Georgeta Liliana Foia^{1,3}

¹Spitalul Clinic Județean de Urgențe Sf. Spiridon Iași

²Institutul Regional de Oncologie Iași

³Universitatea de Medicină și Farmacie Gr.T. Popa Iași

Introducere: Leucemia acută limfoblastică B (LAL-B) reprezintă una dintre neoplaziile hematologice în care caracterizarea moleculară a condus la generarea unui tratament specific. Terapia se bazează pe evidențierea cromozomului Philadelphia (Ph), acesta rezultând în urma translocației între cromozomii 9 și 22. Consecința moleculară este juxtapunerea genei tirozin kinazei *ABL1* (Abelson) de pe cromozomul 9 lângă gena *BCR* (Breakpoint Cluster Region) de pe cromozomul 22 cu formarea genei de fuziune *BCR-ABL1*. CD66c face parte din clasa antigenelor carcinoembrionare, acesta fiind descris ca având expresie aberantă în anumite cazuri de LAL B.

Prezentarea cazurilor: Primul pacient în vîrstă de 54 de ani diagnosticat cu LAL-B, prezintă în urma investigațiilor de laborator bicitopenie (Hb 4.4 g/dl, Tr 20.000/mmc) și neutropenie grad II (PMN 1250/mmc). În urma examenului morfologic al aspiratului medular și al imunofenotipării se identifică 51% precursori limfoizi cu fenotip aberrant (CD66c +/- 33.8%). Testele de biologie moleculară relevă prezența unui transcript minor (p190) *BCR-ABL1*. Al doilea caz este reprezentat de un pacient în vîrstă de 42 de ani diagnosticat cu LAL-B secundar leucemiei mieloide cronice ce prezintă leucocitoză (L 27.200/mmc) și trombocitopenie (Tr 17.000/mmc). În urma analizei citologice a aspiratului medular se evidențiază 90% blaști, imunofenotiparea din sângele periferic confirmând prezența a 87% precursori limfoizi B cu sincronism maturativ și fenotip aberrant (CD66c +/- 61%). Testele de biologie moleculară evidențiază un transcript major (p210) *BCR-ABL1*.

Concluzii: Această prezentare surprinde analiza comparativă a două cazuri de LAL B cu fenotip aberrant (CD66c) în corelație cu prezența transcriptului *BCR-ABL1*.

Cuvinte cheie: leucemie acută limfoblastică, CD66c, citometrie în flux

CD66C EXPRESSION AND *BCR-ABL1* GENE REARRANGEMENT IN B-CELL ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA: A COMPARATIVE ANALYSIS OF TWO CLINICAL CASES

Background: B-acute lymphoblastic leukemia (B-ALL) is an example of a human hematological disease where molecular characterization has led to the development of a specific therapy. The therapy is based on detection of Philadelphia chromosome (Ph), which results from the translocation between chromosomes 9 and 22. At molecular level, *ABL1* (Abelson) gene located on chromosome 9 is juxtaposed onto the *BCR* (Breakpoint Cluster Region) gene on chromosome 22, generating *BCR-ABL1* fusion gene. CD66c is a member of the carcinoembryonic antigen family, which has aberrant expression in some cases of B-ALL.

Case presentation: Firstly, we present the case of 54-year-old patient diagnosed with B-ALL. After performing laboratory studies, the results indicated bicytopenia (Hb 4.4 g/dl, Tr 20,000/mmc) and grade II neutropenia (N 1250/mmc), bone marrow examination showed 51% lymphoid precursors with aberrant phenotype (CD66c +/- 33.8%). Molecular tests revealed the presence of a *BCR-ABL1* minor transcript (p190). The second case is a 42-year-old patient diagnosed with secondary B-ALL after chronic myeloid leukemia (CML) with an increased white blood cell count (WBC 27,200/mmc) and thrombocytopenia (Tr 17,000/mmc). Bone marrow cytological examination and immunophenotyping of peripheral blood identified 87% lymphoid precursors with aberrant phenotype (CD66c +/- 61%). Molecular tests identified a *BCR-ABL1* major transcript (p210).

Conclusions: In this report, we presented the comparative analysis of two B-ALL cases with aberrant phenotype (CD66c) in correlation with BCR/ABL mutation.

Keywords: acute lymphoblastic leukemia, CD66c, flow cytometry

P04. MONITORIZAREA EFICIENTEI TERAPIEI TRANSFUZIONALE LA PACIENTII CU INSUFICIENȚĂ CARDIACĂ ȘI ANEMIE SECUNDARĂ

Iulia Andreea Badea (Costea)², Mihaela Botnarciuc ^{1,2}, Lavinia Carmen Daba ^{1,2}, Irinel Raluca Parepa ^{1,2}

¹*Universitatea Ovidius Constanța, Facultatea de Medicină*

²*Spitalul Clinic Județean de Urgență Sfântul Apostol Andrei Constanța*

Introducere. Managementul optim al bolnavului cu insuficiență cardiacă impune și intervenția asupra tuturor comorbidităților pentru ameliorarea prognosticului. Anemia este una din comorbiditățile potențial tratabile, cu implicații prognostice semnificative.

Etiologia anemiei din insuficiență cardiacă este multifactorială: apportul redus de fier, nutriția deficitară, utilizarea anticoagulantelor orale, malabsorbția și cașexia cardiacă, blocarea fierului în sistemul reticuloendotelial, blocarea absorbției duodenale, declinul funcției renale, retenția de apă, tratamentul cu inhibitori ai enzimei de conversie și blocaanți ai receptorilor de angiotensină.

Corectarea anemiei este un factor esențial pentru prognostic.

Material și metodă. În cursul anului 2020, pentru 265 de pacienți din secția de Cardiologie, s-au solicitat Unității de Transfuzii Sangvine produse transfuzabile și toți aceștia au fost transfuzați, primind atât Concentrat eritrocitar resuspendat (CER) cât și Plasmă Proaspătă congelată (PPC). S-au utilizat câte două truse de determinare de grup sanguin, cartele ... pentru determinarea și s-au realizat: test enzimatic, test salin și test Coombs ? pentru determinarea compatibilității directe.

Din totalul de 265 pacienți, 185 au primit o singură unitate CER în cursul aceleiași luni, iar 80 au fost politransfuzati.

Rezultate și concluzii. Media hemoglobinei(Hb) înainte de transfuzii a fost de 7,83g/dl (6,10-10,80) și a atins nivelul de 9,03g/dl (7,10-11,80). Cea mai mică valoare a hemoglobinei a fost de 6 g/dl iar după administrarea a 4 unități de concentrat eritrocitar resuspendat, hemoglobina a crescut la 8,2 g/dl menținându-se la acest nivel până la externare.

La pacienții care au primit 1 unitate s-a observat o creștere de 1-2,2 g/dl, un pacient de sex masculin având chiar 3g/dl, cea mai mare creștere s-a observat la un pacient care a primit 3 unități CER 4g/dl. La bărbați s-a observat o creștere de 0,85g/dl pe unitate transfuzată, iar la femei de 0,52. În ceea ce privește grupele sangvine, cea mai mare creștere a fost la A+ 1,25g/dl și cea mai redusă la O+ 0,2g/dl.

Cuvinte cheie: transfuzii , anemie, insuficiență cardiacă

MONITORING THE EFFICIENCY OF TRANSFUSION THERAPY IN PATIENTS WITH HEART FAILURE AND SECONDARY ANEMIA

Introduction. Optimal management of the patient with heart failure also requires intervention all comorbidities to improve the prognosis. Anaemia is one of the comorbidities potentially treatable, with significant prognostic implications.

The aetiology of heart failure anaemia is multifactorial: low iron intake, poor nutrition, use of oral anticoagulants, malabsorption, and cardiac cachexia, iron in the reticuloendothelial system, blockage of duodenal absorption, decline in renal function, water retention, treatment with conversion enzyme inhibitors and receptor blockers, angiotensin. Correction of anaemia is a key factor in the prognosis.

Material and method. During 2020, for 265 patients in the Cardiology department, the Blood Transfusion Unit was asked for transfusible products and all of them were transfused, receiving both Resuspended Erythrocyte Concentrate (REC) and Fresh Frozen Plasma (FFP). Two blood type determination kits, cards ... were used for the determination and were performed: enzyme test, saline test and Coombs test to determine direct compatibility. Out of a total of 265 patients, 185 received a single REC unit during the same month, and 80 were polytransfused.

Results and Conclusions. The mean hemoglobin (Hb) before transfusions was 7.83g / dl (6.10-10.80) and reached 9.03g/dl (7.10-11.80). The lowest hemoglobin value was 6 g/dl and after administration of 4 units of resuspended erythrocyte concentrate, the hemoglobin increased to 8.2 g/dl remaining at this level until discharge.

In patients who received 1 unit, an increase of 1-2.2 g/dl was observed, a male patient having even 3g / dl, the highest increase was observed in a patient who received 3 units CER 4g / Mister. In men, an increase of 0.85 g / dl was observed per transfused unit, and in women of 0.52. Regarding blood groups, the highest increase was at A + 1.25g / dl and the lowest at O + 0.2g / dl.

Keywords: transfusions, anaemia, heart failure

P05. CONFLICTUL IMUN IN INCOMPATIBILITATEA MATERNO-FETALĂ ÎN SISTEM RH ASOCIAȚĂ CU ANEMIA HEMOLITICĂ CORPUSCULARĂ

Simona-Daniela Neamțu¹, Liliana Stanca¹, Anda Lorena Dijmarescu¹, Adela-Valeria Neamțu², Maria Magdalena Manolea¹, Garofița-Olivia Mateescu¹, Anca Smaranda³, Magdalena Rodica

Trăistaru¹

¹Universitatea de Medicina și Farmacie din Craiova

²Institutul "Prof. Dr. Matei Balș" București

³Spitalul Filantropia Craiova

Introducere: Sferocitoza ereditară este cel mai frecvent tip de anemie hemolitică cronică prin defect de membrană întâlnită la caucasieni. Izoinimizările materno-fetale sunt stări patologice în care femeia gravidă este sensibilizată și produce izoanticorpi față de antigene sanguine fetale, cel mai frecvent incriminat fiind sistemul Rh.

Material si metode: Gravida diagnosticată cu sferocitoză congenitală a fost supravegheată medical prin determinarea în dinamică a testelor hematologice, a titrului anticorpilor anti Rh, testelor de coagulare, testelor biochimice, examinărilor ecografice și cardiotocografice. Cazul prezentat face parte din situațiile rare de sferocitoză ereditară complicată cu izoinimizarea materno-fetală în sistem Rh.

Rezultate: Investigațiile paraclinice materne au confirmat sferocitoza ereditară, grupul sanguin AII, Rh-ul negativ și prezența marcantă a anticorpilor anti-Rh.

Frotiul sanguin al nou-nascutului a ilustrat leucocitoză cu neutrofile și devierea la stanga a formulei leucocitare, abundența precursorilor eritrocitari în torrentul circulator, precum și modificări morfologice ale seriei eritrocitare cu prezența sferocitelor și reticulocitoză accentuată. Compatibilitatea în sistem ABO între mamă și făt a facut ca hematiile fetale Rh pozitive ajuinse în circulația sanguină maternă să nu fie distruse de aglutininele de grup, iar siturile antigenice Rh să nu fie mascate pentru sistemul imunitar matern. Monitorizarea imunohematologică postnatală a nou-nascutului a evidențiat antigenele sistemului de grup sanguin Rh pe hematiile fetale la 7 zile de terapie postpartum. Anticorpii anti-Rh tip Ig G, produși de limfocitele materne sensibilizate, au traversat bariera placentală și au acoperit hematiile fetale ducând inițial la o reacție fals negativă de identificare a antigenelor de grup sanguin Rh la nou-născut.

Concluzie: Izoinimizarea materno-fetală în sistem Rh poate da reacții false negative de identificare a aglutinogenului D în primele zile de naștere, de aceea se impune monitorizarea imunohematologică postnatală în dinamică.

Cuvinte cheie: aglutinogen D, izoinimizare, sferocitoză

IMMUNE CONFLICT IN MATERNAL-FETAL INCOMPATIBILITY IN THE RH SYSTEM ASSOCIATED WITH CORPUSCULAR HEMOLYTIC ANEMIA

Introduction: Hereditary spherocytosis is the most common type of chronic hemolytic anemia due to a membrane defect found in Caucasians. Maternal-fetal isoimmunizations are pathological conditions in which the pregnant woman is sensitized and produces autoantibodies against fetal blood antigens, the most frequently incriminated being the Rh system.

Material and methods: The pregnant woman diagnosed with congenital spherocytosis was medically monitored by determining hematological tests in dynamics, the titer of anti-Rh antibodies, coagulation tests, biochemical tests, ultrasound and cardiotocographic examinations. The case presented is one of the rare situations of hereditary spherocytosis complicated by maternal-fetal isoimmunization in the Rh system.

Results: Maternal paraclinical investigations confirmed hereditary spherocytosis, blood type AII, Rh negative and the marked presence of anti-Rh antibodies.

The newborn's blood smear showed leukocytosis with neutrophilia with the left shift of the leukocyte formula, abundance of erythrocyte precursors in the circulatory torrent, as well as morphological changes of the erythrocyte series with the presence of spherocytes and accentuated reticulocytosis. Compatibility in the ABO system between mother and fetus meant that Rh-positive fetal red blood cells in the maternal bloodstream were not destroyed by group agglutinins, and the Rh antigenic sites not to be masked for the maternal immune system. Postnatal immunohematological monitoring of the newborn revealed Rh blood group antigens on fetal red blood cells after 7 days of postpartum therapy. Ig G anti-Rh antibodies, produced by sensitized maternal lymphocytes, crossed the placental barrier and covered the fetal red blood cells leading initially to a false negative reaction to identify Rh blood group antigens in the newborn.

Conclusion: Maternal-fetal isoimmunization in the Rh system may give false negative reactions of identification of agglutinogen D in the first days after birth, therefore postnatal immunohematological monitoring in dynamics is required.

Keywords: agglutinogen D, isoimmunization, spherocytosis

C10. NEOPLAZIA CU CELULE BLASTICE PLASMOCITOÏD DENDRITICE-O PROVOCARE DE DIAGNOSTIC MORFOLOGIC ȘI IMUNOFENOTIPIC-

Mirela Marian¹, Mariana Patiu¹, Carmen-Beatrice Basarab¹, Dan Cojocaru¹, Mihnea Tudor Zdrengea¹, Elena-Cristina Selicean¹

¹Institutul Oncologic „Ion Chiricuta” Cluj Clinica de Hematologie

²Institutul Clinic de Urologie și Transplant Renal Cluj

Introducere: Neoplazia cu celule blastice plasmocitoïd dendritice (NCBPD) este o hemopatie malignă rară, agresivă, determinată de proliferarea precursorilor celulelor dendritice plasmocitoïde de

tip 2. Afecteză cel mai frecvent persoane vârstnice de sex masculin. Diagnosticul este unul de echipă multidisciplinară, întotdeauna fiind o provocare.

Afectarea cutanată este prezentă la 80-90% din pacienți; interesarea medulară, diseminarea leucemică, citopeniile, limfadenopatiile și splenomegalia fac parte din modalitățile de prezentarea ale acestei boli. Nu există abordare terapeutică standardizată. Regimurile terapeutice aplicate (similar celor pentru leucemii acute mieloide sau limfoide) nu au rezultate promițătoare. Recidivele sunt frecvente și supraviețuirea generală este redusă. Transplantul alogenic oferă o șansă la remisie prelungită și la o posibilă vindecare. Promițătoare s-au dovedit molecule tintă, anti-CD123.

Material și metodă: Între 2017-2022, șase pacienți au fost diagnosticați cu NCBPD în Clinica de Hematologie a Institutului Oncologic Cluj. S-au urmărit: prezentarea clinică, morfologia celulelor neoplazice, imunofenotipul blaștilor, evoluția bolii și tratamentul administrat.

Polimorfismul morfologic al elementelor proliferante (vacuole, granulații, prelungiri citoplasmatici, aspectul monocitoid-like sau limfoid-like) și diversitatea fenotipică, fac dificil diagnosticul de NCBPD. Aspectul fenotipic întâlnit la majoritatea pacienților cuprinde triada CD56+, CD123+, CD4+, asociată cu absența pozitivității la MPO, CD34, CD14.

Concluzii: Numărul mic de pacienți permite doar sublinierea unor caracteristici clinice și biologice. Diagnosticul se bazează major pe gradul înalt de suspiciune, în prezența leziunilor cutanate și pe imunofenotiparea specifică. Pacienții cu anomalii ale hemogramei, frotiului sanguin, frotiului din aspirat medular, cu organomegalii și cu leziuni cutanate atipice/neîncadrabile, trebuie analizați imunofenotipic, astfel încât să se poată exclude sau confirma NCBPD.

Cuvinte cheie: celule blastice plasmocitoid dendritice, leziune cutanată, imunofenotip

BLASTIC PLASMACYTOID DENDRITIC CELL NEOPLASM- A MORPHOLOGIC AND IMMUNOPHENOTYPING DIAGNOSIS CHALLENGE

Introduction: Blastic plasmacytoid dendritic cell neoplasm (BPDCN) is a rare, aggressive malignancy caused by the proliferation of type 2 plasmacytoid dendritic cell precursors. It most commonly affects older males. Diagnosis is for multidisciplinary team, always a challenge.

Skin lesions are present in 80-90% of patients; bone marrow involvement, leukemic spread, cytopenias, lymphadenopathy and splenomegaly are frequently described. There is no standardized therapeutic approach. The treatments applied (similar to those for acute myeloid or lymphoid leukemias) do not have promising **Results**. Relapses are common and overall survival is reduced. Allogeneic transplants offer a chance for prolonged remission and possible healing. Anti-CD123 molecules have been shown to be promising.

Material and method: Between 2017-2022, six patients were diagnosed with BPDCN in the Hematology Clinic of the Oncological Institute in Cluj. The following were evaluated: clinical presentation, morphology of neoplastic cells, immunophenotype of blasts, evolution of the disease and the administered treatment.

The morphological polymorphism of the proliferating elements (vacuoles, granulations, cytoplasmic extensions, monocyte-like or lymphoid-like aspect) and phenotypic diversity make the diagnosis of BP-

DCN difficult. The phenotypic aspect found in most patients includes the triad CD56 +, CD123 +, CD4 +, associated with the absence of positivity for MPO, CD34, CD14.

Conclusion: The small number of patients allows only the emphasis of some clinical and biological features. The diagnosis is based mainly on the high degree of suspicion, in the presence of skin lesions and on specific immunophenotyping. Patients with abnormalities of hemogram, blood smears, medullary aspirate smears, organomegaly, and atypical / inconclusive skin lesions should be immunophenotyped to rule out or confirm BPDCN.

Keywords: blastic plasmacytoid dendritic cell, skin lesions, immunophenotype

C11. MARKERI MOLECULARI ÎN CANCER PULMONAR NON-MICROCELULAR

Iuliu Cristian Ivanov^{1,2}, Loredana Mihaela Dragoș^{1,2}, Irina Cezara Văcărean Trandafir², Carmen Cozmei¹, Elena Nisioi¹, Mihaela Mențel², Eugen Carasevici², Daniela Jitaru^{1,2}

¹ Laboratorul de Analize Medicale, Institutul Regional de Oncologie, Iași, România

² Centrul de Cercetare Transcend, Institutul Regional de Oncologie, Iași, România

Introducere: Testarea mutațiilor EGFR (Receptorul pentru Factorul de Creștere Epidermală) în țesutul tumoral și plasma are valoare predictivă asupra răspunsului la tratamentul cu inhibitori tirozinkinazici la pacienții cu CPNMC (Cancer pulmonar non-microcelular).¹ Suplimentar și secvențial, identificarea altor alterări în genele ALK, RET, ROS, MET etc., direcționează conduită terapeutică și evaluarea răspunsului la tratament.²

Metode / Metodologie: Studiul cuprinde pacienți investigați în IRO Iași în perioada 2017 – 2021, prin tehnica RealTimePCR, pe probe obținute din țesut parafinat și din biopsie lichidă. Suplimentar, un număr limitat de probe au fost investigate prin NGS, cu tehnologia ArcherDX, cu un panel de 44 gene (ce identifică gene de fuziune, expresie genică, SNVs, CNVs și inserții/deleții)

Rezultate: Din cele 698 de probe analizate, pentru 6 s-a obținut ADN neamplificabil, iar la 14 cazuri blocul de parafină nu a mai prezentat celule tumorale. La 526 probe nu s-au identificat mutațiile EGFR investigate, 40 din ele având procent mic de celule tumorale (sub 10%). În 147 probe au fost identificate mutații EGFR, cea mai frecventă fiind Ex19del (73 cazuri), urmată de L858R (60 cazuri). Mutată T790M a fost identificată 19 probe în combinație cu Ex19del (11 cazuri), L858R (6 cazuri) și L861Q (un caz).

Concluzii / Discuții: Investigarea mutațiilor “trigger” la nivelul genei EGFR, dar și a celorlalte alterări genice, în cancerul de plămân, este foarte utilă pentru diagnostic și instaurarea terapiei țintite, dar și pentru evaluarea răspunsului la tratament și identificarea precoce a recăderilor pentru probe din biopsie lichidă sau pe o nouă biopsie.

Referințe:

1. Gristina V, Malapelle U, Galvano A, Pisapia P, Pepe F, Rolfo C, et al. (2020). The Significance of Epidermal Growth Factor Receptor Uncommon Mutations in Non-Small Cell Lung Cancer: A Systematic Review and Critical Appraisal. *Cancer Treat Rev* 85:101994.
2. Gainor JF, Shaw AT, Sequist LV, Fu X, Azzoli CG, Piotrowska Z, et al. (2016). EGFR Mutations and ALK Rearrangements Are Associated With Low Response Rates to PD-1 Pathway Blockade in Non-Small Cell Lung Cancer: A Retrospective Analysis. *Clin Cancer Res* 22(18):4585–93.

MOLECULAR MARKERS IN NON SMALL CELL LUNG CANCER

Introduction: Testing for EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) mutations, in tumor tissue and liquid biopsies, has predictive value, for response to tyrosine kinase inhibitor treatment, in patients with NSCLC (Non-Small Cell Lung Cancer).¹ In addition, sequential identification of other alterations in ALK genes, RET, ROS, MET, etc., conduct the therapeutic and evaluation of the response to treatment.²

Methods: Our study includes patients investigated in IRO Iasi between 2017 and 2021, using the RealTimePCR technique, on samples obtained from FFPE tissue and liquid biopsy. In addition, a limited number of samples were investigated by NGS, with ArcherDX technology, with a panel of 44 genes (identifying fusion genes, gene expression, SNVs, CNVs and in/del)

Results: From 698 samples analyzed, in only in 6 samples the DNA was too damaged to be amplified and in 12 cases the paraffin block didn't have tumor tissue anymore. The EGFR mutations investigated were not identified in 526 samples, 40 of them with a low percentage of tumor cells (less than 10%). EGFR mutations were identified in 147 samples, and the most prevalent mutation is Ex19del (73 cases), followed by L858R (60 cases). The T790M mutation was identified 19 samples in combination with Ex19del (11 cases), L858R (6 cases) and L861Q (one case).

Conclusions: Investigation of “trigger” mutations in the EGFR gene, but also other gene alterations, is very useful for diagnosis and target therapy instaurat, but also for evaluating treatment response and early identification of relapses in liquid biopsy specimens or a new tissue biopsy.

P06. ROLUL MUTAȚIILOR BRCA1 ȘI BRCA2 ÎN PATOGENIA CANCERULUI DE SÂN/OVAR

Larisa Turcan, Diana Andrușea, Anatolie Vișnevschi

Catedra medicină de laborator, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Republica Moldova

Introducere / Obiectiv: Sindromul cancerului ereditar de sân/ovar (HBOC = hereditary breast-ovarian cancer syndrome) se asociază cu mutațiile BRCA1/BRCA2, gene supresoare tumorale care produc proteine utilizate de celulă într-o cale enzimatică în procesul de reparare a moleculei de ADN. Elucidarea corelației apariției cancerului de sân și ovar, în dependență de mutații la nivelul BRCA1 sau BRCA2.

Metode / Metodologie: Au fost selectate și analizate articolele din baza de date PubMed, Medscape și MEDLINE.

Rezultate: Aproximativ 5% din cancerul de sân și 10% din cel ovarian sunt încadrate în HBOC. Riscul unei femei de a dezvolta cancer de sân/ovarian este semnificativ crescut, în funcție de varianta mutantă moștenită BRCA1 sau BRCA2. 13% din femei vor dezvolta cancer de sân pe parcursul vieții până la vîrstă de 80 ani, din care 55%-72% moștenesc mutații BRCA1 și 45%-69% mutații în gena BRCA2. De asemenea până la vîrstă de 70-80 ani, incidența femeilor cu cancer ovarian constituie 1,2 %, din care 39%-44% moștenesc varianta dăunătoare BRCA1 și 11%-17% mutații în gena BRCA2.

Conform studiului, realizat de Gareth Evans, profesor în genetica la Universitatea din Manchester, 50% din femeile care suferă de cancer de sân/ovar, au moștenit boala pe linie paternă.

Concluzii / Discuții: Cunoasterea rolului patogenetic al mutațiilor permite un abord terapeutic individualizat la pacientele cu cancer de sân/ovar.

Cuvinte cheie: mutații, BRCA1, BRCA2.

THE ROLE OF BRCA1 AND BRCA2 MUTATIONS IN THE PATHOGENY OF BREAST / OVAR CANCER

Introduction: Hereditary breast-ovarian cancer syndrome (HBOC) is associated with BRCA1 / BRCA2 mutations, tumor suppressor genes that produce proteins used by the cell in an enzymatic way to repair the molecule DNA. Objective: Elucidation of the correlation of breast and ovarian cancer, depending on mutations in BRCA1 or BRCA2.

Methods / Methodology: Articles from the PubMed, Medscape and MEDLINE database were selected and analyzed.

Results: Approximately 5% of breast and 10% of ovarian cancers are HBOC. A woman's risk of developing breast / ovarian cancer is significantly increased, depending on the inherited mutant variant BRCA1 or BRCA2. 13% of women will develop breast cancer during their lifetime by the age of 80, of which 55% -72% inherit BRCA1 mutations and 45% -69% mutations in the BRCA2 gene. Also up to the age of 70-80, the incidence of women with ovarian cancer is 1.2%, of which 39% -44% inherit the harmful variant BRCA1 and 11% -17% mutations in the BRCA2 gene. According to a study by Gareth Evans, a professor of genetics at the University of Manchester, 50% of women with breast / ovarian cancer have inherited the disease in their father's line.

Conclusions / Discussions: Knowing the pathogenetic role of mutations allows an individualized therapeutic approach in patients with breast / ovarian cancer.

Keywords: mutations, BRCA1, BRCA2.

P07. STATUSUL TROMBOFILIC. IMPLICAȚII IN DECLANȘAREA ȘI AMPLIFICAREA FENOMENULUI TROMBOEMBOLIC

Simona-Daniela Neamțu¹, Liliana Stanca¹, Anda Lorena Dijmarescu¹, Adela-Valeria Neamțu², Maria Magdalena Manolea¹, Garofita-Olivia Mateescu¹, Anca Smaranda³, Magdalena Rodica Trăistaru¹

¹Universitatea de Medicina și Farmacie din Craiova

²Institutul "Prof. Dr. Matei Bals" Bucuresti

³Spitalul Filantropia Craiova

Introducere: Existența unei anomalii ereditare la nivelul sistemului coagulare-fibrinoliză asociată cu un factor de risc adițional predispune la declanșarea procesului trombotic.

Studiul nostru are drept scop consilierea pacientului în vederea preintâmpinării procesului de tromboză datorat stazei, leziunilor parietale venoase și fenomenelor de hipercoagulabilitate la nivelul sistemului venos profund și placentar, precum și prevenirea potențialului emboligen.

Material și metode: Studiul a inclus paciente aflate în evidență Spitalului Municipal Filantropia, Spitalului Județean de Urgență și Institutului de Medicina Legală Craiova, care au efectuat evaluări clinice, conform unei fișe de observație clinică special elaborată, explorări paraclinice - tehnici moleculare, teste hematologice și explorări imagistice.

Rezultate și discuții: Gravidele luate în studiu prezintau anterior minim două sarcini oprite în evoluție, fără o altă cauză determinată. Majoritatea pacientelor diagnosticate cu trombofilie, sub tratament anticoagulant corect administrat și monitorizat în dinamică au avut o evoluție favorabilă. Evoluție nefavorabilă s-a înregistrat în două dintre cazuri, statusul homozigot pentru mutația C677T putând conduce la creșteri ale nivelului plasmatic de homocisteină, mai ales la pacienții cu nivel scăzut de folat și vitamine din grupul B. În un organism cu tare genetice traumatismele constituie factori de risc asociați generațorii de tromboze.

Concluzie: Gravitatea consecințelor induse de prezența trombozelor intravasculare justifică măsuri de prevenție primară, coroborate cu necesitatea adăugării D-dimerilor în algoritmul de diagnostic precoce, fiind considerați cel mai fidel marker al stării de hipercoagulabilitate și al fibrinolizei endogene. Testul are valoare predictivă negativă pentru tromboza venoasă profundă a membrelor inferioare și tromboembolismul pulmonar în sensul că obținerea unui rezultat negativ la pacienții suspectați de aceste afecții exclude prezența acestora într-un procent de peste 90%.

Cuvinte cheie: hipercoagulabilitate, tromboză, D Dimer

THROMBOPHILIC STATUS. IMPLICATIONS IN THE ONSET AND AMPLIFICATION OF THE THROMBOEMBOLIC PHENOMENON

Introduction: The existence of a hereditary abnormality in the fibrinolysis coagulation system associated with an additional risk factor predisposes to the onset of the thrombotic process.

Our study aims to advise the patient in order to prevent the thrombosis process due to stasis, venous parietal lesions and the phenomena of hypercoagulability in the placental and deep venous system, as well as preventing the potential embolism.

Materials and methods: The study included 28 patients in the records of Municipal Hospital Philanthropy, Emergency County Hospital and the Institute of Forensic Medicine Craiova, who have undergone clinical evaluations, according to a specially prepared clinical observation sheet, paraclinical explorations - molecular techniques, hematological tests and imagistic explorations.

Results and discussion: The pregnant women in the study previously had at least two stopped evolving pregnancies, without any other determining cause. Most patients diagnosed with thrombophilia, under correctly administered anticoagulant treatment and monitored in dynamics had a favorable evolution. Unfavorable evolution was registered in two of the cases, the homozygous status for C677T mutation may lead to elevated plasma homocysteine levels, especially in patients with low folate and B vitamins. In a genetically flawed organism trauma is an associated risk factor for thrombosis.

Conclusion: The severity of the consequences induced by the presence of intravascular thrombosis justifies primary prevention measures, corroborated with the need to add D-dimers in the early diagnosis algorithm, considered to be the most accurate marker of hypercoagulability and endogenous fibrinolysis. The test has a negative predictive value for deep vein thrombosis of the lower limbs and pulmonary thromboembolism, in the sense that obtaining a negative result in patients suspected of these diseases excludes their presence in proportion of over 90%.

Keywords: hypercoagulability, thrombosis, D Dimers

C13. ANTICORPII IN ERA COVID-19

Petru Ciangă

¹ Departamentul de Imunologie, Universitatea de Medicină și Farmacie Grigore T. Popa Iași

² Laboratorul de Imunologie, Spitalul Clinic Județean de Urgențe Sf. Spiridon Iași

Răspunsul imun anti-viral este bazat, în primul rând, pe răspunsul limfocitelor T, dar anticorpii neutralizanți joacă, de asemenea, un rol important. A fost demonstrat că vaccinarea anti-SARS-CoV-2 declanșează răspunsuri imune puternice, capabile să neutralizeze virusul. Monitorizarea eficienței vaccinurilor implică, din rațiuni practice, preponderent evaluarea răspunsurilor imune umorale. Producția unor astfel de Ac neutralizanți împotriva proteinei spike (S) a SARS-CoV-2 reprezintă unul dintre cele mai importante obiective ale vaccinurilor COVID-19. Mai mult decât atât, anticorpii anti- SARS-CoV-2 recoltați din plasma convalescentă au fost utilizați, cu rezultate limitate, ca instrument terapeutic. Virurile ARN sunt însă înalt mutagene, astfel că multiple subvariante de scăpare au apărut într-un interval relativ scurt, compromițând eficiența vaccinurilor. Chiar dacă anticorpii neutralizanți joacă un rol important, răspunsurile anormale în anticorpi pot conduce, din contra, la progresia COVID-19, în special la pacienții din categoria de risc înalt.

Cuvinte cheie: SARS-CoV-2, COVID-19, vaccin, anticorpi neutralizanți.

ANTIBODIES IN COVID-19 TIMES

The anti-viral immune response is primarily based on T-cellular responses, but neutralizing antibodies play also an important role. It has been shown that vaccination against SARS-CoV-2 elicits powerful immune responses, able to neutralize the virus. Monitoring the efficiency of a vaccine implies, for practical reasons, mostly the evaluation of the humoral immune responses. The production of such neutralizing antibodies against the SARS-CoV-2 spike (S) protein represents one of the important goals of the COVID-19 vaccines. Furthermore, anti- SARS-CoV-2 antibodies harvested from convalescent plasma were used, with limited results as a therapeutic tool. However, the RNA viruses are highly mutagenic and multiple escape subvariants emerged in a relatively short time, compromising the vaccines efficiency. Even though the neutralizing antibodies play an important protecting role, dysregulated antibody responses may lead, on the contrary, to the COVID-19 progression, especially in high-risk category of patients.

Keywords: . SARS-CoV-2, COVID-19, vaccine, neutralizing antibodies

C14. SEROEPIDEMIOLOGIA INFECȚIEI CU SARS-COV-2 ÎN VESTUL ROMÂNIEI, 2020-2021

Tudor Rareș Olariu

*Universitatea de Medicina și Farmacie "Victor Babes" Timișoara, România
Spitalul Clinic Municipal de Urgență Timișoara, România*

Răspândirea infecției cu SARS-CoV-2 în rândul unei populații poate fi evaluată prin detectarea anticorpilor specifici, indicând expunerea anterioară. Seroprevalența SARS-CoV-2 a fost evaluată după primul și al treilea val pandemic de COVID-19 în diferite grupuri populataionale din vestul României.

Studiile serologice derulate în 2020 și 2021 au arătat o creștere semnificativă a răspândirii virusului la donatorii de sânge, de la 1.51% la 41.04%, indiferent de vîrstă, sex, zonă de reședință sau grupă sanguină. În 2021, evaluarea seroprevalenței SARS-CoV-2 în populația generală a arătat că 45.60% dintre adulți și 46.70% dintre copii au fost infectați cu SARS-CoV-2, fără diferențe semnificative între sexe. Cu toate acestea, la adulți s-a constatat o seroprevalență semnificativ mai mare la grupa de vîrstă 30–49 ani (53.94%) comparativ cu grupele de vîrstă 50–69 ani (43.53%) și 70–91 ani (30.79%).

Seroprevalențele estimate în perioadele de studiu au fost de 5 până la 6 ori mai mari comparativ cu procentul cazurilor de COVID-19 confirmate și raportate în vestul României. Rezultatele sugerează că un număr semnificativ de infecții asymptomatice cu SARS-CoV-2 au fost detectate prin testarea serologică.

În acest referat sunt prezentate date epidemiologice detaliate din studiile serologice efectuate în vestul României în pandemia de COVID-19.

Cuvinte cheie: SARS-CoV-2, COVID-19, seroprevalență.

SEROEPIDEMIOLOGY OF SARS-COV-2 INFECTION IN WESTERN ROMANIA, 2020-2021

The extent of SARS-CoV-2 infection among a population may be assessed by the presence of specific antibodies, which indicates previous exposure. SARS-CoV-2 seroprevalence was assessed after the first and third COVID-19 pandemic waves in different groups of population from Western Romania.

Serologic surveys conducted in 2020 and 2021 indicated a significant rise in the spread of the virus in blood donors, from 1.51% to 41.04%, regardless of age, gender, area of residence, or blood type. In 2021, assessment of SARS-CoV-2 seroprevalence in the general population, revealed that 45.60% of the adults and 46.70% of the children were previously infected with SARS-CoV-2, with no significant gender difference. However, in the adult population, a significantly higher seroprevalence was found in the age group 30–49 years (53.94%) compared to age groups 50–69 years (43.53%) and 70–91 years (30.79%).

The estimated seroprevalences were 5 to 6 times higher than the rates of COVID-19 confirmed cases reported in Western Romania during the study periods. These results suggests that a significant number of asymptomatic SARS-CoV-2 infections have been detected using serologic tests.

This report presents detailed epidemiological data regarding the serological studies conducted in Western Romania during the COVID-19 pandemic.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19, seroprevalence.

C15. STUDIUL VARIATIEI ÎN TIMP A IGG ANTI SARS-COV-2 DUPĂ VACCINAREA CU BNT162B2

Daciana S. Marta^{1,2}, Maria Dobre¹, Leona A. Chițoiu¹, Victor E. Peteu¹, Mihaela Gherghiceanu^{1,3}, Tudor E. Fertig^{1,3}

¹*Institutul Național "Victor Babeș", București, România*

²*Universitatea "Titu Maiorescu"- Facultatea de Medicină, București, România*

³*Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București, România*

Introducere: În contextul pandemiei COVID-19 și a datelor recente care sugerează scăderea în timp a imunității specifice, echipa noastră a fost interesată de evoluția nivelurilor IgG anti SARS-CoV-2, dezvoltate postvaccinare și/sau postinfectare.

Metodologie: Monitorizarea nivelului de anticorpi s-a făcut în perioada decembrie 2020-mai 2022. Studiul a inclus 18 voluntari cu vârste între 24 și 58 de ani, dintre care 16 au primit două doze de vaccin ARNm sintetic BNT162b2 (Pfizer-BioNTech), iar 7 au primit trei doze. De la toți voluntarii s-au preluat probe de sânge înainte de vaccinare și periodic după fiecare doză de vaccin sau îmbolnăvire. Nivelurile IgG au fost cuantificate prin ELISA folosind kitul Vircell-Microbiologists COVID-19, care detectează anticorpuri anti-proteină spike și anti-nucleocapsidă.

Rezultate: Toți voluntarii din studiu au dezvoltat anticorpi IgG specifici anti-SARS-CoV-2 la două săptămâni de la doza a doua și la două-trei zile după doza a treia. Nivelul de anticorpi a prezentat variație individuală ridicată, a scăzut în timp, dar a rămas detectabil 8 luni. După administrarea dozei a treia, titrul a crescut semnificativ din primele zile și s-a menținut ridicat până în prezent. Au existat cazuri de îmbolnăvire chiar și la persoane cu niveluri ridicate IgG, dar formele clinice au fost ușoare.

Concluzii: Participanții au dezvoltat anticorpi IgG specifici anti SARS-CoV-2 după a doua doză de vaccin, dar titrurile de anticorpi au prezentat variație între indivizi și în timp. Persoanele din studiu care s-au îmbolnăvit au dezvoltat forme ușoare COVID-19, ceea ce susține eficiența vaccinului BNT162b2.

Finanțare: Proiect 31PFE/ 2021.

Cuvinte cheie: COVID-19, anticorpi, vaccin.

VARIATION OF ANTI-SARS-COV-2 IGG LEVELS AFTER VACCINATION WITH BNT162B2

Introduction: Given the context of the ongoing COVID-19 pandemic and of accumulating data showing waning of immunity over time in both vaccinated and infected individuals, we set out to investigate variations of anti SARS-CoV-2 antibody titers in a small cohort of healthy volunteers.

Methods: Antibody levels were monitored between December 2020 and May 2022 in 18 volunteers, aged 24 to 58, of which 16 received two doses of the BNT162b2 mRNA vaccine (Pfizer-BioNTech) and 7 received three doses. Blood was collected from all individuals before vaccination and then periodically, after each dose and/or after COVID-19 infection. IgG levels were quantified by ELISA using the Vircell-Microbiologists COVID-19 kit, which detects both anti-spike and anti-nucleocapsid antibodies.

Results: All study participants developed SARS-CoV-2 specific antibodies at 2 weeks following the second dose, and these could still be detected at 8 months. Antibody titers waned over time for all

subjects, however a third (booster) dose led to a sharp increase and titers remained high to present day. Some individuals included in this study contracted COVID-19, regardless of antibody titers, however all cases were clinically mild.

Conclusions: Vaccination with two doses of BNT162b2 elicited neutralizing antibodies against SARS-CoV-2 in all study participants, however antibody levels varied between individuals and waned over time. Individuals that contracted COVID-19 during the study period only developed mild disease, which underlines the importance of vaccination.

Acknowledgment: Grant 31PFE/2021

Keywords: COVID-19, antibody, vaccine

C16. ABORDAREA MOLECULARA SI SEROLOGICA IN TESTAREA INFECTIEI CU SARS-COV2

Daniela Jitaru^{1,2}, Iuliu Cristian Ivanov^{1,2}, Loredana Mihaiela Dragoș^{1,2}, Carmen Cozmei¹, Elena Nisioi¹, Mihaela Mențel², Claudia Gorovei¹, Eugen Carasevici²

¹ Laboratorul de Analize Medicale, Institutul Regional de Oncologie, Iași, România

² Centrul de Cercetare Transcend, Institutul Regional de Oncologie, Iași, România

Introducere: COVID-19 este o boală contagioasă care se răspândește rapid prin particulele care apar în urma strănutului și tusei unei persoane infectate. Colectarea probelor, la momentul potrivit și din situsul anatomic potrivit este crucială pentru un diagnostic molecular adekvat. Există abordări diferite în testarea Covid 19, dar eficacitatea strategiilor alternative este necunoscută, iar performanța clinică a acestor teste este încă puțin înțeleasă.

Metode / Metodologie: Studiul nostru include pacienți investigați în IRO Iași între 2020 - 2021. Tehnicile au fost RealTimePCR și teste antigene rapide, pe probe de exsudat nazofaringian.

Rezultate: În urma comparației valorilor CT obținute în testarea moleculară cu rezultatele testelor rapide antigen s-a observat o sensibilitate suficientă pentru probele intens pozitive cu $CT < 25$, sensibilitatea scăzând drastic la încărcături virale mai slabe. Prin utilizarea unui control intern (CI) endogen (o genă umană) valoarea CT pentru genele de interes poate fi raportată la valoarea CT a CI sub forma unui ΔCT (delta CT). Această informație are valoare informală superioară față de valoarea CT a fiecărei gene de interes în parte.

Concluzii / Discuții: Testarea serologică rămâne o tehnică utilă datorită rapidității și costurilor accesibile, dar necesită confirmare prin tehnici de biologie moleculară. Valoarea CT pentru genele de interes utilizate în PCR poate aduce informații false, calcularea ΔCT fiind mai indicată, mai ales pentru probele incerte, cu $CT > 30$.

MOLECULAR AND SEROLOGICAL APPROACH IN SARS-COV2 INFECTION TESTING

Introduction: COVID-19 is a contagious disease that spreads rapidly through droplet particles that appear through the action of sneezing and coughing an infected person. Collecting samples at the right

time and from the correct anatomical location is crucial for proper molecular diagnosis. There are different approaches to testing Covid19, but the effectiveness of alternative strategies is unknown and the clinical performance of these tests is still poorly understood.

Methods: Our study includes patients investigated in IRO Iasi between 2020 - 2021. Techniques were RealTimePCR and rapid antigen tests, on nasopharyngeal exudate samples.

Results: After comparing the CT values obtained in the molecular test with the results of the rapid antigen tests, a sufficient sensitivity was observed only for the intensely positive samples ($CT < 25$), the sensitivity drastically decreasing at weaker viral loads. By using an endogenous internal control (IC) (a human gene), the CT value for the genes of interest can be related to the CT value of the IC as a ΔCT (delta CT). This information has an informal value superior to the CT value of each gene of interest.

Conclusions: Serological testing remains a useful technique due to its rapidity and affordable costs, but requires confirmation by molecular biology techniques. Alone the CT value for the genes of interest used in PCR may give false information, the ΔCT calculation being more indicated, especially for uncertain samples, with $CT > 30$.

C17. INSUFICIENȚA DE VITAMINA D LA PACIENȚI CU DIABET ZAHARAT ȘI COVID 19.

Andrei Vameș, Anatolie Vișnevschi, Ana Veselovscaia

Chisinau, Republica Moldova

O înțelegere de bază a patogenezei COVID-19 și a răspunsului imun în infecția cu SARS-CoV-2 este crucială pentru înțelegerea rolului inflamației în COVID-19.

Severitatea infecției cu COVID-19 este determinată de prezența pneumoniei, a sindromului de detresă respiratorie acută severă, a miocarditei, a trombozei microvasculare și a furtunilor de citokine. O apărare împotriva inflamației necontrolate și împotriva infecției virale, este asigurată de limfocitele T reglatoare, care sunt scăzute și pot fi crescute prin suplimentarea cu vitamina D. Deficitul de vitamina D apare mai frecvent la pacienții cu obezitate și diabet fiind asociate cu o creștere a citokinelor inflamatorii.

Deficitul de vitamina D contribuie atât la rezistența inițială la insulină, cât și la apariția ulterioară a diabetului cauzat de moartea celulelor β. Vitamina D reduce producția de citokine inflamatorii, cum ar fi TNF-alfa și IL6. Suplimentarea cu vitamina D restabilește secreția de insulină și scade rezistența la insulină și glucoza plasmatică. Nu persoanele cu diabet sunt mai predispuse la COVID, ci dacă dezvoltă COVID, boala este mult mai severă și pare să progreseze mai repede.

Pacienții cu diabet zaharat au o stare inflamatorie cronică de grad scăzut, adăugarea infecției COVID, agravează acea stare inflamatorie mult mai repede - un motiv pentru care acești pacienți dezvoltă o furtună de citokine.

Dacă vitamina D reduce severitatea COVID-19 în ceea ce privește pneumonia/ARDS, inflamația, citokinele inflamatorii și tromboza, suplimentele ar oferi o opțiune relativ ușoară de a reduce impactul pandemiei.

VITAMIN D DEFICIENCY IN PATIENTS WITH DIABETES AND COVID 19.

A basic understanding of the pathogenesis of COVID-19 and the immune response in SARS-CoV-2 infection is crucial to understanding the role of inflammation in COVID-19.

The severity of COVID-19 infection is determined by the presence of pneumonia, severe acute respiratory distress syndrome, myocarditis, microvascular thrombosis and cytokine storms. Protection against uncontrolled inflammation and viral infection is provided by regulatory T lymphocytes, which are low and can be increased by vitamin D supplementation. Vitamin D deficiency is more common in obese and diabetic patients and is associated with an increase in cytokines. inflammatory.

Vitamin D deficiency contributes to both initial insulin resistance and the subsequent onset of diabetes caused by β -cell death. Vitamin D reduces the production of inflammatory cytokines such as TNF-alpha and IL6. Vitamin D supplementation restores insulin secretion and decreases insulin resistance and plasma glucose. People with diabetes are not more prone to COVID, but if they develop COVID, the disease is much more severe and seems to progress faster.

Patients with diabetes have a chronic low-grade inflammatory condition, the addition of COVID infection, aggravates that inflammatory condition much faster - a reason why these patients develop a cytokine storm.

If vitamin D reduces the severity of COVID-19 in terms of pneumonia / ARDS, inflammation, inflammatory cytokines and thrombosis, the supplements would provide a relatively easy option to reduce the impact of the pandemic.

C18. EVALUAREA INCIDENTEI PACIENȚILOR ASIMPTOMATICI CU COVID-19 ÎNTR-UN CENTRU DE REFERINȚĂ DE ENDOCRINOLOGIE

Sorina Schipor¹, Susana Vlădoiu¹, Oana-Monica Popa¹, Ioana Nedelcu¹, Andrei Mureșan¹, Ecaterina Brânzei¹, Luminița Udrea¹, Andra Caragheorgheopol¹, Dana Manda¹, Iuliana Gherlan^{1,2}, Alexandru Velicu¹, Cătălina Poiană^{1,2}

¹*Institutul Național de Endocrinologie "C. I. Parhon", București*

²*Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București*

Introducere/Obiectiv: Pacienții cu COVID-19 asimptomatici reprezintă o provocare pentru instituțiile ce oferă servicii medicale cu spitalizare. Scopul studiului este de a evalua proporția de purtători asimptomatici detectați prin real-time PCR (RT-PCR) înainte de internare într-un centru terțiar de endocrinologie din România.

Metode/Metodologie: Studiul retrospectiv s-a desfășurat în perioada 11.2020-02.2022 în Institutul Național de Endocrinologie "C. I. Parhon". Pentru analiza RT-PCR a infecției cu Sars-CoV-2 s-a extras ARN viral din exsudat nazofaringian utilizând MagMAX™ Viral/PathogenII Nucleic Acid Isolation Kit și extractorul KingFisher™ Duo Prime (ThermoFisher). Detecția prin RT-PCR a virusului Sars-CoV-2 s-a

realizat cu kit-urile TaqPath COVID-19 CE-IVD (ThermoFisher) (genele Orflab, N, S), SARS-CoV-2 Real-TM (Sacace Biotechnologies) (genele E, N) cu sistemele QuantStudio7Flex și ViiA7 și analizorul point-of-care (POC) Cobas® SARS-CoV-2 LIAT (Roche) (genele Orflab, N).

Rezultate: Din totalul de 14,162 teste RT-PCR, 6,455 teste au fost efectuate la pacienți asimptomatici conform metodologiei interne (traij telefonic și on-site) bazată pe criteriile CNSCBT. O parte din pacienții programăți au avut la internare un rezultat PCR negativ (max. 48 h). În laboratorul nostru 226 pacienți au avut rezultat pozitiv (inclusiv dintre cei cu teste PCR negative recente) însemnând o rată de pozitivitate în rândul asimptomaticilor de 3,5%. Prezentăm și unele rezultate discordante obținute în paralel cu sistemul POC și RT-PCR clasic.

Concluzii/Discuții: Având în vedere rezultatele obținute, testarea pacienților înainte de internare reprezintă o etapă esențială pentru prevenirea răspândirii virusului Sars-CoV-2 în rândul pacienților cu patologii endocrine considerate factori de risc crescut în infecția COVID-19.

Cuvinte cheie: COVID-19 asimptomatici, RT-PCR Sars-CoV-2, patologie endocrină

THE EVALUATION OF THE INCIDENCE OF ASYMPTOMATIC PATIENTS WITH COVID-19 IN AN ENDOCRINOLOGY REFERENCE CENTRE

Introduction/Objective: Asymptomatic COVID-19 patients are a challenge for inpatient institutions. The aim of this study is to evaluate the proportion of asymptomatic carriers detected by real-time PCR (RT-PCR) before hospitalization in a tertiary endocrinology centre in Romania.

Methods/Methodology: This retrospective study was conducted between 11.2020-02.2022 at "C. I. Parhon" National Institute of Endocrinology. For RT-PCR analysis of Sars-CoV-2 infection, viral RNA was extracted from nasopharyngeal exudate using MagMAX™ Viral/PathogenII Nucleic Acid Isolation Kit and KingFisher™ Duo Prime (ThermoFisher). RT-PCR detection of Sars-CoV-2 virus was performed with TaqPath COVID-19 CE-IVD Kit (ThermoFisher) (Orflab, N, S genes), SARS-CoV-2 Real-TM (Sacace Biotechnologies) (E, N genes) with QuantStudio7 Flex and ViiA7 RT-PCR systems and Cobas® SARS-CoV-2 LIAT (Roche) point-of-care (POC) analyser (Orflab, N genes).

Results: Out of a total of 14,162 tests performed by RT-PCR, 6,455 tests were performed on asymptomatic patients according to internal procedures (telephone and on-site triage) based on CNSCBT criteria. Several scheduled patients also had a negative PCR result upon admission (max. 48 hours before admission). In our laboratory 226 patients tested positive (including those with recent negative PCR tests), leading to a positive asymptomatic rate of 3.5%. Some discordant results obtained in parallel with the POC system and real-time classical PCR are also presented.

Conclusions/Discussions: Given the obtained results, testing patients before hospitalization represents an essential step to prevent the spread of Sars-CoV-2 virus, especially among patients with endocrine disorders with increased risk in COVID-19 infection.

Keywords: asymptomatic COVID-19, RT-PCR Sars-CoV-2, endocrine disease

C19. MODEL PENTRU PREDICTIONA MORTALITĂȚII INTRASPITALICEȘTI LA PACIENTII CU FORME SEVERE DE COVID-19

Adina Huțanu^{1,2}, Manuela Rozalia Gabor³, Pál Krisztina^{1,2}, Anca Alexandra Molnar^{1,2}, Szederjesi János^{2,4}, Minodora Dobreașu^{1,2,5}

¹ Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie „George Emil Palade” din Târgu Mureș,
Departamentul de Medicină de Laborator

² Spitalul Clinic Județean de Urgență Târgu Mureș, România

³ Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie „George Emil Palade” din Târgu Mureș,
Facultatea de Științe Economice și Drept, Departamentul de Științe Economice

⁴ Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie „George Emil Palade” din Târgu Mureș,
Departamentul de Anestezie și Terapie Intensivă

⁵ CCAMF, Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie „George Emil Palade” din
Târgu Mureș

Obiectiv: Studiul și-a propus să investigheze cei mai relevanți predictori ai mortalității la pacienții spitalizați cu forme severe de COVID-19, pe baza analizei retrospective a parametrilor de laborator.

Metodă: S-a efectuat analiza retrospectivă a rezultatelor testelor de laborator asociate inflamației, funcției renale și hepatic precum și parametrii hematologici de rutină pentru pacienții internați în secțiile de terapie intensivă în perioada septembrie 2020-octombrie 2021. Pentru fiecare parametru, valoarea optimă de cut off a fost stabilită folosind curba ROC, variabilele continue au fost transformate în categoriale și utilizate pentru analiza de decizie. Parametrii demografici și de laborator semnificativi ($AUC > 0,5$) au fost utilizati ca variabile independente pentru evaluarea mortalității intraspitalicești, utilizând analiza Chi-pătrat-automat-detector de interacțiune (CHAID). Analiza de cale a fost folosită pentru validarea rezultatelor CHAID pentru stabilirea relației de cauzalitate dintre variabile și pentru a identifica predictorii pentru mortalitate în rândul pacienților spitalizați cu forme severe de COVID-19.

Rezultate: au fost incluși 396 de pacienți critici COVID-19, 183 de supraviețuitori și 213 decedați. Pacienții care au decedat aveau vârstă înaintată, o rată mai mare a diabetului zaharat și cel puțin încă o comorbiditate, cu toți biomarkerii inflamatori semnificativ mai mari comparativ cu supraviețuitorii. Conform SEM variabilele cu efect direct asupra mortalității au fost comorbiditățile ($r=0.223, p=0.001$), CRP($>31.94 \text{ mg/L}, r=0.182, p=0.001$), NLR($>8.28, r=0.176, p=0.029$), vârstă ($>66.21, r=0.161, p=0.001$), IL-6 ($>25.63 \text{ pg/mL}, r=0.079, p=0.001$), în timp ce creatinina, infecțiile și sexul au exercitat efect indirect.

Concluzii: Analiza a identificat NLR >8.28 , IL-6 $>25.63 \text{ pg/ml}$ și cel puțin o comorbiditate ca principali predictori ai mortalității. Pe baza rezultatelor SEM, s-au găsit cei mai buni predictori cu efecte directe și indirecțe asupra mortalității intraspitalicești.

Cuvinte cheie: COVID-19, IL-6, SEM/analiza de cale

Acknowledgement: Studiu susținut prin grantul George Emil Palade University of Medicine, Pharmacy, Science, and Technology of Targu Mures, Romania, nr. 10126/1/17.12.2020.

IN-HOSPITAL MORTALITY PREDICTION MODEL IN CRITICALLY COVID-19 PATIENTS - A RETROSPECTIVE STUDY

Objective: The study aimed to investigate the most relevant predictors for in-hospital mortality among severe COVID-19 patients, based on a retrospective laboratory parameters analysis.

Methods: A retrospective analysis of laboratory test results associated with inflammation, renal and hepatic function, and routine hematological parameters was performed for patients admitted to ICU units between September 2020–October 2021. For each parameter, the optimal cut-off value was established using ROC Curve analysis, continuous variables were transformed into categorical ones and used for the decision tree analysis. Statistically significant demographic and laboratory parameters ($AUC > 0.5$) were used as independent variables for the assessment of in-hospital mortality, using the growing Chi-Square Automatic Interaction Detector (CHAID) analysis. The Structural Equation Modeling (SEM) was used to validate the CHAID results to establish the causal relationship between variables and to find the best predictor for in-hospital mortality among severe COVID-19 patients.

Results: A total of 396 critically COVID-19 patients were included, 183 survivors and 213 non-survivors. The non-survivor patients were significantly older, with a higher rate of diabetes mellitus and at least one other comorbidity, with all inflammatory biomarkers significantly higher compared to survivors. According to the path-analysis/SEM the variables with direct effect on mortality were comorbidities ($r=0.223$, $p=0.001$), CRP ($>31.94\text{mg/L}$, $r=0.182$, $p=0.001$), NLR (>8.28 , $r=0.176$, $p=0.029$), age (>66.21 , $r=0.161$, $p=0.001$), IL-6 ($>25.63\text{pg/mL}$, $r=0.079$, $p=0.001$), while an indirect effect was observed for creatinine, supra-infections and male gender.

Conclusions: The decision tree analysis identified NLR >8.28 , IL-6 $>25.63\text{pg/ml}$, and at least one comorbidity as main mortality predictors. Based on the SEM results best predictors were found with both direct and indirect effects on COVID-19 patients.

Keywords: COVID-19, IL-6, SEM/path-analysis

Acknowledgement: Research funded by George Emil Palade University of Medicine, Pharmacy, Science, and Technology of Targu Mures, Romania, grant number 10126/1/17.12.2020.

P08. CORELAȚII ÎNTRE PARAMETRII INFLAMATORI ȘI SUPRAVIEȚUIRE LA PACIENTI CRITICI CU COVID-19

Krisztina Pál¹, Anca Molnar¹, Ionuț Branea¹, Ágota Timár^{1,2}, János Szederjesi^{1,2}, Adina Huțanu^{1,2}, Minodora Dobreanu^{1,2}

¹ Spitalul Clinic Județean de Urgență Târgu Mureș

² Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie “George Emil Palade” din Târgu Mureș

Introducere / Obiectiv: În contextul statusului hiperinflamator și a furtunii de citokine implicate în patogeneza infecției SARS-CoV-2, determinarea parametrilor inflamatori constituie parte integrantă a evaluării pacienților spitalizați. Obiectivul studiului constă în explorarea corelațiilor între parametrii inflamatori și supraviețuirea pacienților critici cu COVID-19.

Metode / Metodologie: Studiul observațional retrospectiv include 117 pacienți critici diagnosticați cu COVID-19 prin RT-PCR, spitalizați în Unitatea de Suport Medical din structura Spitalului Clinic Județean de Urgență Târgu Mureș între 20 septembrie 2020-21 octombrie 2021. Datele clinice și paraclinice au fost colectate într-o bază de date și prelucrate statistic folosind GraphPad Prism. Lotul a fost împărțit în supraviețuitori respectiv decedați. S-a realizat analiza statistică descriptivă a subgrupurilor, apoi folosind metoda curbelor ROC (receiver operating characteristic) au fost stabilite valorile cut-off pentru parametrii semnificativi statistic. Ulterior au fost calculate curbele de supraviețuire corespunzătoare.

Rezultate: Parametrii inflamatori semnificativi pentru supraviețuire sunt IL-6 ($p=0.0004$, cut-off=27.68 pg/mL), CRP ($p=0.027$, cut-off=68.15 mg/dL), raportul IL-6/Ly ($p=0.0003$, cut-off=50.39). De asemenea semnificativi statistic sunt indicatori ai afectării de organ: GOT ($p=0.0209$, cut-off=44.15 U/L), INR ($p=0.0195$, cut-off=1.075), creatinină ($p=0.0306$, cut-off=0.835 mg/dL), GFR ($p=0.0129$, cut-off=86.96 mL/min/1.73 m²), uree ($p=0.0001$, cut-off=55.85 mg/dL), din hemoleucogramă WBC ($p=0.0223$, cut-off=11.68×10⁹/L), parametri echilibrului acido-bazic pH ($p=0.0002$, cut-off=7.455) și demografici vârstă ($p=0.0033$), prezența a minim unei comorbidități ($p=0.014$).

Concluzii / Discuții: Parametrii inflamatori (IL-6, CRP, raportul IL-6/Ly) au valoare predictivă în supraviețuirea pacienților spitalizați cu COVID-19, iar utilizarea lor pentru stratificarea prognostică ar putea contribui la alocarea judicioasă a resurselor medicale și facilitarea deciziilor terapeutice.

Cuvinte cheie: COVID-19, supraviețuire, parametri inflamatori

CORRELATIONS BETWEEN INFLAMMATORY MARKERS AND SURVIVAL IN CRITICAL COVID-19 PATIENTS

Introduction / Objective: In the context of the hyperinflammatory status and cytokine storm involved in the pathogenesis of SARS-CoV-2 infection, measuring inflammatory markers represents a key component in the evaluation of hospitalized patients. The aim of this study is to explore the relationship between inflammatory markers and survival in critical COVID-19 patients.

Material / Method: This retrospective observational study includes 117 critical patients diagnosed with COVID-19 by RT-PCR, hospitalized in the Medical Support Unit of the Emergency Clinical County Hospital Târgu Mureș between September 20, 2020–October 21, 2021. Clinical information and laboratory data were recorded in a database and statistically processed using GraphPad Prism. The patient group was divided in survivors and non-survivors. Descriptive statistical analysis of the subgroups was performed, subsequently cut-off levels were determined for the statistically significant parameters using the ROC (receiver operating characteristic curve) method and the corresponding survival curves were calculated.

Results: Based on the statistical analysis, the inflammatory markers significant for survival are: IL-6 ($p=0.0004$, cut-off=27.68 pg/mL), CRP ($p=0.027$, cut-off=68.15 mg/dL), IL-6/Ly ratio ($p=0.0003$, cut-off=50.39). Additionally, other statistically significant markers are GOT ($p=0.0209$, cut-off=44.15 U/L), INR ($p=0.0195$, cut-off=1.075), creatinine ($p=0.0306$, cut-off=0.835 mg/dL), GFR ($p=0.0129$, cut-off=86.96 mL/min/1.73 m²), urea ($p=0.0001$, cut-off=55.85 mg/dL), WBC ($p=0.0223$, cut-off=11.68×10⁹/L), pH ($p=0.0002$, cut-off=7.455), age ($p=0.0033$) and comorbidities ($p=0.014$).

Conclusions / Discussion: Inflammatory markers (IL-6, CRP, IL-6/Ly ratio) have predictive value for the survival of hospitalized COVID-19 patients, therefore integrating these parameters for risk stratification could contribute to reduce healthcare cost and facilitate therapeutic decision-making.

Keywords: COVID-19, survival, inflammatory markers

P09. DINAMICA BIOMARKERILOR ÎN PREDIȚIA RISCULUI DE MORTALITATE PRIN COVID-19

Cristian Cojocaru², Tudor Cojocaru¹, Elena Cojocaru^{1,2}

¹ Universitatea de Medicină și Farmacie "Grigore T. Popa", Iași, Romania

² Spitalul Clinic de Urgență "Prof Dr. N. Oblu", Iași, Romania

Introducere / Obiective: Obiectivul studiului a fost investigarea utilității unor biomarkeri sanguini în aprecierea evoluției nefavorabile prin creșterea riscului de mortalitate a pacienților cu COVID-19.

Metode / Metodologie: Am realizat un studiu retrospectiv care a cuprins 111 pacienți cu COVID-19 internați într-o secție de terapie intensivă în perioada octombrie-decembrie 2021. Datele au fost colectate privitor la statusul proinflamator și respectiv, hipercoagulant.

Rezultate: Grupul de studiu a cuprins 63 de pacienți decedați și a fost comparat cu un grup de control format din 48 de cazuri cu evoluție favorabilă. Rata generală de mortalitate a fost de 56.7%. În grupul de studiu, 54.9% de cazuri au avut vârstă mai mare de 55 de ani. O valoare a D-Dimerelor peste 250 ng/ml (96.7% vs 10%) a fost obținută la 96.7% din pacienții grupului de studiu, **în timp ce numai** 10% dintre cazurile cu o evoluție favorabilă au prezentat valori similare ($P < 0.001$). Diferențe semnificative au fost înregistrate în ceea ce privește interleukina-6 (IL-6), al cărui nivel mediu seric a fost de $294.3 (\pm 67.2)$ pg/mL în grupul de studiu comparativ cu $91.0 (\pm 37.0)$ mg/dL în grupul de control ($P < 0.001$). Deși nivelele serice ale feritinei, CRP, precum și al fibrinogenului plasmatic, au fost mai mari în grupul de studiu, diferența cu a atins semnificația statistică.

Concluzii / Discuții: Biomarkerii inflamatori și ai hipercoagulabilității, cum sunt IL-6 și D-Dimerii, ar putea avea o valoare prognostică la pacienții cu COVID-19, valorile crescute corelându-se cu un prognostic nefavorabil.

Cuvinte cheie: COVID-19, biomarkeri, mortalitate

BIOMARKERS` DYNAMIC IN COVID-19 MORTALITY PREDICTION

Introduction / Objectives: The objective of the study was to determine the prognostic significance of some biomarkers with the overall final outcome of patients with COVID-19.

Methods / Metodology: We conducted a retrospective study among 111 patients with COVID-19, admitted to an intensive care unit from October to December 2021. We collected data on proinflammatory and on hypercoagulable status.

Results: The study group consists of 63 deceased patients, which was compared with 48 cases representing control group (patients with a favorable endpoint). The overall mortality rate was 56.7%. In

the study group, 54.9% cases were over the age of 55 years. D-Dimer values above 250 ng/ml (96.7% vs 10%) were obtained in 96.7% of patients of the study group, while only 10% of the cases with favorable evolution registered similar values ($P < 0.001$). Significant differences were also reported in the case of IL-6, whose mean serum level was 294.3 (± 67.2) pg/mL in the study group compared with 91.0 (± 37.0) mg/dL in the control group ($P < 0.001$). Although the serum levels of ferritin and CRP, as well as plasma fibrinogen, were higher in the study group, they were not statistically significant.

Conclusions / Discussions: Inflammatory and hypercoagulability biomarkers, such as IL-6 and D-Dimer, could have a prognostic value in COVID-19 patients, with its high levels predicting worse outcomes.

Keywords: COVID-19, biomarkers, mortality

P10. EVALUAREA PROCALCITONINEI ȘI A PROTEINEI C-REACTIVE LA PACIENTII CU SARS COV-2

Camelia Vidița Gurban^{1,2}, Liliana Elena Lăculiceanu², Marilena Motoc^{1,2}, Ioana Suceava³, Ovidiu Alexandru Mederle⁴, Tudor Rareș Olariu^{2,5}

¹*Disciplina de Biochimie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara;*

²*Laboratorul de analize medicale, Spitalul Clinic Municipal de Urgență Timișoara;*

³*Disciplina de Semiologie medicală, Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara;*

⁴*Disciplina de Urgențe, Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara;*

⁵*Disciplina de Parazitologie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara.*

Introducere: Infecția cu virusul SARS CoV-2 poate determina o afecțiune pulmonară cu evoluție severă. În acest studiu au fost evaluate nivelele plasmatiche ale procalcitoninei (PCT) și proteinei C-reactivă (CRP) la pacienții suspecți de COVID-19 care s-au prezentat la Unitatea Primire Urgență a Spitalului Clinic Municipal de Urgență Timișoara, în perioada 01.05-30.09.2021.

Metode: În acest studiu au fost incluși 118 pacienți cu simptome clinice respiratorii (tuse, dispnee), subfebrilități, astenie. Pacienții au fost investigați clinic și radiologic (CT-torace), fiind efectuate inclusiv analize de laborator. Prezența SARS CoV-2 a fost determinată folosind testul PCR-Multiplex Panel Respirator, utilizând analizorul BioFire-RP. Nivelele plasmatiche ale PCT au fost determinate prin tehnica enzyme-linked fluorescent immunoassay (ELFA), utilizând analizorul MINI-VIDAS, iar cele ale CRP prin tehnica imunoturbidometrică, utilizând analizorul COBAS-C-501.

Rezultate: Au fost diagnosticați 59 pacienți (lotul de studiu: 22 femei și 37 bărbați, cu vârstă medie 59 ± 18 ani) cu infecție SARS CoV-2 confirmată prin testul PCR. Lotul martor format din 59 pacienți (30 femei și 29 bărbați, cu vârstă medie 60.5 ± 17.6 ani) a avut nivel nedetectabil la testul PCR. La pacienții infectați SARS CoV-2 s-a observat o creștere semnificativă a nivelelor plasmatiche ale PCT (2.51 ± 1.6 ng/ml; $p < 0.05$) comparativ cu lotul martor (1.68 ± 0.12 ng/ml) și ale CRP (115.8 ± 59.7 mg/L; $p < 0.01$) vs. lotul martor (64.5 ± 28.2 mg/L). La pacienții infectați SARS CoV-2 a existat o corelație pozitivă semnificativă între nivelele plasmatiche crescute ale PCT și CRP ($r = 0.624$).

Concluzie: La pacienții infectați cu SARS CoV-2 creșterea nivelelor plasmatiche ale PCT și CRP indică existența unui proces inflamator pulmonar intens.

EVALUATION OF PROCALCITONIN AND PROTEIN C-REACTIVE IN PATIENTS WITH SARS COV-2

Introduction: SARS CoV-2 virus infection can cause severe lung disease. In this study we evaluated the plasma levels of procalcitonin (PCT) and C-Reactive Protein (CRP) in patients suspected with COVID-19 and presented to the Emergency Department, Municipal Clinical Emergency Hospital Timisoara, between 01.05-30.09.2021.

Methods: This study included 118 patients with clinical respiratory symptoms (cough, dyspnea), low-grade fever, asthenia. The patients were investigated clinically and radiologically (CT-chest), including laboratory tests. The presence of SARS CoV-2 was determined with the PCR-Multiplex Panel Respirator test, using the BioFire-RP analyzer. The plasma levels of PCT were determined by the enzyme-linked fluorescent immunoassay (ELFA) technique, using the MINI-VIDAS analyzer, and those of CRP, by the immunoturbidimetric technique, using the COBAS-C-501 analyzer.

Results: Fifty-nine patients were diagnosed with SARS CoV-2 infection (study group: 22 women and 37 men, mean age 59 ± 18 years), confirmed by PCR test. The control group consisting of 59 patients (30 women and 29 men, with a mean age of 60.5 ± 17.6 years) had undetectable level on the PCR test. We noticed a significant increase of PCT and CRP plasma levels (2.51 ± 1.6 ng/ml and 115.8 ± 59.7 mg/L) in patients infected with SARS CoV-2, compared to the control group (1.68 ± 0.12 ng/ml and 64.5 ± 28.2 mg/L), ($p < 0.05$ and $p < 0.01$, respectively). In SARS CoV-2 infected patients, there was a significant positive correlation between the increased plasma levels of PCT and CRP ($r = 0.624$).

Conclusion: In patients infected with SARS CoV-2, the increase of PCT and CRP plasma levels indicate an intense pulmonary inflammatory process.

P11. VARIANTE SARS-COV 2 ÎN REGIUNEA CENTRALĂ A ROMÂNIEI

Ionela-Maria Cotoi¹, Monica Vuță¹, Oana Oprea^{1,2}, Krisztina Vas¹, Valeriu George Moldovan¹, Minodora Dobreanu^{1,2}

¹ Spitalul Clinic Județean de Urgență Târgu Mureș, România

² Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie „George Emil Palade” din Târgu Mureș,
Departamentul de Medicină de Laborator

Introducere / Obiectiv: Mutățiile proteinei Spike a virusului SARS-CoV2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2) au crescut contagiozitatea virală și au modificat simptomatologia și evoluția clinică a bolii COVID-19 (Coronavirus disease). Obiectivul prezentului studiu a fost observarea tendinței mutațiilor virusului pe plan regional în comparație cu cel național, respectiv analiza capacitații de screening de variantă a laboratorului nostru.

Metode / Metodologie: În studiu au fost analizate 1576 rezultate unice de variantă SARS-CoV2 și 364 rezultate de secvențiere genomică obținute în perioada Mai 2021-Aprilie 2022, fiind realizată analiza descriptivă a datelor. Detectia mutațiilor și secvențierea genomică s-au realizat la Spitalul Clinic

Județean de Urgență Târgu-Mureș, respectiv Institutul Național de Boli Infectioase „Prof. Dr. Matei Balș” București.

Rezultate: Începând cu luna iulie 2021, se observă o scădere a incidentei tulpinii B.1.1.7 (Alfa) și o creștere a B.1.617.2 (Delta). Tulpina B.1.1.529 (Omicron, BA.1, BA.2) a avut o tendință crescătoare începând cu decembrie 2021. În cadrul pacienților confirmați prin secvențiere cu Delta, cea mai frecvent întâlnită mutație la testarea de variantă a fost L452R (55.7%). Pentru Omicron, mutațiile N501Y+E484A+HV69/70del (32%) și N501Y+HV69/70del (19%) au fost cele mai frecvente. Rezultatele noastre corespund tendinței naționale conform datelor publice și rezultatele screening-ului de variantă au fost confirmate în totalitate prin secvențiere.

Concluzii / Discuții: Identificarea rapidă a mutațiilor permite orientarea diagnosticului care, completată cu secvențierea SARS-CoV2, devine relevantă pentru monitorizarea evoluției variantelor mutante ale virusului. Acestea permit dezvoltarea de măsuri pentru combaterea răspândirii infecției.

Cuvinte cheie: variante SARS-CoV2, secvențiere genomică.

SARS-COV2 VARIANTS IN CENTRAL ROMANIA

Introduction/Objectives: Mutations in SARS-CoV2 (Severe Acute Respiratory Syndrome Coronavirus 2) Spike protein increased viral transmission while changing the symptoms and clinical aspects of COVID-19 (Coronavirus disease). The aim of this study was to compare the regional virus mutation trend to the national one and evaluate the variant screening capacity of our laboratory.

Materials/Methods: In the study, 1576 SARS-CoV2 unique variants and 364 genomic sequencing results from May 2021 until April 2022 were analysed and a descriptive analysis of the data was performed. Mutation detection and genomic sequencing were performed at the County Emergency Clinical Hospital of Târgu Mureș and National Institute of Infectious Diseases “Prof. Dr. Matei Balș” Bucharest, respectively.

Results: Starting with July 2021, a decrease in the incidence of B.1.1.7 strain (Alpha) and an increase in B.1.617.2 (Delta) was observed. B.1.1.529 strain (Omicron, BA.1, BA.2) has been on an upward trend since December 2021. In patients confirmed by sequencing with Delta, the most common mutation in variant testing was L452R (55.7%). For Omicron, the most common mutations were N501Y+E484A+H-V69/70del (32%) and N501Y+HV69/70del (19%). According to the available public data, our results follow the national trend and variants identified by screening method were entirely validated by sequencing.

Discussions/Conclusions: Rapid identification of mutations allows the orientation of the diagnosis and in addition with SARS-CoV2 sequencing, becomes relevant for monitoring the evolution of mutated variants of the virus. These investigations will guide the implementation of infection control measures.

Keywords: SARS-CoV2 variants, genomic sequencing.

C20. AUTOPSIA ȘI MIARN-UL- NOUTĂȚI ȘI CORELAȚII ÎN INFECȚIA CU SARS-COV-2

Raluca Dumache^{1,2}, Alexandra Enache^{1,2}, Alexandra Mihăilescu^{1,2}, Lavinia Elena Stelea^{1,4}, Cristian Vlad¹, Cristiana Daliborca Vlad^{1,3}

¹ Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara, România

² Institutul de Medicină Legală Timișoara, România

³ Laboratorul Central de Analize Medicale-Spitalul Clinic Județean de Urgență "Pius Brânzeu" Timișoara, România

⁴ Clinica III Obstetrică-Ginecologie- Spitalul Clinic Județean de Urgență "Pius Brânzeu" Timișoara, România

Introducere: Boala cu sindrom respirator acut sever coronavirus 2 (SARS-CoV-2) care a apărut în decembrie 2019 din Wuhan, China. Până la 01.02.2022, datorită SARS-CoV-2 la nivel mondial un număr de 380.154.822 cazuri au fost confirmate și există un număr de 5.695.434 decese în întreaga lume. MicroARN-urile ar putea fi folosite ca biomarkeri moleculari în infecția cu SARS-CoV-2, dar în prezent nu au fost efectuate multe studii pentru a explora acest lucru în cazurile probelor biologice post-mortem.

Obiectiv: Scopul studiului nostru este de a evalua expresia post-mortem a microARN-6501-5p, microARN-5695 și microARN-29b-3p din secrețiile bronșice în cazul deceselor SARS-CoV-2, pentru a evalua utilitatea acestora ca biomarkeri predictivi în evoluția infecției cu SARS-CoV-2.

Metode: În 61 cazuri de decese „suspecte” autopsiate în cadrul Institutului de Medicină Legală din Timișoara, România, au fost recolțate secretei bronșice pentru depistarea post-mortem a infecției SARS-CoV-2. După analiza moleculară prin reacția de polimerizare în lanț (RT-PCR), 44 de cazuri au fost diagnosticate ca fiind infectate cu SARS-CoV-2, în timp ce restul de 17 cazuri, au fost considerate cazuri control.

Rezultate: Din panelul de microARN-uri, microRNA-6501-5p, microRNA-5695 și microRNA-29b-3p au fost supra-exprimate în cazurile SARS-CoV-2.

Concluzii: Concluzionăm că utilizarea unui panel de microARN ca biomarkeri în infecția cu SARS-CoV-2 ar putea ajuta la o evaluare timpurie a evoluției pacienților infectați cu SARS-CoV-2.

Cuvinte cheie: biomarker SARS-CoV-2; microARN; revers-transcripția reacția de polimerizare în lanț (RT-PCR).

Referințe:

1. Zhou F, Yu T, Du R et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with Covid-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. Lancet 2020;395(10229):1054-1062.
2. Dumache R, Dăescu E, Ciocan V, et al. Molecular Testing of SARS-CoV-2 Infection from Blood Samples in Disseminated Intravascular Coagulation (DIC) and Elevated D-Dimer Levels. Clin Lab 2021; 67(1): 187-192.
3. C Edler, Schroder A.S, Aepfelbacher M, et al. Dying with SARS-CoV-2 infection – an autopsy study of the first consecutive 80 cases in Hamburg, Germany. Int J Legal Med 2020; 4:1–10.

AUTOPSY AND MIRNAS-FINDINGS AND CORRELATIONS IN SARS-COV-2 INFECTION

Introduction: The severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2) disease that emerged in December 2019 from Wuhan, China, has led to a worldwide outbreak that has resulted in 234,809,103 confirmed cases and caused more than 4,800,375 deaths worldwide. MicroRNAs could be involved in the SARS-CoV-2 infection, but not many studies have been performed to explore this in postmortem cases.

Aim: The purpose of our study is to evaluate the postmortem expression of microRNA-6501-5p, microRNA-5695, and microRNA-29b-3p from bronchial secretions in positive and negative SARS-CoV-2 deaths, to evaluate their usefulness as predictive biomarkers in the evolution of SARS-CoV-2 infection.

Methods: During the autopsy procedure in 61 “suspected” deaths at the Institute of Forensic Medicine in Timisoara, Romania, bronchial secretions were collected to detect SARS-CoV-2 infection post-mortem. After the RT-PCR analysis, 44 SARS-CoV-2 cases were detected positive, while 17 cases were SARS-CoV-2 negative, which were considered as controls.

Results: From the panel of microRNAs, microRNA-6501-5p, microRNA-5695, and microRNA-29b-3p were up-regulated in SARS-CoV-2 cases and down-regulated in non-SARS-CoV-2 cases.

Conclusions: We concluded that using a panel of microRNAs as biomarkers in SARS-CoV-2 infection could aid in an early evaluation of the evolution of SARS-CoV-2-infected patients.

Keywords: biomarker; SARS-CoV-2; reverse transcription polymerase chain reaction (RT-PCR); microRNA.

C21. FRECVENȚA ALELELOR HLA LA PACIENTI CU FORME GRAVE DE COVID-19

Mihaela Laura Vică^{1,2}, Minodora Dobrea^{3,4,5}, Mihaela Elvira Vușcan^{1,2}, Ștefana Bâlici¹, Gheorghe Zsolt Nicula¹, Horea Vladi Matei^{1,2}

¹Disciplina de Biologie celulară și Moleculară, Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu Hatieganu”, Cluj-Napoca, ²Institutul de Medicină Legală, Cluj-Napoca, ³Spitalul Clinic Județean de Urgență, Târgu Mureș, ⁴Departamentul de Medicină de Laborator, Universitatea de Medicină, Farmacie, Știință și Tehnologie „George Emil Palade”, Târgu Mureș

⁵Centrul de Cercetare Medicală și Farmaceutică Avansată, Universitatea de Medicină, Farmacie, Știință și Tehnologie „George Emil Palade”, Târgu Mureș

Introducere: Infecția cu SARS-CoV-2 poate fi foarte diferită ca prezentare clinică și evoluție a bolii. Scopul acestui studiu a fost de a investiga o corelație între polimorfismul genelor HLA și severitatea bolii la pacienți cu COVID-19.

Material și metodă: Au fost introduse în studiu 64 de pacienți cu forme grave de COVID-19. Toate persoanele au fost confirmate prin tehnica RT-PCR cu infecția cu SARS-CoV-2. Dintre aceștia, 28 persoane au fost confirmate cu SARS-CoV-2 la Institutul de Medicină Legală Cluj-Napoca după deces,

iar 36 au fost pacienți internați la secțiile de terapie intensivă din Târgu Mureș, dintre care 16 au decedat. Tiparea HLA pentru genele HLA-A, B, C, DRB1 și DQB1 s-a făcut cu sistemul de detecție moleculară FluoGene (INNO-TRAIN Diagnostik GmbH, Germania), care se bazează pe tehnica de amplificare PCR și detecție prin fluorescență, după extracția ADN-ului din sânge. Pentru comparație s-a folosit un lot de 2794 de persoane, considerat reprezentativ pentru populația din Transilvania.

Rezultate: Dintre alele analizate, A*69 ($p<0,005$), B*52 ($p=0,029$) și C*07 ($p=0,0231$) au fost mult mai frecvente în grupul pacienților comparativ cu grupul martor, indicând o predispoziție pentru a dezvolta o formă gravă de boală, pe când alela DRB1*04 ($p=0,0240$) a avut o frecvență mai mare în grupul martor, ceea ce o indică ca fiind un factor protectiv pentru infecția severă cu SARS-CoV-2.

Concluzii: Deși sunt rezultate preliminare, acestea sugerează că antigenele HLA pot influența infecția cu SARS-CoV-2 și evoluția clinică a bolii și pot da informații despre prognosticul bolii și strategiile de vaccinare.

Cuvinte cheie: SARS-CoV-2, HLA, COVID-19

Mulțumiri: Studiu finanțat de „Agence Universitaire de la Francophonie” (AUF) în cadrul apelului „Appel à projets international AUF COVID-19.2”, cod proiect DRECO-6775.

HLA ALLELES FREQUENCY OBSERVED IN SEVERE COVID-19 PATIENTS

Introduction: SARS-CoV-2 infection can significantly vary in its clinical presentation and disease progression. The aim of this study was to investigate a correlation between HLA gene polymorphisms and disease severity in patients with COVID-19.

Material and method: The study group consisted in 64 patients with severe COVID-19 symptoms. All individuals were positively confirmed with SARS-CoV-2 infection by RT-PCR: 28 post-mortem cases at the Institute of Forensic Medicine Cluj-Napoca, and 36 patients hospitalized in intensive care units in Târgu Mureș, of which 16 died after being diagnosed with COVID-19. HLA typing for the HLA-A, B, C, DRB1 and DQB1 genes was conducted with the FluoGene molecular detection system (INNO-TRAIN Diagnostik GmbH, Germany), based on the PCR amplification technique and fluorescence detection of the DNA extracted from blood samples. A group of 2794 individuals (representative for the Transylvanian population) served as controls.

Results: The A*69 ($p <0.005$), B*52 ($p = 0.029$) and C*07 (0.0231) alleles were much more common in the case group compared to the control group, indicating a predisposition for developing a severe form of the disease, while the frequency of the DRB1*04 allele (0.0240) was higher in the control group, suggesting it has a protective role against severe SARS-CoV-2 infection.

Conclusions: Although only preliminary results, our findings suggest that HLA antigens may influence SARS-CoV-2 infection and the clinical course of the disease, providing useful information on disease prognosis and vaccination strategies.

Keywords: SARS-CoV-2, HLA, COVID-19

Acknowledgements: Funding from the “Agence Universitaire de la Francophonie” (AUF) in the call “Appel à projets international AUF COVID-19.2”, project code DRECO-6775.

P12. COEXISTENȚA ANTIGENULUI HBS ȘI A ANTICORPILOL ANTI-HBS LA PACIENTI INFECTAȚI CU VIRUSUL HEPATITIC B

Luminița Matroș^{1,2}, Stanca-Lucia Pandrea^{1,2}, Monica Ioana Ciontea¹, Manuela Tompa¹, Lia Sorina Pepelea², Stanca-Maria Pandrea³, Ronald Tompa³, Andreea Monica Benea¹

¹ Institutul Regional de Gastroenterologie și Hepatologie (I.R.G.H.), Cluj-Napoca

² Disciplina de Microbiologie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu", Cluj-Napoca

³ Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu", Cluj-Napoca

Introducere: Antigenul de suprafață al virusului hepatic B și anticorpii anti-HBs au fost rar raportati împreună. Antigenul HBs este markerul infectiei virale B, iar anticorpii anti-HBs arată recuperarea și imunizarea organismului. Cei doi coexistă în timpul seroconversiei, dar sunt rar detectați împreună. Datorită promovării vaccinurilor, a noilor terapii antivirale și a creșterii sensibilității testării, se observă creșterea coexistenței celor doi markeri. Analizăm experiența noastră pe acest subiect.

Material și metode: Am urmărit retrospectiv (15 luni), coexistența viremiei detectabile pentru ADN-ul virusului B (cu antigen HBs prezent) și a anticorpilor HBs. Din 1228 determinări de biologie moleculară pentru viremia B, 25 pacienți cu viremie detectabilă (>10 copii/ml) aveau anticorpi anti-HBs (>10 UI/ml). Încarcatura virală a fost cuantificată pe aparatele Cobas 4800/6800 iar dozarea anticorpilor anti-HBs s-a realizat pe Cobas e801.

Rezultate: Au fost efectuate 1228 viremii B, iar dintre cele detectabile, 25 au avut titru de anticorpi anti-HBs >10 UI/ml, titru „protector” în populația generală. 64% sunt femei; vârsta medie-55,16 ani; perioada trecută de la depistarea bolii-4,55 ani; 92% au hepatită cronică corespunzătoare stadiului F0-Metavir, 8% fiind în stadiul de ciroză avansată. 6 pacienți (24%) terminaseră sau erau în timpul tratamentului antiviral.

Concluzii: Deși rare (2,03% în cohorte noastă), cazurile de persistență a virusului hepatitei B (AgHBs prezent, viremie detectabilă) și a anticorpilor anti-HBs există și pot fi considerate martori ai seroconversiei în sistemul „s” sau pot ridica suspiciunea apariției mutanților virali, cu persistență virusului. Este necesară monitorizarea acestor pacienți, pentru depistarea vindecării sau a eșecului la tratament.

Cuvinte cheie: Încarcatura virală B, anticorpi anti-HBs.

COEXISTENCE OF HBS ANTIGEN AND ANTI-HBS ANTIBODIES IN HEPATITS B VIRAL INFECTIONS

Introduction: The hepatitis B surface antigen and anti-HBs antibodies were rarely reported together. HBs antigen is the hallmark of B virus infection, and anti-HBs antibodies mark the recovery and immunization. These markers coexist during seroconversion, but are seldom seen together. Due to vaccine campaigns, new therapies, raised technical sensitivity for marker-detection, we observe a raised number of patients having the two markers.

Materials and methods: We followed (retrospective study-15 months) the coexistence of HBV positive viral load (HBs Antigen positive for all) and HBs antibodies. From 1228 B molecular biology

determinations, 25 patients with detectable B viral load (>10 copies/ml) had anti-HBs >10 IU/ml. We used our Cobas 4800/ 6800 tools for viral load quantifications, and the e801 Cobas-immunology unit for anti-HBs titres.

Results: We counted 1228 molecular biology tests; among the detectable B viral loads, 25 patients had anti-HBs >10 IU/ml, (protective titer in the general population). 64% were females, median age-55.16 years; time since diagnosis-4,55 years; 92% had chronic B hepatitis M0-Metavir stage, 8% had cirrhosis. 6 patients (24%) had finished or were following anti-viral therapy.

Conclusions: Although rare (2,03% in our cohort), the coexistence of HBsAg (with detectable viral load) and anti-HBs antibodies are facts and could be considered witnesses of the seroconversion in the „s” system or could raise the suspicion of viral mutations, with the persistence of the virus. It is necessary to monitor those patients, to certify their healing or the treatment fail.

Keywords: B viral load, anti-HBs antibodies.

P13. CORELAȚIA MARKERILOR SEROLOGICI SI AI VIREMIEI ÎN RÂNDUL PACIENTILOR INFECTAȚI CU VIRUSURILE HEPATITICE B/D ȘI C

Mariana Pavel-Tanasă^{1,2}, Daniela Constantinescu^{1,2}, Ecaterina Anisie², Camelia Mihaila², Corina Cianga^{1,2}, Camelia Cojocariu^{3,4}, Gabriela Stefanescu^{3,4}, Anca Trifan^{3,4}, Petru Cianga^{1,2}

¹Departamentul de Imunologie, Universitatea de Medicină și Farmacie Grigore T. Popa Iași

²Laboratorul de Imunologie, Spitalul Clinic Județean de Urgențe Sf. Spiridon Iași

³Departamentul de Gastroenterologie, Universitatea de Medicină și Farmacie Grigore T. Popa Iași

⁴Institutul de Gastroenterologie și Hepatologie, Spitalul Clinic Județean de Urgențe Sf. Spiridon Iași

Introducere / Obiectiv: Programul de screening Livero 2 își propune să depisteze prin teste rapide de screening pacienții infectați cu virusurile hepatitice B/D și C, pentru ca ulterior diagnosticul să fie confirmat prin teste serologice specifice și teste de biologie moleculară destinate măsurării viremilor.

Metode / Metodologie: În perioada 01.09.2021-01.03.2022, 651 de pacienți pozitivi la testul rapid de screening pentru hepatită virală B (AgHBs+, 409 pacienți) sau C (Ac-anti-VHC+, 247 pacienți) au fost incluși pentru testarea serologică specifică și de biologie moleculară. Următorii markeri serologici de infecție virală B au fost analizați prin metoda de chemiluminiscență folosind platforma ARCHITECT: AgHBe, AgHBs cantitativ, Ac-anti-HBe, Ac-anti-HBs și Ac-anti-HBc. Pentru detecția cantitativă a viremilor, ADN-ul VHB și ARN-ul VHC au fost extrase dintr-un ml de plasmă folosind kiturile IVD BioMagPure, iar amplificarea cantitativă prin PCR, respectiv RT-PCR s-a realizat folosind kiturile Sacace.

Rezultate: Din cei 651 de pacienți identificați la testul de screening, 5 au fost testați pozitivi pentru co-infecție B/C, dintre care doar 2 au fost confirmați prin viremie detectabilă. Dintre pacienții identificați la testul screening cu infecție VHB (raport femei/bărbați=1.54), 94% au fost confirmați prin viremie (valoare medie: 3.35logUI/mL), AgHBs cantitativ (valoare medie: 8837UI/mL) și Ag HBe (valoare medie: 12.52UI/mL). Dintre pacienții identificați la testul rapid de screening cu infecție VHC (raport

femei/bărbați=2.38), doar 57% din cazuri au fost confirmate prin viremie (valoare medie: 5.67log UI/mL). Vârsta medie a pacienților a fost: 50 de ani (infecție VHB) și 62 de ani (infecție VHC).

Concluzii / Discuții: Pentru infecția VHB, viremia a corelat moderat (0.38) cu markerii serologici AgHBs, AgHBe.

Cuvinte cheie: viremie, marker serologici, infecție virală

CORRELATION BETWEEN SEROLOGICAL MARKERS AND VIRAL LOAD IN PATIENTS INFECTED WITH HEPATITIS B / D AND C VIRUSES

Introduction / Objective: The Livero 2 screening program aims to detect patients infected with hepatitis B / D and C viruses through rapid screening tests, for which the diagnosis can be further confirmed by specific serological test and appropriate molecular biology tests for measuring the viral load.

Methods / Methodology: Between 01.09.2021-01.03.2022, 651 patients positive at the initial screening test for viral hepatitis B (HBsAg+, 409 patients) or C (antiHCV-Ab+, 247 patients) were included for specific serological and molecular biology testing. The following serological markers of HBV infection were analyzed by chemiluminescence using the ARCHITECT platform: HBeAg, quantitative HBsAg, antiHBe-Ab, antiHBs-Ab and antiHBCAb. For the quantitative detection of viremia, HBV-DNA and HCV-RNA were extracted from one ml of plasma using IVD BioMagPure kits, and quantitative amplification by PCR and RT-PCR, respectively, was performed using the Sacace kits.

Results: Among the 651 patients identified on the screening test, 5 tested positive for B / C co-infection, of which only 2 were confirmed by detectable viral load. Of the patients identified at the serological screening tests with HBV infection (female/male ratio=1.54), only 94% were confirmed by detectable viremia (mean value: 3.35logIU/mL), quantitative HBsAg (mean value: 8837IU/mL) and HBeAg levels (average: 12.52IU/mL). Of the patients identified at the rapid screening test with HCV infection (female/male ratio=2.38), only 57% of cases were confirmed by viremia (mean value: 5.67logIU/mL). The mean age of the patients was 50 years (HBV infection) and 62 years (HCV infection).

Conclusions / Discussions: For the HBV infection, the viremia moderately correlated (0.38) with the serological markers HBsAg or HBeAg.

Keywords: viremie, serological markers, viral infection

C23. MICROBIOMUL UMAN, AXA INTESTIN-PLAMAN ȘI DIALOGUL MICROBIOTA - VIRUS SARS-COV2

Irina Codă^{1,2}

¹ Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare Medico-Militară „Cantacuzino”, București, Romania

² Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila”, București, Romania

În ultimii 15 ani, dezvoltarea explozivă a tehnicielor de metagenomică și prelucrare informatică a volumelor mari de date a demonstrat rolul cheie al microbiomului uman în funcționarea sistemelor

imunitar și neuroendocrin. Ne-am propus să accesăm informația științifică privind relația dintre microbiom și răspunsul inflamator în infecția cu SARS-CoV-2.

Material și metodă: Am cercetat principalele baze de date științifice academice de specialitate (Scopus, Web of science, PubMed, Science Direct, DOAJ) folosind următoarele cuvinte cheie: human microbiome inflammation, gut-lung axis, human microbiome SARS-CoV-2

Rezultate: Am obținut peste 70 de articole, dintre care 5 revizuiri sistematice, care aduc argumente în sprijinul următoarelor idei: între microbiomul intestinal și cel respirator se stabilesc relații reciproce care pot influența declanșarea și intensitatea răspunsului inflamator, a stress-ului oxidativ și furtunii de citokine; dialogul microbiotă - SARS-CoV-2 este un factor esențial în patogeneza și evoluția COVID-19; o serie de factori reglatori ai homeostaziei microbiomului intestinal ar putea fi utilizati pentru modularea intensității simptomelor și reducerea timpului de recuperare după COVID-19.

Concluzii: Informațiile recente cu privire la rolul microbiomului uman și dialogul acestuia cu virusul SARS-CoV-2 deschid noi perspective în cercetarea aplicativă și terapia COVID-19.

Cuvinte cheie: microbiomul uman, axa intestin-plămân, SARS-CoV-2

HUMAN MICROBIOME, THE GUT-LUNG AXIS AND THE MICROBIOTA - SARS-COV2 CROSS-TALK

In the last 15 years, the explosive development of metagenomics techniques and computer processing of big data have demonstrated the key role of the human microbiome in the functioning of the immune and neuroendocrine systems. We set out to access the scientific information on the relationship between the microbiome and the inflammatory response in SARS-CoV-2 infection.

Material and method: We searched the main specialized scientific academic databases (Scopus, Web of science, PubMed, Science Direct, DOAJ) using the following **Keywords:** human microbiome inflammation, gut-lung axis, human microbiome SARS-CoV-2

Results: We have obtained over 70 articles, including 5 systematic reviews, which provide arguments in support of the following ideas: mutual relations are established between the gut and respiratory microbiome that can influence the onset and intensity of the inflammatory response, the oxidative stress and cytokines storm; microbiota - SARS-CoV-2 cross-talk is a key factor in the pathogenesis and evolution of COVID-19; a number of regulators of homeostasis of the intestinal microbiome could be used to modulate the intensity of symptoms and reduce the recovery time after COVID-19.

Conclusions: Recent information on the role of the human microbiome and its cross-talk with the SARS-CoV-2 virus opens new perspectives in applied research and COVID-19 therapy.

Keywords: human microbiome, gut-lung axis, SARS-CoV-2

C24. INFECȚIILE BACTERIENE ȘI PROFILUL DE REZISTENȚĂ LA ANTIBIOTICE LA PACIENȚII COVID

Monica Licker^{1,2}, Corina Mușuroi^{1,2}, Delia Muntean^{1,2}, Luminița Bădițoiu^{1,3}

¹ Centrul multidisciplinar de cercetare a rezistenței la antibiotice (MULTI-REZ), Universitatea de Medicină și Farmacie Victor Babeș Timișoara

² Laborator Clinic, Spital Clinic Județean de Urgență Pius Brânczeu Timișoara

³ Disciplina Epidemiologie, Universitatea de Medicină și Farmacie Victor Babeș Timișoara

Introducere: La nivelul Uniunii Europene, în perioada 2011 – 2020, s-a constatat o scădere cu 23% a consumului total de antibiotice (AB) utilizate în medicina umană, iar în timpul pandemiei COVID-19 (2019 - 2020), consumul total mediu de AB a scăzut cu aproape 18%. Cu toate acestea, utilizarea AB cu spectru larg a crescut și nu a fost observat același trend descrescător al profilului de rezistență al bacteriilor.

Material și metodă: Pornind de la aceste premise, s-a efectuat un studiu observațional retrospectiv al pacienților adulți COVID-19 internați în secțiile Spitalului Clinic Județean de Urgență Timișoara (SCJUT), în perioada ianuarie 2020 – decembrie 2021, cu supra sau co-infecții microbiene. Diagnosticul COVID-19 s-a efectuat prin teste de biologie moleculară, iar identificarea și antibiogramele pe analizor VITEK® 2. Datele clinice și demografice au fost extrase din dosarele medicale electronice ale pacienților.

Rezultate: Numărul total al pacienților COVID -19 internați în SCJUT a fost de 1203, iar 17,12% (n=206) dintre aceștia au dezvoltat infecții bacteriene și fungice. S-a constatat că bacilii gram negativi (BGN), mai ales cei non-fermentativi au predominat în supra-infecțiile versus co-infecțiile respiratorii. Prin compararea bivariată s-a constatat că toate categoriile de BGN multi-drog rezistenți (MDR) au predominat în supra-infecțiile versus co-infecțiile atât respiratorii cât și non-respiratorii.

Concluzii: Utilizarea AB cu spectru larg în perioada pandemiei COVID nu a avut beneficii clinice certe, dar a favorizat supra-infecțiile microbiene, precum și instalarea rezistenței la AB. În managementul pacienților COVID-19 sunt necesare activități de prevenire a acestor infecții, precum și utilizarea de ghiduri de AB-terapie rațională.

Cuvinte cheie: COVID-19, rezistență, antibiotic

BACTERIAL INFECTIONS AND ANTIBIOTIC RESISTANCE PROFILE IN COVID PATIENTS

Introduction: During 2011 – 2020, at the level of the European Union, there was a decrease of 23% in the total antibiotics (AB) consumption used in human medicine, and during the COVID-19 pandemic (2019 - 2020), the average total AB consumption dropped by almost 18%. However, the same decreasing trend in the resistance profile of bacteria has not been observed and the use of broad-spectrum AB has increased.

Material and method: Based on these premises, a retrospective observational study was performed in adult COVID-19 patients hospitalized in different wards in Timișoara County Emergency Clinical Hospital (SCJUT), between January 2020 - December 2021, with microbial super or co-infections. COVID-19 diagnosis was performed by molecular tests and the identification / antimicrobial sensitivity

tests were done on the VITEK® 2 analyzer. Clinical and demographic data were extracted from patients' electronic medical records.

Results: The total number of COVID-19 patients admitted to SCJUT was 1203 and 17.12% (n = 206) of them developed bacterial and fungal infections. Gram-negative bacilli (GNB), especially non-fermentative ones, were found to predominate in respiratory super versus co-infections. The bivariate comparison found that all categories of multi-drug resistant (MDR) GNB predominated in super versus co-infections, in both respiratory and non-respiratory pathologies.

Conclusions: The use of broad-spectrum AB during the COVID pandemic did not have definite clinical benefits, but it favored microbial super-infections as well as the increasing of antimicrobial resistance. In the management of COVID-19 patients, measures to prevent these infections are required, as well as the use of guidelines for rational AB-therapy.

Keywords: COVID-19, resistance, antibiotics

C25. GENETIC BASIS OF ANTIBIOTIC RESISTANCE IN CLINICAL ISOLATES OF ENTEROBACTERIALES

Didbaridze Tamar

*TSMU Microbiology Department, The First University Clinic of the Tbilisi State Medical University,
Tbilisi, Georgia*

Background: The prevalence of the beta-lactam resistant enterobacteriales, specifically the 3rd generation cephalosporins and carbapenems, is steadily increasing and spreading globally. Antibiotic resistance is supported by various molecular mechanisms, including intrinsic and acquired resistance genes. Here, we examined an antibiotic resistance phenotype and beta-lactam gene content of MDR clinical isolates of enterobacteriales, recovered from patients at intensive care units of multi-profile hospitals in the Country of Georgia.

Materials/methods: Bacterial isolates were collected between July 2017 and May 2019 from four clinical sites in Georgia. Bacterial identity and antimicrobial susceptibility were determined by the Vitek 2 automated system according to CLSI standards. Antimicrobial resistance gene content was examined by multiplex PCR (Streck Inc.), targeting plasmid-mediated AmpC and beta-lactamases, representing fifteen gene families.

Results: 168 specimens, consisting of Klebsiella pneumonia (n=72), Pseudomonas aeruginosa (n=35), Escherichia coli (n=51) and Serratia marcescens (n=10) were selected for this study. It was found that 100%, 97%, 94% and 78% of S. marcescens, P. aeruginosa, K. pneumonia and E.coli isolates, respectively, were multi-drug (MDR) resistant. CTX-M-15 or CTX-M-14 extended spectrum beta-lactamase genes were detected in 100% of MDR K. pneumonia and E.coli strains, followed by 78% and 13% found among MDR S. marcescens and P. aeruginosa . In addition to CTX-M-15 gene, subset of K. pneumonia co-harbor OXA-48 (n=15) or NDM (n=8) carbapenem resistance genes, whereas single E.coli isolates were found to also carry OXA-48 (n=1), NDM (n=1), VIM (n=2) and IMP (n=2) carbapenem resistance genes. In addition, only two strains of S. marcescens demonstrated the presence of OXA-48. VIM and IMP were found in 11 and 2 strains of P. aeruginosa, respectively. DHA and EBC were co-harbored to-

gether by one isolate of E.coli, and CMY-2 was found in single isolate. MOX ACC and FOX genes were not detected in any of presented isolates.

Conclusions: Multi-drug resistance has been observed in bacterial isolates recovered in the country of Georgia. Detection of highly transmissible plasmid associated resistance genes indicatesthe high potential for horizontal spread of resistance that in combination with already existing multi-drug resistance could lead to the emergence of a novel “superbug” in Georgia.

C26. ANTIMICROBIAL RESISTANCE AND LIMITED RESOURCES: CHALLENGES AND SOLUTIONS

Lul Raka^{1,2,3}

¹*National Institute of Public Health of Kosova, Prishtina, Kosova*

²*Faculty of Medicine, University of Prishtina “Hasan Prishtina”, Prishtina, Kosova*

³*Ministry of Health, National Program for AMR & HAI*

Antimicrobial resistance is one of the major challenges of public health worldwide with the burden higher in developing world. The objective of this paper was to present the main challenges and solutions of antimicrobial resistance in countries with limited resources as well as the best solutions.

Main challenges of antimicrobial resistance in developing countries are weak governance with limited financial and human resources, over-the-counter sales and lack of regulatory policies on antibiotic use and antimicrobial stewardship. Other political, technological and ecological problems have significant impact on antimicrobial resistance. Covid-19 was a significant accelerator of antimicrobial resistance worldwide.

Key responses in developing world would be implementation of national action plans based on “One Health” approach; empowering laboratory capacities; improving the surveillance of antimicrobial resistance and antimicrobial consumption in humans, animals and the environment; increasing awareness among population starting from the youngest age; prudent use of antimicrobials in clinical practice and the veterinary sector; infection prevention and control in health care settings and the community; increasing sanitation and immunization coverage and promotion of research and international cooperation.

Keywords: Antimicrobial resistance, national action plan, surveillance, One Health

C27. HETEROREZISTENȚA LA COLISTIN LA IZOLATE CLINICE DE ENTEROBACTERALES PRODUCĂTOARE DE CARBAPENEMAZE: MIT SAU REALITATE?

Annamária Földes^{1,2}, Edit Székely^{3,4}, Septimiu Toader Voidăzan⁵, Minodora Dobreanu^{6,7}

¹ Department Microbiologie, Laborator Analize Medicale, Spitalul Județean de Urgență "Dr. Constantin Opriș" Baia Mare, România;

² Scoala Doctorală de Medicină și Farmacie, Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie "George Emil Palade" Târgu Mureș, România;

³ Dept Microbiologie, Laborator Clinic Central, Spitalul Clinic Județean de Urgență, Târgu Mureș, România;

⁴ Dept Microbiologie, Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie "George Emil Palade" Târgu Mureș, România;

⁵ Department Epidemiologie, Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie "George Emil Palade" Târgu Mureș, România;

⁶ Dept Biochimie Clinică, Laborator Clinic Central, Spitalul Clinic Județean de Urgență, Târgu Mureș, România;

⁷ Department Medicină de Laborator, Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie "George Emil Palade" Târgu Mureș, România

Introducere / Obiectiv: Infecțiile severe induse de tulpi de Enterobacterales producătoare de carbapenemaze (CPE) au diseminat global. Colistinul a redobândit atenție ca terapie de salvare, dar testarea susceptibilității la acest antibiotic continuă să fie problematică. Studiul a comparat 5 metode fenotipice de testare a susceptibilității la colistin față de tehnica de referință a microdiluțiilor (BMD). Tehnica de analiză populațională (PAP) a fost ulterior aplicată pentru caracterizarea tuturor rezultatelor fals rezistente detectate.

Metode: Vitek 2 Compact (bioMérieux SA, Marcy l'Etoile, France), metoda eluției la colistin (CBDE), Micronaut MIC-Strip Colistin (Merlin Diagnostika GMBH, Bornheim-Hensel, Germany), ChromID Colistin R Agar (COLR) (bioMérieux SA, Marcy l'Etoile, France) și Rapid Polymyxin NP Test (ELITEchGroup, Signes, France) față de BMD au fost efectuate pe 92 tulpi CPE nonduplicat izolate din două spitale din România.

Rezultate: BMD a confirmat 56 (60.86%) tulpi rezistente la colistin. Rezultate fals susceptibile (n=8) au fost demonstrează strict la tulpi cu concentrații minime inhibitorii (CMI) între 1-2 mg/L pe Vitek 2 Compact. Micronaut MIC-Strip Colistin, CBDE și COLR medium au indicat concordanță categorică (CA) totală cu BMD. Concordanță esențială (EA) maximă 92.39% a fost obținută de Micronaut MIC-Strip. Raportat la BMD, rezultate fals rezistente (n=3) au fost înregistrate cu Rapid Polymyxin NP Test și două dintre acestea au fost confirmate cu heterorezistență la colistin prin metoda PAP.

Concluzii: Heterorezistența la colistin rămâne un fenomen subdiagnosticat prin metode convenționale, inclusiv BMD. De aceea, este o nevoie urgentă de definire a unor strategii de încredere și mai convenabile pentru diagnosticarea rezistenței la colistin.

Cuvinte cheie: Enterobacterales producătoare de carbapenemaze; tehnica de referință a microdiluțiilor; tehnica de analiză populațională.

COLISTIN HETERORESISTANCE IN CLINICAL ISOLATES OF CARBAPENEMASE-PRODUCING ENTEROBACTERALES: MYTH OR REALITY?

Introduction / Objective: Severe infections induced by carbapenemase-producing Enterobacteriales (CPE) isolates have disseminated globally. Colistin has recently regained attention as salvage therapy, but susceptibility testing to this drug has been problematic. This study aimed to compare five phenotypic methods of colistin susceptibility testing as opposed to the reference broth microdilution (BMD). The population analysis profiling (PAP) was further applied for characterization of all detected false resistance **Results.**

Methods: Vitek 2 Compact (bioMérieux SA, Marcy l'Etoile, France), the colistin broth disc elution (CBDE), the Micronaut MIC-Strip Colistin (Merlin Diagnostika GMBH, Bornheim-Hensel, Germany), ChromID Colistin R Agar (COLR) (bioMérieux SA, Marcy l'Etoile, France), and the Rapid Polymyxin NP Test (ELITechGroup, Signes, France)—versus the BMD were performed on 92 nonduplicate clinical CPE isolates collected from two Romanian hospitals.

Results: Fifty-six (60.86%) strains were confirmed resistant to colistin based on the BMD. False susceptible ($n=8$) results were noted strictly for isolates with minimum inhibitory concentrations (MICs) between 1 and 2 mg/L by Vitek 2 Compact. The Micronaut MIC-Strip Colistin, the CBDE, and the COLR medium displayed total category agreement (CA) with the BMD. The highest essential agreement (EA) was recorded for the Micronaut MIC-Strip (92.39%). According to the BMD, false resistance ($n=3$) results were observed with the Rapid Polymyxin NP Test and two of these were confirmed as colistin-heteroresistant by the PAP method.

Conclusions: Colistin heteroresistance remains an underdiagnosed phenomenon based on conventional methods, including the BMD. Thus, there is an urgent requisite to define reliable and more convenient diagnosis strategies for colistin resistance.

Keywords: carbapenemase-producing Enterobacteriales; reference broth microdilution; population analysis profiling;

C28. TENDINTE ACTUALE IN REZISTENTA *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* LA TUBERCULOSTATICE IN JUDETUL SUCEAVA, ROMANIA

Roxana Filip^{1,2}, Monica Balan¹, Roxana Gheorghita²

¹*Spitalul Județean de Urgență "Sf.Ioan cel Nou" Suceava*

²*Universitatea "Stefan cel Mare" Suceava, Facultatea de Medicina și Științe Biologice*

Introducere: Judetul Suceava este localizat in partea de nord- est a Romaniei. Incidenta infectiei TBC s- a mentinut la ultima perioada in jur de 50/ 100.000 locuitori. In perioada 2014-2015, studiul national al rezistentei la medicatia tuberculostatica a identificat o valoare a rezistentei multiple (MDR-TB) de 2, 5 % in cazurile nou- diagnosticate si de 10, 8% in cazurile aflate deja in tratament. Incidenta

rezistentei la Rifampicin (RR) a fost de 0,5% în cazurile noi și 1,4% în cele aflate în tratament, iar rezistența la Isoniazid (INHR) de 3,5%, respectiv 6,4%. Scopul acestui studiu a fost de a evalua tendința rezistentei la medicatia tuberculostatica (RR, INHR) în județul Suceava.

Material si metoda: Au fost incluse un număr de 1083 de tulpini de *Mycobacterium tuberculosis* (M. tuberculosis) izolate în perioada 2015- 2019 de la pacienți cu TBC pulmonar. Izolarea și identificarea au fost efectuate respectând standardele operaționale din România. Testarea sensibilității s-a efectuat prin metoda concentrației absolute. Am utilizat mediul Lowenstein Jensen care conține Rifampicin 40 micrograme/ml și Isoniazid 0,2 micrograme/ml. Fiecare pacient a fost introdus o singură dată în studiu, chiar dacă au fost testate mai multe tulpini de la același pacient. Au fost inclusi atât pacienții noi, cât și cei aflați deja sub tratament. Controlul de calitate al testării sensibilității la tuberculostatice s-a realizat cu tulpina M. tuberculosis ATCC 25177 și tehnici de control de calitate externă - participare la scheme intercomparare laboratoare.

Rezultate: Incidenta MDR- TB a prezentat o valoare de 3,656% în 2015, apoi a scăzut la valori sub 3% în anii 2016 și 2017, ajungând la valori sub 2% în 2018 și 2019 (1,403% în 2018, respectiv 1,795% în 2019). În ceea ce privește valoarea RR, aceasta era de 0 în 2015 și a crescut progresiv în anii următori, ajungând la 2,507% în 2019. Valoarea INHR a fost permanent peste 3% în intervalul 2015- 2018, cu un maxim de 4,209% în 2018, apoi a scăzut la 1,795 în 2019. Procentul de tulpini sensibile la medicatia anti-TBC uzuala a avut valori de 92- 93% în tot intervalul de timp menționat.

Concluzii: Nivelul MDR- TB este mai scăzut în județul Suceava comparativ cu media națională. Cazurile cu rezistență la Rifampicina sugerează prezența în regiune a unei tulpini particulare, care ar trebui studiată în vederea adaptării tratamentului standardizat al pacienților din această regiune a României.

Cuvinte cheie: Tuberculoza, rezistența la medicatia tuberculostatica (MDR- TB), rezistența la Rifampicina (RR), rezistența la Isoniazida (INHR)

TRENDS IN *MYCOBACTERIUM TUBERCULOSIS* RESISTANCE FROM SUCEAVA COUNTY, ROMANIA

Background. Suceava County is located in the North Eastern part of Romania. Tuberculosis notification cases was maintained around 50/100. 000 inhabitants in the last years. During 2014-2015 national drug resistance survey, tuberculosis multidrug resistance (MDR-TB) was 2.5% in new cases and 10.8% in already treated cases. Rifampicin resistance (RR) was 0.5% in new cases and 1.4% in already treated cases, and Isoniazid resistance (INHr) was 3.5% and 6.4%, respectively. The aim of this study was to evaluate the trend of MDR- TB values against Rifampicin and Isoniazid in Suceava County.

Material and methods: Our study series comprised 1083 *Mycobacterium tuberculosis* strains isolated during 2015-2019 from all pulmonary tuberculosis patients. Isolation and identification was done according to national standard operational proceedings. Sensitivity testing was performed by absolute concentration method. We used Lowenstein Jensen medium containing Rifampicin 40 micrograms/ml and Isoniazid 0.2 micrograms/ml, commercially available. A patient was considered only once in the assessment, even if in a year we tested more than one strain from the same patient. We included new and already treated patients. Quality control was performed by *Mycobacterium tuberculosis* ATCC 25177 and external quality control schemes.

Results: The level of MDR- TB was 3.656% in 2015, then decreased below 3% in 2016 and 2017, to further decrease below 2% in 2018 and 2019 (1. 403%, respectively 1. 795%). The RR level was 0 in 2015 and steadily increased over the next 3 years, to a maximum of 2. 507% in 2019. The level of INHR was over 3% between 2015- 2018, with a maximum of 4. 209% in 2018, then decreased to 1. 795% in 2019. Around 92- 93% of the *M. tuberculosis* strains displayed sensitivity to usual TB during the interval of study.

Conclusions: The level of MDR- TB in Suceava County is below the value in Romania. RR cases should be assessed to clarify if it is about a particular circulating clone in the area.

Keywords: Tuberculosis, MDR- TB, RMP resistance (RR), INH resistance (INHR)

C29. INFLUENȚA ANTIBIOTERAPIEI ASUPRA MICROBIOMULUI INTESTINAL

Irina Cezara Văcărean -Trandafir¹, Iuliu Cristian Ivanov¹, Roxana-Maria Pomohaci¹, Loredana Mihaela Dragoș^{1,2}, Mihaela Mențel¹, Daniela Jitaru³, Eugen Carasevici¹

¹ Centrul de Cercetare Transcend, Institutul Regional de Oncologie (IRO) Iași, România

² Universitatea "Alexandru Ioan Cuza", Iași, România ³ Institutul Regional de Oncologie (IRO) Iași, România

Introducere: Conținutul colonului uman este înalt colonizat de o populație bacteriană complexă care generează un microbiom cu o structură dificil de evaluat și cuantificat. Ca o barieră naturală a corpului uman, mucoasa colonului interacționează continuu cu această populație bacteriană și este influențată și influențează echilibrul dintre o gamă largă de specii bacteriene. Realzarea unei lize corecte a celulelor comunității heterogene bacteriene fără a le deteriora genomul este o provocare majoră. Pentru a explora comunitatea microbiană naturală prin abordări moleculare de înaltă rezoluție, inclusiv NGS (Next Generation Sequencing), este esențial să se dezvolte o metodă de extracție a ADN-ului sensibilă și reproductibilă, care să faciliteze izolarea ADN-ului microbial de cantitate și puritate adecvată de la toate speciile microbiene existente.

Metode: Acest studiu prezintă o analiză NGS a microbiomului la 178 de pacienți cu 356 de probe înainte și după terapia cu antibiotice. Scopul este de a evalua modul în care diferite protocoale de terapie cu antibiotice influențează microbiomul colonic, folosind probe pereche de la aceeași indivizi. După extracția de ADNg bacterian, probele au fost supuse amplificării PCR pentru regiunile variabile V3 și V4 ale genei ribozomale 16S procariote (ARNr 16S). Probele au fost ulterior secvențiate folosind tehnologia NGS și platforma MiSeq Illumina.

Rezultate și concluzii: Datele au fost analizate mai întâi de software-ul BaseSpace furnizat de Illumina și ulterior folosind softul Galaxy Mothur. Rezultatele au evidențiat o clasificare detaliată de la nivel taxonomic la nivel de specie a micro-organismelor. Cu această analiză, caracteristicile mecanismelor de interacțiune în microbiomul intestinal vor permite avansări în optimizarea terapiilor cu antibiotic.

Cuvinte cheie: microbiom, 16S, secvențiere Next-Generation, antibioterapie

ANTIBIOTIC THERAPY INFLUENCE ON GUT MICROBIOME

Introduction: The human colonic content is highly colonized by a complex bacterial population generating a microbiome with a structure that is challenging to evaluate and quantify. As a natural barrier of the human body, the colonic mucosa continuously interacts with this bacterial population, and is influenced and impacts the equilibrium between a broad range of bacterial species. Adequate lysis of heterogeneous community microbial cells without damaging their genomes is a major challenge. To explore the natural microbial community by high-resolution molecular approaches including NGS (Next Generation Sequencing), it is particularly essential to develop a sensitive and reproducible DNA extraction method that facilitates isolation of microbial DNA of adequate quantity and purity from all the existent microbial species.

Method: This study presents a microbiome NGS analysis on 178 patients with 356 samples before and after antibiotic therapy. The goal is to evaluate how different protocols of antibiotic therapy influence the colonic microbiome, using paired samples from same individuals. After bacterial gDNA extraction, the samples were subjected to PCR amplification for the V3 and V4 variable regions of the prokaryotic 16S ribosomal gene (16S rRNA). The samples were afterwards sequenced using the NGS technology and the MiSeq Illumina platform.

Results and conclusions: The data was analysed firstly by BaseSpace software provided by Illumina and afterwards using the Galaxy Mothur Toolset. The results revealed a detailed classification from taxonomic level to species level of micro-organisms. With this analysis, the features of the mechanisms of interactions in the gut microbiome will enable advancement in optimization of antibiotic therapies.

Keywords: microbiome, 16S, Next-Generation Sequencing, antibiotic therapy

P14. INFECTIA CU GIARDIA LAMBLIA ȘI ALERGIILE RESPIRATORII ȘI ALIMENTARE LA COPII

Camelia Grigore¹, Nicolae Grigore², Maria Totan²

¹Spitalul Clinic de Pediatrie Sibiu

²Universitatea "Lucian Blaga" din Sibiu, Facultatea de Medicină

Obiective: *Giardia lamblia* este un protozoar care cauzează boli intestinale, fiind cel mai frecvent protozoar identificat în materiile fecale. Relația dintre infecțiile parazitare și bolile alergice nu este în continuă. Prezentul studiu a urmărit posibila asociere între reacțiile alergice și infecțiile parazitare cu *Giardia Lamblia*, precum și incidența infecțiilor cu *Giardia Lamblia* în zona Sibiului, în rândul copiilor.

Metode. A fost realizat un studiu retrospectiv folosind un lot de 270 copii, internați în Spitalul Clinic de Pediatrie din Sibiu, în perioada ianuarie - decembrie 2019. S-a dozat IgE total și anticorpi IgE specifici din ser și examen microscopic al materiilor fecale pentru determinarea infecției cu *Giardia lamblia*.

Rezultate. Chisturile de *Giardia lamblia* au fost evidențiate în urma examenului microscopic a materiilor fecale la 3,3% din probe. Infecțiile cu *Giardia Lamblia* nu au fost asociate cu risc crescut de alergie respiratorie. Niveluri crescute de IgE total au fost evidențiate la 24,6% din pacienți și 12,8% din cazuri au prezentat titruri crescute de anticorpi IgE specifici modificati față de dermatofagoides farinae

și acarienii din praful de casă. 2 % din copii au prezentat niveluri crescute de anticorpi la alți alergeni (epiteliu de pisică, mesteacăn, polen de graminee arahide, albuș de ou, lapte de vacă, cartofi).

Concluzie: Simptomele de astm și alergie cutanată nu au fost asociate cu infecții cu Giardia lamblia la copiii selectați în studiu. Incidența cu acest parazit a scăzut în ultimii ani, dar aceeași perioadă s-a constatat o creștere a incidentei alergiilor la copii.

GIARDIA LAMBLIA INFECTION AND RESPIRATORY AND FOOD ALLERGIES IN CHILDREN

Introduction: Giardia lamblia is a protozoan that causes intestinal diseases, being the most common protozoan identified in faeces. The relationship between parasitic infections and allergic diseases is not continuous.

The present study looked at the possible association between allergic reactions and parasitic infections with Giardia Lamblia, as well as the incidence of Giardia Lamblia infections in the Sibiu area, among children.

Material and methods. A retrospective study was performed using a group of 270 children, admitted to the Pediatric Clinical Hospital in Sibiu, between January and December 2019. Total IgE and serum-specific IgE antibodies and microscopic examination of faeces to determine Giardia lamblia infection were measured.

Results. Giardia lamblia cysts were found on microscopic examination of faeces in 3.3% of samples.

Giardia Lamblia infections have not been associated with an increased risk of respiratory allergy. Elevated total IgE levels were seen in 24.6% of patients and 12.8% of cases had elevated titers of specific modified IgE antibodies to dermatofagoïdes farinae and house dust mites. 2% of children had high levels of antibodies to other allergens (cat epithelium, birch, peanut grass pollen, egg white, cow's milk, potatoes).

Conclusion: The symptoms of asthma and skin allergy were not associated with Giardia lamblia infections in the children selected in the study. The incidence of this parasite has decreased in recent years, but at the same time there has been an increase in the incidence of allergies in children.

P15. INFECȚIILE DIGESTIVE CU NOROVIRUS, ROTAVIRUS ȘI ADENOVIRUS LA COPIII DIN JUDEȚUL GALAȚI

Dana Tutunaru, Nicoleta-Maricica Maftei, Alina Viorica Iancu, Elena Roxana Matache, Andreea Eliza Zaharia, Gabriela Gurău

Facultatea de Medicină și Farmacie, Universitatea "Dunărea de Jos" Galați

Introducere. Infecțiile virale digestive sunt una din principalele cauze de diaree severă, mai ales în rândul sugarilor și copiilor mici preșcolari, iar deshidratarea asociată este o cauză principală a internarilor în spitale.

Obiectivul studiului a fost de a determina incidența infecției digestive cu norovirus, rotavirus și adenovirus și distribuția coinfecțiilor între acești agenți responsabili de gastroenterită la copiii și adolescenții din județul Galați.

Metode/ Metodologie: Studiul a fost efectuat pe un lot de 239 copii cu vârste cuprinse între 0 luni și 15 ani, cu semne clinice de gastroenterită, internați în Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii Galați, în perioada august 2021-martie 2022. Pentru identificarea virusurilor a fost utilizată metoda imunocromatografică, care evidențiază antigene virale specifice din materialele fecale.

Rezultate: Incidența infecțiilor digestive a fost de 19.67% (47/239 cazuri) din care: infecția cu rotavirus 7.9% (19/239), norovirus 10.04% (24/239), iar adenovirus în 5.44% (13/239). Incidența a fost mai crescută la pacienții de sex feminin, 53.19% (25/47). Cele mai multe cazuri pozitive s-au înregistrat la pacienții cu vîrstă cuprinsă între 1-4 ani-72.34%. După mediul de proveniență, în mediul urban au fost depistate 59.57% (28/47) cazuri față de 40.43% (19/47) în mediul rural. În 14.89% (7/47) din totalul cazurilor, s-au depistat coinfecții.

Concluzii / Discuții: În concluzie, studiul nostru oferă dovezi că norovirusurile pot fi o cauză principală a infecțiilor virale gastrointestinale și evidențiază necesitatea implementării testelor rapide de norovirus, rotavirus și adenovirus pentru diagnosticul clinic al infecțiilor virale gastrointestinale la copii.

Cuvinte cheie: rotavirus, norovirus, adenovirus

DIGESTIVE INFECTIONS WITH NOROVIRUS, ROTAVIRUS AND ADENOVIRUS IN CHILDREN OF GALATI COUNTY

Introduction: Digestive viral infections are one of the main causes of severe diarrhea, especially among infants and young preschool children, and the associated dehydration is a major cause of hospitalizations.

The aim of the study was to determine the incidence of digestive infection with norovirus, rotavirus and adenovirus and the distribution of co-infections between these agents responsible for gastroenteritis in children and adolescents in Galati County.

Methods / Methodology: The study was performed on a group of 239 children aged between 0 months and 15 years, with clinical signs of gastroenteritis, hospitalized in the Emergency Clinical Hospital for Children Galați, between August 2021-March 2022. To identify the viruses immunochromatographic method was used, which reveals specific viral antigens from faeces.

Results: The incidence of digestive infections was 19.67% (47/239 cases) of which: rotavirus infection 7.9% (19/239), norovirus 10.04% (24/239), and adenovirus in 5.44% (13/239). The incidence was higher in female patients, 53.19% (25/47). Most positive cases were recorded in patients aged 1-4 years-72.34%. In urban areas 59.57% (28/47) cases were detected, compared to 40.43% (19/47) in rural areas. In 14.89% (7/47) of the total cases, coinfections were detected.

Conclusions / Discussions: In conclusion, our study provides evidence that noroviruses may be a major cause of gastrointestinal viral infections and highlights the need to implement rapid norovirus, rotavirus and adenovirus tests for the clinical diagnosis of gastrointestinal viral infections in children.

Keywords: rotavirus, norovirus, adenovirus

P16. DETERMINAREA ETIOLOGIEI INFECTIILOR UROGENITALE SI A SENSIBILITATII LA ANTIBIOTICE

Lavinia Daba^{1,2}, Mihaela Botnariuc^{1,2}, Andreea Badea², Sevigean Ali^{1,2}, Cecilia Adumitresi¹

¹ Universitatea Ovidius, Constanța, Facultatea de Medicină,

² Spitalul Clinic Județean de Urgență Sf. Apostol Andrei, Constanța

Introducere. Infecțiile cu tulpinile de Chlamydia trachomatis, Mycoplasma hominis și Ureaplasma urealyticum reprezintă o problemă majoră a persoanelor tinere prin incidență ridicată, riscul de cronicizare, severitatea cât și de complicațiile și consecințele pe termen lung. Agenții microbieni acționează prin obstruarea sistemului reproductiv feminin și masculin, pierderea sarcinii (avort spontan), având efecte negative asupra mortalității și morbidității. Chlamydia tracomatis produce infertilitate prin atrofie testiculară, epididimită, orhită, cât și boli inflamatorii și sarcini extrauterine la femei. Tulpinile de Mycoplasma hominis și Ureaplasma urealyticum produc de asemenea infertilitate prin localizare la nivel cervical, endometrial sau salpingial. Studiul a urmărit detectia acestor microorganisme și stabilirea sensibilității lor la antibiotice.

Material și metodă. Am folosit un sistem care permite creșterea rapidă simultan cu teste de sensibilitate antimicrobiană în doar 18-24 de ore. Mediul este special formulat pentru cultura selectivă a Mycoplasmei hominis, Ureaplasmei urealyticum/purvum, dar și pentru identificarea prezumptivă a Trichomonas vaginalis, Gardnerella vaginalis și Candida Albicans. Ca antibiotice sunt folosite: Levofloxacina, Doxiciclină, Moxifloxacina, Josamicină, Clindamicină și Eritromicină, antibiotice cu acțiune intracelulară.

Rezultate și concluzii. Dintr-un număr de 613 teste, 170 au fost pozitive. În cazul femeilor (132), procentele au fost de 49% Mycoplasma hominis, 32% Ureaplasma și 19% Chlamydia trachomatis, în timp ce la bărbați (38), raportul a fost de 42% Mycoplasma hominis, 37% Chlamydia trachomatis și 21% Ureaplasma urealyticum/purvum.

În ceea ce privește antibioticele, o rezistență crescută am observat în cazul Eritromicinei de 29,62%. La Clindamicina, rata de rezistență a fost de 13,58%. Tulpinile au prezentat o sensibilitate maximă la Fluoroquinolone: Levofloxacina, 66,66%. Sensibilitatea la Moxifloxacina și Doxiciclină a fost de 28,39%, respectiv 56,79%.

Cuvinte cheie: Chlamydia, Mycoplasma, Ureaplasma

DETERMINATION OF THE ETIOLOGY OF UROGENITAL INFECTIONS AND ANTIBIOTIC SENSITIVITY

Introduction. Infections with strains of Chlamydia trachomatis, Mycoplasma hominis and Ureaplasma urealyticum are a major problem for young people due to their high incidence, risk of chronicity, severity and long-term complications and consequences. Microbial agents act by obstructing the female and male reproductive system, loss of pregnancy (miscarriage), having negative effects on mortality and morbidity. Chlamydia tracomatis causes infertility through testicular atrophy, epididymitis, orchitis, as well as inflammatory diseases and ectopic pregnancies in women. The strains of Mycoplasma hominis and Ureaplasma urealyticum also cause infertility by localization at the cervical, endometrial or salpingial level. The study aimed to detect these microorganisms and establish their sensitivity to antibiotics.

Material and method. We used a system that allows rapid growth simultaneously with antimicrobial sensitivity tests in just 18-24 hours. The environment is specially formulated for the selective culture of *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum / parvum*, but also for the presumptive identification of *Trichomonas vaginalis*, *Gardnerella vaginalis* and *Candida Albicans*. As antibiotics are used: Levofloxacin, Doxycycline, Moxifloxacin, Josamycin, Clindamycin and Erythromycin, antibiotics with intracellular action.

Results and conclusions. Out of a total of 613 tests, 170 were positive. In the case of women (132), the percentages were 49% *Mycoplasma hominis*, 32% *Ureaplasma* and 19% *Chlamydia trachomatis*, while in men (38), the ratio was 42% *Mycoplasma hominis*, 37% *Chlamydia trachomatis* and 21% *Ureaplasma urealyticum / parvum*. Regarding antibiotics, we observed an increased resistance in the case of Erythromycin of 29.62%. With Clindamycin, the resistance rate was 13.58%. The strains showed a maximum sensitivity to Fluoroquinolone: Levofloxacin, 66.66%. Sensitivity to Moxifloxacin and Doxycycline was 28.39% and 56.79%, respectively.

P17. SENSIBILITATEA LA ANTIBIOTICE A TULPINILOR OROFARINGIENE DE PREVOTELLA CU PIGMENT NEGRU IZOLATE DE LA STUDENȚI

Gabriela Băncescu, Violeta Căruntu, Lidia Sfetcu

Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila”, București

Introducere / Obiectiv: În general, speciile de *Prevotella* producătoare de pigment aparțin florei normale a orofaringelui, a cavității nazale, a tractului intestinal și tractului genitourinar și sunt adeseori producătoare de beta-lactamaze. Prezentul studiu pilot a avut drept scop screeningul sensibilității la antibiotice al tulpinilor de *Prevotella* cu pigment negru izolate în decembrie 2017, de la un lot de 50 de studenți sănătoși, reprezentând mai mult de jumătate din numărul studenților din anul II de studiu care au frecventat cursul Disciplinei de Microbiologie a Facultății de Medicină Dentară, Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila” - București, în semestrul de toamnă al anului universitar 2017-2018.

Metode / Metodologie: Cele 37 de izolate de *Prevotella* cu pigment negru, provenite de la studenții respectivi, au fost testate pentru sensibilitatea față de: benzilpenicilină, ampicilină, amoxicilină/acid clavulanic, clindamicină și metronidazol, prin E-test (BioMérieux, France).

Rezultate: Concentrațiile minime inhibitorii au fost cuprinse în următoarele intervale: 0,023-16mg/L pentru benzilpenicilină, 0,016-8mg/L pentru ampicilină, 0,016-0,75mg/L pentru amoxicilină/acid clavulanic, 0,016-0,064mg/L pentru clindamicină și 0,023-0,19mg/L pentru metronidazol. Douăzeci și opt dintre izolate au fost rezistente la benzilpenicilină și ampicilină, dar toate tulpinile au fost sensibile la: aminopenicilina combinată cu inhibitorul de beta-lactamază, clindamicină și metronidazol.

Concluzii / Discuții: Trei pătrimi dintre izolatele de *Prevotella* cu pigment negru au fost rezistente la peniciline, prin producerea de beta-lactamaze. Colonizarea cavității orale cu bacterii producătoare de astfel de enzime nu trebuie ignorată atunci când se decide prescrierea beta-lactaminelor pentru tratamentul unor infecții orale.

Cuvinte cheie: *Prevotella*, rezistență la antibiotice, beta-lactamaza.

ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY OF OROPHARYNGEAL STRAINS OF BLACK-PIGMENTED PREVOTELLA ISOLATED FROM STUDENTS

Introduction / Objective: In general, pigment-producing *Prevotella* species belong to the normal flora of the oropharynx, nasal cavity, intestinal tract and genitourinary tract and often produce beta-lactamases. The aim of this pilot study was to screen the antibiotic sensitivity of *Prevotella* strains with black pigment, isolated in December 2017, from a group of 50 healthy second-year students, representing more than half of the number of students who had attended the Microbiology course at the Department of Microbiology of the Faculty of Dentistry, "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy - Bucharest, in the autumn semester of the academic year 2017-2018.

Methods / Methodology: The 37 isolates of black-pigmented *Prevotella*, isolated from the respective students, were tested for susceptibility to: benzylpenicillin, ampicillin, amoxicillin/clavulanic acid, clindamycin and metronidazole by E-test (BioMérieux, France).

Results: The minimum inhibitory concentrations were in the following ranges: 0.023-16 mg/L for benzylpenicillin, 0.016-8 mg/L for ampicillin, 0.016-0.75 mg/L for amoxicillin/clavulanic acid, 0.016-0.064 mg/L for clindamycin and 0.023 -0.19 mg/L for metronidazole. Twenty-eight of the isolates were resistant to benzylpenicillin and ampicillin, but all the strains were susceptible to: aminopenicillin combined with the beta-lactamase inhibitor, clindamycin and metronidazole.

Conclusions / Discussions: Three-quarters of the black-pigmented *Prevotella* isolates were resistant to penicillin due to beta-lactamase production. Colonization of the oral cavity with bacteria producing such enzymes should not be ignored when deciding to prescribe beta-lactam antibiotics for the treatment of oral infections.

Keywords: *Prevotella*, antimicrobial resistance, beta-lactamase.

P18. CORELAȚIA DINTRE BIOFIRE® PNEUMONIA PLUS PANEL ȘI EXAMENUL BACTERIOLOGIC AL ASPIRATULUI TRAHEAL ÎN SECTIA ATI

Luminița Matroș^{1,2}, Stanca-Lucia Pandrea^{1,2}, Monica Ioana Ciontea¹, Manuela Tompa¹, Lia Sorina Pepelea², Stanca-Maria Pandrea³, Ronald Tompa³, Andreea Monica Benea¹

¹ Regional Institute of Gastroenterology and Hepatology (R.I.G.H.), Cluj-Napoca

² Department of Microbiology "Iuliu Hațieganu" University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca

³ "Iuliu Hațieganu" University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca

Introducere: Infecțiile tractului respirator inferior reprezintă o importantă cauză de mortalitate în terapie intensivă, impunând căutarea unor noi metode de diagnostic rapid a agenților patogeni implicați. Metoda BIOFIRE®FILMARRAY® Pneumonia plus Panel (BioMérieux) reprezintă o alternativă pentru diagnosticul infecțiilor, putând detecta 18 specii bacteriene și 7 markeri de rezistență la antibiotice. Obiectivul studiului constă în compararea rezultatelor obținute prin tehnica multiplex PCR cu cele obținute prin examenul bacteriologic clasic al aspiratului traheal prelevat de la pacienți din secția de terapie intensivă.

Material și metode: Într-un studiu prospectiv efectuat în perioada ianuarie-martie 2022, s-au prelevat 28 de aspirate traheale, fiecare prelevat fiind testat prin 2 metode, RT-PCR și metoda clasică. Am urmărit concordanța dintre rezultatele obținute prin metoda moleculară (RT-PCR) și metoda clasică (cultivare pe medii uzuale, identificare și antibiogramă cu sistemul Vitek2 Compact®).

Rezultate: Pentru 11 probe pozitive(39,29%) s-a obținut concordanță între rezultatele celor 2 metode, fiind detectate una sau mai multe specii bacteriene în același specimen, pentru o valoare $>107\text{-}105$ copii/ml obținându-se creștere bacteriană semicuantitativă între $>105\text{-}104$ UFC/ml. Speciile identificate au fost: Acinetobacter baumannii(n=7), Serratia marcescens(n=4), Klebsiella pneumoniae(n=5), Pseudomonas aeruginosa(n=2), Escherichia coli(n=1), Staphylococcus aureus(n=1). 5 probe(17,86%) au fost negative prin ambele metode. La 12 probe(42,86%) nu a existat concordanță între rezultate, valori ≤ 104 copii/ml putând fi considerate ca prag de detecție prin cultură sau culturile au fost pozitive pentru specii care nu sunt detectate prin panelul respirator (Enterococcus, Providencia stuartii, Candida). Au fost detectate genele de rezistență: CTX-M(n=9), OXA-48/OXA-48like(n=8), NDM(n=3), VIM(n=2), KPC(n=1), mecA/C/MREJ(n=2).

Concluzii: Rezultatele obținute încurajează utilizarea acestor metode rapide de diagnostic.

Cuvinte cheie: infecții de tract respirator inferior, metoda RT-PCR, terapie intensivă

CORRELATION BETWEEN BIOFIRE® PNEUMONIA PLUS PANEL AND BACTERIOLOGICAL EXAM OF THE TRACHEAL ASPIRATE IN THE ICU

Introduction: Inferior respiratory tract infections are an important cause of mortality in the Intensive Care Units(ICU), showing the need of new rapid methods to isolate the pathogens. The method used (BIOFIRE®FILMARRAY® Pneumonia plus Panel, BioMérieux) represents an alternative for diagnosing bacterial infections, being able to detect 18 different species and 7 antibiotic resistance markers. The objective of this study is to compare the results obtained by Mutiplex PCR with those obtained by classical bacteriological culture of the specimens from ICU patients.

Materials and methods: In a prospective study conducted between January and March 2022, 28 tracheal aspirates were taken, each sample being tested by 2 methods, RT-PCR and the classical method. We followed the concordance between the results obtained by the molecular method and the classical method (classical growth, identification and antibiogram with the Vitek2 Compact®).

Results: We found concordance between the two methods for 11 positive specimens(39,29%), being detected one or more bacterial species in the same specimen, for a value $>107\text{-}105$ copies/ml obtaining a semiquantitative bacterial growth between $>105\text{-}104$ UFC/ml. The species identified were: Acinetobacter baumannii(n=7), Serratia marcescens(n=4), Klebsiella pneumoniae(n=5), Pseudomonas aeruginosa(n=2), Escherichia coli(n=1), Staphylococcus aureus(n=1). Five samples(17.86%) were negative by both methods. For twelve specimens(42.86%) there was no concordance between results, values ≤ 104 copies/ml can be considered as a detection threshold by culture or the cultures were positive for species not detected by the respiratory panel (Enterococcus, Providencia stuartii, Candida). Resistance genes were detected: CTX-M(n=9), OXA-48/OXA-48like(n=8), NDM(n=3), VIM(n=2), KPC(n=1), mecA/C/MREJ(n=2).

Conclusions: The results obtained encourage the use of these rapid diagnostic methods.

Keywords: inferior respiratory tract infections, RT-PCR, intensive care

P. ACTIVITATEA ANTIMICROBIANĂ A ULEIURILOR ESENȚIALE DIN ROMÂNIA ASUPRA UNOR TULPINI BACTERIENE DE REFERINȚĂ

Delia Muntean^{1,4}, Florin Horhat^{1,4}, Iulia Bagiu^{1,4}, Corina Danciu², Călin Jianu³, Monica Licker^{1,4}

¹Departmentul de Microbiologie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara,

²Departmentul de Farmacognozie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara,

³Departamentul de Tehnologii Alimentare, Facultatea de Tehnologia Produselor Agroalimentare,

Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară a Banatului "Regele Mihai I al României"

Timișoara

⁴Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș", Centrul Multidisciplinar De Cercetare A

Rezistenței La Antibiotic (MULTIREZ), Timișoara 300041, România

Plantele aromatice medicinale sunt acele plante care conțin uleiuri esențiale cu proprietatea de a se volatiliza și sunt folosite încă din cele mai vechi timpuri pentru potențialul lor nutritiv, terapeutic și cosmetic.

Material si metode. În prezentul studiu, uleiurile esențiale din cinci plante, incluzând Lavandula angustifolia, Mentha piperita, Origanum vulgare, Thymus vulgaris și Salvia officinalis, au fost testate pentru activitatea antimicrobiană împotriva bacteriilor Gram-pozițive (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615) și Gram-negative (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13882, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853). Plantele au fost colectate manual din partea de vest a României. Materialul vegetal a fost uscat în condiții naturale și depozitat în pungi duble de hârtie la temperaturi de 3-5 °C. Uleiurile esențiale au fost extrase prin distilare cu abur și au fost separate prin decantare, uscate și depozitate în flacoane închise ermetice (-18 °C) pentru analize ulterioare. Activitatea antimicrobiană a acestor uleiuri a fost evaluată atât prin metoda difuzimetrică, cât și prin metoda microdiluției cu determinarea concentrațiilor minime inhibitorii (MIC).

Rezultate. Uleiurile esențiale din *Lavandula angustifolia*, *Mentha piperita*, *Origanum vulgare*, *Thymus vulgaris* și *Salvia officinalis* au prezentat activitate antibacteriană față de toate tulpinile bacteriene testate în prezentul studiu, valorile MIC variind între 5 și 20 mg / ml pentru bacteriile Gram pozitive și 20-80 mg / ml pentru cele Gram negative.

Concluzie. Aceste rezultate recomandă utilizarea uleiurilor esențiale pentru tratarea infecțiilor microbiene, dar sunt necesare studii suplimentare pentru a estima și potențialul toxic al acestor uleiuri.

Cuvinte cheie: uleiuri esențiale, activitate antibacteriană.

ANTIMICROBIAL ACTIVITIES OF ESSENTIAL OILS FROM ROMANIA AGAINST REFERENCES BACTERIAL STRAINS

Medicinal aromatic plants, are those plants which contain essential oils with the property of volatilizing and they are used since ancient times for their nutritional, therapeutic and cosmetic potential.

Material and methods. In the present study, essential oils (EOs) from five plants including *Lavandula angustifolia*, *Mentha piperita*, *Origanum vulgare*, *Thymus vulgaris* and *Salvia officinalis*, were tested for antimicrobial activity against Gram-positive (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Streptococcus pyogenes* ATCC 19615) and Gram-negative bacteria (*Escherichia coli* ATCC 25922, *Klebsiella pneumoniae* ATCC 13882, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853). The plants were collected manually from the west part of Romania. The plant material was dried under natural conditions and stored in double paper bags at temperatures of 3-5°C. The EOs were extracted by steam distillation, and were separated by decantation, dried and stored in hermetically sealed vials (-18°C) for subsequent analyses. The antimicrobial activity of these EOs was evaluated by both agar disk diffusion method and microdilution method with determination of the minimum inhibitory concentrations (MIC).

Results. Antibacterial activities were observed from the EOs of *Lavandula angustifolia*, *Mentha piperita*, *Origanum vulgare*, *Thymus vulgaris* and *Salvia officinalis*, against all bacterial strains tested in the present study, with the MIC values ranging from 5 to 20 mg/ml against the Gram positive bacterial strains and 20-80 mg/ml against the Gram negative strains.

Conclusion. These results recommend the use of essential oils to treat microbial infections but are necessary further studies to estimate the potential toxicity of these EOs.

Keywords: essential oils, antibacterial activity

C30. ANALIZA IOHEXOLULUI ȘI A HORMONILOR TIROIDIENI FOLOSIND SISTEME ABSORBTIVE DE MICROPRELEVARE ASISTAT DE LC-MS/MS

Valentin Ion^{1,2,3}, Silvia Imre^{1,2}, Daniela-Lucia Muntean¹, Marianne Fillet³

¹ Disciplina de Chimie Analitică și Analiza Medicamentului, Facultatea de Farmacie, Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie "George Emil Palade" din Târgu Mureș, România

² Centrul de Cercetări Avansate Medico-Farmaceutice, Laboratorul CROMS, Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie "George Emil Palade" din Târgu Mureș, România

³ Departamentul de Analiza Medicamentului, Centrul Interdisciplinar de Cercetări asupra Medicamentelor, Universitatea din Liège, Belgia

Introducere/Obiectiv: Sistemele absorbtive volumetrice de microprelevare (VAMS) permit prelevarea de volume foarte mici de lichide biologice (10, 20 sau 30 µL). Cromatografia de lichide cuplată cu spectrometria de masă (LC-MS/MS) este o tehnică analitică cu înaltă selectivitate, specificitate și sensibilitate. Principalele obiective s-au concentrat pe dezvoltarea unor protocoale analitice inovatoare asistate de LC-MS/MS pentru analiza din sângele capilar prelevat cu VAMS a iohexolului în contextul evaluării ratei de filtrare glomerulară și a TT3, TT4 și rt3 pentru evaluarea funcției tiroïdiene.

Metode/Metodologie: Dezvoltarea protocoalelor de analiză s-a axat pe dezvoltarea metodelor LC-MS/MS și a protocolului de prelucrare a probelor, screening-ul solventilor de extracție, stabilitatea analitilor, stabilitatea pe termen scurt și mediu a analitilor în sângele colectat folosind VAMS, evaluarea performanțelor analitice pentru compuși folosind probe bazate pe VAMS, urmată de validare și verificarea conceptului.

Rezultate: Protocolele nou dezvoltate au permis alegerea solventului optim de extracție al analitilor și verificarea stabilității analitilor în solventul optim. Ulterior, atât iohexolul, cât și hormonii tiroidieni s-au dovedit a fi stabili pentru mai mult de 48 de ore în sângele capilar colectat de VAMS. Metodele de analiză LC-MS/MS nou dezvoltate au reușit să separe și să detecteze compuși în mai puțin de 3 minute, în timp ce protocolele nou propuse au fost validate conform criteriilor de validare bioanalitică FDA.

Concluzii/Discuții: Deși fezabilitatea acestei abordări a fost dovedită, cercetări ulterioare asupra impactului hematocritului și stabilirea metodelor de conversie a concentrațiilor din sângele integral în concentrație plasmatică cu scopul standardizării trebuie să întreprindă pe viitor.

Cuvinte cheie: VAMS, Hormoni Tiroidieni, Iohexol

IOHEXOL AND THYROID HORMONES ANALYSIS USING VOLUMETRIC ABSORPTIVE MICROSAMPLING SYSTEMS ASSISTED BY LC-MS/MS

Introduction/Objectives: Microsampling devices such as volumetric absorptive micro sampling systems (VAMS) are capable to collect accurately very low volumes of biological fluids (10, 20 or 30 μL). Liquid Chromatography coupled to Mass Spectrometry (LC-MS/MS) is a powerful analytical technique encompassing high selectivity, specificity, and sensitivity. The main objectives were focused on developing innovative analytical protocols assisted by LC-MS/MS for the analysis of iohexol used for glomerular filtration rate assessment in chronic kidney disease and TT3, TT4 and rt3 for thyroid function assessment from VAMS-collected capillary blood.

Methods: The analysis protocol development was focused on LC-MS/MS method analysis, VAMS sample preparation protocol, solution extraction screening, assessment of analytes stability in the extraction solvent, evaluation of short to medium term stability of the targeted compounds in VAMS-collected blood, assessment of analytical performances for thyroid hormones using VAMS-based samples followed by validation and proof of concept check.

Results: The newly developed sample preparation protocols revealed the optimum extraction solvents of the analytes and in solution stability conditions. Further on, both iohexol and thyroid hormones turned out to be stable for more than 48 hours in VAMS-collected capillary blood. The newly developed LC-MS/MS analysis methods managed to separate and detect the compounds in less than 3 minutes while the newly proposed protocols were validated according to FDA Bioanalytical Validation criteria.

Conclusions: While the feasibility of this approach has been proven, further studies should be conducted on the impact of hematocrit and establishment of concentration conversion between whole blood to plasma for standardisation purposes.

Keywords: VAMS, Thyroid Hormones, Iohexol

C31. COSTUL ERORILOR PRE-ANALITICE ÎN DEPARTAMENTUL DE BIOCHIMIE AL UNUI LABORATOR MEDICAL

Remona Eliza David

Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie „George Emil Palade” Târgu Mureș

Introducere / Obiectiv: Procesul pre-analitic trebuie să fie monitorizat continuu datorită impactului erorilor pre-analitice asupra calității rezultatelor testelor de laborator. Există presiuni din partea administratorului de laborator pentru a îmbunătății calitatea, dar nu poate înțelege ce înseamnă costul unei slabe calități și de ce laboratorul cheltuiește atât de mulți bani pentru controalele de calitate. Scopul a fost de a stabili costul erorilor pre-analitice în Departamentul de Biochimie al unui laborator medical utilizând indicatorii de calitate, costul materialelor și costul cu personalul.

Metode / Metodologie: Lotul de studiu a constat din totalitatea solicitărilor de analiză primite de Departamentul de Biochimie în perioada 1 Ianuarie 2015 – 31 Decembrie 2018 (nu au fost aplicate criterii de excludere). Am stabilit ce personal a participat la ce activitate și cât timp. Am monitorizat timpul necesar pentru fiecare activitate. Am efectuat calculul costului erorilor pre-analitice folosind următoarele componente: costul materialelor, costul cu personalul și costul pentru eliminarea deșeurilor.

Rezultate: Am respins 1.385 din 40.140 probe primite. Un total de 13.115,95 euro au fost cheltuiți pentru recolectarea probelor.

Concluzii / Discuții: Îmbunătățirea calității poate reduce costurile într-un laborator medical.

Cuvinte cheie: costul calității, erori, procesul pre-analitic

THE COST OF PRE-ANALYTICAL ERRORS IN THE BIOCHEMISTRY DEPARTMENT OF A MEDICAL LABORATORY

Introduction: The pre-analytical process must have a continual monitoring due to the impact of pre-analytical errors on the quality of the laboratory tests **Results.** There are pressures from the laboratory administrator to improve quality, but she/he cannot understand what the cost of poor quality means and why the laboratory spends so much money on quality controls. The purpose was to establish the cost of the pre-analytical errors in the Biochemistry Department of a medical laboratory using quality indicators, direct material cost, and personnel cost.

Methods: The study group consisted of all analysis requests received by the Biochemistry Department of our laboratory between January 1st 2015 and December 31st 2018 (no exclusion criteria were applied). We established which personnel participated which activity and how much time. We monitored the time needed for each activity. We made the calculation of pre-analytical errors cost using the following components: materials cost, personnel cost, and waste disposal cost.

Results: We rejected 1,385 of 40,140 samples received. A total of 13,115.95 euro was spent on the recollection of samples.

Conclusion: Improvements of quality can reduce costs in a medical laboratory.

Keywords: quality cost, errors, pre-analytical process

P19. NECONFORMITĂȚILE DE EȘANTIONARE VS IMPLICAȚII FINANCIARE PENTRU SPITAL

**Carmen Delianu¹, Loredana Liliana Hurjui^{1,2}, Iolanda Foia², Ion Hurjui¹, Daniel Timofte^{1,2},
Liliana Foia^{1,2}**

¹*Spitalul Clinic Județean de Urgență "Sf. Spiridon", Iași, Romania*

²*Universitatea de Medicină și Farmacie „Grigore T. Popa” din Iași, Romania*

Introducere: Ramificațiile financiare ce pot fi demonstrate prin estimarea costurilor erorilor preanalitice pentru spital și laborator, generează activități și investigații suplimentare pentru îngrijirea pacientului. Devoalarea acestor aspecte poate fi recunoscută ca un pas important în reducerea costurilor suplimentare suportate de spital.

Obiective: Studiul actual urmărește implementarea unei inițiative de calitate privind incidența probelor neconforme primite în departamentul de hematologie, vizând o cunoaștere de acuratețe a acestor detaliu.

Material și metode: Au fost incluse în studiutoate eșantioanele neconforme identificate în departamentul de hematologie al Spitalului „Sf. Spiridon din Iași, în perioada: ianuarie 2020 - decembrie 2021. Acestea au fost analizate prospectiv pentru a aprecia impactul financiar suportat de spital.

Rezultate: Din totalul de 4683 eșantioane neconforme, preanalitic la recepționare au fost identificate 3548 eșantioane, din care 30.29% pentru hemoleucograma - Hlg, 48.63% pentru coagulare și 21.06% pentru VSH (viteza de sedimentare a hematilor). Din cele 1135 eșantioane identificate postanalitic cu cheag, 46,34% au reprezentat determinarea Hlg și 53,66% testele de coagulare, ce au implicat și consumul suplimentar de reactivi.

Concluzii: Evaluarea în perspectivă a unui audit anual evidențiază impactul neconformităților asupra sistemului de sănătate. În vederea reducerii acestora, măsurile corective necesare vizează activități educaționale pentru personalul medical direct implicat în etapa pre preanalitică, dar și postanalitică.

Cuvinte cheie: costuri suplimentare, eșantioane neconforme, educație.

Referințe:

1. Crous L, Armstrong SJ. The bloody truth: Investigating nurse phlebotomy competencies at a private laboratory in Johannesburg, South Africa. Health S.A. Gesondheid, 2016; 21: 339-347.
2. Simundic AM, Cornes M, Grankvist K, et al. Survey of national guidelines, education and training on phlebotomy in 28 European countries: an original report by the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) working group for the preanalytical phase (WG-PA). Clin Chem Lab Med, 2013; 51:1585-93.

SAMPLING NON-CONFORMITIES VS HOSPITAL FINANCIAL IMPLICATIONS

Introduction: The financial ramifications that can be demonstrated by estimating the costs of pre-analytical errors for hospital and laboratory, generate additional activities and investigations for patient care. Disclosing these issues can be recognized as an important step in reducing the additional unjustified costs incurred by the hospital.

Objectives: The current study aims to implement a quality initiative on the incidence of non-compliant samples received in the hematology department, aiming at a more accurate knowledge of these details.

Material and methods: All non-compliant samples identified in the hematology department of the "St. Spiridon" from Iași, in the period: January 2020 - December 2021 have been included in the study. These were analyzed prospectively to assess the financial impact supported by the hospital.

Results: Out of a total of 4683 non-compliant samples, 3548 samples were identified prior to the reception, of which 30.29% for CBC (cell blood count), 48.63% for coagulation and 21.06% for ESR (erythrocyte sedimentation rate). Of the 1135 samples identified postanalytical with clot, 46.34% represented the CBC determination and 53.65% the coagulation tests, which also involved the additional consumption of reagents.

Conclusions: The prospective evaluation of an annual audit highlights the impact of non-compliance on the health system. In order to reduce them, the required corrective measures aim at educational activities for the medical staff directly involved in the preanalytical and postanalytical stage.

Keywords: additional costs, non-compliant samples, education.

P20. SUPRASOLICITAREA TESTELOR DE LABORATOR IN SPITALUL CLINIC JUDETEAN DE URGENTA DIN TARGU MURES

Georgiana-Gabriela Văcărașu¹, Oana Oprea^{1,2}

¹Spitalul Clinic Județean de Urgență Târgu Mureș, ²UMFST GE Palade Târgu Mureș

Introducere: Suprasolicitarea testelor de laborator nejustificate medical reprezintă un fenomen frecvent întâlnit în spitale mari cu multiple puncte de lucru. Aceasta reprezintă atât o problemă de gestionare a testelor pentru laborator cât și una financiară. Scopul studiului a fost evaluarea modului și frecvenței de solicitare a testelor de laborator în cadrul Spitalului Clinic Județean de Urgență (SCJU) Târgu Mureș.

Material și metodă: Au fost evaluate toate solicitările de hemoleucograme și teste de coagulare efectuate pe o perioadă de 3 luni (martie-mai 2021) în cele două laboratoare ale SCJU (excluzând testele solicitate de departamentele ATI): Laborator Central (L1) și de Urgență (L2). S-a urmărit solicitarea în duplicat a aceluiași parametru fie în același laborator, fie în ambele folosind codul unic de identificare al pacientului.

Rezultate: Au fost solicitate 8386 hemoleucograme în L1 și 15811 în L2. Dintre acestea 233 (3%) au fost solicitate în duplicat în L1 și 1372 (9%) în L2. Din cele 24197 hemoleucograme, 2070 (9%) au fost solicitate de două sau mai multe ori. Pentru coagulare 2150 (42%) de teste au fost solicitate de două sau mai multe ori din totalul de 5121 în L1, respectiv 1276 (12%) din 10667 în L2. Din cele 15788 de teste de coagulare, 3858 (24%) au fost solicitate mai mult de două ori.

Concluzii: În urma studiului, s-a observat că există un număr mare de cereri și recoltări în duplicat pentru hemoleucogramă și teste de coagulare. Limitarea solicitărilor la cazurile justificate medical poate duce la îmbunătățirea managementului resurselor laboratorului.

Cuvinte cheie: solicitare analize, duplicat, resurse.

OVER-USE OF THE LABORATORY TESTS IN DISTRICTUAL EMERGENCY HOSPITAL TARGU MURES

Introduction: In large hospitals with multiple laboratories, unjustified test-requesting may cause redundant testing and unnecessary expenses. The aim of this study was to evaluate how laboratory tests are requested in the Emergency County Clinical Hospital (SCJU) Târgu Mureş.

Material/Methods: All tests for automated complete blood count (CBC) and coagulation assays requested over a three-month period (March–May 2021) in the two SCJU laboratories (central – L1, emergency – L2) were analysed (excepting ICU samples). Based on patient unique identification numbers, intra- and inter-laboratory replicate test requests were identified.

Results: 8386 blood counts were requested in L1 and 15811 in L2. Out of these, 233 (3%) were requested in duplicate in L1 and 1372 (9%) in L2. Of the 24197 blood counts, 2070 (9%) were requested twice or more. 2150 (42%) coagulation tests from a total of 5121 were requested in L1 and 1276 (12%) from 10667 in L2. Out of the 15788 coagulation tests, 3858 (24%) were requested two or more times.

Conclusion: This study revealed that an important number of intra- and inter-laboratory replicate test requests occur for CBC and coagulation assays in SCJU. The economic impact of this phenomenon is yet to be studied. Limiting replicate test-requesting to medically justified cases only may significantly improve work efficiency and resource management in large clinical laboratories.

Keywords: test requests, duplicate, resource management.

P21. FACTORUL UMAN- SURSA DE ERORI ÎN FAZA PRE- ANALITICĂ

Anca Alexandra Molnar¹, Claudia Aciubotăriței¹, Oana Oprea^{1,2}

¹ Spitalul Clinic Județean de Urgență Târgu Mureș

²UMFST "G.E.Palade" Târgu Mureș

Introducere: Procedura de recoltare a sângelui venos, aparent simplă, este predispusă la o serie de erori cauzate de tehnica de recoltare incorectă. Scopul acestei lucrări a fost de a analiza pe baza unor chestionare și a observării directe, conform recomandărilor Federației Europene de Biochimie Clinică și Medicină de Laborator (EFLM), cunoașterea și respectarea tehniciilor de recoltare a sângelui venos.

Material si metodă: Au fost distribuite 48 de chestionare asistentelor medicale implicate în procesul de recoltare din cadrul Clinicii Chirurgie 1 al Spitalului Clinic Județean de Urgență Târgu Mureș (N1=24 chestionare) respectiv în Laboratorul de Analize Medicale din cadrul aceluiași spital (N2=24 chestionare); datele celor două loturi au fost analizate comparativ. Observarea directă a tehnicii de recoltare a fost efectuată conform recomandărilor EFLM privind auditul de recoltare în cazul a 24 de asistente din N1 (3 recoltări fiecare).

Rezultate: Chestionarele privind recoltarea au fost completate mai corect în cazul a 21 de întrebări din cele 31 de către asistentele din grupul N1 decât de cele din grupul N2. Cele mai frecvente au fost erori de recoltare au fost: neetichetarea probelor în prezența pacienților (43%), neutilizarea de mănuși

noi (16%), menținerea prelungită a garoului (26%), nerespectarea ordinii corecte a tuburilor (12,5) și mixarea necorespunzătoare a probelor (61%).

Concluzii: Erorile din faza pre-analitică se datorează parțial necunoașterii sau nerespectării procedurilor. Auditul de recoltare și testarea periodică a personalului contribuie la implementarea unui program de instruire care accentuează sursele de eroare constatate.

Keywords: instruire, faza preanalitică, audit recoltare.

THE HUMAN ELEMENT- AN ERROR SOURCE OF THE PRE-ANALYTICAL PHASE

Introduction: Venous sampling technique, though simple, is prone to errors when procedures are not followed. The aim of this study was to assess the extent to which the recommendations of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) for venous sampling are known and followed in clinical settings.

Material and method: A number of 48 questionnaires were distributed into two groups: nurses from the Surgery Clinic I ($N_1=24$) and from the Clinical Laboratory ($N_2=24$). The two groups were compared. The direct sampling technique was observed in the N_1 group (three collections each) according to the EFLM criteria.

Results: The N_1 group had a better score in 21 out of the 31 questions than N_2 group. In direct observations the most frequent errors identified were: improper patient identification (not labeling the sample at collection time 43%), improper mixing (61%), improper order of draw (12.5%), prolonged tourniquet application (26%) and improper use of gloves (16%).

Conclusions: The errors in the pre-analytical phase are partially caused by the lack of knowledge and application of the right procedures. Observation of the staff ensures that training programmes address the issues identified.

Keywords: training, pre-analytical phase, blood sampling.

P22. ERORI ANALITICE ALE HEMOGRAIMEI ÎN BOALA AGLUTININELOR LA RECE –PREZENTARE DE CAZ

Ionuț Vlad¹, Oana Oprea^{1,2}

¹ Spitalul Clinic Județean de Urgență Târgu Mureș, ² UMFST GE Palade Târgu Mureș

Introducere. Afecțiunea ce implică boala aglutininelor la rece (Cold agglutinin disease-CAD) este o boală hemolitică autoimună rară în care anticorpuri IgM pentru antigenii de suprafață ai eritrocitelor sunt activați de temperaturile scăzute. În cadrul CAD rezultatele analizelor de laborator pot fi afectate și nu reflectă starea de facto a pacientului. Prezentarea are ca obiectiv sensibilizarea audienței privind erorile analitice care apar în această afecțiune, prin prezentarea unui caz de CAD și a erorilor în determinarea hemogramei automate.

Metode. Pacientă în vîrstă de 30 ani s-a prezentat la UPU-SMURD din cadrul SCJU Târgu Mureş acuzând, parestezii ale extremităților membrelor la frig , amețeli și oboseală care se ameliorează la cald. Din antecedente reținem sarcină în 6 săptămâni și schizofrenie paranoidă diagnosticată de aproximativ 5 ani. Sâangele recoltat în eprubeta cu K3EDTA a fost prelucrat pe două echipamente de hematologie. În urma rezultatelor contradictorii cu starea pacientei (Hemoglobină: 2,9g/dL, număr hematit: $0,64 \times 10^6/\text{ul}$) s-a solicitat repetarea recoltării. În urma repetării rezultatele au fost similare, ceea ce a dus la o cercetare amănunțită a contextului clinic. S-a ridicat suspiciunea de CAD, ceea ce a impus încălzirea a sângelui la 37°C și repetarea hemoleucogrammei.

Rezultate. În urma procesării sângelui încălzit la o temperatură de 37°C rezultatele investigațiilor au fost concordante cu starea pacientei și s-a ridicat suspiciunea de CAD în buletinul de analize (Hb:14,1 g/dL; He: $4,67 \times 10^6/\text{ul}$).

Concluzii. Informarea laboratorului atunci când probele care urmează să fie utilizate provin de la pacienții cu/suspecții de CAD sau observarea de către medicul de laborator a rezultatelor neconcordante asigură eliberarea unor rezultate corecte care nu influențează negativ decizia clinică.

Cuvinte cheie: boala aglutininelor la rece, erori analitice, încălzirea sângelui.

ANALYTICAL ERRORS IN COLD AGGLUTININ DISEASE – CASE REPORT

Introduction. The cold agglutin-disease (CAD) is a rare hemolytical disease in which IgM type antibodies against erythrocyte surface antigens are activated by low temperatures. In CAD, laboratory results may be affected and they do not reflect the clinical state of the patient. The aim of this presentation is to raise awareness concerning the analytical errors that may occur in automatic determination of complete blood count determination in CAD patients.

Material and method. A 30-year-old female patient presented to the UPU-SMURD of SCJU-Târgu Mureș complaining of paresthesia of the extremities of the limbs, dizziness and fatigue that improved when in warm environment. History of paranoid schizophrenia diagnosed about 5 years ago is noted and she was 6-weeks pregnant. Blood was collected for complete blood count in K3 EDTA tube and was processed on two hematology instruments. Following conflicting results with the patient's clinical state (HGB: 2.9g/dL, RBC: $0.64 \times 10^6/\text{ul}$) a repeat collection was requested. Following repeat testing the results were similar, which led to a thorough investigation of the context of the patient's presentation and the suspicion of CAD was raised which necessitated the use of specific blood warming protocols.

Results. Following analysis of warmed blood to 37°C , the results of the investigations were consistent with the patient's condition (HGB:14.1 g/dL; RBC: $4.67 \times 10^6/\text{ul}$) and the suspicion of CAD was raised and noted in the results form.

Conclusions. Informing the laboratory when samples are collected from patients with or suspected of CAD or the close observation of the conflicting results by the laboratory staff during processing will lead to accurate results that support the clinical decision.

Keywords. Cold agglutinin disease, analytical errors, warmed blood.

P23. EVALUAREA PROFILULUI IMPRECIZIEI DE DETERMINARE A CREATININEI PE ECHIPAMENTUL ARCHITECT C4000, IN LABORATORUL DE URGENTA AL SSCJU TARGU MURES

Ramona Ancuța Simionese¹, Oana Oprea^{1,2}

¹Spitalul Clinic Județean de Urgență Târgu Mureș

²UMFST GE Palade Târgu Mureș

Introducere. Performanța unei metode poate suferi modificări față de momentul inițial al evaluării astfel încât aceasta să îndeplinească diferite standarde de performanță. Scopul studiului a fost observarea în timp a coeficientului de variație analitic (CV%) al creatininei ca indicator al impreciziei metodei.

Material și metodă. Au fost utilizate aproximativ 200 de determinări/nivel control în 3 perioade de timp: aprilie-mai 2018, aprilie-mai 2019, decembrie 2020-ianuarie 2021. Calculele pentru deviația standard și CV% au fost efectuate automat de soft-ul de operare al echipamentului Architect c4000. Rezultatele obținute la CV% au fost comparate cu specificațiile de performanță ale producătorului și cerințele ghidurilor clinice.

Rezultate. CV% obținut la creatinină se încadrează la nivelul 2 atât în specificațiile de performanță ale producătorului cât și în specificațiile minime de performanță pentru creatinină de 4.5% și cele optime de 3% pe toată perioada analizată. CV% în cazul nivelului 1 s-a îmbunătățit considerabil în timp: în anul 2018 rezultatele nu s-au încadrat în specificațiile de performanță ale producătorului dar în anul 2019, performanța testului s-a îmbunătățit și s-a încadrat în aceste specificații. În anul 2021, CV% a scăzut sub nivelul de 3%, care corespunde nivelului optim recomandat pentru creatinină.

Concluzii. În ciuda faptului că este un parametru stabil atât în serurile de control cât și in vivo, în timp performanța metodei de determinare a creatininei se poate modifica sub influența altor factori. Monitorizarea continuă și compararea CV% poate ajuta la depistarea cauzelor și a celor factori care cresc imprecizia metodei astfel încât performanța metodei să se îmbunătățească.

Cuvinte cheie. coeficient de variație, imprecizie, creatinină.

IMPRECISION PROFILE EVALUATION OF CREATININE MEASUREMENT ON ARCHITECT C4000 AUTOANALYZER IN EMERGENCY LABORATORY OF EMERGENCY DISTRICTUAL HOSPITAL TARGU MURES

Introduction: The performance of a method may change from the initial evaluation and different performance characteristics are met. The aim of this study was the evaluation of analytical coefficient of variation (CV%) in time as an indicator of the imprecision.

Material and methods. The control results from three periods were assessed: April-May 2018, April-May 2019 and December 2020-january 2021. The values for CV% and standard deviation were performed by the instrument's software (Architect c4000) using about 200 control results/ period/level. The results were compared with manufacturer's performance characteristics and with clinical guidelines.

Results. The analytical CV% for level 2 met the manufacturer's performance characteristics and with clinical minimum (4.5%) and optimal (3%) guidelines for creatinine. The analytical CV% for level 1 although initially in 2018 did not meet the performance characteristics was lower in 2019 (under 6%). The performance of the method was higher in 2021 when the manufacturer's performance characteristics and clinical guidelines were also met for level 1.

Conclusions. Despite the fact that the creatinine is a stable parameter in control serum and in vivo, the performance of the method may be modified in time by other factors. Continuous observation and comparison of the analytical CV% may help in detecting the factors that increase the imprecision.

Keywords. coefficient of variation, imprecision, creatinine.

P24. EVALUAREA COMPARABILITĂȚII ANALIZORULUI ALINITI HQ CU SYSMEX XT-4000I ÎN LABORATORUL DE URGENȚĂ AL SCJU TARGU MURES

Elena-Cristina Preda¹, Andreea Elena Ciobanu¹, Oana Oprea^{1,2}

¹ Spitalul Clinic Județean de Urgență Târgu Mureș

² UMFST Târgu Mureș

Introducere: De fiecare dată când un laborator trebuie să înlocuiască o metodă de analiză veche cu una nouă, este necesară măsurarea și înțelegerea diferențelor dintre cele două instrumente. Studiul își propune compararea rezultatelor hemoleucogrammei dintre două analizoare, Alinity hq și Sysmex XT-4000i, în vederea elaborării unui protocol de lucru pentru utilizarea Alinity hq ca instrument de rutină în Laboratorul de Urgență al Spitalului Clinic Județean de Urgență Târgu Mureș.

Metodologie: Studiul a cuprins două etape, 422 respectiv 415 probe, diferențiate de efectuarea unor reglaje de tip fine-tuning. Probele au fost prelucrate pe cele două analizoare în mai puțin de 4 ore de la recoltare, stocarea și transportul acestora realizându-se la temperaturi de 18-25°C. Metoda de referință a fost considerată cea de pe Sysmex XT-4000i. Rezultatele au fost analizate statistic cu metoda Bland-Altman și regresia liniară.

Rezultate: Faza I-Media diferențelor Bland-Altman– eritrocite $0,06 \times 10^6/\mu\text{L}$; leucocite $0,2 \times 10^3/\mu\text{L}$; trombocite $5,8 \times 10^3/\mu\text{L}$; hematocrit(HTC) 0%; hemoglobina(HGB) 0,08g/dL; volum eritrocitar mediu(MCV) -0,9 fL; hemoglobina eritrocitară medie(MCH) -0,65pg; concentrația medie de hemoglobină eritrocitară(MCHC) -0,4g/dL.

Faza II-Media diferențelor– eritrocite $0,07 \times 10^6/\mu\text{L}$; leucocite $0,03 \times 10^3/\mu\text{L}$; trombocite $0,3 \times 10^3/\mu\text{L}$; HTC -0,2%; HGB -0,09g/dL; MCV -2 fL; MCH -0,84pg; MCHC -0,2g/dL.

Concluzii: Studiul a relevat unele diferențe semnificative statistic între cele două analizoare, dar acestea nu au semnificație clinică. Așadar, Alinity hq poate ajuta la eficientizarea fluxului de lucru în laborator, rezultatele între cele două echipamente fiind comparabile.

EVALUATION OF COMPARABILITY BETWEEN ALINITI HQ AND SYSMEX XT-4000I IN THE EMERGENCY LABORATORY OF EMERGENCY HOSPITAL TARGU MURES

Introduction: Each time a laboratory has to evaluate or replace an old method of analysis with a new one, the differences between the two instruments must be measured and understood. The aim of this study was to compare the Cell Blood Count (CBC) methods of two analyzers, Alinity hq and Sysmex XT-4000i, in order to develop a protocol for using the Alinity hq analyzer as a routine instrument.

Methodology: The study was divided into two phases (442 and 415 samples) separated by fine-tuning adjustments. The whole blood samples were analyzed on both instruments in less than 4 hours after collection. The samples were stored and transported at 18-25 °C. The reference method was Sysmex XT-4000i. Statistical analysis consisted of Bland-Altman test and linear regression.

Results: Phase I-mean of differences: erythrocyte $0.06 \times 10^6/\mu\text{L}$, leukocytes $0.2 \times 10^3/\mu\text{L}$, platelets $5.8 \times 10^3/\mu\text{L}$, hematocrit (HTC) 0%, hemoglobin (HGB) 0.08 g/dL, mean corpuscular volume (MCV) -0.9 fL, mean corpuscular hemoglobin (MCH) -0.65 pg, mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC) -0.4 g/dL.

Phase II-mean of differences: erythrocytes $0.07 \times 10^6/\mu\text{L}$, leukocytes $0.03 \times 10^3/\mu\text{L}$, platelets $0.3 \times 10^3/\mu\text{L}$, HTC -0.2 %, HGB -0.09 g/dL, MCV -2 fL, MCH -0.84 pg, MCHC -0.2d/dL.

Conclusions: Statistically significant differences were found between the two analyzers in some parameters, however these are not clinically significant. Therefore, the two analyzers can be used routinely and improve the laboratory workflow.

P25. COMPARABILITATEA MESAJELOR DE ATENȚIONARE ALE ANALIZOARELOR DE HEMATOLOGIE SYSMEX XT-4000I ȘI ALINITY HQ IN LABORATORUL DE URGENTA AL SCJU TARGU MURES

Andreea Elena Ciobanu¹, Cristina Elena Preda¹, Oana Oprea^{1,2}

¹ Spitalul Clinic Județean de Urgență Târgu Mureș² UMFST George Emil Palade Târgu Mureș

Introducere: Metodele manuale de analiză a hemoleucogrammei au fost înlocuite odată cu apariția analizoarelor automate de hematologie. Majoritatea acestor analizoare sunt programate să identifice și să atenționeze prezența anomalilor parametrilor analizați sub forma mesajelor de alertă. Scopul acestui studiu este de a compara semnalarea anomalilor a două analizoare: Sysmex XT-4000i și Alinity hq în cadrul Laboratorului de urgență SCJU Târgu-Mureș.

Metode: Probele au fost evaluate în două etape: anterior unor ajustări tehnice de tipul fine tuning și ulterior acestor ajustări. Astfel, pe cele două analizoare s-au evaluat 442 de probe în prima etapă, respectiv 415 probe în cea de-a doua, probele fiind stocate și transportate către laborator la temperaturi de 18-25°C. Metoda de lucru a analizorului Sysmex XT-4000i a fost considerată drept metodă de referință.

Rezultate: În prima etapă, comparativ cu Sysmex XT-4000i, pentru Alinity hq s-au obținut: sensibilitate 89,06%, specificitate 48,16%, PPV 8,29%, NPV 98,82% la incidența de 5%, iar după excluderea mesajului "left shift" din analiză și setarea incidenței la 1%, o sensibilitate 74,19%, specificitate 86,79%, PPV 5,37%, NPV 99,7%. În a doua etapă: sensibilitate 27,63%, specificitate 95,67%, PPV 25,63%, NPV 96,71% la incidența de 5% iar după excluderea mesajului "left shift" și setarea incidenței la 1%, s-au obținut o sensibilitate 51,85%, specificitate 97,79%, PPV 19,13%, NPV 99,51%.

Concluzii: S-au observat diferențe în ceea ce privește sensibilitatea cu care analizoarele detectează anomaliiile de tip deviere la stânga a formulei leucocitare, cu o creștere a sensibilității și valorii predictive pozitive pentru Alinity hq comparativ cu Sysmex XT-4000i.

THE COMPARABILITY OF THE FLAGGING MESSAGES OF SYSMEX XT-4000I AND ALINITY HQ HEMATOLOGY INSTRUMENTS IN EMERGENCY LABORATORY OF EMERGENCY HOSPITAL TARGU MURES

Introduction: Manual methods for cell blood counting have been replaced by automated instruments. Most of these instruments identify and signal the presence of abnormalities as flagging messages. The aim of this study was to compare flagging messages of two instruments: Sysmex XT-4000i and Alinity hq in Emergency Laboratory of the Emergency County Hospital.

Methods: The samples have been evaluated in two stages prior and before fine tuning of the Alinity hq instrument. In the first stage 445 samples have been evaluated and 415 in the second one. All samples have been stored at 18-25°C. The Sysmex instrument was considered as reference.

Results: In the first stage a sensitivity of 89.06%, specificity of 48.16%, a Negative Predictive Value (NPV) of 98.92% and a Positive Predictive Value (PPV) of 8.29% were obtained for the Alinity hq at a 5% incidence. After the „left shift” message has been excluded from the statistics and a 1% incidence was selected a 74.19% sensitivity, 86.79% specificity, a NPV of 99.7% and a PPV of 5.37% were obtained. In the second stage with 5% incidence a sensitivity of 17.63%, specificity of 95.67%, a NPV of 96.71% and a PPV of 25.63% were obtained. After left shift flag was excluded and 1% incidence the results were: sensitivity 51.85%, specificity 97.79%, NPV 99.51% and PPV 19.13%.

Conclusion: Some differences in the sensitivity of the left shift flag signaling between the two instruments was observed. Higher sensitivity and PPV were observed in the Alinity Hq compared to Sysmex XT-4000i.

C32. ABORDAREA ALTERNATIVĂ A CONTROLULUI EXTERN AL CALITĂȚII

Oana Oprea^{1,2}

¹ UMFST GE Palade Târgu Mureș

² Spitalul Clinic Județean de Urgență Târgu Mureș

Introducere / Obiectiv: În cazul echipamentelor noi, obținerea de material biologic pentru participarea la scheme de evaluare externă a calității acreditate conform standardelor poate fi dificilă. Participarea la scheme de evaluare care nu oferă materiale biologice comutabile poate induce în eroare laboratorul. Standardul SR EN 15189:2013 permite abordarea alternativă a evaluării externe a calității. Scopul studiului a fost de a implementa abordarea alternativă în cazul unui echipament nou de hematologie.

Metode / Metodologie: Au fost recolțate câte 6 tuburi de sânge cu EDTA de la 4 voluntari sănătoși din care s-a efectuat hemoleucograma. Probele recolțate cu fost efectuate în laboratorul 1 și expediate ulterior în alte 5 laboratoare. Acestea au fost procesate în termen de 24 de ore, în unele laboratoare fiind rulate pe două echipamente în același tip, obținându-se în final 9 rezultate pentru fiecare probă. Rezultatele obținute au fost utilizate pentru calcularea mediei, deviației standard (DS) și a scorului Z pentru fiecare participant din grup.

Rezultate: Au fost calculate 540 de scoruri Z, din care 97,78% (528) au fost în intervalul +/-2; 2,22% (12) au fost între +/-3. Cel mai mare scor Z obținut a fost de +2,59 pentru Bazofile. Toate scorurile Z calculated au fost <+/-3.

Concluzii / Discuții: Abordarea alternativă a schemelor de control extern cu materiale comutabile poate ajuta laboratorul să îndeplinească cerințele Standardului 15189:2013 atunci când nu există furnizori care pot evalua separat grupul.

Cuvinte cheie: abordare alternativă, control extern, scor Z.

ALTERNATIVE APPROACH OF THE EXTERNAL QUALITY ASSESSMENT

Introduction / Objective: When new instruments are used, the samples used in external quality assessment (EQA) may lack commutability and may be difficult to obtain. Using samples that do not have commutability may mislead the laboratory staff. The ISO 15189:2013 Standard allows alternative schemes for EQA when accredited schemes are difficult to obtain. The aim of this study was to implement an alternative approach of EQA for a new hematology instrument.

Methods : Blood samples were collected from four healthy volunteers (six tubes each) using EDTA tubes. Samples were processed in Laboratory 1 and then sent in five other laboratories. The samples were performed within 24 hours, in some laboratories being processed on two instruments. A total of 9 results were obtained for each sample. The results were used to calculate the mean value, standard deviation and Z score for each participant.

Results: A number of 540 Z scores were calculated, out of which 97.78% (528) were lower than +/-2; 2.22% (12) were between +/-3. Highest Z score was +2.59 for Basophils percentage. All calculated Z scores were lower than +/-3.

Conclusion / Discussion: Alternative approach of the EQA schemes with commutabil materials may help the laboratory to comply with the ISO 15189:2013 Standard, mainly for new intruments, when a reliable group may not be available from accredited EQA programs.

Keywords: alternative approach, external quality assesment, Z score.

C33. METABOLOMICA ÎN STAREA DE SĂNĂTATE ȘI BOALĂ

Anca Alexandra Molnar¹, Adina Huțanu^{1,2}

¹ Spitalul Clinic Județean de Urgență Târgu Mureș, România

² Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie „George Emil Palade” din Târgu Mureș, România

Metabolomica poate fi un instrument versatil pentru identificarea și cuantificarea multiplilor metaboliti în diverse probe biologice, oferind oportunități pentru descoperirea de noi biomarkeri. O analiză aprofundată și corelarea cu datele furnizate de genomică, transcriptomică și proteomică ar permite atât identificarea unor căi ce stau la baza proceselor patologice cât și de noi biomarkeri utili pentru diagnostic, prognostic sau abordare terapeutică în diverse patologii. Pentru obținerea unor rezultate optime în vederea folosirii metabolomicii drept instrument de lucru pentru medicina personalizată, o serie de aspecte critice trebuie respectate. Acestea vizează atât faza preanalitică și problemele etice, cât și integrarea datelor și interpretarea acestora în contextul bolii. În prezentarea de față vor fi subliniați pașii considerați critici, de la designul experimental la recoltarea și pregătirea probelor, până la achiziția și analiza datelor. Este important de menționat că metodologia complexă, costurile ridicate ale instrumentelor analitice, precum și natura multidisciplinară a cercetării metabolomice, inclusiv analiza statistică laborioasă, fac această ramură dificil de abordat de către laboratoarele de cercetare sau cele de analize medicale de rutină.

Totodată vor fi trecute în revistă obstacolele majore în obținerea unor rezultate fiabile precum și abordarea acestora. Pe lângă aspectele etice privind schimbul de date, standardizarea procedurilor, analiza statistică sofisticată și interpretarea datelor reprezintă cele mai importante obstacole pentru această ramură din domeniul cercetării.

În ciuda aplicațiilor clinice limitate, metabolomica împreună cu genomica, transcriptomica și proteomică deschid noi posibilități de cercetare în domenii multiple precum oncologia, bolile metabolice înăscute sau cardio-cerebrovasculară, oferind oportunități pentru colaborări multidisciplinare.

Cuvinte cheie: metabolomica, medicina personalizată

METABOLOMICS IN HEALTH AND DISEASE

As a versatile tool for the identification and quantification of multiple metabolites in biological samples, metabolomics provides a new pathway for biomarkers discovery. Conversely, an in-depth analysis of these data in correlations with genomics, transcriptomics, and proteomics, would enable the identification of pathological pathways, as well as novel biomarkers for disease diagnosis, prognosis, or therapeutic approaches. For optimal results, the preanalytical phase, ethical issues, data integration, and interpretation are critical in providing the right instrument for metabolomics, as a tool for personalized medicine. From the experimental design to sample collection and preparation, followed by the data ac-

quisition and analysis, all important and critical steps will be summarized. Is important to mention that laborious laboratory methodology (LC/MS, GC/MS, NMR) high costs of analytical instruments as well as multidisciplinary nature of the metabolomics research, including a complex statistical analysis for metabolic pathways identification, make this branch much more difficult to approach by researchers or medical laboratories.

The major obstacles in obtaining reliable results, making the transition from the bench to the bedside, and how to overcome them will be also highlighted in this review. Besides the ethical aspects regarding data sharing, standardization, data analysis, and interpretation, sophisticated statistical tools for pathway analysis, are the most important hurdle for this research branch.

Despite their yet limited clinical applications, metabolomics together with genomics, transcriptomics, and proteomics open new avenues in many research fields but not limited to oncology, inherited metabolic disorders, stroke, and other cardiovascular diseases, and opens opportunities for multidisciplinary collaborations.

Keywords: metabolomics, personalized medicine

C34. RELATIA DINTRE ACIZII GRASI LIBERI SI SINDROMUL METABOLIC

Ioana Brudașcă^{1,2}

¹ Universitatea de Medicină și Farmacie Iuliu Hațieganu Cluj Napoca, România

² Spitalul Clinic Județean de Urgență Cluj, România

Sindromul metabolic reprezintă o asociere de trăsături care includ obezitate abdominală, dislipidemie aterogenă, hipertensiune arterială, rezistență la insulină ± tulburări de glicoreglare, status proinflamator și protrombotic. Subiecții cu obezitate abdominală prezintă nivele crescute ale acizilor grași liberi (AGL) în circulația portală, datorită sensibilității la lipoliza a β 3 adrenoceptorilor din țesutul adipos intraabdominal.

AGL sunt implicați prin multiple mecanisme în patogeneza sindromului metabolic.

AGL sunt asociați cu dislipidemia aterogenă, stimulând sinteza hepatică de particule VLDL conținând apoB; acestea suferă un proces complex de remodelare, mediat de proteina de transfer a esterilor de colesterol (CETP) prin care li se transferă esteri de colesterol de la HDL și LDL, la schimb cu trigliceridele. Particulele de HDL și LDL îmbogățite în trigliceride suferă acțiunea lipazei hepatice, rezultând particule aterogene de LDL mici și dense și particule de HDL mai mici și delipidate.

Rezistență la insulină mediată de AGL afectează hipotalamusul, ficatul, mușchii skeletici și țesutul adipos, prin mecanisme complexe ce implică și o reacție inflamatorie.

AGL stimulează sinteza hepatică de factor XIII, fibronectină, inhibitor al activatorului plasminogenului (PAI-1) și α_2 -antiplasmină, având ca efect o încetinire a fibrinolizei, favorizând astfel un status protrombotic.

Cuvinte cheie: acizi grași liberi, sindrom metabolic, obezitate abdominală

FREE FATTY ACIDS' RELATION TO METABOLIC SYNDROME

Metabolic syndrome represents a cluster of conditions including abdominal obesity, atherogenic dyslipidemia, raised blood pressure, insulin resistance ± glucose intolerance, proinflammatory and prothrombotic states. Individuals with abdominal obesity were shown to have increased levels of free fatty acids (FFA) in the portal flow, explained by an enhanced lipolysis caused by the increased sensitivity of the β_3 adrenoceptors within the intraabdominal adipose tissue.

Circulating FFA are related in multiple ways to the pathogenesis of metabolic syndrome.

FFA are related to atherogenic dyslipidemia, as they would trigger an enhanced hepatic synthesis of VLDL – apo B particles, which enter a complex remodelling process, involving transfer of cholesteroyl esters from the HDL and LDL towards VLDL in exchange for triglyceride, mediated by cholesteroyl transfer protein (CETP). The triglyceride enriched LDL and HDL are then acted upon by hepatic lipase (HL), resulting in atherogenic smaller and denser LDL and smaller less lipidated HDL particles.

FFA mediated insulin resistance affects the hypothalamus, the liver, the skeletal muscles, and the adipose tissue, through complex mechanisms involving an inflammatory response.

FFA were also shown to stimulate hepatic synthesis of factor XIII, fibronectin, plasminogen activation inhibitor (PAI-1) and α_2 -antiplasmin thus contributing to an impaired fibrinolysis and a subsequent prothrombotic state.

Keywords: free fatty acids, metabolic syndrome, abdominal obesity

C35 PREVALENȚA FACTORILOR DE RISC CARDIOMETABOLICI LA O POPULAȚIE DE MILITARI

Alina Mărginean¹, Mihaela Iancu²

¹ Spitalul Clinic Miliar de Urgență "Dr. Constantin Papilian" Cluj-Napoca, ² Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu", Departamentul de Informatică Medicală și Biostatistică, Cluj-Napoca

Introducere: Obiectivele studiului au fost evaluarea prevalenței unor factori de risc cardiometabolici, a frecvenței acestora în raport cu vârsta și genul și a asocierii lor într-o populație de militari activi.

Metodologie: Studiul transversal realizat pe un eșantion consecutiv de 641 militari care s-au prezentat în perioada Octombrie 2021–Ianuarie 2022, pentru controlul periodic, a presupus screeningul factorilor de risc cardiometabolici cu risc major (colesterolul total seric, trigliceridele serice, glicemia a jeun, tensiunea arterială sistolică și diastolică). Estimarea prevalentei factorilor de risc cardiometabolici s-a realizat cu un interval de încredere de 95% asociat frecvenței relative pe eșantion. Evaluarea asocierilor dintre factorii de risc cardiometabolici s-a realizat prin teste Chi-pătrat sau regresie logistică multiplă.

Rezultate: S-a observat o proporție mare a cazurilor cu glucoză a jeun modificată (72.23%, 95% IC: [68.76; 75.70]), cu hipercolesterolemie (47.89%, 95% IC: [44.03; 51.76]) și hipertrigliceridemie (25.12%, 95% IC: [21.76; 28.47]). Frecvența hipertrigliceridemiei ($p=0.005$), hipertensiunii arteriale ($p=0.002$), glucozei modificate a jeun ($p<0.001$) diferă semnificativ la bărbați și femei, riscul fiind mai

crescut la bărbați. Vârsta peste 40 ani s-a asociat semnificativ cu prezenta factorilor cardiometabolici, militarii peste 40 ani având un risc crescut de hipercolesterolemie (OR=2, 95% CI: 1.44-2.78), hipertrigliceridemie (OR=1.72, 95% CI: 1.19-2.48), glucoză modificată a jeun (OR=2.10, 95% CI: 1.43-3.13) și HTA (OR=2.21, 95% CI: 1.55-3.15). Conform analizei de regresie logistică, vârsta peste 40 ani și hipertrigliceridemia s-au dovedit a fi asociate în mod independent cu un risc semnificativ crescut al hipertensiunii arteriale la militarii activi (OR ajustat=2.00, 95% CI: 1.40-2.88, OR ajustat=2.05, 95% CI: 1.28-2.78).

Concluzii: Prevalența factorilor de risc cardiometabolici este mare pentru această categorie profesională.

Cuvinte cheie: factori de risc cardiometabolici

PREVALENCE OF CARDIOMETABOLIC RISK FACTORS IN A MILITARY POPULATION

Introduction: We evaluated the prevalence of a number of cardiometabolic risk factors, their frequency in relation to age and gender and the association between these risk factors in a military population.

Materials and methods: The cross-sectional study conducted on a consecutive sample of 641 military personnel who presented between October 2021 and January 2022 for regular monitoring, involved screening for high-risk cardiometabolic risk factors (total serum cholesterol, serum triglycerides, fasting blood glucose, systolic blood pressure and diastolic blood pressure). The estimation of the prevalence of cardiometabolic risk factors was assessed using 95% confidence interval (CI) associated with the sample relative frequency. Assessment of association between cardiometabolic risk factors was performed by Chi-squared tests or multiple logistic regression analysis.

Results: A high proportion of cases with altered fasting glucose (72.23%, 95% CI: [68.76; 75.70]), hypercholesterolemia (47.89%, 95% CI: [44.03; 51.76]) and hypertriglyceridemia (25.12%, 95% CI:[21.76; 28.47]) were observed. The frequency of hypertriglyceridemia ($p = 0.005$), hypertension ($p = 0.002$), modified fasting glucose ($p < 0.001$) differed significantly in men and women, the odds being higher in men. Age over 40 years was significantly associated with the presence of cardiometabolic factors, servicemen over 40 years of age having an increased odds of hypercholesterolemia (OR = 2.95%, 95% CI: 1.44-2.78), hypertriglyceridemia (OR = 1.72, 95% CI: 1.19-2.48) , modified fasting glucose (OR = 2.10, 95% CI: 1.43-3.13) and hypertension (OR = 2.21, 95% CI: 1.55-3.15). According to the logistic regression analysis, age over 40 years and hypertriglyceridemia were found to be independently associated with a significantly increased odds of hypertension in the active duty military personnel (adjusted OR = 2.00, 95% CI: 1.40-2.88, adjusted OR = 2.05, 95% CI: 1.28-2.78).

Conclusion: The prevalence of cardiometabolic risk factors is high for this professional category.

Keywords: cardiometabolic risk factors

C36. FASTING VERSUS RANDOM IN ANALIZA PARAMETRILOR DE LABORATOR

Minodora Dobreanu

Spitalul Clinic Județean de Urgență Târgu Mureș

Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie „George Emil Palade” Târgu Mureș

Lipsa de standardizare a unor componente pre-analitice neglijate de-a lungul timpului (în special pregătirea pacientului pentru analizele de rutină) conduce la erori în interpretarea rezultatelor de laborator, cu impact semnificativ asupra actului medical.

Propunerea grupului de lucru al Federației Europene de Medicină de Laborator (EFLM WG-PRE) pentru armonizarea recoltării testelor de rutină, conține cele mai importante componente în conceptul “fasting”:

1. Recoltarea în cursul dimineții în intervalul orar 7.00-9.00
2. Reținerea de la consumul de alimente - 12 ore / respectiv de la consumul de alcool - 24 ore, înaintea recoltării
3. Reținerea de la fumat și consum de cafea/ceai în dimineață respectivă, fără restricționarea consumului de apă.

După o masă standard / “obișnuită”, au fost înregistrate creșteri de maxim 50% pentru trigliceride, între 10-15% pentru AST/ALT, glicemie, K+, fosfați, bilirubină și sub 5% pentru proteine, albumină, colesterol, uree, acid uric, Ca, Na+, modificări care ar fi bine de cunoscut atunci când analizăm pacienți critici sau în urgență. Din considerente practice, dar și datorită faptului că în cazul parametrilor metabolismului glucidic și lipidic, concentrațiile optime/fiziologice în circulația sanguină nu sunt acelea din scurtele perioade “fasting”, ghidul actual de diagnostic al diabetului zaharat conține și praguri decizionale pentru valori “random/spontane” ale glicemiei. Pe de altă parte, studii multiple au arătat recent că dintre factorii majori de risc cardiovascular, hipercolesterolemia este subdiagnosticată și subtratată; corroborat cu faptul că nictemerale în ser concentrația colesterolului total și a fracțiunilor acestuia este relativ constantă, în ultimii ani societățile de profil recomandă și pentru parametrii metabolismului lipidic praguri diagnostice non-fasting/random. Vor fi discutate și prezentate aceste noi praguri decizionale.

Cuvinte cheie: non-fasting, random, triglyceride serice, colesterol, dislipidemii

FASTING VERSUS RANDOM IN LABORATORY PARAMETER ANALYSIS

The lack of standardization of over time neglected pre-analytical components (especially the patient's preparation for routine tests) leads to errors in the interpretation of laboratory results, with a significant impact on medical practice.

The proposal of the working group of the European Federation of Laboratory Medicine (EFLM WG-PRE) to harmonize the collection of routine tests, contains the most important components in the concept of “fasting”:

1. Harvesting during the morning between 7.00-9.00
2. Refraining from food consumption - 12 hours / respectively from alcohol consumption - 24 hours before harvest
3. Smoking and coffee / tea consumption cessation in the morning, without restricting water consumption.

After a standard / “regular” meal, there were increases of up to 50% for triglycerides, between 10-15% for AST / ALT, blood sugar, K+, phosphates, bilirubin and less than 5% for protein, albumin, cholesterol, urea, uric acid, Ca, Na+ - modifications which should be considered in patients from critical care or emergency units. For practical reasons, but also due to the fact that in the case of carbohydrate and lipid metabolism parameters, the optimal / physiological concentrations in the blood circulation are not those of the short “fasting” periods, the current diabetes diagnosis guide also contains decisional thresholds for “spontaneous” blood sugar levels. On the other hand, multiple studies have recently shown that among the major cardiovascular risk factors, hypercholesterolemia is underdiagnosed and undertreated; corroborated with the fact that the concentration of total cholesterol and its fractions in nictemeral serum is relatively constant, in recent years the profile companies recommend non-fasting / random diagnostic thresholds and for lipid metabolism parameters. These new decision-making thresholds will be discussed and presented.

Keywords: non-fasting, random, serum triglycerides, cholesterol, dyslipidemia

P26. ADIPONECTINA – UN POSIBIL BIOMARKER PENTRU SINDROMUL METABOLIC LA PACIENȚII CU OBEZITATE

Ivona Mitu¹, Manuela Ciocoiu¹, Ovidiu Mitu², Corina-Parascheva Ciobanu¹, Raluca-Ştefania Stănescu¹, Cristina-Daniela Dimitriu¹

¹Departamentul de Științe Morfo-Funcționale II, Universitatea de Medicină și Farmacie “Gr. T. Popa”, Iași

²Departamentul Medicale I, Universitatea de Medicină și Farmacie “Gr. T. Popa”, Iași

Introducere: Funcția endocrină a țesutului adipos poate explica căi metabolice implicate în sindromul metabolic, ce sunt încă insuficient detaliate în literatură. Adipokinele sunt hormoni importanți, secretați de către adipocite, care contribuie la înțelegerea mai bună a procesului inflamator, aterogenic sau diabetic al pacienților cu diferite fenotipuri ale obezității.

Material și metodă: Studiul de față este de tip cross-sectional și include 104 pacienți organizați în 4 grupuri, în funcție de IMC și sindromul metabolic: obezi metabolic sănătoși, obezi metabolic nesănătoși, non-obesi metabolic sănătoși și non-obesi metabolic nesănătoși. Statusul metabolic nesănătos prezintă sindromul metabolic, iar statusul metabolic sănătos nu. Obezitatea este definită de la o valoare a IMC $\geq 30 \text{ kg/m}^2$. La toți pacienții s-au efectuat investigațiile pentru criteriile sindromului metabolic, precum și dozări ale adiponectinei și leptinei.

Rezultate: Adiponectina, leptina și raportul adiponectină-leptină (RAL) prezintă valori semnificativ diferite între obezi și non-obesi, cu cea mai mare putere statistică atribuită parametrului RAL ($p<0.001$, $\eta^2=0.15$). Din cele 3 determinări, doar adiponectina rămâne statistic diferită atunci când comparăm valorile între obezii metabolic sănătoși și cei nesănătoși ($p=0.02$, $\eta^2=0.08$), fără diferențe semnificative între non-obzii metabolic sănătoși și cei nesănătoși ($p=0.459$). Studiul nostru raportează valori medii mai mari pentru adiponectină la obezii metabolic sănătoși față de cei nesănătoși (50.49 ± 19.75 vs. $39.89\pm14.98 \mu\text{g/mL}$), deși ambele grupuri prezintă valori similare ale IMC-ului.

Concluzie: La pacienții obezi metabolic sănătoși valorile adiponectinei descriu un proces inflamator redus față de pacienții obezi metabolic nesănătoși, explicând astfel statusul sănătos al acestora, deși obezitatea este instalată. Valoarea adiponectinei este statistic diferită doar între fenotipurile obeze și nu între cele non-obze, prin urmare putem concluziona că aceasta poate fi considerată un posibil biomarker pentru sindromul metabolic la pacienții cu $\text{IMC} \geq 30 \text{ kg/m}^2$.

Cuvinte cheie: adiponectină, leptină, sindrom cardio-metabolic

ADIPONECTIN AS A BIOMARKER FOR METABOLIC SYNDROME IN OBESE PATIENTS

Background: The endocrine function of the adipose tissue could explain pathways in metabolic syndrome (MetS) that are not yet well-defined. Adipokines are important hormones secreted by adipocytes that help in understanding the inflammatory, atherogenic or diabetic progress of patients with different obesity phenotypes.

Methods: Our cross-sectional study included 104 patients organized in 4 groups, based on BMI and MetS: metabolically healthy obese (MHO), metabolically unhealthy obese (MUO), metabolically healthy non-obese (MHNO), metabolically unhealthy non-obese (MUNO). The unhealthy metabolic status is characterized by the presence of MetS. Obesity is defined by a $\text{BMI} \geq 30 \text{ kg/m}^2$. All patients underwent adiponectin and leptin measurements, as well as MetS criteria investigations.

Results: Adiponectin, leptin and leptin-adiponectin ratio (LAR) were significantly different between obese and non-obese subjects, with the highest statistical power attributed to LAR ($p<0.001$, $\eta^2=0.15$). Of all the 3 measurements, only adiponectin remained statistically different when values were compared between MHO and MUO ($p=0.02$, $\eta^2=0.08$), with no significant difference between MHNO and MUNO ($p=0.459$). Our study also reported higher mean values for adiponectin in MHO than in MUO (50.49 ± 19.75 vs. $39.89\pm14.98 \mu\text{g/mL}$), even though both groups present similar BMI mean.

Conclusion: Adiponectin levels in MHO describe a reduced inflammation process compared to MUO, possibly explaining the healthier status of this phenotype. Since adiponectin levels are statistically different only between the obese phenotypes and not the non-obese ones, we can suggest that adiponectin may be considered a biomarker for metabolic syndrome in patients with $\text{BMI} \geq 30 \text{ kg/m}^2$.

Keywords: adiponectin, leptin, cardio-metabolic syndrome

C37. UTILITATEA UNOR NOI BIOMARKERI ÎN BOALA ISCHEMICĂ PLACENTARĂ

Raluca Ștefania Stănescu¹, Elena Petrescu-Dănilă¹, Corina Ciobanu¹, Gabriela Bordeianu¹, Ivona Mitu¹, Daniela Cristina Dimitriu^{1,2}

¹ Universitatea de Medicină și Farmacie "Grigore T. Popa" din Iași

² Spitalul de Obstetrică și Ginecologie "Cuza Vodă" Iași

Introducere: Termenul de boală ischemică placentară (BIP) reunește trei sindroame obstetricale: preeclampsia (PE), restricția de creștere intrauterină (RCIU) și decolarea de placentă normal inserată/abruptio placentae (AP). Nevoia de diagnostic și depistare precoce a generat o investigație intensă pentru identificarea unor markeri de laborator de încredere. Disfuncția endotelială și inflamația locală sunt considerate elemente centrale în patogenia bolii ischemice placentare. Aceste procese sunt mediate de molecule de adeziune intercelulară, care includ molecula de adeziune a celulelor vasculare-1 (VCAM-1), molecula de adeziune intercelulară solubilă-1 (sICAM-1) și E-selectina. Acestea li se adaugă ca ținte de investigare lungimea telomerilor și ADN-ul circulant fetal (cffDNA). Telomerii sunt structuri nucleoproteice, care constau din repetiții ale unei secvențe de șase baze - TTGAGG, asociate cu proteine, situate la capătul cromozomilor. Telomerii se scurtează cu fiecare diviziune celulară, iar lungimea telomerilor este considerată un marker al senescenței. În preeclampsie și în restricția de creștere intrauterină a fost observat un proces de senescență placentară prematură, studiile raportând prezența telomerilor scurți și a unui număr crescut de agregate telomerice. ADN-ul fetal liber circulant este definit ca fiind ADN-ul fetal care circulă liber prin fluxul sanguin matern. El provine din celulele placentare apoptotice (trofoblaste) derivează din embrion. Numeroase studii indică creșterea concentrației cffDNA în plasma gravidelor ce dezvoltă anumite patologii mai ales PE.

Concluzii: Pe lângă investigațiile acestui grup de biomarkeri, sunt necesare mai multe studii pentru a stabili o combinație de markeri și algoritmi de diagnosticare care să permită prevenția și detectarea precoce a bolii placentare ischemice.

Cuvinte cheie: boală ischemică placentară, telomeri, cffADN

THE ROLE OF NOVEL BIOMARKERS IN ISCHEMIC PLACENTAL DISEASE

Introduction: The syndrome of ischemic placental disease (IPD) includes preeclampsia, intrauterine growth restriction (IUGR) and placental abruption. The need for prediction and early diagnosis generated a quest for reliable laboratory markers. The pathogenesis of the syndrome is characterized by endothelial dysfunction and local inflammation. These processes are mediated by intercellular adhesion molecules, which include the vascular cell adhesion molecule-1 (VCAM-1), the soluble intercellular adhesion molecule-1 (sICAM-1) and E-selectin. Other investigational targets include telomeres length and cell-free fetal DNA (cffDNA). Telomeres are nucleoprotein structures, which consist of the *six-base repeating sequence* TTGAGG, associated with proteins, located at the end of chromosomes. Telomeres shorten with each cell division and telomeres length is considered a marker of senescence. Premature placental senescence was observed in preeclampsia and intrauterine growth restriction, with studies reporting short telomeres and increased telomeres aggregates. Cell-free fetal DNA is defined as fetal DNA that circulates

freely through maternal bloodstream. It originates from apoptotic placental cells (trophoblasts) derived from the embryo. Several researches indicated an increase of circulating cffDNA in maternal plasma in certain pathological conditions during pregnancy, such as preeclampsia.

Conclusions: Besides the investigation of this group of biomarkers, more studies are necessary, to establish a marker combination and diagnostic algorithms that would allow prevention and early detection of ischemic placental disease.

Keywords: ischemic placental diseases, telomeres, cffDNA

P27. CALITATEA MATERIALULUI SEMINAL AL PARTENERILOR MASCULINI DIN CUPLURILE INFERTILE DIN REPUBLICA MOLDOVA

Stela Racoviță¹, Veaceslav Moșin¹, Svetlana Capcela¹, Eusebiu Vlad Gorduza², Mariana Sprincean¹

¹. “Nicolae Testemitanu” State University of Medicine and Pharmacy, Republic of Moldova

². “Grigore T. Popa” University of Medicine and Pharmacy Iași, Romania

Introducere/Obiectivul: este de a evalua indicatorii materialului seminal ai partenerilor de sex masculin din cuplurile infertile, pentru a aprecia statutul actual al contribuțiilor factorului masculin la infertilitate în țara noastră.

Metode / Metodologie: Acesta studiu a cuprins evaluarea indicatorilor materialului seminal a 5820 de parteneri de sex masculin din cupluri infertile. Toate probele de spermă au fost colectate după o perioadă recomandată de abstinență sexuală de 3 până la 5 zile. Analiza spermogrammei a fost efectuată prin metoda computerizată pe analizorul automat SQA IIC-P (Medical Electronic Systems, SUA). Evaluarea spermogrammei a fost efectuată conform Manualului de laborator al OMS pentru examinarea și prelucrarea spermei umane, ediția a 5-a, 2010.

Rezultate: Din numărul total de 5820 bărbați examinați, 2274 (39,6%) au prezentat valori normale ale spermei – normozoospermie, iar 3546 (60,4%) au prezentat parametrii anormali ai spermei. Dintre cele anormale cele mai frecvente au fost astenozoospermia înregistrată la 1784 (30,1%) bărbați, urmată de oligozoospermia diagnosticată la 1424 bărbați (24,3%). Azoospermia a fost găsită la 243 de bărbați cu o prevalență estimată la 4,3%. Oligoastenoteratozoospermia a fost diagnosticată la 1,3% și necrozoospermia la 0,3%. Proporția bărbaților cu un număr normal de spermatozoizi a scăzut de la 51,0% la 34,8%, cu o rată medie de scădere de 3,5% pe an (Spearman ρ : -0,80, p :0,01).

Concluzii/Discuții: Acest studiu a arătat o rată ridicată a calității anormale a spermei (60,4%) partenerilor de sex masculin din cuplul infertil și că calitatea spermei s-a deteriorat de-a lungul anilor. Aceasta este un indiciu al necesității de a se concentra pe programul de management și prevenire a infertilității masculine în țara noastră.

Cuvinte cheie: analiza spermogrammei, parametrii spermei, infertilitate, parteneri masculini

SEmen QUALITY OF MALE PARTNERS OF INFERTILE COUPLES IN REPUBLIC OF MOLDOVA

Introduction/Objective: is to evaluate seminal fluid indicators of male partners of infertile couples, to assess the current status of male factor contributions to infertility in our country.

Methods / Methodology: This study included the evaluation of semen indicators of 5820 male partners in infertile couples. All semen samples were collected after a recommended period of sexual abstinence of 3 to 5 days. The spermogram analysis was performed by the computerized method on the automated analyzer SQA IIC-P (Medical Electronic Systems, USA). Semen analysis was performed according to the WHO Laboratory Manual for the Examination and Processing of Human Semen, 5th edition, 2010.

Results: Of the total number of 5820 men examined, 2274 (39.6%) presented normal values of semen – normozoospermia, and 3546 (60.4%) showed abnormal semen parameters. Among the most common abnormalities were asthenozoospermia recorded in 1784 (30.1%) men, followed by oligozoospermia diagnosed in 1424 men (24.3%). Azoospermia was found in 243 men with an estimated prevalence of 4.3%. Oligoasthenoteratozoospermia was diagnosed in 1.3% and necrozoospermia in 0.3%. The proportion of men with a normal sperm count decreased from 51.0% to 34.8%, with an average decrease rate of 3.5% per year (Spearman ρ : -0.80, p :0.01).

Conclusions / Discussions: This study showed a high rate of abnormal sperm quality (60.4%) of male partners in the infertile couple and that sperm quality has deteriorated over the years. This is a strong indication for necessity to focus on the management and preventive program for male infertility in our country.

Keywords: semen analysis, semen parameters, infertility, male partners

C38.FRECVENTĂ ALELELOR HLA ÎN POPULAȚIA DIN TRANSILVANIA COMPARATIV CU ALTE POPULAȚII EUROPENE

Horea Vlad Matei^{1,2}, Mihaela Elvira Vușcan^{1,2}, Costel Vasile Siserman^{2,3}, Mihaela Laura Vică^{1,2}

¹*Disciplina de Biologie celulară și Moleculară, Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațegani”, Cluj-Napoca*

²*Institutul de Medicină Legală, Cluj-Napoca*

³*Disciplina de Medicină Legală, Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațegani”, Cluj-Napoca*

Introducere: Antigenul leucocitar uman (HLA), un complex de gene dispus pe brațul scurt al cromosomului 6, având rol în imunitate, este cea mai polimorfă regiune din genomul uman. Există numeroase studii privind asocieri între profilul HLA și predispoziția pentru anumite boli, precum și studii pentru stabilirea unor relații genetice între diferite populații pe baza profilului HLA. Scopul acestui studiu a fost determinarea frecvențelor alelelor HLA din clasele I (A, B, C) și II (DRB1) într-un lot populational din Transilvania, Romania și compararea acestora cu cele raportate în Europa.

Material și metodă: Au fost introduse în studiu 2794 de persoane, voluntari înscriși în Registrul Donatorilor de Măduvă Osoasă din România, la Institutul de Urologie și Transplant Renal din Cluj-Napoca și persoane neînrudite supuse testării pentru paternitate la Institutul de Medicină Legală din Cluj-Napoca. De la fiecare persoană s-au extras câte 2 ml sânge venos periferic, s-a făcut extracția ADN-ului și apoi tiparea HLA prin amplificarea ADN-ului utilizând tehnici Single Specific Primer -Polymerase Chain Reaction (SSP-PCR) și Polymerase Chain Reaction - Sequence-Specific Oligonucleotides (PCR-SSO).

Rezultate: Populația studiată a fost foarte heterogenă, cele mai frecvente alele fiind A*02 (0,27%), B*35 (0,14%), C*07 (0,25%) și DRB1*11 (0,19%). Cel mai frecvent haplotip a fost A*01-B*08-C*07-DRB1*03 (1,26%). Rezultatele obținute prin comparațiile făcute cu alte populații europene au indicat că cele mai apropiate genetic de populația transilvăneană sunt cele din Serbia, Țara Românească, Ungaria și Croația.

Concluzii: Prin acest studiu s-a creat o baza de date utilă pentru studii genetice ulterioare privind populația din țara noastră.

Cuvinte cheie: profil HLA, frecvența alelor, grup populațional

HLA ALLELES FREQUENCY IN A TRANSYLVANIAN POPULATION GROUP COMPARED TO OTHER EUROPEAN POPULATIONS

Introduction: The Human Leukocyte Antigen (HLA), a complex of genes distributed on the short arm of chromosome 6 playing an important role in immunity, is the most polymorphic region in the human genome. There are many studies on the associations between the HLA profile and the predisposition to certain diseases, as well as on the genetic relationships between different populations based on their HLA profile. The aim of this study was to determine the frequencies of the HLA alleles classes I (A, B, C) and II (DRB1) in a population group from Transylvania, Romania, and to compare them with those reported for other European populations.

Material and methods: 2794 volunteers registered in the Romanian Bone Marrow Donor Registry by the Institute of Urology and Renal Transplant in Cluj-Napoca and unrelated persons undergoing paternity testing at the Institute of Forensic Medicine in Cluj-Napoca were enrolled in the study. 2 ml of peripheral venous blood were harvested from each person, DNA was extracted and amplified using the Single Specific Primer -Polymerase Chain Reaction (SSP-PCR) and Polymerase Chain Reaction - Sequence Specific oligonucleotides (PCR-SSO) techniques.

Results: The studied population was extremely heterogeneous, the most frequent alleles being A*02 (0.27%), B*35 (0.14%), C*07 (0.25%) and DRB1*11 (0.19%). The most common haplotype was A*01-B*08-C*07-DRB1*03 (1.26%). Comparisons with other European populations indicated that the Transylvanian population is genetically related to those from Serbia, Wallachia, Hungary and Croatia.

Conclusions: This study provides a useful database for further genetic studies on the Romanian population.

Keywords: HLA profile, allele frequency, population group

C 39. PREDICTION OF SUICIDAL BEHAVIOR BY HLA TYPING

Mihaela Elvira Vușcan^{1,2}, Mihaela Laura Vică^{1,2}, Ștefana Bâlici¹, Gheorghe Zsolt Nicula¹, Sergiu Ionică Rusu³, Costel Vasile Siserman^{2,4}, Horia George Coman⁵, Horea Vladi Matei^{1,2}

¹*Disciplina de Biologie Celulară și Moleculară, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu", Cluj-Napoca*

²*Institutul de Medicină Legală, Cluj-Napoca, ³Școala Doctorală de Sociologie, Universitatea „Babeș Bolyai”, Cluj-Napoca*

⁴*Disciplina de Medicină Legală, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu", Cluj-Napoca*

⁵*Disciplina de Psihologie Medicală, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu", Cluj-Napoca*

Introducere: Extrem de polimorful Complex Major de Histocompatibilitate este asociat diferitor boli psihice despre care se știe că influențează devastatorul fenomen al sinuciderii. Scopul acestui studiu a fost identificarea alelelor și a genotipurilor HLA de clasa II susceptibile să influențeze comportamentul suicidat.

Material și metode: S-au recoltat probe de sânge venos (2 mL) de la 110 pacienți psihiici cu antecedente de comportament suicidat internați la Clinica de Psihiatrie III a Spitalului Județean de Urgență Cluj și de la 317 subiecți de control neînrudiți din Cluj și județe limitrofe transilvănene supuși unor teste de paternitate la Institutul de Medicină Legală din Cluj-Napoca. Folosind kituri comerciale, ADN-ul extras a fost amplificat folosind tehnica SSP-PCR.

Rezultate: Pe baza analizei statistice efectuate folosind un software Epi Info™, am constatat că alelele HLA-DQB1*02, *03 și *06, genotipurile DQB1*02/*03, DQB1*02/*06, DRB1*12/*15 și DRB1*07/*13, precum și haplotipurile DRB1*07~DQB1*06 și DRB1*13~DQB1*02 sunt susceptibile să favorizeze un comportament suicidat, în timp ce alele HLA-DQB1*04 și DQB1*13, genotipurile DQB1*02/*05, DQB1*03/*05 și haplotipul DRB1*13~DQB1*03 au un rol protector împotriva dezvoltării unui astfel de comportament. Alelele DRB1*14 și DRB1*15 au fost asociate semnificativ cu consumul de droguri în grupul nostru de pacienți psihiici.

Concluzii: Identificarea markerilor biologici care influențează comportamentul suicidat este benefică în implementarea inițiativelor de prevenire a sinuciderii atât de necesare.

Cuvinte cheie: alele HLA, comportament suicidat, prevenție

PREDICTION OF SUICIDAL BEHAVIOR BY HLA TYPING

Introduction: The highly polymorphic Major Histocompatibility Complex is linked to various psychiatric diseases that were found to influence the devastating suicide phenomenon. The aim of this study was to identify HLA class II alleles and genotypes susceptible to influence the suicidal behavior.

Material and methods: Venous blood samples (2 mL) were collected from 110 psychiatric patients with a history of suicidal behavior admitted to the Psychiatric Clinic III of the Cluj County Emergency Hospital and 317 unrelated controls from Cluj and neighboring Transylvanian counties subjected to pa-

ternity testing at the Institute of Legal Medicine in Cluj-Napoca. Using commercial kits, the extracted DNA was amplified using the single specific primer-PCR (SSP-PCR) technique.

Results: Based on statistical analysis performed using an Epi Info™ software, we found that the HLA-DQB1*02, *03 and *06 alleles and the DQB1*02/*03, DQB1*02/*06, DRB1*12/*15 and DRB1*07/*13 genotypes, as well as the DRB1*07~DQB1*06 and DRB1*13~DQB1*02 haplotypes, are susceptible to favor a suicidal behavior, while the HLA-DQB1*04 and DQB1*13 alleles, the DQB1*02/*05, DQB1*03/*05 genotypes and the DRB1*13~DQB1*03 haplotype played protective roles against developing such behavior. DRB1*14 and DRB1*15 alleles were significantly associated with the consumption of illegal substances in our group of psychiatric patients.

Conclusion: Identifying biological markers influencing the suicidal behavior is beneficial in implementing much needed suicide prevention initiatives.

Keywords: HLA alleles, suicidal behavior, prevention

C40. PROGRAMAREA BIOMIMETICĂ A CARACTERISTICILOR BIOMATERIALELOR PE BAZĂ DE MODELARE ȘI STUDII EXPERIMENTALE

Diana Portan*, Despoina Deligianni, Demosthenes Polyzos

Dept. de Inginerie Mecanică și Aeronautică, Universitatea din Patra, Panepistimioupoli 26504, Patra, Grecia

Introducere: Țesuturile sunt ingenios asamblate în structuri stratificate cu activitate multifuncțională ce activează în mediu umed. Diverse eforturi sunt făcute pentru a reproduce parțial componente ale țesutului osos. În această privință, structuri hibride complexe care să conțină ambele faze, respective cea biologică și cea materială, sunt scopul suprem la momentul actual.

Metode: În prezenta investigație, modelarea a fost utilizată pentru a evalua tipul de interacțiune între diverse biomateriale sintetice și țesutul osos. Experimental, au fost investigate procese și indici ce arată dezvoltarea corespunzătoare a celulelor osoase, precum și morfologia, viabilitatea, nivelurile de fosfatază alcalină și de proteină totală când acestea sunt în contact cu suprafețe plane sau cu structuri tip grefe 3D printate și electrofilete.

Rezultate: Unul dintre parametrii cheie care determină interdependența dintre populația celulară și substrat este zona de interfață ce se crează între ele. Grefele 3D produse cu tehnologii moderne au arătat rezultate superioare în cee ace privește răspunsul celular, comparativ cu alte tipuri de materiale. Investigația experimentală a oferit informații importante legate de răspunsul celular la caracteristicile specifice ale grefelor investigate.

Concluzii: Proprietățile graduale sunt extrem de importante pentru a asigura un micro-mediu ideal pentru dezvoltarea populațiilor de celule osoase. Rezultatele au fost comparate și asociate pentru a genera soluții legate de trăsăturile biomimetice necesare ce pot induce răspunsul optim în celulele ososase, atât in vitro cât și in vivo.

Aprecieri: Către ‘Hellenic Foundation for Research and Innovation (HFRI)’, Acronym project: COMPACT Nr. 2060

BIOMIMETIC PROGRAMMING OF BIOMATERIAL FEATURES BASED ON MODELING AND EXPERIMENTAL APPROACHES

Introduction: Tissues are ingeniously assembled in stratified structures which can perform multi-functionally in a humid environment. Several efforts are being made to partially reproduce bone tissue components. In this direction, complex hybrid structures that imply both biological and material phases are the cutting-edge trend now.

Methods: Within the present investigation, modeling has been used to evaluate the type of interaction between several synthetic biomaterials and osseous tissues. Experimentally, processes and markers indicating bone cells appropriate development, morphology, viability, alkaline phosphatase, and total protein when in contact with flat and 3D structures electrospinnig and 3D printing scaffolds were investigated.

Results: One of the key parameters that modulates cell population and substrate interaction is the interphase that is created between them. For the development of osteoblast cells, 3D scaffolds produced by novel manufacturing technologies showed superior outcome comparing to the other materials. The experimental investigation gave valuable information on cells feedback to specific scaffold features.

Conclusions: The main conclusion was that graded properties are crucial to assure ideal microenvironment for bone cell populations. Results were compared and associated to generate solutions related to the required biomimetic features that can enable best feedback in bone cells, both in vitro and in vivo.

Acknowledgements: To the ‘Hellenic Foundation for Research and Innovation (HFRI), Project Acronym: COMPACT, Project no. 2060.

C41. TESTE LIMFOCITARE *EX VIVO / IN VITRO* PENTRU GHIDAREA TERAPIEI PERSONALIZATE

Minodora Dobreanu^{1,2}, Doina Manu², Ion-Bogdan Mănescu¹, Adina Huțanu^{1,2}, Rodica Bălașa¹

¹ Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie „George Emil Palade” Târgu Mureș

² Centrul de Cercetări Avansate Medicale și Farmaceutice, Universitatea de Medicină, Farmacie, Știință și Tehnologie George Emil Palade, Tîrgu Mureș, Romania

Răspunsul individual la terapie este un concept actual al medicinei de precizie care urmărește identificarea strategiilor terapeutice eficiente pentru fiecare pacient și ghidarea deciziilor clinice în mod special în oncologie, dar și în adaptarea terapiei în diverse patologii incurabile.

Capacitatea de a produce citokine a celulelor monocleare din sângele periferic activate, poate fi utilizată pentru a caracteriza răspunsul limfocitelor în diverse patologii.

Va fi demonstrat un model experimental pentru studierea efectului citotoxic și imunomodulator al cladribinei la pacienți cu scleroză multiplă (SM). Modificarea imunofenotipului de suprafață și secretor al subseturilor de limfocite Th17 este analizat după activare *ex vivo* și *in vitro* cu PMA/ Io/Mo și CD3/CD28 a limfocitelor T selectate în urma tratamentului, utilizând citometria în flux multiparametrică de înaltă performanță și tehnologia xMAP. Subseturile de limfocite T au dovedit o capacitate de răspuns

diferită datorită selectivității acțiunii cladribinei, la unii pacienți conducând la supraviețuirea și chiar proliferarea subseturilor limfocitare cunoscute ca patogene în SM (Th17 și Th17.1).

Stratificarea optimă a pacienților este de o reală importanță în era medicinei de precizie, iar răspunsul individual la tratament poate fi predictibil utilizând teste funktionale ale celulelor mononucleare din sângele periferic. Modelul experimental propus de noi este unul promițător pentru predictia raspunsului individual la terapie al pacientilor cu SM.

Cuvinte cheie: medicina personalizată, teste funktionale medicamentoase, imunofenotipuri celulare T

EX VIVO / IN VITRO LYMPHOCITE TESTS FOR FUNCTIONAL THERAPY RESPONSE PREDICTION

Individual therapy response is an approach of precision medicine that seeks to identify effective therapeutic strategy for every patient and to guide clinical decision making especially in oncology but also for tailoring therapy of incurable diseases.

Cytokine production capacity can be driven by the methods chosen for experimental peripheral blood mononuclear cells activation, with practical implications in studies characterizing lymphocyte responses in various diseases.

An experimental model will be demonstrated for studying the cytotoxic and immunomodulatory effect of cladribine in multiple sclerosis (MS) patients. Surface and secretory immunophenotype changes of surviving Th17 cell subsets are analyzed after *ex vivo* and *in vitro* PMA/Io/Mo and T-cell receptor (CD3/CD28) activation, using highly performant multiparametric flow cytometry and xMAP technology. T cell subtypes showed different responsiveness due to selectivity of cladribine action, in some patients leading to *in vitro* survival/ proliferation of lymphocyte subsets known as pathogenic in MS (Th17 and Th17.1).

Optimal patient stratification is of utmost importance in the era of precision medicine and individual treatment response can be predicted by functional assays in simple models derived from peripheral blood mononuclear cells. The experimental model we propose is a promising tool for the prediction of individual responsiveness of MS patients to disease modifying treatments.

Keywords: personalized medicine, functional drug testing, T cell immunophenotypes

P28. DETERMINAREA SEMNĂTURII EXOZOMALE DE SUPRAFAȚĂ PRIN CITOMETRIE DE FLUX CONVENTIONALĂ MULTIPLEX

Georgiana Șerban¹, Doina Manu², Adrian Bălașa³

¹ Clinica de Anestezie și Terapie Intensivă, Spitalul Clinic de Urgență Tîrgu Mureș, Romania

² Centrul de Cercetări Avansate Medicale și Farmaceutice, Universitatea de Medicină, Farmacie, Știință și Tehnologie George Emil Palade, Tîrgu Mureș, Romania

³ Clinica de Neurochirurgie, Spitalul Clinic de Urgență Tîrgu Mureș, Romania

Introducere/ Obiectiv: Veziculele extracelulare (VE) izolate din fluide biologice prezintă semnături antigenice de suprafață dependente de celula de proveniență și de activarea celulară. O singură celulă

eliberează VE diferite fenotipic și funcțional. Analiza la nivel de VE unică pentru determinarea semnăturii antigenice de suprafață poate fi realizată prin tehnica de citometrie în flux multiplex.

Metode: Suspensiile de VE au fost obținute din plasmă provenită de la pacienți cu glioblastom, în trei momente: preoperator, la 7 zile și la 3 luni postoperator, prin ultracentrifugare în gradient de densitate. VE au fost analizate prin tehnica multiplex cu citometrul în flux FACSARIA III. VE au fost capturate de populațiile de bile fluorescente, marcate cu diferenți anticorpi monoclonali specifici antigenilor de suprafață comuni pentru VE (CD9, CD63, CD81) și antigenilor implicați în neovascularizație (CD105, CD31), carcinogeneză (CD44), metastazare (EpCAM), invazie tumorală (ROR1, CD24, SSEA4), celule stem tumorale (CD133/1), proliferare, chemo- și radiorezistență (MCSP).

Rezultate: Preoperator a fost identificată semnătura heterogenă pe suprafață VE. Postoperator ROR1 și EpCAM scad, în timp ce CD133/1 crește, cu excepția unui pacient din grup. CD31 crește la 7 zile și scade la pacienții care au supraviețuit 3 luni postoperator. CD44 și CD24 au prezentat modificări variabile postoperator în grupul de pacienți. Nivelul MCSP a fost foarte scăzut, exceptând unul dintre pacienți, care a avut MCSP crescut preoperator și la 3 luni postoperator.

Concluzii/ Discuții: Tehnica de citometrie în flux multiplex cu bile de captură este utilă pentru cuantificarea semnăturilor antigenice heterogene pe suprafață VE, permitând identificarea modificărilor antigenice post-terapie chirurgicală.

Cuvinte cheie: vezicule extracelulare, tehnica multiplex, citometrie în flux

EXOSOMAL SURFACE SIGNATURE ASSESSMENT BY BEAD-BASED MULTIPLEX CONVENTIONAL FLOW CYTOMETRY

Introduction/ Objectif: Extracellular vesicles (EVs) were isolated from body fluids to define surface signatures which are dependent on the cell-type releasing them and cell activation. A single cell releases functionally and phenotypically different types of EVs. Analysis at the single EV level for further surface signature assessment was done using multiplex bead based assay and a conventional flow cytometer.

Methods: EV suspensions were obtained from glioblastoma patient plasma harvested at three time-points –preoperative, 7 days and 3 months postoperative, by differential density gradient ultracentrifugation. EVs samples were analysed by bead-based multiplex EV assay with FACSARIA III flow cytometer. EVs were captured by fluorescently dyed bead populations coated with different monoclonal antibodies against EV surface antigens: EV common surface markers (CD9, CD63, CD81), glioblastoma markers for neovascularization (CD105, CD31), carcinogenesis (CD44), metastasis (EpCAM), tumor invasion (ROR1, CD24, SSEA4), cancer stem cells (CD133/1), intense proliferation, chemo- and radio-resistance (MCSP).

Results: A heterogeneous surface signature was detected before and after surgery among patients. ROR1 and EpCAM decreased, while CD133/1 increased after surgery, excepting one patient. CD31 increased 7 days after surgery and decreased in the patients who survived 3 month post-surgery. CD44 and CD24 showed inconsistent level changes after surgery. MCSP was detected at very low levels after negative isotype correction, excepting one patient, which had high MCSP before and 3 month after surgery.

Conclusions/ Discussions: Multiplex bead-based EV flow cytometry assay quantifies heterogeneous EV surface signatures and facilitates identification of marker changes after surgical therapy.

Keywords: extracellular vesicles, bead-based multiplex assay, flow cytometry

P29. TEST RAPID CU FLUX LATERAL PENTRU DETECȚIA SIMULTANĂ A COMPLEXULUI DE TROPONINE ȘI MIOGLOBINA

Lorena-Andreea Bocancia-Mateescu¹, Andreea-Cristina Mirică¹, Diana Stan^{1,2}, Augustin Ofițeru¹, Dana Stan¹

¹*DDS Diagnostic, Bucuresti*

²*Universitatea Titu Maiorescu, Facultatea Doctorală de Medicină, București, Romania*

Introducere: Bolile cardiovasculare (BC) reprezintă principala cauză de morbiditate și mortalitate la nivel global, motiv pentru care există o nevoie acută de noi metode de diagnostic și prevenție. În ultimii 10 de ani, Troponinele cardiaice (cTn) s-au dovedit markeri importanți în diagnosticul, stratificarea riscului și monitorizarea terapiei BC, însă după cunoștințele noastre nu a fost dezvoltat nici un test de tip multiplex pentru markeri cardiaci, de tipul celui dezvoltat de către noi.

Material și metodă: Pentru obținerea conjugatului optim, s-au utilizat nanoparticule de aur (AuNP) de 40 nm (Nanocomposix) cuplate cu anticorpi specifici anti-mioglobină și anti-cTn complex (HyTest). S-a testat capacitatea de legare a anticorpilor la diferite valori ale pH-ului și anume la 5.00, 6.00 și 8.00, evaluată prin spectrofotometrie.

S-au utilizat membrane de probă și conjugat din fibră de sticlă, tratate în prealabil cu soluții preparate in-house. Au fost pregătite soluții de antigene ţintă cu concentrații între 500 ng/mL – 0.05 ng/mL mioglobină și 100 ng/mL - 0.01 ng/mL cTn complex.

Rezultate: S-a observat că pH-ul optim de legare a anticorpilor specifici este 8.00 – 8.50. Limita de detecție pentru biomarkerul mioglobină este de aproximativ 1 ng/mL, iar pentru complexul de troponine 5 ng/mL. Testarea cu probă biologică sintetică (sânghe cu diferite concentrații din biomarkeri), a confirmat capacitatea testului de a detecta proteinele specifice cu acuratețe și specificitate de 100%.

Concluzii: Noul test imunocromatografic calitativ pentru detecția biomarkerilor mioglobina și complexului de troponine are acuratețe, sensibilitate și specificitate de 100% și o limită de detecție de aproximativ 1-5 ng/mL.

Cuvinte cheie: boli cardiovasculare, biomarkeri, diagnostic

Mulțumiri: Această lucrare a fost susținută de un grant al Ministerului Educației și Cercetării din România, CCCDI - UEFISCDI, numărul de proiect PN-III-P2-2.1-PTE-2019-0379, 37PTE/2020, în cadrul PNCDI III și cofinanțată de către DDS Diagnostic”.

Referințe:

1. Zhou S.S. et. al., miRNAs in cardiovascular diseases: potential biomarkers, therapeutic targets and challenges, *Acta Pharmacologica Sinica* (2018) 39: 1073–1084, www.nature.com/aps;
2. McDonough B. et. al., The Evolution and Future Direction of The Cardiac Biomarker, *EMJ Cardiol.* 2020;8[1]:97-106;
3. Gherasim L., Troponins in Heart Failure – a Perpetual Challenge, *MAEDICA – a Journal of Clinical Medicine*, 2019; 14(4): 371-377.

RAPID LATERAL FLOW TEST FOR SIMULTANEOUS DETECTION OF TROPONIN COMPLEX AND MYOGLOBIN

Introduction: Cardiovascular disease (CVD) is the leading cause of morbidity and mortality globally, which is why there is an acute need for new methods of diagnosis and prevention. In the last 10 years, cardiac troponins (cTn) have been important markers in the diagnosis, risk stratification and monitoring of CVD therapy, but to our knowledge no multiplex test has been developed for cardiac markers.

Material and method: To obtain the optimal conjugate, 40 nm gold nanoparticles (AuNP) (Nano-composix) coupled with specific anti-myoglobin and anti-cTn complex antibodies (HyTest) were used. The ability of antibodies to bind at different pH values was tested at 5.00, 6.00 and 8.00 and evaluated by spectrophotometry. Fiberglass sample and conjugate membranes were used, previously treated with in-house prepared solutions. Target antigen solutions with concentrations between 500 ng / mL - 0.05 ng / mL myoglobin and 100 ng / mL - 0.01 ng / mL cTn complex were prepared.

Results: The optimal binding pH of specific antibodies is 8.00 - 8.50. The limit of detection for the myoglobin biomarker is approximately 1 ng / mL and for the troponin complex 5 ng / mL. Testing with synthetic biological sample (blood with different concentrations from biomarkers) confirmed the ability of the test to detect the specific proteins with 100% accuracy and specificity.

Conclusions: The new rapid qualitative immunochromatographic test for the detection of myoglobin and cTn complex has an accuracy, sensitivity and specificity of 100% and a detection limit of approximately 1-5 ng / mL.

Keywords: cardiovascular disease, biomarkers, diagnostic

Acknowledgments: This work was supported by a grant of the Romanian Ministry of Education and Research, CCCDI - UEFISCDI, project number PN-III-P2-2.1-PTE-2019-0379, 37PTE/2020, within PNCDI III and co-financed by DDS Diagnostic”.

P30. NANOSTRUCTURI METALICE DE FLUORESCENȚĂ CA BIOSENZORI IN DIAGNOSTICUL PERSONALIZAT AL BOLILOR AUTOIMUNE

Cristina Chelcea¹, Lavinia Ruta¹, Augustin Ofiteru¹, Roxana Tomescu², Dana Stan¹

¹ DDS Diagnostic

² IMT Bucuresti

Introducere: Biodetecția bazată pe structuri nanofotonice are un potențial deosebit în diagnosticul medical personalizat, având un cost redus și o viteză mare de detecție. Senzorii bazați pe rezonanță plasmonilor de suprafață ce utilizează metale tranzitionale (Au sau Ag) au fost considerați ca un punct de referință pentru detecția biochimică multifuncțională, de înaltă sensibilitate.

Deși există progrese uriașe de la introducerea testării autoanticorpilor, pentru a detecta și confirma diagnosticul bolilor autoimune, sunt multe provocări și lacune în înțelegerea, utilizarea și interpretarea rezultatelor testelor cu autoanticorpi.

Metode: Fluorescența îmbunătățită de metale (MEF) este un fenomen unic al plasmonilor de suprafață, în care lumina interacționează cu nanostructurile metalice și produce câmpuri electomagnetic capabile să crească sensibilitatea detecției pe bază de fluorescență. Această îmbunătățire este importantă pentru numeroase domenii, inclusiv criminalistică, biotehnologie și diagnostic medical.

Rezultate: Scopul lucrării a fost dezvoltarea unor nanostructuri de înaltă tehnologie și rezoluție, cu un design flexibil, într-un mod economic, pentru a le folosi ca biosenzori în diagnosticul medical personalizat al bolilor autoimune. Prin combinarea metodelor de depunere, de litografie prin nano-imprimare și a tehnicii de funcționalizare chimică, am obținut nanostructuri pentru detecția de mare sensibilitate a biomoleculelor fluorescente (proteine și acizi nucleici).

Concluzii: Nanostructurile (depunerile de argint și aur pe siliciu și sticlă) ar putea fi utilizate ca biosenzori extrem de sensibili pentru aplicații bazate pe MEF, datorită potențialului lor de a controla dimensiunea nano-caracteristică și detecția rezoluției de fluorescență.

Mulțumiri: Acest studiu a fost susținut de MCID din România, CCCDI-UEFISCDI, număr proiect PN-III-P2-2.1-PED-2019-1300 și DDS Diagnostic SRL.

Cuvinte cheie: nanostructuri, boli autoimune, fluorescență.

METAL-ENHANCE FLUORESCENCE NANOSTRUCTURES AS BIOSENSORS IN AUTOIMMUNE DISEASES PERSONALIZED DIAGNOSIS

Introduction: Biodetection based on nanophotonic structures has a great potential for personalized medical diagnosis, having a low cost and a high detection speed. Surface plasmon resonance sensors using transitional metals, such as gold or silver, have been established as a benchmark for high-sensitivity, multifunctional biochemical detection.

Although huge progress has been made in the last half-century since the introduction of autoantibody testing to detect and confirm the diagnosis of autoimmune diseases, still there are many challenges and gaps in understanding, using and interpreting the autoantibodies test **Results**.

Methods: Metal-enhanced fluorescence (MEF) is a unique phenomenon of surface plasmons, in which light interacts with the metallic nanostructures and produces electromagnetic fields to enhance the sensitivity of fluorescence-based detection. This improvement in sensing capacity is important for many research areas, including forensic science, biotechnology and medical diagnostics.

Results: Our aim was to develop new nanostructures with high throughput, ultrahigh-resolution, and flexible design in an economical way, to use them as biosensors in the personalized medical diagnosis of autoimmune diseases. By combining deposition methods, nano-printing lithography methods and chemical functionalized techniques, we obtained nanostructures for sensitive detection of fluorescent biomolecules (proteins and nucleic acids).

Conclusions: The nanostructures (silver and gold deposits on silicon and glass surfaces) could be used as highly sensitive biosensors for MEF-based applications, due to their potential to control the nano-feature size and fluorescent resolution detection.

Acknowledgements: This study was supported by the Romanian Ministry of Research, Innovation and Digitization, CCCDI-UEFISCDI, project number PN-III-P2-2,1-PED-2019-1300 and DDS Diagnostic SRL.

Keywords: nanostructures, autoimmune diseases, fluorescence.

C42. CANNABIS USE IN GASTROINTESTINAL DISORDERS

Manuela G. Neuman M.Sc., Ph.D., FCACB., Stephen D.H. Malnick, MD, FRCP

In Vitro Drug Safety and Biotechnology, and Department of Pharmacology and Toxicology, Faculty of Medicine, University of Toronto, ON, Canada, Internal Medicine C, Kaplan Medical Center, Rehovot, Affiliated to Hebrew University, Jerusalem, Israel

Genus Cannabis was classified into three species: C. sativa, C. ruderalis and C. indica. The Cannabis plant has been valued since ancient times. In India, Ayurvedic texts describe anti-inflammatory, antiseptic properties of Cannabis. The Chinese compendium of herbal medicine, (~2800 BC), recommended to be consumed as tea for gout, malaria, rheumatism, neuropathic pain, epilepsy and memory. Cannabis consumption leads to the activation of cannabinoids receptors CB1 and CB2 that can lead to modulation and progression of inflammation or repair.

The Cannabis plant contains 60 aromatic hydrocarbon compounds known as cannabinoids, including delta-9-terahydrocannabinol (THC), which is primarily psychotropic. Another element, Cannabidiol (CBD), is efficacious in inflammation, motility and analgesia. In order to be pharmacologically usable, the active ingredients have to be consistent in concentration and potency. Robust laboratory testing is required for the medical use of the plant extracts.

The present work examines the efficacy of Cannabis in treating gastrointestinal disorders. Studies suggest that cannabis reduces issues associated with irritable bowel syndrome and inflammatory bowel disease. Manipulation of cannabinoid receptors also protects against liver injury; however, effects of cannabis extracts on the pancreas are controversial. Furthermore, cannabis helps to manage nausea, vomiting, anorexia, and weight loss, but benefits come with a risk of chronic cannabis misuse. As a result, more rigorous clinical trials must be performed to determine safe and effective indications for medical cannabis in gastro-intestinal tract disorders.

Keywords: Cannabis, medical use in gastrointestinal disorder

C43. GAMA-GLUTAMIL TRANSPEPTIDAZA MARKER DE COLESTAZĂ ȘI DE RISC ATEROGEN

Camelia Vidița Gurban¹, Viviana Mihaela Ivan²

¹*Disciplina Biochimie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara*

²*Disciplina Cardiologie I, Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara*

Enzimele sunt proteine cu rol catalitic ce accelerează viteza reacțiilor pe care le catalizează. Ele acționează intracelular și ajung în ser în cantități mici, ca urmare a turnover-ului celular normal.

Gama-glutamil transpeptidaza (GGT) este o proteină heterodimerică care catalizează transferul grupării gama-glutamil de la un peptid (glutationul, GSH) pe un alt peptid sau pe un aminoacid. GGT este localizată la nivelul membranei citoplasmatice a numeroase celule, centrul activ al enzimei fiind situat la nivel extracelular. Cu toate că cea mai mare cantitate de GGT din organism se află în rinichi, activitatea serică este reprezentată în primul rând de GGT din ficat, fiind crescută în afecțiunile hepato-biliare. În ficat, cea mai mare parte a GGT este legată de lipoproteine, în special HDL (High-density lipoprotein), dar și de LDL (Low-density lipoprotein). GGT legată de HDL predomină în bolile hepatice non-icterice, iar cea legată de LDL este crescută în colestază. Creșterea nivelelor serice ale GGT constituie un factor proaterogen, crescând astfel riscul cardiovascular.

Concluzie: Gama-glutamil transpeptidaza poate constitui un biomarker cu valoare predictivă în bolile cardiovasculare, prevenind astfel mortalitatea, mai ales la pacienții cu boala ficatului gras non-alcoolic (NAFLD).

GAMMA-GLUTAMYL TRANSPEPTIDASE MARKER OF CHOLESTASIS AND ATHEROGENIC RISK

Enzymes are catalytic proteins that accelerate the speed of the reactions they catalyse. They act intracellular and reach in the serum in small amounts as a result of normal cell turnover.

Gamma-glutamyl transpeptidase (GGT) is a heterodimeric protein that catalyses the transfer of the gamma-glutamyl group from one peptide (glutathione, GSH) to another peptide or amino acid. GGT is located at the cytoplasmic membrane of many cells, the active center of the enzyme being located at the extracellular. Although the largest amount of GGT in the body is in the kidneys, serum activity of GGT is primarily in the liver, being increased in hepato-biliary disease. In the liver, most GGT is related to lipoproteins, especially HDL (High-Density Lipoprotein), but also LDL (Low-Density Lipoprotein). GGT bound of the HDL is prevalent in non-icteric liver disease, and GGT related of the LDL is increased in cholestasis. Increased the serum GGT levels are a proatherogenic factor, increasing cardiovascular risk.

Conclusion: Gamma-glutamyl transpeptidase may be a biomarker of predictive value in cardiovascular disease, thus preventing mortality, especially in patients with non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD).

CARACTERIZAREA FRECVENTEI ALELELOR HLA PRIN TEHNOLOGIA NGS DE ÎNALTĂ REZOLUȚIE

Daniela Constantinescu^{1,2}, Mariana Pavel-Tanasă^{1,2}, Camelia Mihaila², Corina Cianga^{1,2}, Petru Cianga^{1,2}

¹*Departamentul de Imunologie, Universitatea de Medicină și Farmacie Grigore T. Popa Iași*

²*Laboratorul de Imunologie, Spitalul Clinic Județean de Urgențe Sf. Spiridon Iași*

Introducere / Obiectiv: În prezent, registrele naționale de transplant de celule stem hematopoietice exercită presiuni pentru realizarea genotipării HLA de înaltă rezoluție. Astfel, Next Generation Sequencing (NGS), care reprezintă cel mai puternic instrument tehnologic atât în ceea ce privește rezoluția

mai mare, cât și cantitatea de date care pot fi generate, este preferată pentru genotiparea HLA. Astfel, caracterizarea cu precizie a alelelor HLA la nivel genetic și molecular permite o mai bună înțelegere a diferențelor dintre moleculele HLA și o mai bună potrivire între indivizi.

Metode / Metodologie: Un număr de 351 de probe de sânge periferic, recoltate de la voluntari sănătoși, originari din regiunea României a Moldovei, înscrise în Registrul Național de donatori voluntari de celule stem, au fost direcționate către laboratorul nostru și supuse genotipării HLA cu ajutorul unui kit GenDX NGS multiplex pentru 6 loci: HLA A, B, C, DRB1, DQB1, DPB1. Aceste date preliminare au fost folosite pentru a determina frecvența alelelor HLA generate de tiparea prin rezoluție înaltă și a le compara cu rezultatele anterioare de joasă rezoluție obținute prin tehnica SSP și SSO.

Rezultate: Am putut astfel identifica cele mai frecvente alele HLA pentru cei 6 loci menționați anterior: A*02:01, A*01:01, A*03:01 (peste 10%); B*51:01, B*08:01, B*18:01 (peste 8%); C*04:01, C*07:01, C*12:03 (peste 12%); DRB1*03:01, DRB1*07:01, DRB1*16:01 (peste 10%); DQB1*03:01, DQB1*02:01, DQB1*05:02 (peste 13%); DPB1*04:01, DPB1*02:01, DPB1*04:02 (peste 15%). Aceste date au confirmat rezultatele deja publicate ale tipării HLA de rezoluție joasă.

Concluzii / Discuții: Aceste rezultate de genotipare de înaltă rezoluție nu numai că vor oferi baza pentru o compatibilitate HLA precisă între un donator și beneficiarul măduvei osoase, dar vor spori, de asemenea, foarte mult capacitatea Registrelor Naționale de Celule Stem de a identifica direct un donator compatibil la nivel mondial.

Cuvinte cheie: alele HLA, tehnologie NGS

CHARACTERISATION OF HLA ALLELE FREQUENCIES USING THE HIGH-RESOLUTION NGS TYPING TECHNOLOGY

Daniela Constantinescu^{1,2}, Mariana Pavel-Tanăsă^{1,2}, Camelia Mihaila², Corina Cianga^{1,2}, Petru Cianga^{1,2}

¹ Department of Immunology, Grigore T. Popa University of Medicine and Pharmacy Iasi

² Immunology Laboratory, Sf. Spiridon University Hospital Iași

Introduction / Objective: Nowadays, the hematopoietic stem cell transplant stringencies put a lot of pressure on National Registries for high resolution genotyping. Thus, Next Generation Sequencing (NGS), the most powerful tool in terms of both higher resolution and amount of data that can be generated, is the preferred tool to be used for HLA typing. The accuracy of HLA characterization at genetical and molecular level further allowed a better understanding of the immunogenic differences between HLA molecules, and a better match between individuals.

Methods / Methodology: A number of 351 peripheral blood samples harvested from healthy volunteers, originating from the Romanian region of Moldova, enrolled in the Bone Marrow Registry, were referred to our laboratory and subjected to HLA genotyping using a GenDX NGS multiplex kit for 6 loci: HLA A, B, C, DRB1, DQB1, DPB1. These preliminary data were used to further refine previous HLA allele frequency results generated by SSP and SSO low-resolution typing.

Results: We were thus able to identify the most frequent HLA alleles for the six loci mentioned above in the Eastern region of Romania: A*02:01, A*01:01, A*03:01 (above 10%); B*51:01, B*08:01, B*18:01

(above 8%); C*04:01, C*07:01, C*12:03 (above 12%); DRB1*03:01, DRB1*07:01, DRB1*16:01 (above 10%); DQB1*03:01, DQB1*02:01, DQB1*05:02 (above 13%); DPB1*04:01, DPB1*02:01, DPB1*04:02 (above 15%). These data further confirmed and strengthened the already published results of the low-resolution HLA-typing.

Conclusions / Discussions: These high-resolution genotyping results will not only offer the basis for an accurate HLA compatibility between a donor and the bone marrow recipient, but will also greatly enhance the capability of National Stem Cell Registries to identify first hand a well-matched donor worldwide.

Keywords: HLA alleles, NGS technology

VOR DEVENI DRONELE SPITALELOR PARTE DIN VIAȚA NOASTRĂ ÎN VIITORUL APROPIAT?

Maria-Antonia Fitărău M.D.¹, Mariana Muresan PhD^{1,2}

¹ Spitalul Clinic Județean de Urgență Oradea

² Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie

Introducere: Cu privire la transportul probelor biologice, există două tipuri – intern (manual sau automat) și extern, care este întreprins folosind mașina, avionul, trenul și recent dronele. Sistemele aeriene fără pilot, cunoscute de-asemenea ca și drone, sunt aeronave fără pilot la bord. Această nouă modalitate de transport al probelor biologice, are avantaje proprii cum ar fi: posibilitatea de a merge oriunde și evitarea întârzierilor în traffic. Totuși, acestea devin utile doar dacă ele nu afectează rezultatele probelor transportate.

Scopul studiului este de a sumariza rezultatele studiilor publicate cu privire la impactul pe care îl au dronele asupra stabilității probelor biologice.

Material și metodă: Am efectuat mai multe căutări în PubMed pentru a identifica publicații. Am setat ca interval de timp 2015-2022, am folosit cuvintele “drone” “blood samples” “stability” “blood transport” și am analizat publicațiile rezultate după titlu, rezumat și intregul text, dacă a fost necesar.

Rezultate: În urma analizei efectuate pe un lot de X studii, am obținut urmatoarele date interesante: majoritatea parametrilor nu au fost afectați de transportul cu drona și raportul cost-eficienta (RCE) per minut al transportului cu drona a surclasat RCE al transportului cu ambulanta.

Concluzii: În concluzie, rezultatele acestor studii analizate sunt în concordanță cu posibilitatea utilizării dronelor pentru transportul probelor biologice. Problema privind transportul rapid al probelor și integritatea probelor biologice nu mai poate fi neglijată. În momentul actual, transportul săngelui cu drone este dificil și putina informație este disponibilă, dar este o realitate apropiată vremurilor noastre. Este o nevoie grozavă de studii viitoare mari.

Cuvinte cheie : drone, blood transport, stability

WILL HOSPITALS' DRONES BE PART OF OUR LIVES IN THE NEAR FUTURE?

Introduction: Concerning biological specimen transportation, there are two types – internal (manual or automated) and external, which is undertaken using car, plane, train and recently drones.

Unmanned Aerial Systems (UAS), also known as drones, are aircraft without an onboard human pilot. This new mode of transporting biological specimens has its own advantages such as possibility to go everywhere and no traffic delays. However, UAS are useful only if they do not affect the results of transported samples.¹

The aim of this study is to summarize the results of the published studies regarding the impact of UAS on the stability of biological samples.

Materials and methods: We conducted several searches in PubMed to identify publications. We set the time interval 2015-2022 period, we used the words “drone”, “blood samples” “stability” “blood transport” and we analyzed the resulted publications by title, abstract and full text, if necessary.

Results: After the analysis performed, we obtained the following interesting data: the majority of blood parameters were not affected by drone transport, the cost-effectiveness ratio (CER) of drone transportation exceeds the CER of ambulance transportation.²

Conclusions: In conclusion, the results of these studies are consistent with the possibility of using of UAS for the transport of samples. The issue regarding fast sample transportation and biological sample integrity can not be neglected anymore. In the present moment, blood transportation by drones is difficult and few data are available, but transportation of blood transfusion materials by UAS is a close reality. There is a great need of further and larger studies.

Keywords: drone, blood transport, stability

References

1. Amukele TK, Sokoll LJ, Pepper D, Howard DP, Street J (2015) Can Unmanned Aerial Systems (Drones) Be Used for the Routine Transport of Chemistry, Hematology, and Coagulation Laboratory Specimens? PLoS ONE 10(7): e0134020. doi:10.1371/journal.pone.0134020
2. Zailani, M.A., Azma, R.Z., Aniza, I. et al. Drone versus ambulance for blood products transportation: an economic evaluation study. BMC Health Serv Res 21, 1308 (2021). <https://doi.org/10.1186/s12913-021-07321-3>

HEMOLIZA, O EROARE DEPĂȘITĂ SAU ACTUALĂ VREMURILOR NOASTRE?

Maria-Antonia Fitărău¹, Georgiana Țiț¹, Mariana Muresan^{1,2},

¹ Spitalul Clinic Județean de Urgență Oradea

² Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicina și Farmacie

Introducere: Erorile preanalitice reprezintă aproximativ 40-65% din erorile în laborator și dintre acestea, 60% sunt datorate hemolizei. Aceasta este distrugerea globulelor roșii cu eliberarea componentelor intracelulare în plasma/ser și poate apărea fie in vivo fie in vitro. Cele mai frecvente cauze in vivo care conduc la hemoliză sunt: thalassemia, anemia hemolitică autoimună, drogurile, transfuziile.

Cauze potențiale de hemoliză in vitro sunt: menținerea prelungită a garoului, agitarea viguroasă a tubului și modalitate de transport necorespunzătoare.

Scopul acestui studiu este să ofere know-how-ul legat de management-ul probelor hemolizate în rutina zilnică a laboratorului.

Material și metodă: Am efectuat mai multe căutări în PubMed astfel încât să identificăm publicațiile legate de probele hemolizate. Am setat ca interval de timp perioada 2010-2022, am utilizat cuvintele “hemolyzed samples” “interference”, “quality”, “safety” și am analizat publicațiile rezultate după titlu, abstract și întregul text.

Rezultate: Așadar, după ce am examinat articolele, putem sublinia următoarele recomandări. În primul rând, pentru fiecare parametru, potențial afectat de hemoliză, laboratorul trebuie să definească pragurile de deviație analitică acceptabilă și deviație clinică acceptabilă. În al doilea rând, se calculează gradul hemolizei și se măsoară indexul hemolizei, care decide dacă rezultatul testului este eliberat sau reprimat.

Concluzii: În concluzie, datorită faptului că probele hemolizate reprezintă provocarea sensibilă a laboratorului, evaluarea vizuală a gradului de hemoliză bazată pe o părere personală ar trebui să fie înlocuită cu sisteme de management și detecție automate. Există situații când proba hemolizată este singura soluție, prin urmare vrem să subliniem importanța colaborării cu clinicienii care pot oferi informații prețioase.

Cuvinte cheie : hemolyzed samples, quality, safety

HEMOLYSIS, AN OVERDUE ERROR OR A CURRENT ERROR OF OUR TIMES?

Introduction: Preanalytical errors represents 40-65% of laboratory errors and among these, 60% are due to hemolysis.¹ This is the breakdown of red blood cell with realising of intracellular components into plasma/serum and can occur either in vivo or in vitro. The most frequent leading causes of in vivo hemolysis are: thalassemia, autoimmune hemolytic anemia, drugs, transfusions. Potential causes of in vitro hemolysis are: prolong tourniquet placing, vigorous shaking of tube, unsuitable transport modality.²

The purpose of this study is to provide the know-how regarding the management of hemolyzed samples in the routine laboratory practice.

Materials and methods: We conducted several searches in PubMed to identify publications. We set the time interval 2015-2022 period, we used the words “hemolyzed samples”, “interference”, “quality”, “safety” and we analyzed the resulted publications by title, abstract and full text.

Results: Therefore, after we examined the articles, we can highlight the next recommendations. Firstly, for each parameter, potentially affected by hemolysis, laboratory should define analytically acceptable deviation and clinically acceptable deviation thresholds. Secondly, calculate the degree of hemolysis and measure the Hemolysis-index, which decides whether the test result is released or suppressed.³

Conclusions: In conclusion, due to the fact that hemolyzed sample is the sensitive challenge of a laboratory, visual assessment of hemolysis level based on a personal point of view should be replaced with automated detection and management systems. There are situations when the hemolyzed sample is the unique practical solution, hence we want to underline the importance of the collaboration with clinicians who can offer valuable information.

Keywords: hemolyzed samples, quality, safety

References:

1. Bhargava S, Singla P, Manocha A, Kankra M, Sharma A, Ahirwar A, Ralhan R, Thapliyal U, Mehra P. The Hemolyzed Sample: To Analyse Or Not To Analyse. Indian J Clin Biochem. 2020 Apr;35(2):232-238. doi: 10.1007/s12291-019-00821-4. Epub 2019 Mar 11. PMID: 32226256; PMCID: PMC7093627.
2. Ana-Maria Simundic, Geoffrey Baird, Janne Cadamuro, Seán J. Costelloe & Giuseppe Lippi (2019): Managing hemolyzed samples in clinical laboratories, Critical Reviews in Clinical Laboratory Sciences, DOI: 10.1080/10408363.2019.1664391
3. Lippi G, Cadamuro J, von Meyer A, Simundic AM; European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM) Working Group for Preanalytical Phase (WG-PRE). Practical recommendations for managing hemolyzed samples in clinical chemistry testing. Clin Chem Lab Med. 2018 Apr 25;56(5):718-727. doi: 10.1515/cclm-2017-1104. PMID: 29373316.

AUTHORS INDEX

Index de autori

A

Aciubotăriței, Claudia 75
Adumitresi, Cecilia 65
Ali, Sevigean 65
Andrușca, Diana 31
Anisie, Ecaterina 52
Anton, Gabriela 12
Aposteanu, Silvia 21
Asan, Minodora 9

B

Badea (Costea), Iulia Andreea 25
Badea, Andreea 65
Bagiu, Iulia 69
Balan, Monica 59
Basarab, Carmen-Beatrice 28
Bădițoiu, Luminița 55
Bălașa, Adrian 97
Bălașa, Rodica 96
Băncescu, Gabriela 66
Bâlici, Ștefana 49, 94
Benea, Andreea Monica 51, 67
Bica, Ana Maria 9
Bleotu, Coralia 12, 18
Bocancia-Mateescu, Lorena-Andreea 99
Bordeianu, Gabriela 90
Botezatu, Anca 12
Botnariuc, Mihaela 25, 65
Branea, Ionuț 42
Brânzei, Ecaterina 39
Brudașcă, Ioana 84

C

Capcela, Svetlana 91
Caragheorgheopol, Andra 39
Carasevici, Eugen 30, 37, 61
Căruntu, Violeta 66
Chelcea, Cristina 100
Chițoiu, Leona A. 36
Chivu-Economescu, Mihaela 12
Cianga, Corina 52, 103

Cianga, Petru 34, 52, 103
Cianga, Vlad-Andrei 24
Ciobanu, Andreea Elena 79, 80
Ciobanu, Corina 90
Ciobanu, Corina-Parascheva 88
Ciocoiu, Manuela 88
Ciontea, Monica Ioana 51, 67
Codiță, Irina 53
Cojocariu, Camelia 52
Cojocaru, Cristian 44
Cojocaru, Dan 28
Cojocaru, Elena 44
Cojocaru, Karina-Alexandra 24
Cojocaru, Tudor 44
Coliță, Anca 7, 9
Coliță, Andrei 7, 12
Coman, Horia George 94
Constantinescu, Daniela 52, 103
Constantinescu, S.N. 12
Coriu, Daniel 12
Cotoi, Ionela-Maria 46
Cozmei, Carmen 30, 37

D

Daba, Lavinia Carmen 25, 65
Danciu, Corina 69
David, Remona Eliza 72
Dăscălescu, Angela 19, 22
Delianu, Carmen 73
Deligianni, Despoina 95
Diaconu, Carmen C. 9, 12, 18
Dijmarescu, Anda Lorena 27, 32
Dimitriu, Cristina-Daniela 88, 90
Dobreanu, Minodora 41, 42, 46, 49, 58, 87, 96
Dobre, Maria 36
Dragomir, Mihaela 9, 21
Dragoș, Loredana Mihaiela 11, 19, 22, 30, 37, 61
Dumache, Raluca 48
Dumitraș, Silvia 11

E

- Enache, Alexandra 48
 Enache, Cristina Tatiana 14, 15

F

- Ferea, Roxana Cătălina 14, 15
 Fertig, Tudor E. 36
 Filip, Roxana 59
 Fillet, Marianne 70
 Fitărău, Maria-Antonia 105, 106
 Foia, Georgeta Liliana 24
 Foia, Iolanda 73
 Foia, Liliana 73
 Földes, Annamária 58

G

- Gabor, Manuela Rozalia 41
 Gheorghe, Anca 9, 21
 Gheorghita, Roxana 59
 Gherghiceanu, Mihaela 36
 Gherlan, Iuliana 39
 Gorduza, Eusebiu Vlad 91
 Gorgan, Lucian 19
 Gorovei, Claudia 37
 Gorovei, Claudia E. 11
 Grigore, Camelia 62
 Grigore, Nicolae 62
 Gurău, Gabriela 63
 Gurban, Camelia Vidița 45, 102
 Gurban, Petruna 12

H

- Horhat, Florin 69
 Hurjui, Ion 73
 Hurjui, Loredana Liliana 73
 Huțanu, Adina 41, 42, 83, 96

I

- Iancu, Alina Viorica 63
 Iancu, Mihaela 85
 Imre, Silvia 70
 Ion, Valentin 70
 Ivanov, Anca V. 11
 Ivanov, Iuliu Cristian 11, 19, 22, 24, 30, 37, 61
 Ivan, Viviana Mihaela 102

J

- János, Szederjesi 41
 Jardan, Cerasela 9
 Jercan, Cristina Georgiana 9
 Jianu, Călin 69
 Jitaru, Daniela 11, 19, 22, 30, 37, 61

K

- Krisztina, Pál 41

L

- Lăculiceanu, Liliana Elena 45
 Licker, Monica 55, 69

M

- Maftei, Nicoleta-Maricica 63
 Malnick, Stephen D.H. 102
 Mambet, Cristina 9, 12, 14, 15, 18
 Manda, Dana 39
 Manolea, Maria Magdalena 27, 32
 Manu, Doina 96, 97
 Marcu, Ana-Maria 9
 Marcu, Andra-Daniela 9
 Marian, Mirela 28
 Marta, Daciana S. 36
 Matache, Elena Roxana 63
 Mateescu, Garoțița-Olivia 27, 32
 Matei, Horea Vlad 49, 92, 94
 Matei, Lilia 12, 18
 Matroș, Luminița 51, 67
 Mănescu, Ion-Bogdan 96
 Mărginean, Alina 85
 Mederle, Ovidiu Alexandru 45
 Mențel, Mihaela 11, 19, 22, 24, 30, 37, 61
 Mihaila, Camelia 52, 103
 Mihailă, Romeo-Gabriel 16
 Mihai, Stejara-Nicoleta 14, 15
 Mihalache, Manuela 16
 Mihăilescu, Alexandra 48
 Mirică, Andreea-Cristina 99
 Miron, Ingrith C. 11
 Mitu, Ivona 88, 90
 Mitu, Ovidiu 88
 Mocanu, Liliana Corina 16
 Moldovan, Valeriu George 46

Molnar, Anca 42
 Molnar, Anca Alexandra 41, 75, 83
 Moșin, Veaceslav 91
 Motoc, Marilena 45
 Muntean, Daniela-Lucia 70
 Muntean, Delia 55, 69
 Mureșan, Andrei 39
 Muresan, Mariana 105, 106
 Mușuroi, Corina 55

N

Neamțu, Adela-Valeria 27, 32
 Neamțu, Simona-Daniela 27, 32
 Necula, Laura Georgiana 12
 Nedeianu, Saviana 12
 Nedelcu, Ioana 39
 Neuman, Manuela G. 102
 Nicula, Gheorghe Zsolt 49, 94
 Nisioi, Elena 11, 19, 22, 30, 37

O

Ofițeru, Augustin 99, 100
 Olariu, Tudor Rareș 35, 45
 Olteanu, Ariela Ligia 16
 Oprea, Oana 46, 74, 75, 76, 78, 79, 80, 82

P

Pál, Krisztina 42
 Pandrea, Stanca-Lucia 51, 67
 Pandrea, Stanca-Maria 51, 67
 Parepa, Irinel Raluca 25
 Patiu, Mariana 28
 Pavel-Tanasă, Mariana 52, 103
 Pepelea, Lia Sorina 51, 67
 Peteu, Victor E. 36
 Petrescu-Dănilă, Elena 90
 Pitica, Ioana 12
 Poiană, Cătălina 39
 Polyzos, Demosthenes 95
 Pomohaci, Roxana-Maria 61
 Popa, Codruta 9
 Popa, Codruț 21
 Popa, Oana-Monica 39
 Popescu, Mihaela 18
 Portan, Diana 95
 Preda, Elena-Cristina 79, 80

Puiu, Liliana 12

R

Racoviță, Stela 91
 Radu, Letitia-Elena 9
 Raka, Lul 57
 Rusu, Sergiu Ionică 94
 Ruta, Lavinia 100

S

Schipor, Sorina 39
 Selicean, Elena-Cristina 28
 Serbanica, Andreea Nicoleta 9
 Sfetcu, Lidia 66
 Simionese, Ramona Ancuța 78
 Sireteanu, Adriana 19, 22
 Siserman, Costel Vasile 92, 94
 Smaranda, Anca 27, 32
 Sprincean, Mariana 91
 Stanca, Liliana 27, 32
 Stan, Dana 99, 100
 Stan, Diana 99
 Stănescu, Raluca-Ștefania 88, 90
 Stefanescu, Gabriela 52
 Stelea, Lavinia Elena 48
 Suceava, Ioana 45
 Suciu, Raluca 21
 Szederjesi, János 42
 Székely, Edit 58
 Șerban, Cătălin 21
 Șerban, Georgiana 97

T

Tamar, Didbaridze 56
 Tatic, Aurelia 12
 Timár, Ágota 42
 Timofte, Daniel 73
 Titianu, Amalia 19, 22
 Tomescu, Roxana 100
 Tompa, Manuela 51, 67
 Tompa, Ronald 51, 67
 Totan, Maria 62
 Trandafir Văcărean, Irina Cezara 11, 19, 22, 30, 61
 Trăistaru, Magdalena Rodica 27, 32
 Trifan, Anca 52
 Tutunaru, Dana 63

T

Țiț, Georgiana 106
Țurcan, Larisa 31

U

Udrea, Luminița 39

V

Vameș, Andrei 38
Vas, Krisztina 46
Văcărașu, Georgiana-Gabriela 74
Velicu, Alexandru 39
Veselovscaia, Ana 38
Vică, Mihaela Laura 49, 92, 94

Vișnevschi, Anatolie 31, 38

Vlad, Cristian 48

Vlad, Cristiana Daliborca 48

Vlad, Ionuț 76

Vlădăreanu, Ana Maria 12, 14, 15

Vlădoi, Susana 39

Voidăzan, Septimiu Toader 58

Vușcan, Mihaela Elvira 49, 92, 94

Vuță, Monica 46

Z

Zaharia, Andreea Eliza 63

Zdrenghea, Mihnea Tudor 28

Zlei, Mihaela 11

Information and guidelines for authors

Manuscript submission

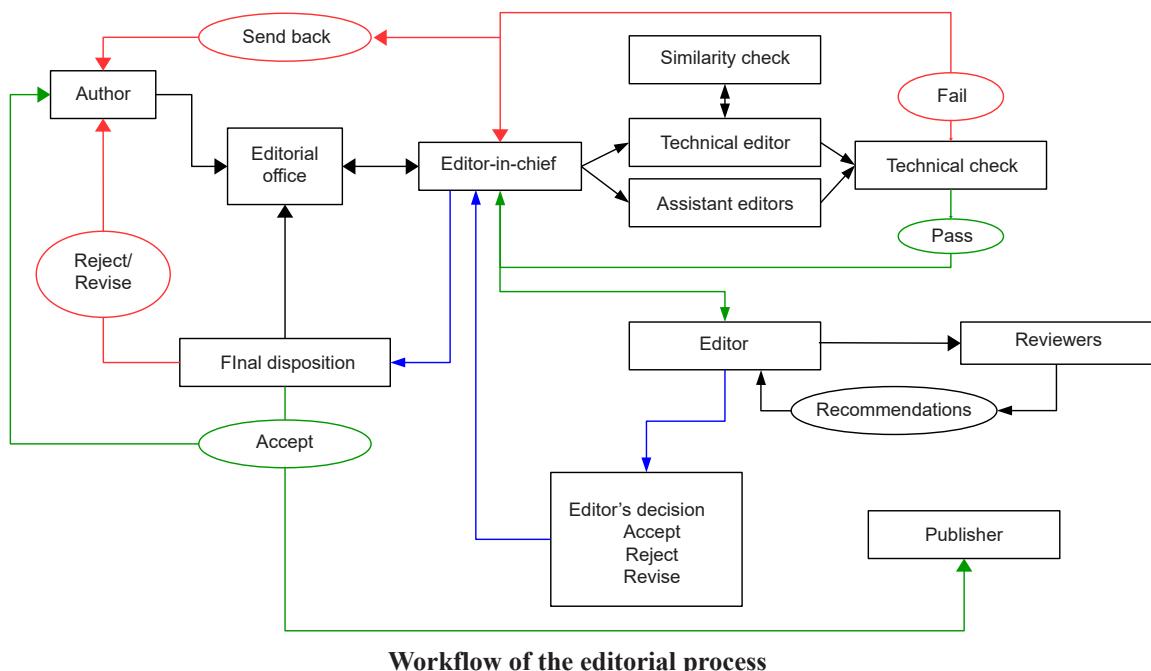
Manuscripts and all attached files (tables and illustrations) should be submitted in electronic form, using the on-line manuscript submission system Editorial System available for Romanian Journal of Laboratory Medicine at <https://www.editorialsystem.com/editor/rrml>

Please note that general reviews and course notes are invited by the editor. Questions may be directed to Editor of this Journal at minodora.dobreanu@rrml.ro.

Submission documents

At the time of submission, the *Romanian Journal of Laboratory Medicine* requires an explicit statement (**License to publish**) by the

corresponding author warranting that the manuscript, as submitted, has been reviewed by and approved by all named authors; that the corresponding author is empowered by all of the authors to act on their behalf with respect to the submission of the manuscript; that the article does not infringe upon any copyright or other proprietary right of any third party; that neither the text nor the data have been published previously (abstracts excepted); and that the article or a substantially similar article is not under consideration by another journal at that time. Upon submission of the manuscript, the corresponding author must provide the Editorial Board with documents proving that all those quoted for personal communications or listed in the *Acknowledgement* section have agreed to their inclusion.



Workflow of the editorial process

Authors are responsible for obtaining permission to reproduce copyrighted material from other sources and send an authenticated copy of the permission to the Editorial Board.

Each author must provide a clear **statement on potential conflicts of interest** in which he or she may be involved. The statement should include sources of funding, including internal support or grants from non - commercial institutions. The absence of funding should also be declared. The statement on conflicts of interest will be published at the end of the paper. Scanned copies sent electronically and fax submissions are not acceptable.

Authorship

All named authors should meet the criteria for authorship as stated in the „Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication” issued by the International Committee of Medical Journal Editors (www.icmje.org):

„Authorship credit should be based on 1) substantial contributions to conception and design, acquisition of data, or analysis and interpretation of data; 2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content; and 3) final approval of the version to be published. Authors should meet conditions 1, 2, and 3. [...]”

“All persons designated as authors should qualify for authorship, and all those who qualify should be listed.”

The *Romanian Journal of Laboratory Medicine* considers all authors to be responsible for the content of the entire paper.

Authors are requested to describe their individual contributions to a study paper in a “**Cover letter**” that will be signed, attached to and sent by e-mail (office@rrml.ro) together with

the “**License to publish**” form, as soon as possible.

Individuals who supplied reagents, strains or facilities should not be listed as authors, but may be recognized in the *Acknowledgements* section. Individuals who gave advice on the manuscript should be acknowledged, but are not considered authors.

Research involving human subjects or experimental animals

If the scientific project involves human subjects or experimental animals, authors must state in the manuscript that the protocol has been approved by the Ethics Committee of the institution within which the research work was undertaken. Experiments on live vertebrates or higher invertebrates must be demonstrated to be ethically acceptable and in accordance with institutional and national guidelines or regulations for laboratory animals. If the manuscript reports medical research involving human subjects, authors must include a statement confirming that informed consent was obtained from all subjects, according to the World Medical Association Declaration of Helsinki, revised in 2000, Edinburgh.

Manuscript preparation

Before submitting a paper, please assure that the manuscript fit in one of the journal category described by the Journal’s Editorial Policy.

The following article types are accepted: Review, Original research article, Original professional paper, Short Communication, Case study / Series case studies, Course Notes, and Letter to the Editor. Advertisements, news, and special issues are also acceptable as non-indexed publications.

The following article types are accepted, with their formatting limitations:

Article type	Manuscript word limit	Maximum number of references	Maximum number of figures and tables	Abstract (max 250 words)	Supplemental data (online only)
Review	5000	70	6	Yes	Yes
Original research article	3500	40	6	Yes	Yes
Original professional paper	3000	30	5	Yes	Yes
Short Communication	2500	25	4	Yes	No
Case study / case series	2000	25	3	Yes	No
Course Notes	2000	15	3	No	No
Letter to the Editor	1500	10	1	No	No
Editorial	2000	10	1	No	No

Manuscripts must be written in English and prepared in conformity to the “Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication” issued by the International Committee of Medical Journal Editors (www.icmje.org). Romanian authors will also provide a copy of the title, affiliation, abstract and keywords translated into Romanian.

Authors should consult someone proficient in the English language, if they feel it is necessary. If the manuscript is not conform to accepted standards of English usage, the manuscript will be rejected.

Articles must be written in Microsoft Word, Style: Normal + Justified, Font: Times New Roman, font size 12. All manuscripts must be typed double-spaced. Original source files, not PDF files, are required. In text editing, authors should not use spacing with spacebar, tab or paragraph mark, but use the indentation and spacing options in Format → Paragraph. Automatic paging is preferred.

Please do not import tables or figures into the text document, but only specify their insertion in text (e.g. *Table No 3 insertion*). They have to be sent in separate files. Files should be labeled with appropriate and descriptive file names, **without diacritics** (e.g. Imunofluorescenta.doc, Imunofluorescenta Fig1.tiff, Imunofluorescenta

Table2.doc). **The file names must not contain any self-revealing information** (e.g. authors' name).

Charts and tables should be designed in black and white or in greyscale, unless color reproduction is essential for the understanding of the message.

The preferred format for all digital image files is TIFF (Tagged Image File Format). PNG format is also acceptable. Resolution of images must be at least 300 dpi at the size they will appear in the print. Any special instructions regarding sizing should be clearly noted. Scanned images should be free of technical faults (e.g. shadows, wrong orientation). Authors should state the coloration technique and the magnification factor of all images of microscopic samples. Test your figures by sizing them to their intended dimensions and then printing them on your personal printer. The result should not look fuzzy, jagged, pixelated, or grainy.

Manuscript organization

The text of original papers will be organized in one document, in a so-called “IMRAD” structure: introduction (no more than 25% of the text), material and methods, results, comments or discussions and acknowledgements. **The manuscript should not include any self-re-**

vealing information. All information about the author(s), affiliation, contact, as well as the abstract and keywords, will be provided only within the online submission process.

Material and methods have to be described in enough detail to permit reproduction by other teams. The same product names should be used throughout the text (with the brand name in parentheses at the first use). **Results** should be presented concisely. Tables and figures should not duplicate text. The **discussion** should set the results in context and set forth the major conclusions of the authors. Information from the Introduction or Results should not be repeated unless necessary for clarity. The discussion should also include a comparison among the obtained results and other studies from the literature, with explanations or hypothesis on the observed differences, comments on the importance of the study and the actual status of the investigated subject, unsolved problems, and questions to be answered in the future. In addition to the customary recognition of non-authors who have been helpful to the work described, the **acknowledgements** section must disclose any substantive conflicts of interest.

Abbreviations shall be preceded by the full term at their first apparition in text. A list of all abbreviations used shall be made at the end of the article.

Separate documents: tables, graphics, pictures and schemes will appear on separate documents. Tables will have a reasonable number of rows and columns. The tables, charts, schemes etc. should be sent in their original file format (for example, XLS files if they were created in Microsoft Excel), together with the main manuscript, via on line system (<https://www.editorial-system.com/editor/rrml>).

References should be numbered consecutively in the order in which they are first mentioned in the text. Identify references in text, tables, and legends by Arabic numerals in paren-

theses. References cited only in tables or figure legends should be numbered in accordance with the sequence established by the first identification in the text of the particular table or figure. The titles of journals should be abbreviated according to the style used in *Index Medicus*. Consult the list of Journals Indexed for MEDLINE, published annually as a separate publication by the National Library of Medicine. Authors are responsible for the accuracy and completeness of all references and are also responsible for ensuring that references are not used out of context.

For journal articles use the following form: authors' surnames and first names initials, article's title, the journal abbreviation according to the *Index Medicus*, year, volume, starting and ending pages of the article. If there are more than six authors, list the first six and add et al. We recommend to automatically insert the references using dedicated reference management solutions (e.g. Zotero, Microsoft word bibliography, Endnote web), according to **Vancouver citation style**.

e.g. "Zimmermann MB, de Benoit B, Corigliano S, Jooste PL, Molinari L, Moosa K, et al. Assessment of iodine status using dried blood spot thyroglobulin: development of reference material and establishment of an international reference range in iodine-sufficient children. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006 Dec;91(12):4881-7"

For books or monographs: the names of the cited chapter's authors, chapter's title, the editors, the title of the book or monograph, the name and location of the publisher, the year of the appearance and pages.

Editorial process and peer review

The whole peer-review workflow is performed in the Editorial System online. Manuscript submitted should contain original work, focused on the aims of this journal, should be

clearly and correctly written in English, and should contain all essential features of a scientific publication. Submitted manuscripts are screened for completeness and quality of files and will not enter the review process until all files are satisfactory. In order to evaluate similarities with scientific literature, specialized text-matching software is used to screen all manuscripts accepted for scientific evaluation. The Secretariat will announce the corresponding author about the receipt and the status of the manuscript.

Authors may suggest reviewers for their manuscript, whether invited to do so by the Editor or not. The Editor may choose to use one or more of these reviewers, but is under no obligation to do so. Authors may ask that certain people not be asked to review their manuscript, but Editors are not held to accept these requests either. The articles are sent to reviewers with expertise in the laboratory medicine area, without revealing the authors' names and positions. Also, the reviewers' identities are not known by the authors. Following the reviewers' recommendations, the Editors decide if a paper is published or not. Submissions may be declined without external review as deemed appropriate by the Editor-in-Chief and the members of the Editorial Board. The authors of the manuscripts that have been rejected or need revision will be announced. Revised manuscripts should be resubmitted as soon as possible, but not later than 6 weeks. Although unusual, a resubmission may be rejected after revision if the response to suggestions and requests is considered inadequate.

Authors will receive a PDF file with the edited version of their manuscript for final proofreading. This is the last opportunity to view an article before its publication. The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness and accuracy of the text, tables and figures. Substantial changes in content are not allowed without the approval of the Editor. The authors are requested to return

the corrected proofs within 7 days after their delivery or notify the Editors that no corrections are required. After online publication, further changes can only be made in the form of an Erratum, which will be hyperlinked to the article. The corresponding author will receive a printed issue of the Journal free of charge.

Scientific misconduct / Corrections / Retraction Policy

Scientific fraud are rare events; however, they have a very serious impact on the integrity of the scientific community. Scientific misconduct is defined by the Office of Research Integrity as "fabrication, falsification, plagiarism, or other practices that seriously deviate from those that are commonly accepted within the academic community for proposing, conducting, or reporting research". In cases where there is a suspicion or allegation of scientific misconduct or fraudulent research in manuscripts submitted or published, the Editors reserve the right to impose sanctions on the authors, such as: immediate rejection of the manuscript, banning author(s) from submitting manuscripts to the journal for a certain period of time, retracting the manuscript, bringing the concerns to the authors' sponsoring or funding institution or other appropriate authority for investigation.

If the Editorial Board uncovers possible evidence of such problems it will first contact the corresponding author in complete confidence, to allow adequate clarification of the situation. If the results of such interactions are not satisfactory, the Board will contact the appropriate official(s) in the institution(s) from which the manuscript originated. It is then left to the institution(s) in question to pursue the matter appropriately. Depending on the circumstances, the *Romanian Journal of Laboratory Medicine* may also opt to publish errata, corrigenda, or retractions.

Serious errors in a published manuscript and infringements of professional ethical codes will result in an article being retracted. This will occur where the article is clearly defamatory, or infringes others' legal rights, or where the article is, or there is good reason to expect it will be, the subject of a court order, or where the article, if acted upon, might pose a serious health risk. In any of these cases all coauthors will be informed about a retraction. A Retraction Note detailing the reason for retraction will be linked to the original article.

Publication fee

A processing fee of 50 EUR (equivalent in RON) will have to be paid for articles accepted for evaluation by the editorial board of Romanian Journal of Laboratory Medicine (invited contributions excepted). Please note that the payment will only be required if your article and application passes the Technical check and is accepted for scientific evaluation (the article is "under Review"). The journal does not have article submission charges.

The publication fee for accepted article is 200 EUR (equivalent in RON), which have to

be paid when article proof is sent to the correspondence author.

The author will bear the cost of publication for color illustrations, if their number exceeds two color figures (invited contributions excepted). The charge is 25 EUR (equivalent in RON) for each color figure, starting with the third color illustration). The authors will also bear the cost of English supervision (if the manuscript needs assistance). If reasonable corrections are necessary the charge is 10 EUR (equivalent in RON)/ supervised page.

The total charge for color figures and English supervision will be communicated by the Editorial Secretariat upon acceptance of the manuscript for publication.

All payments will be operated in RO 65BTRLRONCRT0406871001 - for payment in RON, RO15BTRLEURCRT0406871001 - for payment in EUR bank account open for Romanian Association of Laboratory Medicine – CF 17383407 – at Banca Transilvania, Divizia pentru Medici Tîrgu Mureş (SWIFT code BTRL-RO22). Please e-mail (minodora.dobreanu@rrml.ro) or fax a copy of the bank draft at the Editorial Secretariat Phone +40 265 208 932; Fax: +40 265 208 942.

Cover letter and authors' contribution

According to the ICMJE, the *Romanian Journal of Laboratory Medicine* recommends that authorship be based on the following criteria:

1. Substantial contributions to the conception or design of the work; or the acquisition, analysis, or interpretation of data for the work;
2. Drafting the work or revising it critically for important intellectual content;
3. Final approval of the version to be published;
4. Agreement to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Those who meet all four criteria can be identified as authors; otherwise they should only be acknowledged.

Title

The authors attest that

- This paper has not been published previously;
- The manuscript is an original work without fabrication, fraud, or plagiarism;
- Have read the complete manuscript and takes responsibility for the content of the manuscript;
- There is no potential conflict of interest (employment, consultancies, stock ownership, equity interests, and patent-licensing arrangements);

Authors' contribution

Authors	Contributions	Signatures

Acknowledgements

