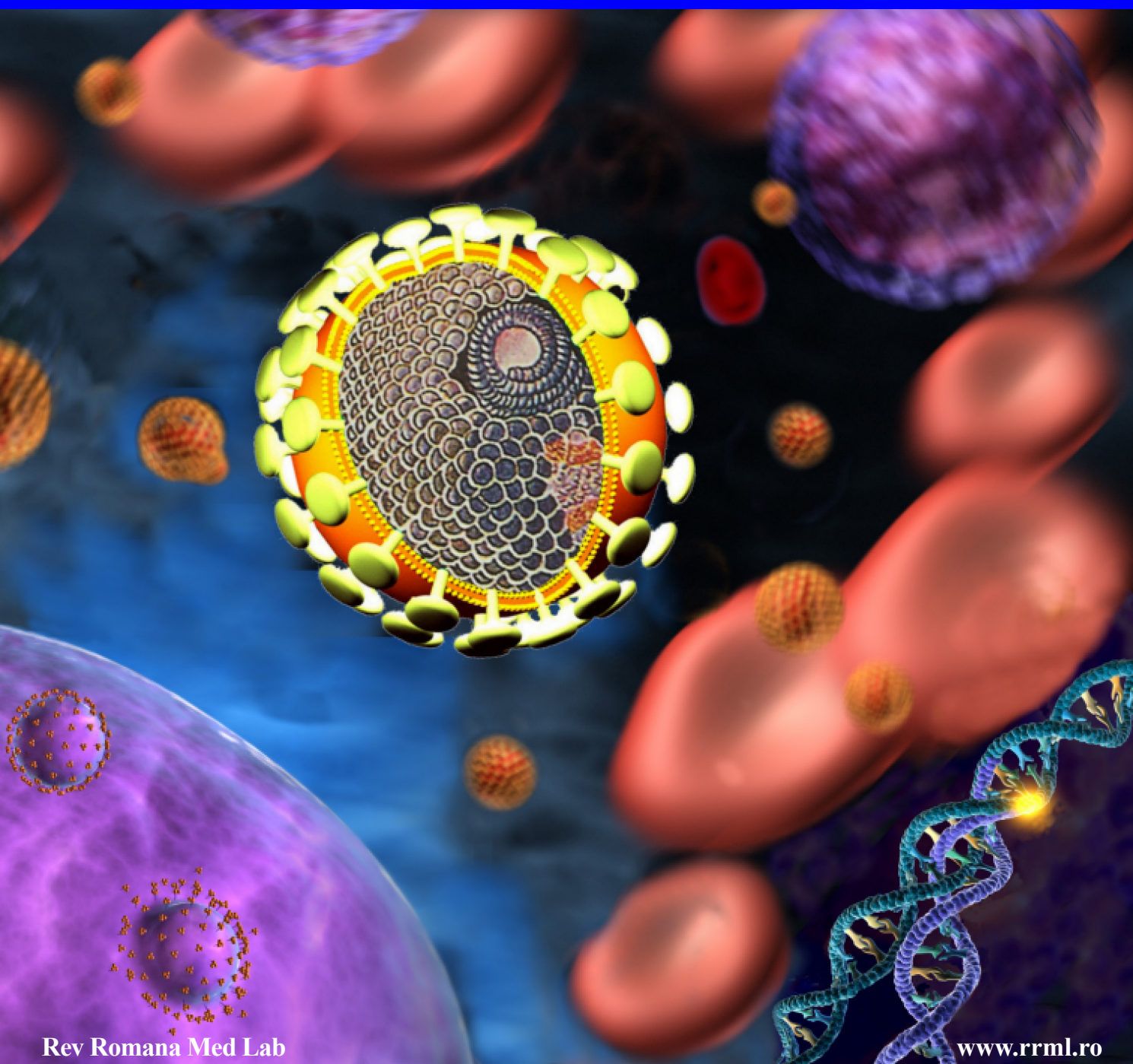


REVISTA ROMÂNĂ DE MEDICINĂ DE LABORATOR

Romanian Journal of Laboratory Medicine

SUPLIMENT 1 - VOL. 28, Nr. 4, OCTOMBRIE 2020 ISSN 1841-6624 • ISSN online: 2284-5623



Rev Romana Med Lab

www.rrml.ro

This publication was printed on acid-free paper.
ISO 9706



REVISTA ROMÂNĂ DE MEDICINĂ DE LABORATOR **Romanian Journal of Laboratory Medicine**

Manuscript submission

Manuscripts and all attached files (tables and illustrations) should be submitted in electronic form using the on-line manuscript submission system.

The complete form of the *Informations and Guidelines for Authors* and the *Authorship responsibilities* form can be found on the website and at the end of each issue of the *Romanian Journal of Laboratory Medicine*. The journal does not have submission charges.

Publication fee

An processing fee of 50 EUR will have to be paid for articles accepted for evaluation by editorial board of Romanian Journal of Laboratory Medicine (invited contributions excepted). The fee will be paid when the manuscript acceptance for scientific evaluation is prompted by the Editorial Office. 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 “with Editor” or “under Review”). The publication fee of 200 EUR (equivalent in RON) have to be paid for articles accepted for publication, immediately after acceptance. 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 (or 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 (or equivalent in RON)/ supervised page.

All payments will be operated in RO65BTRLRONCRT0406871001 - for payment in RON, RO15BTRLEURCRT0406871001 - for payment in EUR bank account open for Romanian Association of Medical Laboratories – CF 17383407 – at Banca Transilvania, Divizia pentru Medici Tirgu Mures (SWIFT code BTRLRO22). Please e-mail (office@rrml.ro) or fax a copy of the bank draft at the Editorial Secretariat Phone +40 265 208 932, Fax: +40 265 208 942.

Subscription

Subscription to the Romanian Journal of Laboratory Medicine can be paid anytime until the end of March and involves the receiving of four issues of the Journal. Subscription price is 150 RON. You may purchase individual issue numbers on stock at the price of 40 RON/number.

Subscription or single payment is made to the account number RO65BTRLRONCRT0406871001, tax code 17383407, opened on behalf of the Romanian Association of Medical Laboratories on Banca Transilvania, Divizia pentru Medici, str. Mihai Viteazu, nr. 31, Tîrgu Mureş.

Mailing address:

Prof. Minodora Dobreanu
University of Medicine and Pharmacy Tîrgu Mures, Clinical Biochemistry and Laboratory Department
Str. Gheorghe Marinescu, Nr. 38, Tîrgu Mures, România
Email: minodora.dobreanu@rrml.ro

DTP: Editura Prisma

**REVISTA ROMÂNĂ DE
MEDICINĂ DE LABORATOR**

Supliment 1 la Vol. 28, Nr. 4, Octombrie, 2020

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. Hradec 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 Şchiopu 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 Dorobăţ (Institutul Naţional de Boli Infecţioase „Matei Balş”)

Vlad Gorduza (UMF „Gr. T. Popa” Iaşi)

Nicolae Hâncu (UMF „Iuliu Haţieganu”, Cluj-Napoca)

Monica Licker (UMF Timişoara)

Claudiu Mărgăritescu (UMF Craiova)

Marius Măruşteri (UMFST Târgu Mureş)

Ioana Neagoe (UMF „Iuliu Haţieganu” Cluj-Napoca)

Dan Oţelea (Institutul Naţional de Boli Infecţioase „Matei Balş”)

Ioan Victor Pop (UMF „Iuliu Haţieganu” Cluj-Napoca)

Adrian Streinu-Cercel (UMF „Carol Davila” Bucureşti)

Margit Şerban (UMF „Victor Babeş” Timişoara)

ASOCIAȚIA DE MEDICINĂ DE LABORATOR DIN ROMÂNIA
CCAMF - UMF Tirgu Mures
Str. Gh.Marinescu 38, Et 3, Cam. 107,
Tirgu 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. 28, Nr. 4, Octombrie, 2020

Comitetul de redacție

Redactor șef
Minodora Dobreanu

Redactor adjunct
Adrian Man

Redactori de specialitate
Claudia Bănescu
Simona Cernea
Adela Boilă
Doina Ramona Manu
Alina Scridon Șerban
Cristina Elena Selicean
Edit Szekely

Redactori tehnici
Adrian Man
Mihaela Iancu
Adrian Năznea
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 Patra Conferință a Asociației de Medicină de Laborator din România, cu Participare Internațională	S5
Organizers /Organizatori	S6
Abstracts / Rezumate*	S7
Authors Index / Index de autori	S103
Information and Guidelines for Authors	S107

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



**A PATRA CONFERINȚĂ A ASOCIAȚIEI DE
MEDICINĂ DE LABORATOR DIN ROMÂNIA,
CU PARTICIPARE INTERNAȚIONALĂ**

09-11 SEPTEMBRIE 2020

SUB AUSPICIILE IFCC ȘI EFLM

Co-organizatori | Co-organizers

Societatea Română de Microbiologie

Societatea Română de Hematologie

Universitatea de Medicină și Farmacie Iuliu Hațieganu Cluj Napoca

Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie "George Emil Palade" din Tîrgu Mureș

Universitatea de Medicină și Farmacie Victor Babeș Timișoara

Universitatea de Medicină și Farmacie "Grigore T. Popa" Iași

Universitatea de Medicină și Farmacie Carol Davila București.

Comitet de organizare - Organizing Committee*Tîrgu Mureș*

Minodora DOBREANU

Claudia BĂNESCU

Adrian MAN

Adina HUȚANU

Eliza Remona DAVID

Floredana ȘULAR

Marta Andrea FODOR

Oana OPREA

Mihaela ZAHARIA

Ramona URZICĂ

Iași

Cristina DIMITRIU

Cluj Napoca

Ioana BRUDAȘCĂ

Cristina SELICEAN

Mihai ALDICA

Timișoara

Monica LICKER

Camelia Vidita GURBAN

București

Cristina MAMBET

Ariadna RĂDULESCU

Comitet științific - Scientific Committee

Claudia BĂNESCU

Ioana BRUDAȘCĂ

Eugen CARASEVICI

Irina CODIȚĂ

Dan COLIȚĂ

Daniel CORIU

Minodora DOBREANU

Olga DOROBĂȚ

Maria GREABU

Monica LICKER

Mariana PAȚIU

Cristina SELICEAN

PLENARY SESSION 1 – MICROBIOLOGY

R1. EUCAST STANDARD: NEW CHALLENGES RELATED TO THE AREA OF TECHNICAL UNCERTAINTY AND INTERPRETATION OF RESULTS

Irina Codiță

”Cantacuzino” National Military Medical Institute of Research-Development, Bucharest

Introduction: The European Antimicrobial Susceptibility Testing Committee (EUCAST) has replaced the Intermediate category with the Susceptible Increased Exposure category. Among the consequences engaging the responsibility of the Microbiology Laboratory, the need to introduce the notion of Area of Technical Uncertainty (ATU) involves a number of challenges regarding the interpretation of the results.

Material and methods: We have consulted the documents disseminated by EUCAST in the last years and the publications related to ATU, the ways of reporting this type of result and completing the laboratory investigations in order to increase the accuracy of the information.

Results: ATU is a concept introduced by EUCAST to warn laboratories about the uncertainty of interpreting the results of antibiotic susceptibility testing (AST). The main recommended solutions are: repeat the test, use alternative tests, report the result as it is, accompanied by an explanation, or report the ATU as R, etc. In a comparative study on the ability of several methods to clarify the results in the ATU area for Amoxicillin-Clavulanic Acid against *E. coli*, Soares et al found that for systemic isolates the percentage of results in the ATU is unacceptably high for disk diffusion test, E-test, as well as for the automatic method used.

Conclusions: Phenotypic methods may be insufficient to clarify the results obtained by disk diffusion test, especially in the case of certain pairs of antibiotic-pathogenic microorganism, systemic isolates, etc. Additional studies are needed to specify the ATU in the case of alternative methods, such as the E-test, as well as the construction of well-defined diagnostic algorithms, to clarify the results falling in the ATU.

Keywords: antibiotic resistance, EUCAST, area of technical uncertainty.

STANDARDUL EUCAST: NOI PROVOCĂRI PRIVIND ARIA DE INCERTITUDINE TEHNICĂ ȘI INTERPRETAREA REZULTATELOR

Introducere: Comitetul European pentru Testarea Sensibilității la Antibiotice (EUCAST) a înlocuit categoria Intermediar cu categoria Sensibil Expunere Crescută. Dintre consecințele care angajează responsabilitatea Laboratorului de microbiologie, necesitatea introducerii noțiunii de Arie de Incertitudine Tehnică (AIT) implică o serie de provocări privind interpretarea rezultatelor.

Material și metode: Am consultat documentele difuzate de EUCAST în ultimii ani și publicațiile referitoare la AIT, modalitățile de raportare a acestui tip de rezultat și de completare a investigațiilor de laborator în scopul creșterii preciziei informației.

Rezultate: AIT este o noțiune introdusă de EUCAST pentru a avertiza laboratoarele asupra

incertitudinii interpretării rezultatelor testării sensibilității la antibiotice (AST).

Principalele soluții recomandate sunt: repetarea testului, utilizarea unor teste alternative, raportarea rezultatului ca atare, însoțit de o explicație, sau raportarea AIT ca R, etc..

Într-un studiu comparativ vizând capacitatea mai multor metode de a clarifica rezultatele din zona AIT pentru Amoxicilină-Acid clavulanic față de *E. coli*, Soares et al au găsit că pentru izolatele sistemice procentul de rezultate în zona AIT este inacceptabil de mare atât pentru disc difuzie, cât și pentru E-test și metoda automată utilizată.

Concluzii: Metodele fenotipice pot fi insuficiente pentru clarificarea rezultatelor disc difuziei, mai ales în cazul unor anumite perechi antibiotic-microorganism patogen, al izolatelor sistemice etc. Sunt necesare studii suplimentare pentru precizarea AIT în cazul unor metode alternative, ca de exemplu E-testul, precum și construirea unor algoritmi de diagnostic bine definiți, pentru clarificarea rezultatelor care cad în AIT.

Cuvinte cheie: rezistența la antibiotice, EUCAST, arie de incertitudine tehnică

R2. QUALITY CONTROL IN THE MICROBIOLOGY LABORATORY – MINIMAL REQUIREMENTS TO ENSURE THE SAFETY OF THE FINAL LABORATORY REPORT

Krisztina Vas

Central Laboratory of Emergency Hospital, Târgu-Mureș

Microbiological investigations that provide the etiological diagnosis in infectious diseases have major therapeutic impact. At the same time, they have a role in the epidemiologic surveillance of the circulating bacteria in certain geographical areas.

Diagnostic safety is achieved by the rigorous analysis of each step of the procedures, starting from the reception of the biological specimen till the release of the final laboratory report. Besides the pre-analytical, analytical and post-analytical phases of the diagnosis, communication between the clinicians and microbiologist is an important requirement in quality assurance.

Quality control (QC) is one of the quality assurance procedures which concerns the possible occurring errors in the performance of tests. QC in microbiology consists of testing the sterility and performance of culture media, checking the antibiotic disks that are used in identification and susceptibility testing, control of the rapid identification kits, etc., in accordance with the manufacturer recommendations and standards in use. The diagnostic methods and the equipment are verified as well. The frequency of QC is established by standard operating procedures and depends on the quantity of the tests performed in each laboratory. Performing the QC involves technical and financial issues. To assure the permanent quality of laboratory reports QC must be practical, achievable and affordable.

Keywords: diagnostic safety, QC in microbiology

CONTROLUL CALITĂȚII ÎN MICROBIOLOGIE - CERINȚE MINIME PENTRU SIGURANȚA MAXIMĂ A DIAGNOSTICULUI

Diagnosticul etiologic în bolile infecțioase este asigurat de laboratorul de microbiologie, având o importanță majoră în tratamentul pacienților respectiv în urmărirea epidemiologică a tulpinilor bacteriene circulante în anumite zone geografice.

Un raport de analize corect și ușor interpretabil se obține prin analiza riguroasă a tuturor proceselor folosite în diagnostic, începând de la preluarea probelor biologice până la eliberarea rezultatelor. Asigurarea calității implică, pe lângă analiza fazelor preanalitice, analitice și postanalitice, inclusiv comunicarea cu medicul trimițător.

Controlul calității (QC) reprezintă unul dintre procesele de asigurare a calității, care identifica posibilele erori în metodele de analiză. În laboratorul de microbiologie QC implică în primul rând verificarea materialelor și reactivilor folosiți în diagnostic (controlul sterilității și al performanței mediilor de cultură, verificarea microcomprimatelor folosite pentru identificarea bacteriană, respectiv a celor utilizate în testarea susceptibilității față de antibiotice, a truselor de identificare rapidă, etc.) conform recomandărilor producătorilor, respectiv standardelor în vigoare. De asemenea, se efectuează și controlul tehnicilor de lucru și a echipamentelor folosite. Frecvența efectuării controlului de calitate variază în funcție de volumul determinărilor din laborator și este prestabilit în proceduri. QC implică în primul rând aspecte tehnice, dar în același timp și resurse financiare în cadrul unui laborator. Siguranța diagnosticului microbiologic este permanentă dacă controlul calității este practic, realizabil și accesibil din toate punctele de vedere.

Cuvinte cheie: siguranța diagnosticului, controlul de calitate în microbiologie

R3. *CAMPYLOBACTER JEJUNI/COLI*: ROLE IN PATHOLOGY AND DIAGNOSTIC ASPECTS

Edit Székely^{1,2}, Izabella Szász¹, Krisztina Eszter Vas¹, Ioana Miklosik¹

1. Emergency County Clinical Hospital, Târgu-Mureș

2. "George Emil Palade" University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology Târgu Mureș, Romania

Campylobacter jejuni/coli is one of the most common enteric pathogens. It may cause mild, self-limited infections or severe, disseminated infections, as well as postinfectious complications. In case of severe or complicated infections etiology and antibiotic susceptibility are important to be established. Treatment might be challenging due to both intrinsic resistance against β -lactam antibiotics and the increasing acquired resistance against other antibiotics.

Diagnosis based on cultivation is difficult due to the fastidiousness of the bacterium. It requires elevated CO₂ concentrations (5-10%). Isolation from stool samples requires selective media and incubation at 42°C. Presumptive diagnosis can be based on morphology, colony appearance and positive oxidase test. Species level identification is possible using various commercial identification systems. Antibiotic susceptibility testing can be performed according to standards (EUCAST, CLSI). Diagnostic alternatives include bacterial antigen or nucleic acid detection.

Although cultivation requires special conditions, these can be achieved by any laboratory performing diagnosis of intestinal infections, especially when more costly diagnostic methods are not affordable. Therefore, diagnosis of *Campylobacter spp.* infections should be part of the routine workup.

Keywords: *Campylobacter jejuni/coli*, intestinal infections

R3. *CAMPYLOBACTER JEJUNI/COLI*: IMPLICAȚII ÎN PATOLOGIE ȘI ASPECTE DIAGNOSTICE

Campylobacter jejuni/coli este unul dintre cei mai importanți patogeni intestinali. Formele clinice variază de la infecții ușoare, autolimitate la infecții severe, generalizate sau cu complicații postinfecțioase. În infecțiile severe, respectiv cele complicate, este importantă stabilirea etiologiei și a sensibilității antimicrobiene. Tratamentul reprezintă o provocare datorită rezistenței intrinseci a speciilor de *Campylobacter* față de β -lactamine și din cauza răspândirii rezistenței față de alte antibiotice.

Diagnosticul infecției bazat pe cultivare este îngreunat de proprietățile acestei bacterii: fiind microaerofil, necesită incubare în prezența unei concentrații crescute de CO_2 (5-10%). Izolarea selectivă din materii fecale este favorizată de utilizarea mediilor selective și incubarea la 42°C. Diagnosticul prezumptiv se poate stabili pe baza morfologiei, a caracterelor de cultură și demonstrarea producerii oxidazei, iar identificarea la nivel de specie este posibilă prin sisteme de identificare comerciale. Testarea sensibilității la antibiotice este standardizată (EUCAST și CLSI).

Alternativele diagnostice includ detectarea antigenelor bacteriene sau a acizilor nucleici.

Deși necesită condiții speciale de cultivare, acestea pot fi realizate în orice laborator de bacteriologie care efectuează diagnosticul infecțiilor intestinale, mai ales dacă nu pot fi aplicate metode mai costisitoare. Astfel diagnosticul infecțiilor cauzate de *Campylobacter spp.* trebuie să facă parte din evaluarea de rutină.

C1. BACTERIAL AND FUNGAL COINFECTION IN COVID -19 PATIENTS FROM GEORGIA

Tamar Didbaridze

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

Many studies have already found that a significant number of hospitalized COVID-19 patients have and are continuing to develop dangerous secondary bacterial co-infections such as bacterial pneumonia and sepsis. Rapid diagnostic tests that identify the presence of bacterial or fungal infections and drug-resistant pathogens can and will play a critical role in the ongoing public health response to COVID-19. Most at-risk are older adults and those with preexisting conditions, as they are more likely to be hospitalized for longer periods of time and require use of medical devices such as ventilators. When these high-risk individuals end up in critical care, they are more likely to stay there for an extended period of time, increasing the risk for exposure to secondary bacterial infections. Data concerning the rate of bacterial or fungal co-infection in patients presenting with coronavirus infections are scarce.

We retrospectively analyzed the microbial spectrum of tracheal aspirates obtained from 13 patients, aged 42 to 82 years, who were admitted to TSMU The First University Clinic Intensive Care Unit (ICU) Department between March 19th and April 13th 2020. All of them needed mechanical ventilation. Tracheal aspirates were collected and processed for culture on the day of intubation.

Samples collected from any suspected coronavirus case should also be tested against a PCR-based panel capable of identifying a full spectrum of bacterial pathogens and antibiotic-resistance markers commonly known to cause co-infections and severe complications. With a full understanding of their

patient's condition, in a matter of hours instead of days, clinicians can take faster appropriate actions on antibiotic treatment.

Keywords: COVID-19, bacteria, fungi, antibiotics, ICU department.

C2. PHENOTYPES OF ANTIBIOTIC RESISTANCE ISOLATED FROM BLOOD CULTURES IN THE REGIONAL INSTITUTE OF ONCOLOGY IASI

Florina Fotache, Brîndușa Copăcianu, Raluca-Ioana Toma, Emanuela Achîței

Regional Institute of Oncology, Iași

Introduction: Bacterial infections are a challenge for both hospitalized patients, especially critically ill patients, and clinicians. Once the distinction between colonization and infection is made, a first-line therapy should be decided. Knowing the circulating resistance phenotypes within the medical unit is necessary and useful in choosing an antibiotic with the most targeted spectrum, that will prevent the development of multidrug-resistant organisms (MDR).

Material and method: Bacterial strains isolated from January 1 to July 31, 2019, from the hospitalized patients' blood cultures were analyzed. The samples were collected by the medical staff of the department in compliance with the rules to prevent contamination. Blood culture vials were incubated in BactAlert. Bacterial identification and antibiotic susceptibility testing were performed using MicroScan automatic system (Minimum Inhibitory Concentration).

Results: During the specified period there were 146 positive blood cultures from a total number of 1289 analyzed samples, coming from various hospital units, such as Intensive Care Unit, Hematology, Surgery, Medical Oncology and Radiotherapy. Most commonly, Gram-negative bacilli were isolated, in particular *Escherichia coli* (28.76%), *Klebsiella pneumoniae* (23.28%), *Pseudomonas aeruginosa* (13.69%). Gram-positive bacteria were represented by *Staphylococcus aureus* (10, 95%). Enterobacteriaceae strains have high sensitivity to carbapenems (82.7%), ceftazidim (64.3%), piperacillin / tazobactam (62%) and quinolones (60.9%), compared to *Pseudomonas aeruginosa* displaying 20%, 25%, 55 %, respectively 25% sensitivity. In case of *S. aureus* positive samples, 81.25% were methicillin-sensitive.

Conclusions: *Pseudomonas aeruginosa* strains involved in sepsis display a highly resistant phenotype, however 75% sensitivity to colistin was observed. MDR strains were found in case of *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* and *Providencia stuartii*.

Keywords: resistance, blood culture, oncology patient

C2. FENOTIPURI DE REZISTENȚĂ BACTERIANĂ IZOLATE DIN HEMOCULTURI ÎN INSTITUTUL REGIONAL DE ONCOLOGIE IAȘI

Introducere: Infecțiile bacteriene reprezintă o provocare atât pentru pacienții spitalizați, în special cei aflați în stare critică, cât și pentru clinicieni. Odată făcută distincția între colonizare și infecție trebuie luată decizia unei terapii de primă intenție. Cunoașterea fenotipurilor de rezistență circulante în cadrul unității medicale este necesară și utilă în alegerea unui antibiotic cu spectru cât mai țintit, care să prevină dezvoltarea tulpinilor multidrog-rezistente (MDR).

Material și metodă: Au fost analizate tulpinile bacteriene izolate în perioada 1 ianuarie – 31 iulie 2019, din hemoculturile pacienților internați. Probele au fost recoltate de personalul medical din secție cu respectarea normelor pentru a preveni contaminarea. Flacoanele de hemocultură au fost incubate în BactAlert, iar identificarea bacteriană și antibiogramele au fost efectuate în sistem automat MicroScan (Concentrație Minimă Inhibitorie).

Rezultate: În perioada analizată s-au înregistrat un număr de 146 de hemoculturi pozitive din 1289 probe analizate, provenite din secțiile de ATI, Hematologie, Chirurgie, Oncologie medicală și Radioterapie. Cel mai frecvent s-au izolat bacili Gram negativi, în special *Escherichia coli* (28,76%), *Klebsiella pneumoniae* (23,28%), *Pseudomonas aeruginosa* (13,69%), iar dintre bacteriile Gram pozitive *Staphylococcus aureus* (10,95%). Tulpinile de *Enterobacteriaceae* prezintă sensibilitate ridicată la carbapeneme (82,7%), ceftazidim (64,3%), piperacilină/tazobactam (62%) și chinolone (60,9%), față de *Pseudomonas aeruginosa* care prezintă o sensibilitate de 20%, 25%, 55% și respectiv 25%. În cazul *S.aureus*, 81,25% din tulpini au fost meticilino-sensibile.

Concluzii: Se remarcă o rezistență deosebită a tulpinilor de *Pseudomonas aeruginosa* implicate în sepsis, dar cu o sensibilitate de 75% la colistin. Tulpini MDR s-au întâlnit la *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* și *Providencia stuartii*.

Cuvinte cheie: rezistență, hemocultură, pacient oncologic

C3. ANTIBACTERIAL EFFECT OF ESSENTIAL OILS USED AS ROOT-CANAL IRRIGANTS

Adrian Man¹, Monica Cristina Nagy-Bota², Klara Brînzaniuc², Zsuzsanna Pap², Mariana Păcurar³, Mirela Pribac⁴, Cristina Ciurea¹, Ionela Anca Pinteș-Simon¹, Monika Kovacs⁵

1. Department of Microbiology, "George Emil Palade" University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology, Târgu Mureș, Romania
2. Department of Anatomy and Embryology, "George Emil Palade" University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology, Târgu Mureș, Romania
3. Department of Orthodontics, "George Emil Palade" University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology, Târgu Mureș, Romania
4. "George Emil Palade" University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology, Târgu Mureș, Romania

Introduction: The aim of the study was to assess the antibacterial properties of natural root-canal irrigants (aqueous extracts of oregano, thyme, lemongrass, melaleuca and clove essential oils) against *Enterococcus faecalis*, a common dental pathogen.

Material and methods: Aqueous extracts of each essential oil (AqEO) were prepared by continuous mixing of equal amounts of pure essential oils with sterile water for 24h. The aqueous part was decanted and further used as irrigation solution. Sodium hypochlorite (NaOCl) was used as a positive control for decontamination of root canals. The root canals of seven teeth were inoculated with 20 µl of *Enterococcus faecalis* ATCC29212 inoculum of McFarland 1 concentration and incubated overnight at 37°C. All the teeth canals were instrumented and irrigated with the corresponding AqEO, NaOCl respectively

saline solution as negative control, then rinsed with saline. Bacteriological samples for each canal were collected with sterile paper points which were inoculated on nutrient broth.

Results: Thyme and clove AqEO, respectively NaOCl completely inhibited *Enterococcus faecalis* growth. Bacterial growth was observed for all other AqEO and as well for the negative control, as the broth became cloudy.

Conclusion: Hydrosoluble components from thyme and clove essential oils, together with the mechanical instrumentation of the root canals, managed to provide an ex-vivo antibacterial effect on *Enterococcus faecalis*.

Keywords: essential oils, antibacterial effect, root-canal infection control

C3. EFECTUL ANTIBACTERIAN AL ULEIURILOR ESENȚIALE UTILIZATE CA IRIGANȚI PENTRU CANALELE RADICULARE

Introducere: S-a urmărit evaluarea proprietăților antibacteriene ale unor substanțe naturale folosite pentru irigarea canalelor radiculare (extracte apoase ale uleiurilor esențiale de oregano, cimbru, lemongrass, melaleuca și cuișoare) împotriva *Enterococcus faecalis*, un agent patogen comun întâlnit în patologia dentară.

Material și metode: Extractele apoase pentru fiecare ulei esențial (AqEO) au fost preparate prin amestecarea continuă a unor cantități egale de uleiuri esențiale pure cu apă sterilă timp de 24 de ore. Partea apoasă a fost decantată și utilizată în continuare ca soluție de irigare. Hipocloritul de sodiu (NaOCl) a fost utilizat ca și control pozitiv pentru decontaminarea canalelor radiculare. La șapte dinți canalele radiculare au fost inoculate cu 20 μ l de suspensie de *Enterococcus faecalis* ATCC29212 concentrație 1 McFarland și au fost incubate peste noapte la 37°C. Toate canalele dinților au fost instrumentate și irigate cu soluțiile de AqEO, NaOCl și ser fiziologic ca martor negativ, apoi clătite cu ser fiziologic. Din fiecare canal au fost colectate probe bacteriologice cu conuri de hârtie sterile, care au fost inoculate pe bulion nutritiv.

Rezultate: AqEO de cimbru și cuișoare, precum și NaOCl au inhibat complet creșterea *Enterococcus faecalis*. În cazul tuturor celorlalte AqEO și pentru controlul negativ s-a observat creștere bacteriană, prin tulburarea mediului de cultură.

Concluzie: Componentele hidrosolubile din uleiurile esențiale de cimbru și ale cuișoare, împreună cu instrumentarea mecanică a canalelor radiculare, au reușit să determine în condiții ex-vivo un efect antibacterian asupra *Enterococcus faecalis*.

Cuvinte cheie: uleiuri esențiale, efect antibacterian, controlul infecției canalelor radiculare

PLENARY SESSION 2 – MICROBIOLOGY

R1. THE EMERGENCE OF PARASITIC DISEASES IN THE CONTEXT OF CLIMATE CHANGE AND HUMAN MIGRATION

Tudor Rareș Olariu

*“Victor Babeș” University of Medicine and Pharmacy, Timișoara
Municipal Clinical Emergency Hospital, Timișoara, Romania*

Parasitic diseases represent an important public health problem. Recent reports have shown that climate change may contribute to the spread and distribution of parasitic diseases and their vectors. This could represent a threat to human health and quality of life, by infecting a higher number of people in regions made hospitable by a changing climate. Climate change may also have significant impact on human migration, by amplifying and altering migration pathways. These will contribute to the change of ecology and transmission dynamic of parasitic diseases and create opportunities for parasites to emerge or reemerge in areas where these infections were reduced or eradicated.

This report highlights how climate change and human migration have the capability to drive parasitic diseases prevalence on the planet. Both, climate change and migration can generate and exacerbate public health and economic issues. The diseases presented here include those caused by parasitic protozoans and helminths that can spread and severely affect humans worldwide. Parasitic diseases may be debilitating and sometimes may cause high mortality rates. It is therefore important to consider these possibilities and to prepare methods to prevent parasitic epidemics and control a possible increase of parasitic diseases prevalence globally.

Keywords: Parasitic diseases, climate change, human migration

R1. EMERGENȚA BOLILOR PARAZITARE ÎN CONTEXTUL SCHIMBĂRILOR CLIMATICE ȘI AL MIGRAȚIEI UMANE

Bolile parazitare reprezintă o problemă importantă de sănătate publică. Studii recente au arătat că schimbările climatice pot contribui la răspândirea și distribuția bolilor parazitare și a vectorilor acestora. Acest lucru ar putea reprezenta o amenințare asupra sănătății umane și asupra calității vieții, prin infectarea unui număr mai mare de persoane în regiunile afectate de schimbările climatice.

Schimbările climatice pot avea, de asemenea, un impact semnificativ asupra migrației umane prin amplificarea și modificarea rutelor de migrație. Acestea vor contribui la schimbarea ecologiei și a dinamicii de transmitere a bolilor parazitare și vor crea oportunități pentru apariția sau reapariția paraziților în zonele în care aceste infecții au fost limitate sau eradicate.

Acest referat evidențiază modul în care schimbările climatice și migrația umană au capacitatea de a influența prevalența bolilor parazitare la nivel global. Atât schimbările climatice cât și migrația pot genera și exacerba problemele de sănătate publică și economice. Bolile prezentate în acest material sunt cauzate de protozoare și helminți care se pot răspândi și pot afecta grav populația umană la nivel mondial. Bolile parazitare pot fi invalidante și uneori pot determina rate mari ale mortalității. În concluzie, este importantă considerarea acestor aspecte precum și elaborarea metodelor pentru prevenirea epidemiilor parazitare și controlul unei eventuale creșteri a prevalenței bolilor parazitare la nivel global.

Cuvinte cheie: boli parazitare, schimbări climatice, migrație umană

R2. MEDICAL CONSIDERATIONS CONCERNING FOODBORNE INFECTIONS IN TRANSYLVANIA REGION

Liana Monica Deac^{1,2}, Dumitru Viorel Gliga²

1. Babeş – Bolyai University, Cluj-Napoca

2. Regional Public Health Center, Cluj-Napoca

Introduction: Foodborne infections are those diseases caused by pathogenic bacteria or their toxins after ingestion of contaminated food. In many cases food poisoning is caused by negligence in circulation, storage, and preparation of food. Lately, their worldwide appearance was increasingly linked to deficiencies in nutrition, due to collective or public situations. Every year in the United States, 17 % of Americans get sick and 3,000 die so.

Material and methods: A number of 145 foodborne infections were recorded at Regional Public Health Center Cluj-Napoca during 2017-2019, and were analyzed from clinical, epidemiological and microbiological perspective.

Results: Most of foodborne infections were sporadic cases, 65% of them occurring in organized collectivities and 35% in family members, after the ingestion of the same contaminated food. Small infective doses produced minor digestive disturbances, and only large doses produced typical illnesses, requiring even hospital admissions in 9% of cases. It was also observed that some reports from the territory did not reproduce the real existing morbidity of food poisoning. It turns out that actual morbidity may exceed those reported, because many mild cases are not yet registered. The frequency of illnesses was variable, children, elderly, and some chronically ill persons being more susceptible to develop disease. Food poisoning was recorded throughout the year, but some cases were seasonal, with a peak incidence predominantly in summer time, from May to September. In our geographical area, most cases of food poisoning were caused by *Salmonella spp.* in 60% of cases, followed by *Staphylococcus aureus* in 45% of cases, while 5% of cases had no determined microbiological causes.

Conclusions: Important advances in foodborne disease prevention have been registered globally and locally, including hygienic measures in food preparation, distribution and consumption, that are essential for the prevention and reduction of the number of illnesses.

Keywords: foodborne infection, contamination, prevention

R2. CONSIDERATII MEDICALE LEGATE DE TOXIINFECTII ALIMENTARE DIN TRANSILVANIA

Introducere: Toxiinfecțiile alimentare (TIA) sunt boli produse de bacterii patogene sau de toxinele lor, care ajung în organism, în urma ingestiei alimentelor contaminate, fiind cauzate de neglijențe în modul de circulare, păstrare, sau pregătire a alimentului. În fiecare an în SUA 17 % din indivizi suferă astfel de îmbolnăviri, iar 3000 persoane prezintă cazuri letale.

Material si metode: În perioada 2017-2019 în Centrul Regional de Sănătate Publică Cluj au fost urmărite 145 TIA, ce au fost observate sub raport clinic, epidemiologic și microbiologic.

Rezultate. Majoritatea cazurilor de TIA au fost sporadice, 65% dintre acestea fiind înregistrate în colectivități organizate, iar 35% în familii, în urma consumului aceluiași aliment contaminat. Dozele mici infectante au produs tulburări digestive minore, iar dozele mari, au realizat tablouri tipice de îmbolnăvi, necesitând și internări în 9% din cazuri. Reiese și că morbiditatea reală poate depăși pe

cea raportată, unele cazuri ușoare nefiind declarate încă. Frecvența îmbolnăvirilor a variat, iar cei mai receptivi la îmbolnăviri, au fost copiii, persoanele vârstnice și unii bolnavi cronici. TIA s-au înregistrat tot timpul anului, dar unele dintre acestea au avut un caracter sezonier, cu incidența maximă, vara, în lunile mai - septembrie. În zona noastră geografică, cele mai multe cazuri de TIA au fost provocate de: *Salmonella spp* în 60% din cazuri, urmate de *Staphylococcus aureus* în 45% din cazuri, în timp ce în 5% din cazuri nu a fost stabilită etiologia microbiană.

Concluzii. Pe plan mondial și național s-au înregistrat importante progrese de prevenire ale TIA, ce include respectarea normelor igienice de preparare, distribuție și consum a alimentelor, care sunt definitorii pretutindeni, în prevenția și scăderea numărului acestor îmbolnăviri.

Cuvinte cheie: toxinfecții alimentare, contaminare, prevenire

R3. THE NEED FOR RAPID TESTS IN THE MOLECULAR DIAGNOSIS OF COMMUNITY AND HEALTHCARE ASSOCIATED INFECTIONS

Monica Licker

“Victor Babeș” University of Medicine and Pharmacy, Timișoara

According to the Surveillance of Antimicrobial Resistance in Europe Report, in 2018, as in the past years, the situation of Gram-negative bacilli (GNB) remains worrying. Resistance percentages were higher in *Klebsiella pneumoniae* strains, several countries reporting carbapenem resistance percentages above 10%. Carbapenem resistance was also common in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species, even in higher percentages than in *Klebsiella pneumoniae*. The burden of multi-drug resistant organisms (MDRO) is higher in the health care associated infections from intensive care units (ICU), but not only.

In our hospital we are particularly concerned with an increased prevalence of MDRO in *Acinetobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas* *Providencia* spp., etc. Although the samples collected from ICU patients represent less than 15% out of the total number of samples processed by our laboratory, these are the most demanding because of the polymicrobial cultures, and a lack of feasible antimicrobial treatment solutions. There are currently rapid molecular tests, some of them (eg GeneXpert assays) being used for screening of vancomycin-resistant *Enterococcus*, methicillin-resistant *S. aureus*, and carbapenem-resistant Enterobacteriaceae carriers. Others, such as rapid syndromic tests (UNYVERO Curetis®, BIOFIRE Biomerieux®, etc.) allow simultaneous detection, within the same test, of the most common pathogens and markers of antibiotic resistance involved in the etiology of an infection.

Conclusion: Timely identification of pathogens is crucial for a proper treatment in critical patients, but selection of tests must be done very carefully, balancing the cost / efficiency ratio.

Keywords: resistance, antimicrobial, tests, molecular

R3. NECESITATEA TESTELOR RAPIDE ÎN DIAGNOSTICUL MOLECULAR AL INFECȚIILOR ASOCIATE ASISTENȚEI MEDICALE ȘI AL CELOR COMUNITARE

Conform Raportului European de Supraveghere a Rezistenței la Antimicrobiene, în 2018, ca și în anii precedenți, situația bacililor Gram-negativi rămâne îngrijorătoare. Procentele de rezistență au fost mai mari la *Klebsiella pneumoniae*, mai multe țări raportând o rezistență la carbapeneme de peste 10%, iar la *Pseudomonas aeruginosa* și *Acinetobacter* spp. chiar în procente mai mari. Cea mai mare povară exercitată de microorganismele multi-rezistente (MDRO) este semnalată în infecțiile asociate asistenței medicale din unitățile de terapie intensivă (TI), dar nu numai.

În spitalul nostru suntem confrunțați în special cu MDRO de tipul *Acinetobacter*, *Klebsiella*, *Pseudomonas*, *Providencia* spp, etc. Izolatele provenite de la pacienții din TI reprezintă mai puțin de 15% din numărul total de probe prelucrate de laborator, dar cu toate acestea sunt cele mai solicitante din cauza culturilor polimicrobiene dar și pentru că nu permit furnizarea unor soluții viabile de antibioterapie. Există în prezent, o serie de teste moleculare rapide, unele dintre acestea (de exemplu, GeneXpert) servind la screening-ul pentru depistarea portajului de enterococ rezistent la vancomicină, *S. aureus* rezistent la metilicilină, enterobacterii rezistente la carbapeneme. Altele, cum ar fi testele sindromice rapide (UNYVERO Curetis®, BIOFIRE Biomerieux®, etc.) permit detectarea simultană, în cadrul aceluiași test, a celor mai frecvenți patogeni și markeri ai rezistenței la antibiotice implicați în etiologia unei infecții.

Concluzie: Identificarea în timp util a patogenilor este crucială pentru tratamentul adecvat al pacienților critici, dar selecția testelor trebuie făcută atent, ținând cont de raportul cost /eficiență.

Cuvinte cheie: rezistență, antimicrobiene, teste, moleculare

POSTER SESSION – MICROBIOLOGY

P1. MRSA PREVALENCE IN UPPER RESPIRATORY TRACT INFECTIONS IN CHILDREN FROM SIBIU AREA

Maria Totan^{1,2}, Camelia Grigore¹, Ștefan Cristea¹, Laura Gubernat¹, Nicolae Grigore^{1,3}

1. "Lucian Blaga" University of Sibiu, Faculty of Medicine, Sibiu, Romania

2. Pediatric Hospital of Sibiu, Romania

3. Academic Emergency Hospital Sibiu

Introduction: *Staphylococcus aureus* is one of the most common cause of upper respiratory tract infections. In 2004 Romania reported 70% prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), so efforts were made to identify early those infected with resistant strains and make the best therapeutic decisions. Our study wishes to highlight the current prevalence of MRSA strains in children from Sibiu area.

Material and method: We included 7468 nasal exudates processed in the Laboratory of Pediatric Hospital Sibiu in 2019, obtained from children between the ages of 1 month and 18 years, who were admitted to the hospital or examined in the ambulatory care unit. The nasal exudate was collected on swab and transported to the laboratory where it was inoculated on blood agar and incubated for 24 hours at 37°C. The colonies with the appearance of *Staphylococcus aureus* were tested with coagulase test, and the coagulase-positive colonies were isolated on the chromogenic medium for MRSA detection. The blue-green colonies grown on this medium were suspected of being methicillin-resistant and antibiotic susceptibility testing on Mueller Hinton medium was performed for confirmation.

Results: Out of 7468 nasal exudates, 1580 (21%) were positive for *Staphylococcus aureus*, and 388 of these (5%) were MRSA-positive. The antibiotic susceptibility test performed for MRSA strains indicated 100% resistance to Oxacillin and Penicillin and 60% resistance to Erythromycin and Clindamycin. The strains were 100% sensitive to Cotrimoxazole-Thrimethoprim and 90% sensitive to Gentamycin, Norfloxacin and Chloramphenicol.

Conclusions: The prevalence of positive-MRSA strains in children from Sibiu area is 5%, comparable to what was reported in 2016 for Romania in a multicentric European study.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, MRSA, children

P1. PREVALENȚA MRSA ÎN INFECȚIILE DE TRACT RESPIRATOR SUPERIOR LA COPIII DIN ZONA SIBIU

Introducere: *Staphylococcus aureus* reprezintă unul dintre agenții etiologici cei mai frecvent întâlniți în infecțiile de tract respirator superior. În situația în care în anul 2004 România raporta o prevalență a *Staphylococcus aureus* metilino-rezistent (MRSA) de 70%, s-au făcut eforturi de identificare precoce a persoanelor infectate cu tulpini rezistente la antibiotice și de management al tratamentului. Studiul nostru dorește să evidențieze prevalența actuală a tulpinilor MRSA la copiii din zona Sibiu.

Material și metode: Am studiat 7468 de exudate nazale procesate în Laboratorul Spitalului de Pediatrie Sibiu în cursul anului 2019, provenite de la copii cu vârste între 1 lună și 18 ani, internați sau din ambulatoriu. Exudatul nazal a fost însămânțat pe mediul geloză – sânge și incubat pentru 24 ore

la 37°C. Coloniile suspecte de *Staphylococcus aureus* au fost testate cu testul coagulazei, izolându-se coloniile coagulazo- pozitive pe mediul cromogen pentru detecția MRSA. Coloniile dezvoltate pe acest mediu, de culoare albastru-verzui, au fost considerate suspecte a fi metilino-rezistente și, pentru confirmare, s-a efectuat antibiograma pe mediul Mueller Hinton.

Rezultate: Din cele 7468 exudate nazale, 1580 (21%) au fost pozitive pentru *Staphylococcus aureus*, iar 388 (5%) dintre acestea au fost MRSA pozitive. Antibiograma efectuată pentru tulpinile MRSA a indicat o rezistență de 100% pentru Oxacilină și Penicilină și 60% rezistență la Eritromicină și Clindamicină. Tulpinile au fost în proporție de 100% sensibile la Cotrimoxazol-Thrimetoprim și 90% sensibile la Gentamicină, Norfloxacină și Cloramfenicol.

Concluzii: Prevalența tulpinilor MRSA pozitive în zona Sibiu la copii este de 5%, comparabil cu ceea ce s-a raportat în 2016 pentru România într-un studiu multicentric European.

Cuvinte cheie: *Staphylococcus aureus*, MRSA, copii

P2. SEROLOGICAL AND TOXIGENETIC ANALYSIS OF ENTEROPATHOGENIC *ESCHERICHIA COLI*

Anca Mare¹, Felicia Toma¹, Cristina Nicoleta Ciurea¹, Ionela Anca Pinteș-Simon¹, Anca Cighir², Adrian Man¹

1. Department of Microbiology, "George Emil Palade" University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology Târgu Mureș

2. "George Emil Palade" University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology Târgu Mureș

Introduction: The objective of this study was to identify additional information regarding the serological classification of the enteropathogenic strains of *Escherichia coli* (EPEC), considering that serogroup O157, included in the polyvalent serum for EPEC diagnosis, could be part of the enterohemorrhagic strains.

Material and method: In the Bacteriology Laboratory of Mureș County Hospital, between 05.2016 – 07.2019, 137 EPEC strains were isolated from children under 2 years, with diarrheic disease. The strains were identified based on the standard laboratory protocol as EPEC, by agglutination with polyvalent sera Pool1 (O26, O103, O111, O145, O157), Pool2 (O55, O119, O125ac, O127, O128ab), Pool3 (O86, O114, O121, O126, O142). Subsequently, all strains were serotyped using monovalent sera for each serogroup included in the 3 polyvalent sera. Simplex PCR was performed on the strains that were identified as O157, in order to determine the presence of the *hlyA* gene, specific for enterohemorrhagic strains. This work was supported by the AMLR Research Grant number 9103/23.07.2019.

Results: Following the agglutination with polyvalent sera, EPEC Pool 1 were the most frequently identified, in 50.3% of cases, Pool 2 and 3 being identified in lower percentages (22.7%, and 27% respectively). After agglutination with monovalent sera, serogroup O157 was the most frequently identified, in 18 cases (13.1% of all processed strains). The *hlyA* gene was present in only one case, confirming that the strain was enterohemorrhagic.

Conclusions: Although serogroup O157 was frequently identified, the vast majority of these strains (17; 94.4%) were non hemolysin-producers.

Keywords: enteropathogenic, enterohemorrhagic, hemolysin

P2. ANALIZA SEROLOGICĂ ȘI TOXIGENETICĂ A UNOR TULPINI ENTEROPATOGENE DE *ESCHERICHIA COLI*

Introducere: Obiectivul studiului a fost identificarea unor informații suplimentare privind încadrarea serologică a tulpinilor enteropatogene de *Escherichia coli* (EPEC), ținând cont că serogrupul O157, cuprins în serul polivalent pentru diagnosticul EPEC ar putea fi parte din tulpinile enterohemoragice.

Material și metodă: Au fost incluse în studiu 137 tulpini EPEC izolate de la copii sub 2 ani cu sindrom diareic, în perioada 05.2016 – 07.2019, în Laboratorul de Bacteriologie al Spitalului Clinic Județean Mureș. Tulpinile au fost identificate pe baza protocolului standard al laboratorului, ca EPEC, prin aglutinare cu seruri polivalente Pool1 (O26, O103, O111, O145, O157), Pool2 (O55, O119, O125ac, O127, O128ab), Pool3 (O86, O114, O121, O126, O142). Ulterior, toate tulpinile au fost serotipate cu ajutorul serurilor monovalente pentru fiecare serogrup inclus în cele 3 pool-uri polivalente. La tulpinile identificate ca O157 s-a efectuat simplex PCR pentru determinarea prezenței genei *hlyA*, specifică variantelor enterohemoragice. Studiul a fost realizat în cadrul grantului de cercetare finanțat AMLR 9103/23.07.2019.

Rezultate: În urma aglutinării cu seruri polivalente, EPEC Pool 1 au fost identificate cel mai frecvent, în 50,3% din cazuri, Pool 2 și 3 în procente mult mai scăzute (22,7%, respectiv 27%). În urma aglutinării monovalente, serogrupul O157 a fost identificat cel mai frecvent, în 18 cazuri (13,1% din totalul tulpinilor prelucrate). Gena *hlyA* a fost identificată într-un singur caz, confirmând faptul că acea tulpină era enterohemoragică.

Concluzii: Deși serogrupul O157 a fost frecvent identificat, marea majoritate a acestor tulpini (17; 94,4%) nu au fost producătoare de hemolizină.

Cuvinte cheie: enteropatogen, enterohemoragic, hemolizină

P3. SEPTIC SYNDROME CAUSED BY MULTIDRUG-RESISTANT *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* INFECTIONS - CASE REPORT

Ionela-Anca Pinteș-Simon, Cristina Nicoleta Ciurea, Anca Mare, Anca Cighir, Adrian Man

Department of Microbiology, "George Emil Palade" University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology, Târgu Mureș, Romania

Background: *Klebsiella pneumoniae* is a digestive tract commensal bacteria, potentially pathogenic for urinary and respiratory tract, with possibility of dissemination, mainly in patients with multiple comorbidities.

Materials and methods: A 67-year-old male patient known with multiple comorbidities, following chemotherapy and with frequent hospitalizations (nephrology, infectious diseases, intensive care unit) presented with fever, chills, headache, asthenia, fatigue, loss of appetite and diarrhea. Clinical and laboratory data were analyzed to identify the etiology of the septic syndrome and also the possible bacterial colonization with multidrug-resistant bacteria. The isolated bacterial strains were analyzed by molecular methods to evaluate their similarity degree and presence of resistance genes.

Results: The laboratory report showed leukocytosis with neutrophilia, elevated values of blood sugar and renal markers. Inflammatory and sepsis markers showed increased values. Multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* was isolated from pharyngeal secretion, tracheal cannula and stool samples, with susceptibility preserved for tigecycline, trimethoprim, and tetracycline. Urine culture was positive for *Trichosporon mucoides*. Multi-resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Enterococcus faecalis* were isolated from the bedsores. ERIC-PCR findings showed that the all three *Klebsiella* isolates presented 100% similarity, and multiplex PCR showed OXA-like carbapenemase production.

Conclusions: Patients with multiple admissions, prolonged antibiotic therapy and associated comorbidities become susceptible to bacterial colonization, presenting an increased risk of developing infections with multidrug-resistant bacteria, that may lead to prolonged hospitalization, reserved prognosis, and high hospitalization associated costs.

Keywords: *Klebsiella*, sepsis, PCR

P3. SINDROM SEPTIC ASOCIAT UNOR MULTIPLE INFECȚII CU *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* MULTIREZISTENTĂ– PREZENTARE DE CAZ

Introducere: *Klebsiella pneumoniae* este o bacterie comensală la nivelul tractului digestiv, potențial patogenă pe tractul urinar, respirator și cu posibilitate de diseminare, în special la pacienții cu multiple comorbidități.

Material și metodă: Pacient în vârstă de 67 de ani, cunoscut cu multiple comorbidități, chimiotratat, cu internări frecvente (nefrologie, boli infecțioase, ATI) prezintă febră, frisoane, cefalee, astenie, fatigabilitate, inapetență și multiple scaune diareice. Au fost analizate datele clinice și de laborator pentru identificarea etiologiei sindromului septic și a eventualelor colonizări bacteriene cu bacterii multidrug-rezistente. Tulpinile bacteriene izolate au fost analizate prin metode moleculare pentru evaluarea gradului de similaritate și a genelor de rezistență.

Rezultate: Bilanțul de laborator a evidențiat leucocitoză cu neutrofilie, glicemie și markeri renali cu valori crescute. Markerii inflamatori și de sepsis au prezentat valori crescute. Din secreție faringiană, canulă traheală și materii fecale s-a evidențiat *Klebsiella pneumoniae* cu antibiorezistență multiplă, cu sensibilitate păstrată la tigeciclină, trimetoprim și tetraciclină. Urocultura a fost pozitivă pentru *Trichosporon mucoides*. Din escare s-a izolat *Pseudomonas aeruginosa* multirezistent și *Enterococcus faecalis*. ERIC-PCR a demonstrat similaritate 100% a celor 3 tulpini de *Klebsiella*, iar multiplex PCR a arătat producere de carbapenemază tip OXA.

Concluzii: Pacienții cu internări multiple, antibioterapie prelungită, comorbidități asociate, devin susceptibili pentru colonizări bacteriene, și prezintă un risc crescut de a dezvolta infecții cu bacterii multirezistente, care pot duce la spitalizare prelungită, prognostic rezervat și costuri asociate ridicate.

Cuvinte cheie: *Klebsiella*, sepsis, PCR

P4. DETECTION OF β -LACTAMASE PRODUCTION AMONG BLACK-PIGMENTED *PREVOTELLA* ISOLATES FROM THE OROPHARYNX OF YOUNG ADULTS

Gabriela Băncescu, Bogdan Dabu, Adrian Băncescu

“Carol Davila” University of Medicine and Pharmacy, Bucharest

Introduction: The black-pigmented *Prevotella* species are members of the normal oral flora, but they may produce β -lactamases. The aim of the study was to establish the frequency of β -lactamase producers among the 77 black-pigmented strains of *Prevotella* isolated from the oropharynx of dental students at the Faculty of Dentistry, “Carol Davila” University of Medicine and Pharmacy (CDUMP) - Bucharest.

Material and method: The Cefinase test (BioMérieux, France) was chosen for the detection of β -lactamase producers. A number of 57 strains of *Prevotella denticola*, 18 strains of *Prevotella melaninogenica* and 2 strains of *Prevotella intermedia* were isolated prior to this study (in April 2018) from 72 healthy students in the second year of study, at the Department of Microbiology, the Faculty of Dentistry, CDUMP. *P. denticola* - *P. melaninogenica* strain pairs were isolated from 5 students. The association between species and their ability to produce β -lactamase was investigated by the Fisher exact test at the significance level: p less than or equal to 0.05.

Results: Forty strains of *P. denticola*, 16 strains of *P. melaninogenica* and one strain of *P. intermedia* tested positive in the chromogenic cephalosporin assay and p -value was greater than 0.05. In the case of strain pairs, only *P. melaninogenica* produced β -lactamase.

Conclusions: About three-quarters of the strains were β -lactamase-positive, but no statistically significant correlation was found between any species and β -lactamase production. The high frequency of β -lactamase producers among oropharyngeal *Prevotella* isolates should not be neglected when antibiotics are included in the therapy of oral infections.

Keywords: β -lactamase, black-pigmented anaerobes, *Prevotella*.

P4. DETECTAREA PRODUCERII DE BETA-LACTAMAZĂ LA IZOLATELE DE *PREVOTELLA* CU PIGMENT NEGRU DIN OROFARINGELE ADULȚILOR TINERI

Introducere: Speciile de *Prevotella* cu pigment negru sunt membri ai florei orale normale, dar pot produce β -lactamaze. Scopul studiului a fost acela de a stabili frecvența tulpinilor producătoare de β -lactamază în cazul a 77 tulpini de *Prevotella* cu pigment negru, izolate din orofaringele studenților de la Facultatea de Medicină Dentară, Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila” (UMFCD) - București.

Material și metodă: Elaborarea de β -lactamază a fost detectată prin testul Cefinase (BioMérieux, Franța). Un număr de 57 de tulpini de *Prevotella denticola*, 18 tulpini de *Prevotella melaninogenica* și 2 tulpini de *Prevotella intermedia* au fost izolate anterior acestui studiu (în aprilie 2018), de la 72 studenți sănătoși din anul II, la Disciplina de Microbiologie a Facultății de Medicină Dentară, UMFCD. Perechi de tulpini *P. denticola* - *P. melaninogenica* au fost izolate de la 5 studenți. Pentru investigarea asocierii celor 3 specii cu producerea de β -lactamază a fost utilizat testul exact Fisher, cu nivelul de semnificație $p \leq 0,05$.

Rezultate: Testul cefalosporinei cromogene a fost pozitiv pentru 40 tulpini de *P. denticola*, 16 tulpini de *P. melaninogenica* și o tulpină de *P. intermedia*, iar valoarea p a fost mai mare de 0,05. În cazul perechilor de tulpini, numai *P. melaninogenica* a produs β -lactamază.

Concluzii: Aproximativ trei pătrimi dintre tulpini au fost β -lactamazo-pozitive, fără a exista o corelație statistic semnificativă între vreo specie și elaborarea de β -lactamază. Frecvența crescută a tulpinilor orofaringiene de *Prevotella* producătoare de β -lactamaze trebuie luată în calcul atunci când sunt necesare antibioticele în tratarea unor infecții orale.

Cuvinte cheie: β -lactamază, anaerobi cu pigment negru, *Prevotella*.

P5. SARS-COV-2 INFECTION IN A PATIENT WITH PULMONARY TUBERCULOSIS – CASE REPORT

Mihaela-Emilia Iamandi¹, Andra-Ioana Șuvei², Beatrice Irina Șaramet³, Cezar-Cristian Rădulescu⁴, Carmen Toma⁵

1. "Elena Beldiman" Emergency City Hospital, Bârlad
2. Resident MD OUH, Denmark
3. Pneumology Clinic Hospital, Iași
4. Regional Public Health Center, Călărași
5. City Hospital, Lehliu Gară

A fourth of the world's population is estimated to be infected with tuberculosis (TB). WHO estimates around 1.3 million TB related deaths around the globe in 2017. In Romania three persons are dying daily because of TB. Romania has registered 9.070 new cases of TB only in the first 9 months of 2019 and it ranks first according to the number of infected patients in the entire European Union, even though the number of cases is with 500 cases smaller than the number registered the year before.

Since the late December 2019, the world was challenged by the outbreak of the new coronavirus SARS-COV-2 in Wuhan, China, a virus with a relatively mild mortality (4-13%) but a high virulence which caused the rapid dispersion of the virus in more than 200 countries and regions around the world during few months. From the beginning of the outbreak and until mid-July 2020, the SARS-COV-2 outbreak caused more than 13 000 000 confirmed cases and about 500 000 deaths worldwide. SARS-COV-2 can cause mild, moderate or severe forms of disease that can manifest with respiratory failure, septic shock, and/or multiple organ dysfunction (MOD) or failure (MOF). However, a big challenge remains the asymptomatic patients that can easily transmit the infections to other patients. At higher risk for severe infections are males, patients aged over 65, smokers, but also patients with comorbidities such as cardiovascular disease, diabetes and respiratory diseases. The most frequent symptoms are fever and cough, symptoms that characterize the TB infections as well.

In our paper, we want to present the case of a 40-year-old woman, from the rural area, with a low socio-economic status, confirmed with SARS-COV-2 during a reactivation of a pulmonary TB. The differential diagnosis between the two diseases, especially in an endemic area such as Romania, is essential for the rapid and correct treatment of the TB infection that can be a major risk factor for developing of a severe infection with SARS-COV-2, in a patient with low immune status.

Keywords: SARS-COV-2, pulmonary tuberculosis, positive microscopy

P5. INFECȚIA CU SARS-COV-2 LA O PACIENTĂ CU TUBERCULOZĂ PULMONARĂ - STUDIU DE CAZ

Se estimează că o pătrime din populația globului a trecut printr-o infecție cu bacil Koch, iar conform OMS, aproximativ 1.3 milioane de persoane și-au pierdut viața în 2017 în urma unei infecții tuberculoase (TB). În România mor în fiecare zi trei oameni uciși de TB. România a înregistrat 9.070 de cazuri noi de TB doar în primele nouă luni ale anului 2019. România ocupă primul loc în Uniunea Europeană la numărul îmbolnăvirilor cu TB, chiar dacă numărul bolnavilor e cu 500 mai mic comparativ cu aceeași perioadă din 2018.

Din decembrie 2019, întreaga lume a fost zguduită de apariția noului coronavirus SARS-COV-2 în Wuhan, China, un virus cu o mortalitate relativ scăzută (4-13%), dar cu o virulență marcantă, care a dus la răspândirea rapidă a virusului în peste 200 de țări și teritorii în decursul a doar câteva luni. De la debutul epidemiei și până la mijlocul lunii iulie 2020, infecția cu SARS-COV-2 a dus la peste 13.000.000 de cazuri confirmate și circa jumătate de milion de decese. SARS-COV-2 poate cauza forme ușoare, moderate sau severe de boală care pot duce la insuficiență respiratorie, șoc septic, insuficiență multiplă de organe și deces. O mare provocare rămân și cazurile asimptomatice de boală ce pot răspândi infecția pacienților cu risc crescut de infecții severe. Factorii de risc pentru infecțiile severe sunt sexul masculin, fumatul și vârsta peste 65 de ani, dar și comorbiditățile cardio-vasculare, respiratorii și diabetul. Cele mai comune simptome sunt febra și tusea, simptome ce caracterizează și infecțiile TB.

În lucrarea noastră dorim să prezentăm cazul unei paciente de 40 de ani, din mediul rural, cu un status socio-economic scăzut, confirmată cu SARS-COV-2 în cursul unei reactivări a TB pulmonare. Diagnosticul diferențial dintre cele două boli, în special într-o zonă endemică pentru TB ca România este esențial pentru tratamentul rapid și corect al infecției TB care poate constitui un factor major de risc pentru infecția cu SARS-COV-2, la un pacient cu imunitate scăzută.

Cuvinte cheie: SARS-COV-2, tuberculoză pulmonară, microscopie pozitivă

P6. DO FUNCTIONALIZED NANOPARTICLES BASED ON HYDROXIAPATITE AND IRON OXIDES HAVE ANTIBACTERIAL EFFECT?

Gabriel Ionescu^{1,2}, Alexandra-Maria Născuțiu^{1,2}, Daniela Cristea¹, Simona Adriana Ciontea¹, Daniela Bădescu¹, Codruța Romanița Usein^{1,2}, Ani Ioana Cotar¹, Gabriela Țurcanu¹, Simona Iconaru³, Daniela Predoi³

1. "Cantacuzino" National Military Medical Institute of Research-Development, Bucharest

2. "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest

3. National Institute of Material Physics.

Aim: Evaluation of the effect of hydroxyapatite and iron oxides nanoparticles functionalized with cetyltrimethylammonium bromide (CTAB) and mixed with heavy metal ions on enterobacterial strains isolated from stools and polluted surface waters.

Material and methods: We tested the antibacterial activity on enterobacterial strains for 10 compounds containing nanoparticles based on iron oxides functionalized with CTAB and 9 containing nanoparticles with hydroxyapatite, with or without arsenic or lead in different concentrations. The strains

were isolated from stools and polluted water, the reference strain being *Escherichia coli* ATCC 25922. The diameter of the bacterial growth inhibition zone was measured, and the semiquantitative determining of the number of bacterial lysis zones was performed on Mueller Hinton agar, after 16-18 hours of incubation at 37°C.

Results: Variable inhibitory effects were obtained when using nanoparticles based on iron oxides functionalized with CTAB only in the presence of arsenic (6 compounds) and nanoparticles with hydroxyapatite in the presence of lead (6 compounds), only on the control *Escherichia coli* strain and on one *Shigella flexneri* strain isolated from stools. On the other strains, neither type of nanoparticles showed inhibitory effect, regardless the presence of arsenic or lead.

Conclusions: *Escherichia coli* strains from polluted surface waters were not inhibited by the studied nanoparticles, arsenic and lead. For the *Escherichia coli* control strain and the *Shigella flexneri* strain, inhibition was not due to nanoparticles but, most probably, to the heavy metals polluting surface waters, the mentioned strains not having developed resistance yet.

Keywords: functionalized nanoparticles, antibacterial effect

P6. AU EFECT ANTIBACTERIAN NANOPARTICULELE PE BAZĂ DE HIDROXIAPATITĂ ȘI DE OXIZI DE FIER FUNCȚIONALIZATE ?

Scop: Evaluarea efectului unor nanoparticule pe bază de hidroxiapatită și oxizi de fier funcționalizate cu cetyltrimethylammonium bromide (CTAB), în amestec cu ioni de metale grele, asupra unor tulpini de enterobacterii izolate din coproculturi și ape de suprafață poluate.

Material și metode: A fost testată activitatea antibacteriană a 10 compuși conținând nanoparticule de oxizi de fier funcționalizate cu CTAB și 9 nanoparticule de hidroxiapatită, cu sau fără arsenic sau plumb în diferite concentrații, asupra unor tulpini de enterobacterii. Tulpinile au fost izolate din coproculturi și din ape de suprafață poluate, tulpina martor fiind *Escherichia coli* ATCC 25922. S-a măsurat diametrul zonei de inhibiție a creșterii bacteriene și s-au determinat semicantitativ plajele de liză pe mediul Mueller Hinton, după 16-18 ore la 37°C.

Rezultate: Au fost observate efecte inhibitorii variabile la nanoparticulele de oxizi de fier funcționalizate cu CTAB doar în prezența arsenicului (6 compuși) și la cele de hidroxiapatită în prezența plumbului (6 compuși), numai pe tulpina de control de *Escherichia coli* și pe o tulpină de *Shigella flexneri* izolată din coprocultură. Pe celelalte tulpini, ambele tipuri de nanoparticule, cu sau fără arsenic sau plumb, nu au manifestat efect inhibitor.

Concluzii: Tulpinile de *Escherichia coli* din ape de suprafață poluate nu sunt inhibitate de nanoparticulele studiate, de arsenic și plumb. În cazul tulpinii de control *Escherichia coli* și a tulpinii de *Shigella flexneri* inhibiția nu se datorează nanoparticulelor ci, foarte probabil, metalelor grele care poluează apele de suprafață și față de care aceste tulpini nu au dezvoltat rezistență.

Cuvinte cheie: nanoparticule funcționalizate, efect antibacterian

P7. IS CMV INFECTION A REAL RISK FACTOR FOR ALLOGENEIC STEM CELL TRANSPLANT RECIPIENTS?

Iulia Teodora Stoian^{1,2}, Stejara Nicoleta Mihai^{1,2}, Cătălina Roxana Fere^{1,2}, Ion Marunțelu^{1,2}, Ileana Constantinescu^{1,2}

1. Carol Davila Medical and Pharmacy University, Bucharest.

2. Fundeni Centre for Immunogenetics and Virology, Fundeni Clinical Institute, Bucharest.

3.

Introduction: Cytomegalovirus (CMV) infection is a major cause of morbidity and mortality after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (allo-HSCT). Our objective was to determine if immunosuppression regimens, CMV donor and recipient status and chimerism may lead to CMV infection post allo-HSCT.

Patients/ Methods: We have selected a number of 133 patients from Fundeni Centre for Bone Marrow Transplant who underwent allo-HSCT between 2016-2019. CMV infection screening was assessed by enhanced chemiluminescence (Architect Plus, Abbot USA). The CMV viral load was quantified using Real-Time Polymerase Chain Reaction (Anatolia Geneworks Turkey).

Results: Recipient's age distribution ranged between 2 to 67 years old (mean=36.09 ± 16.38). Before allo-HSCT, the most frequent diagnosis was acute myeloid leukaemia (73%). We have found in 49% of our patients CMV infection with low levels of viraemia within the first month post-transplantation. Preemptive antiviral therapy with Acyclovir has been given to all the recipients. Viraemia higher than 100.000 UI/ml was determined in 10 patients, who received antiviral treatment with Valganciclovir. Our results revealed that Sirolimus blood level under 19.45 ng/ml (Fisher exact test, 2 tail: p= 0.03) could be involved in CMV infection.

Conclusions/ Discussions: Our results showed that the prevalence of CMV infection in allo-HSCT recipients is low (8%). CMV infection had no impact on immunosuppression regimens and chimerism and could potentially be overcome by preemptive antiviral therapy with Acyclovir.

Keywords: CMV, allo-HSCT

P7. ESTE INFECȚIA CU CMV UN FACTOR DE RISC PENTRU PACIENȚII CU TRANSPLANT ALOGENIC DE CELULE STEM ?

Introducere/Obiectiv: Infecția cu Citomegalovirus (CMV) este o cauză majoră de morbiditate și mortalitate post-transplant alogenic de celule stem (allo-HSCT). Obiectivul nostru este de a demonstra dacă statusul CMV al donatorului și al primitorului, terapia imunosupresoare și chimerismul determină infecție CMV la pacienții cu transplant medular.

Pacienți/Metodologie: Au fost selectați 133 de pacienți tratați în Secția de Transplant Medular Fundeni, cărora li s-a efectuat alotransplant medular între 2016-2019. Screening-ul infecției CMV s-a realizat prin chemiluminescența (Architect Plus Abbot, USA). Încărcarea virală a fost cuantificată prin Real-Time Polymerase Chain Reaction (Anatolia Geneworks, Turcia).

Rezultate: Vârsta pacienților participanți la studiu a variat între 2-67 ani (vârsta medie: 36,09±16,38). Diagnosticul cel mai frecvent întâlnit la pacienții cu alotransplant a fost leucemia mieloidă acută (73%). Dintre pacienții incluși, 49% au avut CMV ADN detectabil, valoarea viremiei fiind redusă în prima

lună post-transplant. Întregului lot i s-a administrat terapie profilactică antivirală cu Aciclovir. Nivele mai mari de 100.000 UI/ml ale viremiei au fost prezente la 10 pacienți care ulterior au fost tratați cu Valganciclovir. Rezultatele au arătat că sirolinemia mai mare de 19,45 ng/ml (Fisher exact test, 2 tail: $p=0.03$) poate fi implicată în infecția CMV.

Concluzii/Discuții: Prevalența infecției cu CMV în cazul pacienților cu transplant medular este redusă (8%). Rezultatele noastre au arătat că terapia imunosupresoare și chimerismul nu au impact asupra infecției CMV, iar terapia profilactică antivirală cu Aciclovir are un efect protector.

Cuvinte cheie: CMV, allo-HSCT

P8. PREVALENCE OF VIRAL INFECTIONS AMONG HEALTHY VOLUNTARY STEM CELL DONORS

Silvia Dăscălescu¹, Silvia Ionescu¹, Vlad-Alexandru Timișescu¹, Mariana Pavel-Tanasă^{1,2}, Ecaterina Anisie¹, Ioana Săndulescu¹, Corina Cianga^{1,2}, Daniela Constantinescu^{1,2}, Petru Cianga^{1,2}

1. Immunology Laboratory, "St. Spiridon" Clinical Hospital, Iași

2. Department of Immunology, „Grigore T. Popa” University of Medicine and Pharmacy, Iași

Introduction/Objectives: Healthy volunteers for hematopoietic stem cell transplantation are routinely screened for a number of viral markers. The present investigation aims to evaluate the seroprevalence of Cytomegalovirus (CMV), Epstein-Barr virus (EBV), *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) and Hepatitis B core Antibody (HBcAb) among such potential donors.

Methods/Methodology: A total of 1312 individuals were evaluated between January 1st 2018-December 31st 2019 in the Immunology Laboratory, Clinical County Hospital "Sf. Spiridon", Iași. The screening of anti-CMV, anti-EBV, anti-*T. gondii* (IgM and IgG) and total anti-HBc antibodies was performed by chemiluminescence and electrochemiluminescence using the Architect, Immulite and Cobas platforms.

Results: Of the 1312, 43.3% are women and 56.7% men, aged 18 to 52 years, with a 31-median age. Among EBV IgG positive individuals, 69.36% were CMV IgG positive and *T. gondii* IgG negative, while 28.89% were both CMV IgG and *T. gondii* IgG positive. This triple association of IgG antibodies increased with age, and correlated strongly with *T. gondii* IgG prevalence per age groups ($R = 0.98$). Among those, 16.7% were also anti-HBc positive. The prevalence of IgM anti-EBV, anti-CMV and anti-*T. gondii* was low: 0.38%, 0.46% and 0.69%, respectively. All EBV or CMV IgM positive individuals were also IgG positive.

Conclusions/Discussions: Our preliminary data suggest a high prevalence of CMV IgG and EBV IgG, similar to the general statistics reported for developing countries [1]. However, larger nationally representative studies are needed.

References: Manicklal et al. The "silent" global burden of congenital cytomegalovirus. Clin Microbiol Rev. (2013) 26(1):86-102

Keywords: screening, seroprevalence, stem cells

P8. PREVALENȚA INFECȚIILOR VIRALE LA DONATORII VOLUNTARI DE CELULE STEM HEMATOPOIETICE

Introducere/Obiective: Donatorii voluntari de celule stem hematopoietice sunt supuși screening-ului viral. Acest studiu își propune să evalueze seroprevalența anticorpilor de clasă IgM și IgG caracteristici infecției cu citomegalovirus (CMV), virusul Epstein-Barr (EBV), *Toxoplasma gondii* (*T. gondii*) și a anticorpilor totali anti-HBc în rândul donatorilor voluntari sănătoși de celule stem.

Metode/Metodologie: Un număr de 1312 persoane au fost evaluate în perioada 1 ianuarie 2018 - 31 decembrie 2019 în Laboratorul de Imunologie, Spitalul Clinic „Sf. Spiridon”, Iași. Screening-ul anticorpilor anti-CMV, anti-EBV, anti-*T.gondii* (IgM și IgG) și anti-HBc totali a fost efectuat prin chemiluminiscență și electrochemiluminiscență, folosind platformele Architect, Immulite și Cobas.

Rezultate: Dintre cei 1312 de indivizi incluși în studiu, 43,3% sunt femei și 56,7% bărbați, cu vârste cuprinse între 18 și 52 de ani, vârsta medie fiind de 31 de ani. Printre indivizii EBV-IgG pozitivi, 69,36% au fost CMV-IgG pozitivi și *T. gondii*-IgG negativi, în timp ce 28,89% au fost atât CMV-IgG cât și *T. gondii*-IgG pozitivi. Această triplă asociere a anticorpilor IgG a crescut cu vârsta și s-a corelat cu prevalența anticorpilor *T. gondii*-IgG pe grupe de vârstă ($R=0,98$). Dintre aceștia, 16,7% au fost, de asemenea, anti-HBc pozitivi. Prevalența anticorpilor IgM anti-EBV, anti-CMV și anti-*T. gondii* a fost scăzută: 0,38%, 0,46% și, respectiv, 0,69%. Toți indivizii EBV-IgM sau CMV-IgM pozitivi au fost și IgG pozitivi.

Concluzii/Discuții: Datele noastre preliminare sugerează o prevalență ridicată a CMV-IgG și EBV-IgG, similar statisticilor generale raportate pentru țările în curs de dezvoltare [1]. Cu toate acestea, sunt necesare studii mai ample și reprezentative la nivel național.

Referințe: Manicklal et al. The “silent” global burden of congenital cytomegalovirus. Clin Microbiol Rev. (2013) 26(1):86-102

Cuvinte cheie: screening, seroprevalență, celule stem

P9. HEPATITIS E VIRUS, NEW CHALLENGES, A RETROSPECTIVE STUDY FROM R.I.G.H. CLUJ-NAPOCA

Stanca-Lucia Pandrea^{1,2}, Monica Ioana Ciontea¹, Manuela Tompa¹, Erica Chiorean¹, Luminița Matroș², 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

Objective: Hepatitis E Virus (HEV) has been regarded for a long time as a disease limited to developing countries but, due to the evolution of diagnostic techniques and migratory flows, has led to the identification of an increased number of HEV infections in developed countries. Here, we report our experience with the rapid chromatographic and ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) tests for the detection of HEV Immunoglobulin M (IgM) antibody, a case series that stretched over a year.

Methods: We performed a retrospective analysis of all the HEV IgM rapid tests performed in our hospital, detecting a series of 480 tests in the last year, 2019. Positive rapid HEV IgM tests were further

analyzed by performing HEV IgM ELISA tests. When available, we correlated the results with RNA-PCR.

Results: We had 480 rapid HEV IgM tests performed from January to December 2019 in R.I.G.H. Cluj-Napoca, with 42 positive chromatographic cases. From those positive patients, 20 were confirmed by ELISA method, 3 were negative for ELISA and 19 were transferred directly from the Emergency Department to another hospital for further investigation. From the 20 positive cases on ELISA, 5 were confirmed by RNA-PCR, and one proved to be negative.

Conclusion: HEV infection appears to be a cause of acute hepatitis in our country, as well as in all Europe. We should have a protocol for the laboratory diagnosis of HEV infection, in order to limit its spread and to treat correctly all infected patients.

Keywords: Hepatitis E virus, chromatographic rapid test, enzyme-linked immunoassay

P9. VIRUSUL HEPATITEI E, NOI PROVOCĂRI, STUDIU RETROSPECTIV LA I.R.G.H. CLUJ-NAPOCA

Obiective: Infecția cu virusul hepatitic E (HEV) a fost considerată multă vreme o boală limitată la țările în curs de dezvoltare, dar, din cauza evoluției metodelor tehnice și a fluxului migrator, au fost identificate din ce în ce mai multe cazuri de hepatită virală E și în țările industrializate. În această prezentare raportăm experiența Clinicii noastre cu testele rapide cromatografice și cele imunoenzimatic (ELISA) de detecție a anticorpilor HEV IgM, pe parcursul anului 2019.

Metode: Am efectuat o analiză retrospectivă a testelor rapide de depistare a anticorpilor IgM anti-VHE efectuate în Spitalul nostru în anul 2019, rezultând un număr de 480 teste. Testele pozitive au fost analizate ulterior prin metoda ELISA. Când au fost disponibile, am corelat rezultatele obținute cu ARN-PCR HEV.

Rezultate: În cadrul I.R.G.H. Cluj-Napoca au fost efectuate 480 teste cromatografice de depistare a IgM HEV între 1 ianuarie 2019 - 31 decembrie 2019, iar 42 au ieșit pozitive. Dintre aceste 42 cazuri, 20 au fost confirmate prin metoda ELISA, 3 au fost infirmate prin aceeași metodă, iar 19 au fost transferate direct din Departamentul de Urgență către un alt spital, pentru investigații suplimentare. Pentru 6 din cei 20 pacienți cu IgM HEV confirmați, s-a efectuat ARN-PCR, care a demonstrat viremie pozitivă la 5 dintre aceștia.

Concluzii: Infecția cu virusul hepatitic E este în creștere în țara noastră și în Europa. Este necesar un protocol pentru diagnosticul de laborator al infecției cu virus hepatitic E, pentru a limita transmiterea și pentru a putea trata corect pacienții infectați.

Cuvinte cheie: Virusul hepatitei E, test rapid cromatografic, metodă imuno-enzimatică.

P10. A CONCORDANCE STUDY BETWEEN VITEK 2C COMPACT, *CANDIDA* SELECTIVE CHROMOGEN AGAR AND PCR IDENTIFICATION OF *CANDIDA SPP.*

Cristina Nicoleta Ciurea^{1,2}, Edit Szekely^{1,2}, Ionela-Anca Pinte-Simon¹, Anca Mare¹, Irina-Bianca Kosovski^{2,3}, Valeriu Moldovan¹, Adrian Man¹

1. Department of Microbiology, "George Emil Palade" University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology, Târgu Mureș, Romania

2. County Emergency Clinical Hospital of Târgu Mureș

3. Department of Pathophysiology, "George Emil Palade" University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology, Târgu Mureș, Romania

Introduction: With an increase in the number of immunocompromised patients, the laboratory identification of *Candida spp.* is becoming more and more important. A concordance study was conducted for three widely used methods for *Candida spp.*: VITEK 2C compact, culturing on *Candida* selective chromogen agar and PCR.

Material and method: *Candida spp.* isolated from blood cultures, cerebrospinal fluid and catheter tips, previously identified on VITEK2C Compact System were blindly reidentified using two other methods: through culturing on selective chromogenic agar and through multiplex PCR. We calculated the degree of agreement between the results.

Results: In 87.88% of cases (29 out of 33 strains), all three methods identified the same *Candida spp.* The concordance between VITEK and *Candida* selective chromogen agar is 96.96% (32 out of 33 results), the concordance between VITEK and PCR is 90.90% (30 out of 33 strains) and the concordance between PCR and *Candida* selective chromogen agar and PCR is 90.90% (30 out of 33 strains). One strain identified through VITEK and PCR as *C. dublinsiensis* was identified as *C. albicans* on selective culturing. Two strains were identified as *C. albicans* on VITEK and through culturing, and tested negative by PCR. One strain of *C. lusitaniae* (VITEK), although appeared as *C. non-albicans* on selective chromogen agar, was identified as *C. parapsilosis* by PCR.

Conclusion: The agreement rate between VITEK and PCR shows the existence of a risk of misidentification, especially for non-albicans species. Culturing on *Candida* selective chromogen agar provides a good presumptive identification of *Candida spp.*, and PCR is a useful tool for *Candida* identification.

Keywords: *Candida spp.*, VITEK, PCR

P10. STUDIU DE CONCORDANȚĂ PRIVIND IDENTIFICAREA *CANDIDA SPP.* PRIN VITEK 2C COMPACT, CULTIVARE PE MEDIUL SELECTIV CROMOGEN PENTRU *CANDIDA* ȘI PCR

Introducere: În contextul creșterii numărului de pacienți imunocompromiși, diagnosticul de laborator al *Candida spp.* are o importanță crescândă. Un studiu de concordanță a fost efectuat pentru compararea a trei metode de identificare folosite la scară largă: VITEK 2C compact, cultivare pe mediu selectiv cromogen pentru *Candida* și PCR.

Material și metodă: Izolatele de *Candida spp.* provenite din hemoculturi, LCR și vârfuri de cateter, identificate anterior pe VITEK 2C Compact System au fost reidentificate orb folosind alte două metode: prin cultivare pe mediu selectiv cromogen pentru *Candida* și prin multiplex PCR. S-a calculat gradul de concordanță al rezultatelor.

Rezultate: În 87,88% din cazuri (30 din 33 tulpini) cele trei metode au identificat aceeași specie de *Candida*. Concordanța dintre identificarea obținută pe VITEK și cea prin cultivare pe mediu selectiv cromogen pentru *Candida* este de 96,96% (32 din 33 tulpini), concordanța dintre identificarea obținută pe VITEK și cea obținută prin PCR este de 90,90% (30 din 33 tulpini), iar concordanța dintre rezultatele date prin PCR și cele date prin cultivare pe mediu selectiv cromogen este de 90,90% (30 din 33 tulpini). O tulpină identificată pe VITEK și prin PCR ca fiind *C. dublensis* a fost considerată *C. albicans* după cultivarea selectivă, iar 2 tulpini considerate a fi *C. albicans* prin VITEK și cultivare, au fost identificate ca alte specii non-albicans prin PCR. O tulpină de *C. lusitaniae* (VITEK), deși considerată *C. non-albicans* prin cultivare pe mediu selectiv cromogen, a fost identificată prin PCR ca fiind *C. parapsilosis*.

Concluzie: Rata de concordanță dintre identificarea prin VITEK și cea prin PCR arată existența unui risc de identificare greșită, în special pentru speciile non-albicans. Cultivarea pe mediu selectiv cromogen pentru *Candida* reprezintă o metodă eficientă de diagnostic prezumtiv a *Candida spp.*, iar PCR-ul reprezintă un instrument util de identificare a *Candida spp.*

Cuvinte cheie: *Candida spp.*, VITEK, PCR

PLENARY SESSION 3 – HEMATOLOGY

R1. THE ROLE OF NEXT-GENERATION SEQUENCING IN PROGNOSIS ASSESSMENT OF PATIENTS WITH ACUTE MYELOID LEUKEMIA

Daniel Coriu^{1,3}, Adriana Vulpe^{1,2,4}, Mihaela Dragomir^{1,2}, Dumitru Jardan^{1,3}, Silvia Aposteanu¹, Cerasela Jardan^{1,3}, Aurelia Tatic^{1,3}, Bogdan Popescu^{1,3}, Camelia Stăncioaica¹

1. Fundeni Clinical Institute, Hematology Department, Bucharest, Romania,
2. Faculty of Biology, University of Bucharest, Bucharest, Romania,
3. "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania,
4. AMS Genetic Laboratory, Bucharest, Romania

Acute myeloid leukemias (AML) are diseases with dismal prognosis, with a 5-year survival rate below 30%. However, allogeneic bone marrow transplantation and targeted therapies (all transretinoic acid, arsenic trioxide, FLT3 inhibitors, IDH inhibitors, BCL-2 inhibitors) have recently increased the survival rate. The choice of effective therapy relies on the knowledge of molecular targets and the correct identification of the risk. This stratification by risk groups will allow us to use bone marrow transplantation (procedure mortality risk of 20-30%) only in patients in whom the risk of death from disease justifies the choice of this procedure. Cytogenetic and molecular studies should be performed in all AML patients at diagnosis for prognosis assessment. Depending on these results, European LeukemiaNet (ELN) proposes stratification into three prognostic groups: favorable, intermediate and unfavorable. Initially, ELN recommended molecular testing for the following fusion genes and somatic mutations: *PML-RARA*; *RUNX1-RUNX1T1*; *CBF-MYH11*; *MLL-AF9*; *BCR-ABL*; *FLT3-ITD*; *FLT3-TKD*; *NPM1* mutations; *CEBPA* mutations. It is very important for clinicians that the result is available very quickly (recommended in 24-48 hours), because the presence of certain molecular anomalies allows the choice of the appropriate therapy: all trans-retinoic acid and arsenic trioxide in AML with *PML-RARA*; midostaurin / sorafenib in AML with *FLT3* mutations.

Since 2016, studies have been published on large cohorts of patients with AML using New Generation Sequencing (NGS) to analyze somatic driver mutations. The results are very important, with immediate clinical impact on prognosis (e.g., *TP53*, *SRSF2*, *ASXL1*, *DNMT3A*, *RUNX1* mutations), and especially on targeted therapy (Enasidenib for AML with *IDH2* mutations, Ivosidenib for AML with *IDH1* mutations). All these advances have been assimilated in the new 2017 ELN classification.

Our group has been included in European LeukemiaNet since 2004. In 2007 we became a national reference laboratory, ELN accredited for leukemias and we managed to implement in Romania the molecular examination for acute leukemias in routine practice. In order to be able to support ourselves economically, these tests were done by developing „in house” methods validated by published studies. We are now facing a great challenge - the introduction of NGS in routine clinical practice. We certainly need this analysis, for all our patients with acute leukemia, but the costs are huge and it is hard to believe that we will survive economically.

Our goal is to develop „in house” a NGS method to analyze the mutational status of patients at diagnosis and during therapy. Using an Illumina - MiSeq platform, we sequenced eight regions within 5 genes - *FLT3*, *IDH1*, *IDH2*, *DNMT3A* and *RUNX1*. We analyzed 55 samples from 51 AML patients and

found that 20 patients (39%) carried one or more mutations in the 5 genes tested. *DNMT3A* and *IDH2* mutations were most frequently identified, as single mutations or in various combinations. The association of *FLT3*-ITD with a *DNMT3A* mutation was identified in 4 out of 20 patients. We are now in the process of validating these results using commercial kits.

Conclusion: NGS is a very useful method for routine practice in identifying somatic mutations with a prognostic or therapeutic role, but it is essential that it becomes an accessible tool for every AML patient.

Keywords: AML, somatic mutations, New Generation Sequencing, prognosis

Acknowledgments: We gratefully acknowledge the funding from the project Competitiveness Operational Programme (COP), MyeloAL-EDiaProT, Contract 149/26.10.2016.

R1. ROLUL SECVENȚIERII DE NOUĂ GENERAȚIE ÎN STABILIREA PROGNOSTICULUI LA PACIENȚII CU LEUCEMIE ACUTĂ MIELOIDĂ

Leuceemiile acute mieloide (LAM) reprezintă boli cu prognostic extrem de nefavorabil, cu o rată de supraviețuire la 5 ani de sub 30%. Cu toate acestea, transplantul medular allogeneic și terapiile țintite (acidul all trans-retinoic, trioxidul de arsenic, inhibitorii de FLT3, inhibitorii de IDH, inhibitorii de BCL-2) au crescut recent rata de supraviețuire. Alegerea terapiei eficiente este condiționată de cunoașterea țintelor moleculare și de identificarea corectă a riscului. Această stratificare pe grupe de risc va permite folosirea transplantului medular (risc de mortalitate prin procedură de 20-30%) numai la pacienții la care riscul decesului prin boală justifică alegerea acestei proceduri. Toți pacienții cu LAM trebuie să aibă la diagnostic examen citogenetic și examen molecular - în funcție de aceste rezultate, European LeukemiaNet (ELN) recomandă stratificarea pe trei grupe de prognostic: favorabil, intermediar și nefavorabil. Inițial, ELN a recomandat examenul molecular pentru următoarele gene de fuziune și mutații somatice: *PML-RARA*; *RUNX1-RUNX1T1*; *CBF-MYH11*; *MLL-AF9*; *BCR-ABL*; *FLT3*-ITD; *FLT3*-TKD; mutații *NPM1*; mutații *CEBPA*. Este foarte important ca rezultatul să fie disponibil foarte repede (recomandat în 24-48 ore) pentru că prezența anumitor modificări moleculare permite alegerea terapiei potrivite: acid all trans-retinoic și trioxid de arsenic în LAM cu *PML-RARA*; midostaurin / sorafenib în LAM cu mutații în *FLT3*.

Începând cu 2016 s-au publicat studii realizate pe cohorte mari de pacienți cu LAM folosind Secvențierea de Noua Generație (NGS) pentru analizarea mutațiilor somatice driver. Rezultatele sunt foarte importante, cu impact clinic imediat atât pentru prognostic (ex. mutațiile *TP53*, *SRSF2*, *ASXL1*, *DNMT3A*, *RUNX1*), dar mai ales pentru terapia **țintită** (Enasidenib pentru LAM cu mutații *IDH2*, Ivosidenib pentru LAM cu mutații *IDH1*). Toate aceste progrese au fost asimilate în noua clasificare ELN din 2017.

Grupul nostru este inclus în European LeukemiaNet încă din 2004. În 2007 am devenit laborator național de referință, acreditat ELN pentru leucemii și am reușit implementarea în România a examenului molecular pentru leucemii acute în practica de rutină. Pentru a putea să ne susținem economic, aceste teste au fost efectuate prin dezvoltarea metodelor „in house”, validate prin studii publicate. Acum ne aflăm în fața unei mari provocări – introducerea în practica clinică de rutină a examenului NGS. Cu certitudine avem mare nevoie de această analiză, pentru toți pacienții noștri cu leucemie acută, dar costurile sunt uriașe și este greu de crezut că vom rezista economic.

Obiectivul nostru este dezvoltarea „in house” a unei metode NGS care să analizeze statusul mutațional al pacienților la diagnostic și în timpul terapiei. Folosind o platformă Illumina – MiSeq, am secvențiat opt regiuni din 5 gene - *FLT3*, *IDH1*, *IDH2*, *DNMT3A* and *RUNX1*. Au fost analizate 55 probe de la 51 pacienți cu LAM. Dintre aceștia, 20 pacienți (39%) au prezentat una sau mai multe mutații în cele 5 gene testate. Mutațiile *DNMT3A* și *IDH2* au fost identificate cel mai frecvent, atât ca mutații unice cât și în combinații variate. La 4 din cei 20 pacienți s-a identificat asocierea *FLT3*-ITD cu o mutație *DNMT3A*. Acum suntem în procesul de validare a acestor rezultate folosind kiturile comerciale.

Concluzie: NGS este o metodă foarte utilă pentru practica de rutină în identificarea mutațiilor somatice cu rol prognostic sau terapeutic, dar este esențial ca aceasta să devină un instrument accesibil pentru fiecare pacient cu LAM.

Cuvinte cheie: LAM, mutații somatice, secvențierea de nouă generație, prognostic

Mulțumiri: Cercetarea a fost finanțată de Programul Operațional Competitivitate A1.1.4. ID: P_37_798 MyeloAL-EdiaProT 149/26.10.2016.

C1. MOLECULAR CHARACTERIZATION OF ACUTE MYELOID LEUKEMIA BY NEXT GENERATION SEQUENCING

Sorina Mihaela Papuc¹, Alina Erbescu¹, Diana Cisleanu^{2,3}, Dan Soare^{2,3}, Anca Nicolescu³, Mihaela Găman^{2,3}, Irina Voican^{2,3}, Cristina Marinescu^{2,3}, Cristina Enache³, Ion Dumitru³, Viola Popov⁴, Meilin Murat⁴, Mihaela Popescu⁴, Oana Patrinoiu⁴, Maria Dobre¹, Oana Stanca⁵, Silvana Angelescu^{2,5}, Nicoleta Berbec^{2,5}, Ana-Maria Vladareanu^{2,3}, Horia Bumbea^{2,3}, Aurora Arghir¹

1. “Victor Babeș” National Institute of Pathology, Bucharest
2. “Carol Davila” University of Medicine and Pharmacy, Bucharest
3. Emergency University Clinical Hospital, Bucharest
4. Colentina Clinical Hospital, Bucharest
5. Colțea Clinical Hospital, Bucharest

Introduction: Acute myeloid leukemia (AML) is a heterogeneous disorder characterized by a wide range of driver genetic defects. Next generation sequencing (NGS) proved helpful for deciphering the mutational signature of AML with important consequences for clinical practice. Aim: We report on the results of NGS investigations of 30 AML patients at diagnosis.

Material and methods: Diagnostic bone marrow samples were used for cytogenetic analysis by standard protocols. Targeted NGS with a panel covering 19 genes (AML Research Panel) was performed on Ion PGM System (ThermoFisher Scientific).

Results and discussion: The cytogenetic risk category was intermediate for 27 patients and adverse for 3 patients. The mutational screening revealed a total of 63 mutations, with 53 driver mutations and 10 potentially detrimental mutations, rarely/unreported in cancer databases. In addition, some uncommon associations were observed, such as nucleophosmin 1 (*NPM1*) mutation non-A, B or D type and *NRAS* Proto-oncogene mutation *NRAS*^{Q61}. The highest mutation prevalence was observed for *NPM1* gene (17 patients), followed by DNA Methyltransferase 3 Alpha (13 patients), and *NRAS* (7 patients).

Conclusions: The results obtained in our patient group are consistent with previously published data, while also revealing new insights. Sequence analysis proved useful for accurate molecular characterization of mutation prevalence and associations in AML patients.

Acknowledgments: Partially supported by Ministry of Research and Innovation in Romania, under Program 1 – The Improvement of the National System of Research and Development, Subprogram 1.2 – Institutional Excellence – Projects of Excellence Funding in RDI, Contract No. 7PFE/16.10.2018 and Core Programme Projects PN19.29.01.03 and PN18.21.01.03.

C1. CARACTERIZAREA MOLECULARĂ A LEUCEMIEI ACUTE MIELOIDE PRIN SECVENȚIERE DE GENERAȚIE URMĂTOARE

Introducere: Leucemia acută mieloblastică (LAM) este o boală heterogenă, caracterizată de o gamă largă de defecte genetice. Secvențierea de generație următoare (NGS) este utilă pentru descifrarea semnăturii mutaționale a LAM cu consecințe importante pentru practica clinică. Obiectiv: prezentarea rezultatelor investigațiilor NGS la 30 de pacienți cu LAM la diagnostic.

Materiale și metode: Analiza citogenetică a fost efectuată pe probe de măduvă osoasă prelevate la diagnostic, prin protocoale standard. NGS ținut cu un panel de 19 gene (AML Research Panel) a fost efectuat cu sistemul Ion PGM (ThermoFisher Scientific).

Rezultate și discuții: Un număr de 27 de pacienți s-au încadrat în categoria de risc citogenetic intermediar, iar 3 pacienți au prezentat risc advers. Au fost detectate 63 de mutații, dintre care 53 driver și 10 cu potențial detrimental, neraportate sau rar raportate în baze de date pentru cancer. Au fost observate asocieri mutaționale rar raportate, precum cea dintre mutația genei *NPM1* (tip non-A, B sau D) și *NRAS*^{Q61}. Cea mai mare prevalență a mutațiilor a fost observată pentru gena *NPM1* (17 pacienți), urmată de *DNMT3A* (13 pacienți) și *NRAS* (7 pacienți).

Concluzii: Rezultatele obținute în grupul nostru de pacienți sunt similare cu cele raportate în literatură, aducând totodată aspecte noi. Analiza prin secvențiere s-a dovedit utilă pentru caracterizarea moleculară a prevalenței și asocierilor mutaționale la pacienții cu LAM.

Suport financiar: Studiul este parțial finanțat de Ministerul Cercetării și Inovării Programul 1– Dezvoltarea sistemului național de cercetare-dezvoltare, Subprogram 1.2–Performanță instituțională-Proiecte de finanțare a excelenței în CDI, Contract nr.7PFE/16.10.2018; Program Nucleu Proiectele PN19.29.01.03, PN18.21.01.03

C2. REPEATED ACQUISITION OF *TP53* ONCOGENIC MUTATIONS IN THE CLONAL EVOLUTION OF A POLYCYTEMIA VERA CASE TO SECONDARY ACUTE MYELOID LEUKEMIA

Cristina Mambet^{1,2}, Anca Botezatu^{2,3}, Petruta Gurban^{2,4}, Laura G.Necula^{1,2}, Lilia Matei^{1,2}, Aurelia Tatic^{2,5}, Emilia Niculescu-Mizil⁶, Iulia Ursuleac⁵, Saviana Nedeianu^{1,2}, Mihaela Chivu-Economescu^{1,2}, Jean-Philippe Defour^{7,8}, Pascale Saussoy⁹, Coralia Bleotu^{1,2}, Daniel Coriu^{2,5}, Gabriela Anton^{2,3}, Carmen C. Diaconu^{2,3}, Stefan N. Constantinescu^{2,7,8}

1.

1. Cellular and Molecular Pathology Department, Ștefan S. Nicolau Institute of Virology, Bucharest, Romania
2. MyeloAL Program, Ștefan S Nicolau Institute of Virology, 285 Mihai Bravu, Bucharest
3. 030304, Romania
4. Molecular Virology Department, Ștefan S. Nicolau Institute of Virology, Bucharest, Romania
5. Personal Genetics-Medical Genetics Center, Bucharest, Romania
6. Center of Hematology and Bone Marrow Transplantation, Fundeni Clinical Institute, Romania
7. Provita Center of Diagnostic and Treatment
8. University catholic of Louvain, de Duve Institute, Brussels, Belgium
9. Ludwig Institute for Cancer Research, Brussels, Belgium
10. Department of Clinical Biology, Cliniques universitaires Saint-Luc, Brussels, Belgium

Introduction: Polycythemia vera (PV) is a *BCR-ABL1*-negative myeloproliferative neoplasm (MPN) characterized by the presence of a *JAK2* driver mutation, erythrocytosis, panmyelosis, high incidence of thrombosis and a tendency to develop fibrotic progression and transformation into secondary acute myeloid leukemia (sAML). The risk of sAML is 2.3% at 10 years and depends on clinical and hematological parameters, and association of adverse non-driver mutations.

Material and methods: We report the case of a 65-year old patient diagnosed with *JAK2* V617F positive PV that developed myelodysplastic syndrome (MDS) with rapid progression to sAML 3 years after the initial diagnosis. Targeted next-generation sequencing (NGS) was performed on DNA samples obtained at diagnosis of MPN chronic phase, MDS and sAML, respectively, to analyze the clonal evolution.

Results and discussion: NGS results revealed that *JAK2* V617F and *BCOR* mutations were present in the initial PV DNA sample isolated from whole-blood at allele frequencies (AFs) of 88% and 42%, respectively. In addition, at this stage, NGS detected a pathogenic *TP53* L130F mutation at an AF of 35%. The patient evolved in 3 years to a mixed MPN-MDS syndrome (anemia, thrombocytopenia, megakaryocytic dysplasia and grade I myelofibrosis) associated with two novel pathogenic *TP53* mutations, R342* and R175H with AFs of 40% and 37% respectively, detected in a granulocyte DNA sample. At this stage *JAK2* V617F maintained a constant AF at 86% and *BCOR* at 45%, while a reduction in AF of *TP53* L130F mutation was observed (7.89%). Six months after this analysis the patient evolved to secondary acute myeloid leukemia (sAML) with *TP53* mutations R342* and R175H at AFs of 47% and 52%, respectively, and *JAK2* V617F at 99% and *BCOR* at 53%, detected in a DNA sample obtained from peripheral CD34+ cells. Importantly, a *RUNX1* R169fs*44 mutation was detectable at this sAML stage with an AF of 55%. Thus, the patient repeatedly acquired *TP53* mutations, both at the PV stage and at the mixed MPN-MDS stage, and then the *TP53* mutation AFs increased at the sAML stage. The unfavorable

prognostic suggested by the initial *TP53* L130F was confirmed by the evolution of the patient, however its effect was transient and not cell-autonomous. The clone carrying *TP53* L130F might have exerted an oncogenic effect in *trans* on the clone that eventually evolved to sAML. The reasons behind the repeated acquisition of *TP53* mutations remain unclear, and so remain the mechanisms of disappearance of the initial *TP53* L130F. Such cases are not infrequent and suggest that a pre-leukemic selection pressure exists that imposes repeated acquisition of *TP53* mutations, which are a strong indicator of unfavorable evolution. Searching for additional mutations at diagnosis of MPN chronic phase can bring prognostic information that can alter clinical management, precisely early referral to allogeneic hematopoietic cell transplantation.

Keywords: polycythemia vera, NGS, clonal evolution, *TP53* oncogenic mutations

Acknowledgments: Funding from Competitiveness Operational Programme A1.1.4. ID: P_37_798 MyeloAL-EdiaProT 149/26.10.2016, SMIS 106774 and infrastructure funded from Sectorial Operational Programme POSCCE O2.2.1. ONCOIVN 433/21.12.2012.

C2. ACHIZIȚIA REPETATĂ DE MUTAȚII *TP53* ONCOGENICE ÎN EVOLUȚIA CLONALĂ A UNUI CAZ DE POLICITEMIE VERA TRANSFORMATĂ ÎN LEUCEMIE ACUTĂ MIELOIDĂ SECUNDARĂ

Introducere: Policitemia vera este un neoplasm mieloproliferativ *BCR-ABL1* negativ (NMP) caracterizat prin prezența unei mutații driver în gena *JAK2*, eritrocitoză, panmieloză, incidență crescută a evenimentelor trombotice și o tendință de progresie către mielofibroză sau leucemie acută mieloidă secundară (LAMs). Riscul de LAMs la 10 ani este de 2.3% și depinde de parametrii clinici și hematologici, precum și de asocierea unor mutații non-driver cu efect advers.

Material și metode: Este prezentat cazul unei paciente în vârstă de 65 ani, diagnosticată cu PV și mutație *JAK2* V617F care a dezvoltat sindrom mielodisplazic (SMD) cu progresie rapidă către LAMs după 3 ani de evoluție a bolii. Pentru a analiza evoluția clonală au fost testate prin secvențiere țintită de nouă generație (NGS) probe de ADN din faza cronică de boală, la diagnosticul SMD și respectiv al LAMs.

Rezultate și discuții: Rezultatele testării NGS au arătat că mutațiile *JAK2* V617F și *BCOR* L1647fs*4 au fost prezente la debutul PV, în proba de ADN izolat din sânge integral, cu o frecvență alelică (FA) de 88% și respectiv 42%. Alături de acestea a fost detectată în proba inițială mutația patogenică *TP53* L130F, cu o FA de 35%. Cazul a evoluat în decurs de 3 ani către un sindrom mixt NMP-SMD (anemie, trombocitopenie, displazie megakariocitară și mielofibroza gradul I) asociat cu 2 mutații *TP53* patogenice noi, R342* și R175H, cu AF 40% și respectiv 37%, detectate într-o probă de ADN granulocitar. În această fază, mutațiile *JAK2* V617F și *BCOR* au menținut o FA constantă de 86% și respectiv 45%, în timp ce s-a constatat o reducere a FA corespunzătoare mutației *TP53* L130F (7.89%). După 6 luni, pacienta a dezvoltat LAMs, cu o FA a mutațiilor *TP53* R342*, *TP53* R175H, *JAK2* V617F și *BCOR* de 47%, 52%, 99% și respectiv 53%, într-o probă de ADN izolată din celule CD34+. Important, în această fază a fost detectată în plus mutația *RUNX1* R169fs*44, cu o FA de 55%. Astfel, pacienta a dobândit în mod repetat mutații *TP53*, atât în stadiul de PV cât și în cel de NMP-MDS, iar FA a mutațiilor *TP53* a crescut în faza de LAMs. Prognosticul nefavorabil sugerat de mutația *TP53* L130F inițială a fost confirmat de

evoluția pacientei, totuși, efectul său a fost tranzitoriu și nu celular autonom. Clona purtătoare de mutație *TP53* L130F ar fi putut exercita un efect oncogenic în *trans* asupra clonei care a evoluat în final către LAMs. Mecanismul care stă la baza achiziției repetate de mutații *TP53* rămâne neclar, la fel ca și cel al dispariției mutației *TP53* L130F inițiale. Astfel de cazuri nu sunt rare și sugerează existența unei presiuni de selecție preleucemică care impune achiziția repetată de mutații *TP53*, ce reprezintă un indicator de evoluție nefavorabilă. Investigarea prezenței de mutații suplimentare la diagnosticul NMP în fază cronică poate aduce informații prognostice care să modifice managementul clinic, mai exact efectuarea precoce a transplantului alogenic de celule stem hematopoietice.

Cuvinte cheie: policitemie vera, NGS, evoluție clonală, mutații *TP53* oncogenice

Mulțumiri: Cercetarea a fost finanțată de Programul Operațional Competitivitate A1.1.4. ID: P_37_798 MyeloAL-EdiaProT 149/26.10.2016, SMIS 106774, iar infrastructura de Programul Operațional Sectorial POSCCE O2.2.1. ONCOIVN 433/21.12.2012.

C3. MOLECULAR DIAGNOSIS OF CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

Claudia E. Grigoraș¹, Mihaela Mentel^{1,2*}, Oana M. Pintilie¹, Loredana M. Dragos^{1,3}, Irina C. Văcărean-Trandafir², Mădălina C. Ștefan¹, Adriana Sireteanu¹, Iuliu C. Ivanov¹, Raluca E. Oana¹, Daniela Jitaru¹

1. *Medical Diagnosis Laboratory, Regional Institute of Oncology, Iași*
2. *TRANSCEND Research Center, Regional Institute of Oncology, Iași*
3. *Faculty of Biology, "Alexandru Ioan Cuza" University, Iași*

Uncontrolled proliferation of hematopoietic cells is the main cause of hematologic neoplasia. Immunophenotyping and molecular biology play an essential role in the diagnosis of acute leukemias and lymphomas.

Immunophenotyping is the method used to identify and characterize cells, based on the markers or antigens, present either on the membrane surface or in the cytoplasm of cells. This technique uses monoclonal antibodies, which specifically recognize the cellular antigens.

A total number of 157 cases of chronic lymphocytic leukemia (LLC) was diagnosed in our center by immunophenotyping between 2018-2019. Of these, 70 cases were also investigated for genetic changes by multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA, kit P040-B2 CLL). This technique allows the simultaneous identification of certain chromosomal abnormalities with clinical relevance in patients with CLL.

All cases of LLC diagnosed by immunophenotyping showed mature, monoclonal B lymphocytes, with the phenotype relevant to this pathology. Of the cases analyzed by MLPA, 38 cases showed none of the genetic changes investigated. The most common genetic modification was the deletion of the 13q14 region in 22 patients. Deletion of this region was associated with deletions in the 11q22 region in 2 patients and with deletions in the *TP53* gene region (17p13) in 3 patients. Four of the investigated cases showed duplications in chromosome 12. The deletions in the regions 17p13 and 11q22 indicate a low prognostic factor for the response to therapy, and the changes in the 13q14 region have a favorable prognosis.

Molecular diagnosis, by identifying biomarkers of clinical relevance, helps in correct diagnosis and stratification of patients, with real chances in their treatment and cure.

Keywords: Immunophenotyping, LLC, MLPA

C3. DIAGNOSTICUL MOLECULAR AL LEUCEMIEI LIMFOCITARE CRONICE

Proliferarea necontrolată a celulelor hematopietice este principala cauză în apariția neoplaziilor hematologice. Imunofenotiparea și biologia moleculară au un rol esențial în diagnosticarea leucemiilor acute și limfoamelor.

Imunofenotiparea este metoda utilizată pentru identificarea și caracterizarea celulelor pe baza tipurilor de markeri sau antigeni, prezenți fie pe suprafața membranelor sau în citoplasma celulelor. Această tehnică utilizează anticorpi monoclonali, care recunosc specific antigenele celulare. În perioada 2018-2019, în centrul nostru au fost diagnosticate prin imunofenotipare 157 de cazuri de leucemie cronică limfocitară (LLC), iar dintre acestea 70 de cazuri au fost investigate și pentru modificări genetice prin tehnica MLPA (multiplex ligation-dependent probe amplification, kitul P040-B2 CLL). Această tehnică permite identificarea simultană a anumitor anomalii cromozomiale cu relevanță clinică la pacienții cu LLC.

Toate cazurile de LLC diagnosticate prin imunofenotipare au prezentat limfocite B mature, monoclonale, cu fenotip relevant pentru această patologie. Dintre cazurile analizate prin MLPA, 38 de cazuri nu au prezentat nici una dintre modificările genetice investigate. Modificarea genetică cel mai des întâlnită a fost deleția regiunii 13q14 la 22 de pacienți. Deleția acestei regiuni a fost asociată cu deleții în regiunea 11q22 la 3 pacienți și cu deleții în regiunea genei *TP53* (17p13) la 3 pacienți. Patru dintre cazurile investigate au prezentat duplicații în cromozomul 12. Delețiile de la nivelul regiunilor 17p13 și 11q22 indică un factor de prognostic nefavorabil pentru răspunsul la terapie, iar modificările regiunii 13q14 au un prognostic favorabil.

Diagnosticul molecular, prin identificarea biomarkerilor cu relevanță clinică ajută la diagnosticarea corectă și la stratificarea pacienților, cu reale șanse în tratarea și vindecarea acestora.

Cuvinte cheie: imunofenotipare, LLC, MLPA

PLENARY SESSION 4 – HEMATOLOGY / HEMOSTASIS

C1. THE ROLE OF THROMBOCYTOPENIA, PLATELET TRANSFUSION AND PLATELET MASS INDEX IN RETINOPATHY OF PREMATURITY

Luminița Păduraru^{1,2}, Gabriela Ildiko Zonda^{1,2}, Narcis Berlea², Gabriela Bordeianu^{1,3}, Daniela Cristina Dimitriu^{1,2}

1. University of Medicine and Pharmacy „Grigore T. Popa”, Iași
2. Clinical Hospital of Obstetrics and Gynecology “Cuza Vodă” Iași

Introduction: Retinopathy of prematurity (ROP) consists in a neovascularization of the posterior retina in premature babies, mostly under 32 weeks gestation, mainly linked to oxidative stress. As ROP outcome may be blindness, screening for ROP became standard practice. Various risk factors and mechanisms have been explored. Anemia was suspected to play a role in ROP determination and many studies evaluated this aspect, but there was no consistent correlation between ROP and low red cell count. Premature infants may need multiple transfusions, so this was also studied as being a potential generator of neovascularization, seeking for a good predictor in the first 4 weeks of life, until the first ophthalmologic screening examination is indicated. Other cited risk factor is thrombocytopenia ($<100 \times 10^9/l$) at ≥ 30 weeks postmenstrual age (at onset of ROP), as platelets are involved in angiogenesis regulation. Low platelet counts during the neovascularization phase in ROP is significantly associated with the development of severe ROP in preterm infants. In a murine model of retinopathy, platelet transfusion during the period of neovascularization suppressed retinopathy. Platelet mass index (PMI) was proven to be a more reliable indicator that is better correlated with severe ROP and therefore may be use as a good predictor, minimally invasive, reliable and rather feasible.

Conclusion: Monitoring the platelet count and PMI values in premature infants at risk for ROP may provide a useful tool for the physician, mostly in areas where an ophthalmologic screening is not consistently available.

Keywords: newborn, prematurity, retinopathy of prematurity, platelets, retina.

C1. ROLUL TROMBOCITOPENIEI, TRANSFUZIEI PLACHETARE ȘI INDICELUI DE MASĂ PLACHETARĂ ÎN RETINOPATIA DE PREMATURITATE

Introducere: Retinopatia de prematuritate (ROP) constă în neovascularizația retinei posterioare la copiii prematuri, în cea mai mare parte sub 32 de săptămâni de gestație, fiind legată în principal de stresul oxidativ. Screening-ul ROP este o practică standard pentru acești prematuri, deoarece această patologie poate conduce la orbire. Au fost explorați diverși factori de risc și mecanisme patogenice. Anemia a fost suspectată ca având un rol în determinarea ROP și multe studii au evaluat acest aspect, dar nu a existat o corelație consistentă între ROP și numărul scăzut de eritrocite. Prematurii pot necesita multiple transfuzii. Primul control oftalmologic este indicat la 4 săptămâni de viață, astfel încât s-a luat în discuție rolul administrării masei eritrocitare în declanșarea ROP ca un potențial generator de neovascularizare și

factor predictiv de risc precoce. Un alt factor de risc citat este trombocitopenia ($<100 \times 10^9 / l$) la vârsta corectată ≥ 30 săptămâni (la debutul ROP), deoarece trombocitele sunt implicate în reglarea angiogenezei. Trombocitopenia în faza de neovascularizare în ROP este asociat semnificativ cu dezvoltarea ROP severă la prematuri. Într-un model de retinopatie, transfuzia de plachete în perioada neovascularizării a suprimat retinopatia. Indicele de masă plachetară (PMI) s-a dovedit a fi un indicator de încredere, mai bine corelat cu ROP severă și, prin urmare, poate fi utilizat ca un predictor precoce, minim invaziv, fiabil și destul de fezabil.

Concluzie: Monitorizarea numărului de trombocite și a valorilor PMI la prematurii cu risc pentru ROP poate oferi un instrument util medicului, mai ales în zonele în care un screening oftalmologic nu este oricând disponibil.

Cuvinte cheie: nou-născut, prematuritate, retinopatia de prematuritate, trombocite, retina.

C2. HEMATOLOGIC CHANGES ASSOCIATED WITH SARS-COV-2 INFECTION

Cristina Mambet

Cellular and Molecular Pathology Department, Ștefan S. Nicolau Institute of Virology, Bucharest, Romania

According to latest data, SARS-CoV-2 infection is considered more and more a systemic disease with impact also on hematopoietic system.

Hematologic changes that may occur during SARS-CoV-2 infection can be classified such as: abnormalities of complete blood count (CBC) parameters (lymphopenia, neutrophilia, eosinopenia, thrombocytopenia, and less frequent thrombocytosis), morphological changes observed on peripheral blood smear and disruption of hemostatic balance (tendency towards hypercoagulability as a result of thromboinflammation).

Lymphopenia on admission is a prominent feature of SARS-CoV-2 infection associated disease (COVID-19), being correlated with a threefold higher risk of severe illness. Monitoring the dynamic changes in the lymphocyte count during disease course provides prognostic information, as nonsurvivors display persistent lymphopenia, while in survivors an increase in lymphocyte count is observed after 7 days from the disease onset. Among the mechanisms proposed for lymphopenia occurrence the massive release of proinflammatory cytokines and exhaustion of T cell populations are the most significant. The presence of atypical lymphocytes on the peripheral blood smear, with a morphology that is distinct from the those observed in infectious mononucleosis is a feature of SARS-CoV-2 infection.

Neutrophilia has been associated with disease progression and unfavorable outcome. Also, a neutrophil/lymphocyte ration higher than 4 has a predictive value for transferring the patients in an intensive care unit. Acquired Pelger-Huët anomaly was frequently observed on blood smears in COVID-19 cases.

As a conclusion, CBC abnormalities on admission and during disease course provide useful information that allow stratification of patients according to disease severity.

Keywords: SARS-CoV-2 infection, lymphopenia, neutrophilia, blood smear abnormalities

C2. MODIFICĂRI HEMATOLOGICE ASOCIATE INFECȚIEI SARS-COV-2

Conform unor date recente, infecția SARS-CoV-2 este considerată din ce în ce mai mult ca o boală sistemică, având un impact și asupra sistemului hematopoietic.

Modificările hematologice care pot să apară în cursul infecției SARS-CoV-2 pot fi clasificate astfel: anomalii ale parametrilor hemogramei (limfopenie, neutrofilie, eozinopenie, trombocitopenie și mai rar trombocitoză), modificări morfologice la examenul frotiului de sânge periferic și perturbări ale balanței hemostatice (tendință către hipercoagulabilitate ca rezultat al trombo-inflamației).

Prezența limfopeniei la internarea în spital este o trăsătură proeminentă a bolii asociate infecției SARS-CoV-2 (COVID-19), fiind corelată cu un risc de trei ori mai mare de a dezvolta forme severe de boală. Monitorizarea în dinamică a numărului de limfocite în cursul evoluției bolii furnizează informații cu valoare prognostică. Astfel, non-supraviețuitorii prezintă o limfopenie persistentă, în timp ce la supraviețuitori se constată o creștere a numărului de limfocite după 7 zile de la debutul bolii. Printre mecanismele propuse pentru apariția limfopeniei eliberarea masivă de citokine proinflamatorii și “epuizarea” funcțională a populațiilor de limfocite T sunt cele mai semnificative. Prezența de limfocite pe frotiul de sânge periferic cu morfologie distinctă de cea observată în mononucleoza infecțioasă constituie o caracteristică a infecției SARS-Cov-2.

Neutrofilia a fost asociată cu progresia bolii și o evoluție nefavorabilă. De asemenea, un raport neutrofile/limfocite mai mare de 4 are valoare predictivă în ceea ce privește transferul pacienților în secția de terapie intensivă. Anomalia Pelger-Huët dobândită a fost frecvent observată pe frotiurile de sânge la pacienții cu COVID-19.

În concluzie, anomaliile hemogramei la internarea în spital și în cursul evoluției bolii furnizează informații importante care permit stratificarea pacienților în funcție de gradul de severitate a bolii.

Cuvinte cheie: infecția SARS-CoV-2, limfopenie, neutrofilie, anomalii ale frotiului de sânge

C3. HEMOSTASIS DISORDERS IN METABOLIC SYNDROME

Ioana Brudașcă

“Iuliu Hațieganu” University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca

Metabolic syndrome is a cluster of conditions which include abdominal obesity, atherogenic dyslipidaemia, raised blood pressure, insulin resistance/alteration of blood glucose regulation. These individuals also display a prothrombotic status, which is the consequence of complex alterations of hemostasis, consisting of enhanced antifibrinolytic potential, a hypercoagulable status, enhanced platelet activity and endothelial alteration.

Enhanced antifibrinolytic potential is the result of increased levels of plasminogen activator inhibitor (PAI-1), alpha2 antiplasmin, factor XIII and fibronectin.

The hypercoagulable status is generated by the increased production of coagulation factors VII, VIII, X, and fibrinogen and by a subliminal activation of coagulation.

The increased levels of von Willebrand factor, the alteration of platelet metabolism with increased thromboxane A2 production as well as the structural changes of platelet membrane result in a hyperaggregability of the platelets.

Endothelial dysfunction in subjects with metabolic syndrome is relevant for the alteration of fibrinolysis and anticoagulant mechanisms (antithrombin, protein C system) regulation.

All these hemostatic changes significantly contribute to a prothrombotic status, which in association with the atherosclerotic lesions in blood vessels increase the risk for thrombotic events in patients with metabolic syndrome.

Keywords: metabolic syndrome, prothrombotic status, fibrinolysis

C3. ANOMALII ALE HEMOSTAZEI ÎN SINDROMUL METABOLIC

Sindromul metabolic reprezintă o patologie care asociază obezitatea abdominală, dislipidemia aterogenă, hipertensiunea arterială, rezistență la insulină/tulburări de glicoreglare. Acești subiecți prezintă și un status protrombotic, care este rezultatul unor modificări complexe ale hemostazei, implicând creșterea potențialului antifibrinolitik, o stare de hipercoagulabilitate, hiperagregabilitate plachetară și intervenția endotelilor vasculare.

Creșterea potențialului antifibrinolitik are ca substrat nivele crescute ale inhibitorului activatorului plaminogenului (PAI-1), alfa2 antiplasminei, factorului XIII stabilizator al fibrinei și fibronectinei.

Hipercoagulabilitatea se datorează unor nivele crescute de factor VII, VIII, X și de fibrinogen, la care se adaugă un proces de activare subliminală a coagulării.

Nivelele crescute de factor von Willebrand, modificările metabolismului plachetar cu creșterea producției de tromboxan A2, precum și modificările structurale ale membranei plachetare contribuie la o hiperagregabilitate a acestora.

Disfuncția endotelială a subiecților cu sindrom metabolic este relevantă pentru alterarea modulării fibrinolizei și a funcționării mecanismelor anticoagulante (antitrombină, sistemul proteinei C).

Ansamblul acestor modificări ale hemostazei contribuie în mod semnificativ la instalarea unui status protrombotic, la care se adaugă modificărilor aterosclerotice ale vaselor, crescând astfel riscul pentru accidente trombotice ale pacienților cu sindrom metabolic.

Cuvinte cheie: sindrom metabolic, status protrombotic, fibrinoliză

R1 HEMOSTASIS CHANGES IN SARS-COV-2 INFECTION

Ioana Brudașcă

“Iuliu Hațieganu” University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca

SARS-CoV-2 infection is a respiratory infection, with clinical manifestations of variable severity. Clinical aspects are produced both by the direct cytopathic effect of the virus and by the response of the host to the viral infection. A main feature of SARS-CoV-2 infection is a systemic endothelial dysfunction, associated with a complex coagulopathy – a thromboinflammation. Loss of the antithrombotic potential of endothelia, platelets' hyperactivity, enhanced levels of pro-coagulant proteins, accelerated fibrinolysis with subsequent exhaustion of the fibrinolytic capacity, capillary stasis and the complex intervention of Neutrophil Extracellular Traps (NETs) result in microvascular and macrovascular events (mostly venous thrombosis and pulmonary thromboembolism).

The panel of hemostasis biomarkers consists of PT, APTT, fibrinogen, platelet count and D dimers. These biomarkers are helpful to monitor the severity of disease, to assure a safe and efficient anticoagulant therapy, but also to potentially screen or scan patients for VTE.

Keywords: SARS-CoV-2, hemostasis, thromboinflammation

R1. MODIFICĂRI ALE HEMOSTAZEI ÎN INFECȚIA CU SARS-COV-2

Infecția cu SARS-CoV-2 este o infecție cu poartă de intrare respiratorie, cu manifestări clinice variabile ca severitate. Manifestările clinice se datorează atât efectului citopatic direct al virusului cât și răspunsului organismului la infecție. Este caracteristică apariția unei afectări endoteliale (endotelită) sistemice, însoțită de o coagulopatie complexă – care a fost denumită tromboinflamatie. Perturbarea potențialului antitrombotic al endoteliilor, hiperagregabilitatea plachetară, creșterea proteinelor procoagulante, intensificarea fibrinolizei cu epuizarea capacității fibrinolitice, la care se adaugă staza capilară și intervenția complexă a Neutrophil Extracellular Traps (NETs) au ca rezultat apariția de microtromboze diseminate și uneori și macrotromboze, cel mai frecvent venoase (trombembolism pulmonar).

Bilanțul de bază al hemostazei cuprinde PT, APTT, fibrinogen, numărătoarea de trombocite și D dimeri. Acești parametri sunt utili pentru monitorizarea statusului hemostazei, ghidează utilizarea în siguranță a anticoagulantelor și atrag atenția asupra necesității investigațiilor imagistice pentru trombembolism.

Cuvinte cheie: SARS-CoV-2, hemostază, tromboinflamatie

POSTER SESSION – HEMATOLOGY

P1. MOLECULAR CHARACTERIZATION OF *FLT3-ITD* IN ACUTE MYELOID LEUKEMIA PATIENTS AT DIAGNOSTIC

Alina Erbescu¹, Sorina Mihaela Papuc¹, Horia Bumbea^{2,3}, Ana-Maria Vlădăreanu^{2,3}, Aurora Arghir¹

1. Victor Babeș” National Institute of Pathology, Bucharest
2. Carol Davila University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania
3. Emergency University Clinical Hospital, Bucharest, Romania

Introduction: The Fms-like tyrosine kinase 3 (*FLT3*) gene encodes a receptor tyrosine kinase that plays a critical role in hematopoiesis. *FLT3* mutations have been reported in 30% of acute myeloid leukemia (AML) patients, internal tandem duplications (ITD) being the most common. The study aimed to evaluate the prevalence and to molecularly characterize *FLT3-ITD* mutations in a diagnostic group of AML patients.

Materials and Methods: Bone marrow DNA was used to assess *FLT3-ITDs* with a PCR-based assay covering exons 14 and 15. Fragment analysis of amplicons was performed by capillary electrophoresis. Sanger sequencing was done using BigDye Terminator v3.1.

Results and discussion: Fourteen out of 50 AML patients showed *FLT3-ITD* mutation. Molecular characterization of the ITDs was performed in 10 out of 14 samples. Insertion points and ITD sequence analysis were investigated in positive patients. ITD mutations showed different insertion points and variable sizes (21-159 nucleotides). Pure tandem duplications were detected in 9 patients, while 5 patients carried additional in-frame insertions. One patient showed more than one ITD mutant allele.

Conclusions: *FLT3* gene mutations were identified in 28% of patients. The data obtained in our patient group are consistent with published data, adding valuable information regarding less well understood aspects of *FLT3-ITDs* - insertion point, size and sequence.

Acknowledgments: Partially supported by Ministry of Research and Innovation in Romania, under Program 1 – The Improvement of the National System of Research and Development, Subprogram 1.2 – Institutional Excellence – Projects of Excellence Funding in RDI, Contract No. 7PFE/16.10.2018; Core Programme Projects PN19.29.01.03, PN18.21.01.03.

Keywords: *FLT3-ITD*, acute myeloid leukemia (AML), Sanger sequencing

P2. CARACTERIZAREA MOLECULARĂ A MUTAȚIILOR *FLT3-ITD* LA PACIENȚII CU LEUCEMIE ACUTĂ MIELOBLASTICĂ

Introducere: Gena Fms-like tyrosine kinase 3 (*FLT3*) codifică un receptor cu funcție tirozin-kinazică și rol important în hematopoieză. Mutațiile *FLT3* au fost raportate la 30% dintre pacienții cu leucemie acută mieloblastică (LAM), duplicațiile interne în tandem (ITD) fiind cele mai frecvente. Acest studiu își propune evaluarea prevalenței și caracterizarea moleculară a mutațiilor *FLT3-ITD* la pacienții cu LAM la diagnostic.

Materiale și metode: ADN extras din măduva osoasă a fost utilizat pentru evaluarea *FLT3*-ITD prin tehnica PCR. Analiza de fragmente a fost realizată prin electroforeza capilară. Secvențierea Sanger a fost aplicată utilizând BigDye Terminator v3.1.

Rezultate și discuții: Din totalul de 50 de pacienți 14 au prezentat mutații *FLT3*-ITD. Caracterizarea moleculară a ITD prin analiza punctelor de inserție și a secvenței nucleotidice a fost realizată la 10 dintre cele 14 probe. Mutațiile ITD au prezentat puncte de inserție diferite și dimensiuni variabile (21-159 nucleotide). ITD pure au fost detectate la 9 pacienți, în timp ce 5 pacienți au prezentat inserții adiționale fără modificarea cadrului de citire. Un pacient a prezentat mai mult de un ITD.

Concluzii: Mutațiile *FLT3*-ITD au fost detectate la 28% dintre pacienți. Rezultatele obținute pe acest grup de pacienți se corelează cu datele raportate în literatură, furnizând noi informații cu privire la aspecte precum punctele de inserție, dimensiunea și secvența ITD.

Suport financiar: Acest studiu este parțial finanțat de Ministerul Cercetării și Inovării prin Programul 1–Dezvoltarea sistemului național de cercetare-dezvoltare, Subprogram 1.2–Performanță instituțională-Proiecte de finanțare a excelenței în CDI, Contract nr.7PFE/16.10.2018; Program Nucleu Proiectele PN19.29.01.03, PN18.21.01.03

Cuvinte cheie: *FLT3*-ITD, leucemie acută mieloblastică (LAM), secvențiere Sanger

P3. LABORATORY APPROACHES TO POLYCYTEMIA VERA

Miruna Samfireag^{1,2}, Cristina Potre^{1,2}, Ovidiu Potre^{1,2}, Ema Borsi^{1,2}, Monica Pescaru^{1,3}, Hortensia Ioniță^{1,2}, Ioana Ioniță^{1,2}, Andrei Anghel¹

1. University of Medicine and Pharmacy "Victor Babes", Timisoara, Romania
2. Hematology Clinic, Municipality Emergency Hospital of Timisoara, Romania
3. Hematology Clinic, Värnamo, Sweden

Introduction: Polycythemia Vera (PV) is a myeloproliferative disorder defined by an absolute erythrocytosis and associated with increased risks of thrombosis and evolution to acute leukemia. The diagnosis of PV is based on clinical and biological criteria. The presence of mutations in Janus Kinase 2 (*JAK2*) gene is linked with the disease development.

Material and methods: We performed a retrospective study on a group of 13 patients, diagnosed with PV during 2017-2019, in the West part of Romania, who tested positive for *JAK2* V617F (the main *JAK2* mutation) by allele-specific polymerase chain reaction.

Results: The existence of *JAK2*V617F was found to be statistically significant with advanced age at diagnosis and with higher hemoglobin levels and leukocyte counts ($p < 0.05$). *JAK2* V617F positive patients are more likely to develop chronic myeloproliferative neoplasms (MPN); splenomegaly is one of the major clinical manifestations of MPN, being a negative prognostic factor; although, we noticed no statistically relevant association regarding the presence of splenomegaly in this study.

Conclusions: The presence of *JAK2* V617F may guide the therapeutically approach of PV, taking into account the advanced age, higher leukocyte counts and the hemoglobin levels.

Keywords: PV, *JAK2*, MPN

P3. TESTE DE LABORATOR UTILE ÎN DIAGNOSTICUL POLICITEMIEI VERA

Introducere: Policitemia vera (PV) este o boală mieloproliferativă definită printr-o eritrocitoză absolută; PV este corelată cu riscuri crescute de tromboză și evoluție spre leucemie acută. Diagnosticul de PV se bazează pe criterii clinice și biologice, iar prezența unei mutații *JAK2* este asociată cu dezvoltarea bolii.

Material și metodă: Am efectuat un studiu retrospectiv pe un grup de 13 pacienți, diagnosticați cu PV în perioada 2017-2019, în partea de vest a României, la care s-a depistat mutația punctiformă *JAK2* V617F (principala mutație *JAK2*) prin reacția în lanț a polimerazei (PCR) cu specificitate alelică.

Rezultate: S-a constatat că prezența mutației *JAK2* V617F a fost corelată semnificativ statistic cu vârsta înaintată la diagnostic și cu niveluri mai mari de hemoglobină și număr de leucocite ($p < 0.05$). Pacienții *JAK2* V617F pozitivi au mai multe șanse de a dezvolta sindroame mieloproliferative cronice (SMPC); splenomegalia este una dintre manifestările clinice majore ale SMPC, fiind un factor de prognostic negativ; cu toate acestea, nu am observat nicio asociere relevantă statistic cu privire la prezența splenomegaliei în acest studiu.

Concluzii: Prezența mutației *JAK2* V617F poate ghida abordarea terapeutică a PV, luând în considerare vârsta avansată de la diagnostic, numărul mai mare de leucocite și nivelurile crescute de hemoglobină.

Cuvinte cheie: PV, *JAK2*, SMPC.

P4. THE INFLUENCE OF FACTOR V LEIDEN ON THE THROMBOTIC RISK IN PATIENTS WITH MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASMS

Adriana-Stela Cosma^{1,2}, Florin Tripon^{1,2,3}, Mădălina Anciu², Adrian Trifa⁴, Marcela Căndea^{5,6},
Claudia Bănescu^{1,2,3}

1. Laboratory of Medical Genetics, Emergency Clinical County Hospital Târgu Mureș, Romania

2. Department of Genetics, University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology „George Emil Palade” of Târgu Mureș, Romania

3. Laboratory of Molecular Biology/Genetics, Center for Advanced Medical and Pharmaceutical Research, University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology „George Emil Palade” of Târgu Mureș, Romania

4. Discipline of Medical Genetics, University of Medicine Pharmacy “Iuliu Hațieganu” of Cluj Napoca, Romania

5. Medical Clinic I- Hematology, Emergency Clinical County Hospital Târgu Mureș, Romania

6. Department M3, Internal Medicine of University of Medicine Pharmacy, Sciences and Technology „George Emil Palade” of Târgu Mureș, Romania

Introduction: The main complications encountered in myeloproliferative neoplasms (MPNs) are represented by the hemorrhagic and thrombotic events that will influence the prognosis and quality of life. We attempted to evaluate the contribution of factor V Leiden to the thrombotic risk in patients with non-*BCR-ABL* MPNs.

Material and methods: We included 357 patients with MPNs, of which 107 (29.97%) had major thrombosis and 250 subjects (70.03%) without major thrombotic events. Factor V G1691A Leiden mutation was genotyped by using TaqMan Assays.

Results: In the entire cohort of patients, factor V Leiden mutation was not significantly associated with both arterial and venous thrombosis (TT - variant homozygous genotype and CT - heterozygous genotype): CC vs. CT: $p=0.65$, $OR=1.36$, $95\%CI=0.52-3.51$; CC vs. TT: $p=0.22$, $OR=0.21$, $95\%CI=0.01-2.40$; CC vs. CT+TT: $p=1$, $OR=1.07$, $95\%CI=0.45-2.52$; C vs. T: $p=0.22$, $OR=0.84$, $95\%CI=0.41-1.93$). *JAK2* V617F mutation was present in 64.83% patients with major thrombosis, respectively 47.26% among those without major thrombotic events and is significantly associated with thrombosis ($p=0.0056$, $OR=2.057$, $95\%CI=1.23-3.43$).

Conclusions: Factor V Leiden is not a major contributor to thrombosis in the study group, but the presence of the *JAK2* V617F mutation increased the risk of thrombosis. In the future, we intend to extend the study group and to measure other thrombotic parameters.

Keywords: Thrombosis, Factor V Leiden, Myeloproliferative neoplasms

P4. INFLUENȚA FACTORULUI V LEIDEN ASUPRA RISCULUI TROMBOTIC LA PACIENȚII CU NEOPLASME MIELOPROLIFERATIVE

Introducere: Principalele complicații întâlnite în neoplasmele mieloproliferative (MPN) sunt reprezentate de evenimentele hemoragice și trombotice care vor influența prognosticul și calitatea vieții. Am încercat să evaluăm contribuția factorului V Leiden asupra riscului trombotic la pacienții cu MPN non-*BCR-ABL*.

Material și metodă: Am inclus 357 de pacienți cu MPN, dintre care 107 (29,97%) cu tromboză majoră și 250 de subiecți (70,03%) fără evenimente trombotice majore. Factorul V Leiden a fost genotipat prin utilizarea testelor TaqMan.

Rezultate: În întreaga cohortă de pacienți, mutația factorului V Leiden nu a fost asociată semnificativ statistic cu tromboza arterială și cu cea venoasă (TT - genotip variant homozigot și CT - genotip heterozigot): CC vs. CT: $p = 0,65$, $OR = 1,36$, $95\% CI = 0.52-3.51$; CC vs. TT: $p = 0,22$, $OR = 0,21$, $95\% CI = 0,01-2,40$; CC vs. CT + TT: $p = 1$, $OR = 1,07$, $95\% CI = 0,45-2,52$; C vs. T: $p = 0,22$, $OR = 0,84$, $95\% CI = 0,41-1,93$). Mutația *JAK2* V617F a fost prezentă la 64,83% dintre pacienții cu tromboză majoră, respectiv 47,26% în rândul celor fără evenimente trombotice majore și este asociată semnificativ cu tromboza ($p = 0,0056$, $OR = 2,057$, $CI\ 95\% = 1,23-3,43$).

Concluzii: În grupul de studiu, factorul V Leiden nu este un contribuitor major la tromboză, dar prezența mutației *JAK2* V617F a crescut riscul de tromboză. În viitor, intenționăm să extindem grupul de studiu și să măsurăm alți parametrii trombotici.

Cuvinte cheie: Tromboză, Factorul V Leiden, Neoplasme mieloproliferative

P5. MULTIFACTORIAL ANEMIA, A DIAGNOSIS CHALLENGE – CASE REPORT

Laura Jimbu^{1,2}, Oana Mesaros^{1,2}, Iulia Berceanu², Mariana Pațiu^{1,2}, Mihnea Zdrenghea^{1,2}

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

2. "Ion Chiricuță" Oncology Institute, Cluj-Napoca

Multifactorial anemia represents a diagnostic challenge for both the pathologist and the clinician. Several overlapping dyserythropoietic mechanisms can occur and make the diagnosis difficult.

We present the case of a 55-year-old female admitted to our department with pancytopenia, neurological symptoms and severe abdominal pain. The results of initial laboratory studies showed severe thrombocytopenia (platelets: 35000 G/L), aregenerative normocytic normochromic anemia (hemoglobin: 81 G/L, mean cell volume: 95.9 fL), with high levels of ferritin (6.52 nmol/L), elevated lactate dehydrogenase (27 μ kat/L) and D-dimers (>1.6 mg/L), and mixed hyperbilirubinemia. The patient was known for chronic renal disease and bladder prolapse with frequent infectious events. The peripheral blood smear evaluation and the bone marrow aspirate were highly contributive in order to reach the correct diagnosis in a patient with anemic syndrome.

Keywords: multifactorial anemia, B12 deficiency, anemia in chronic disease

P5. ANEMIA PLURIFACTORIALĂ, O PROVOCARE ÎN DIAGNOSTIC – PREZENTARE DE CAZ

Anemiile plurifactoriale sunt întotdeauna o provocare diagnostică atât pentru clinician cât și pentru citolog. Mecanismele patogenetice intricate pot face din acest diagnostic unul dificil.

Prezentăm cazul unei paciente de 55 de ani care a fost adresată serviciul nostru pentru pancitopenie, simptome neurologice și dureri abdominale severe. Investigatiile inițiale efectuate în serviciul nostru relevă trombocitopenie severă (trombocite: 35000 G/L), anemie normocitară normocromă aregenerativă (hemoglobină 81 G/L, volum celular mediu: 95,9 fL), valori crescute ale feritinei serice (6,52 nmol/L), lactat dehidrogenazelor (27 μ kat/L), nivel crescut al d-dimerilor (>1,6 mg/L) și o hiperbilirubinemie mixtă. Pacienta este cunoscută cu boală renală cronică, prolaps de vezică urinară cu numeroase episoade infecțioase. Evaluarea frotiului sanguin și a aspiratului medular au fost substanțial contributive pentru încadrarea sindromului anemic.

Cuvinte cheie: anemie plurifactorială, deficit de vitamina B12, anemia din boli cronice

P6. IMPACT OF THROMBOPHILIA AND COMPARATIVE ANALYSIS OF LOW DOSE ASPIRIN AND LOW MOLECULAR WEIGHT HEPARINE (LMWH) TREATMENT IN PREGNANCY

Natalia Țurcan¹, Monica Mihaela Cîrstoiu², Oana Teodor², Ioniță Ducu², Roxana Bohîlțea².

1. Department of Obstetrics Gynecology, "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy
Doctoral School, University Emergency Hospital Bucharest, Romania

2. Department of Obstetrics Gynecology, "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy,
University Emergency Hospital Bucharest, Romania

Introduction / Objective: Thrombotic risk in pregnancy is significantly higher than in the general population. Thrombophilia as a factor involved in the pathogenesis of preeclampsia is a two-way hypothesis, with an estimated 40% of patients with preeclampsia having a thrombophilic substrate. In the context where clear protocols for administering anticoagulants in pregnancy have not been established, we aimed at comparative analysis of the clinical, anamnestic, ultrasound and genetic aspects on which the indication of treatment with antiplatelet, anticoagulant or the two combined in pregnancy was based.

Methodology: The studied population was divided into three groups, being applied parametric and non-parametric tests for the purpose of comparative analysis.

Results: Protein S deficiency was unquestionably present in the study group, protein C deficiency being present isolated. High resistance to activated protein C was present in a small proportion throughout the study, as well as the homocysteine high level. For obese pregnant patients the anticoagulant treatment was of choice for prophylaxis of cardiovascular risk and preeclampsia by facilitating the uterus-placental circulation. The presence in the personal or family history of the thromboembolic events represented a criterion for the combination therapy of low-molecular-weight heparin and aspirin. For the entire study group, the values of the resistance and pulsatility index were normal, however the lowest values were registered in patients with combined treatment.

Conclusions / Discussions: From the analysis of the values and incidence of acquired and inherited thrombophilia, of the maternal factors and of the personal antecedents that could additionally guide the management and prognosis of the cases of high-risk pregnancies, we managed to underline the importance of complete information, anamnestic, clinical and paraclinical for the most favorable course of a pregnancy.

Keywords: thrombophilia, pregnancy, Doppler velocimetry

P6. IMPACTUL TROMBOFILIEI ȘI ANALIZA COMPARATIVĂ A TRATAMENTULUI CU ASPIRINĂ ÎN DOZĂ MICĂ ȘI HEPARINA CU GREUTATE MOLECULARĂ MICĂ (HGMM) ÎN SARCINĂ

Introducere / Obiectiv: Riscul trombotic în sarcină este semnificativ crescut față de cel din populația generală. Trombofilia ca și factor implicat în patogeneza preeclampsiei este o ipoteză susținută bidirecțional, fiind estimat că aproximativ 40% dintre pacientele cu preeclampsie prezintă un substrat trombofilic. În contextul în care protocoale clare de administrare a anticoagulantelor în sarcină nu au fost stabilite, am avut ca și scop analiza comparativă a aspectelor clinice, anamnestice, ecografice și genetice

pe care s-a bazat indicația de tratament antiagregant, anticoagulant, sau cele două combinate în sarcină.

Metodologie: Lotul de studiu a fost împărțit pe trei grupuri, fiind aplicate teste parametrice și non-parametrice în scopul analizei comparative.

Rezultate: Deficitul de proteina S a fost prezent incontestabil în lotul de studiu, deficitul de proteină C fiind prezent izolat. Rezistența crescută la proteina C activată a fost prezentă în proporție mică în întregul lot studiat, la fel ca și nivelul crescut al homocisteinei. Pentru pacientele însărcinate obeze s-a optat pentru tratament anticoagulant profilactic, atât prin prisma riscului cardiovascular cât și prin facilitarea circulației utero-placentare și prevenția preeclampsiei. Prezența în antecedentele personale sau familiale a accidentului tromboembolic a reprezentat un criteriu de administrare a terapiei combinate cu heparină cu greutate moleculară mică și aspirină. Pentru întreg lotul de studiu valorile indicelui de rezistență și pulsilitate au fost normale, totuși valorile cele mai mici s-au înregistrat la pacientele care au urmat un tratament combinat.

Concluzii / Discuții: Din analiza valorilor și incidenței trombofiliei dobândite și respectiv moștenite și a factorilor materni și respectiv a antecedentelor personale ce ar putea ghida adițional managementul și prognosticul cazurilor de sarcini cu risc am reușit să subliniem importanța informațiilor cât mai complete, atât anamnestice, clinice cât și paraclinice pentru parcursul cât mai favorabil al unei sarcini.

Cuvinte cheie: trombofilie, sarcină, velocimetrie Doppler

PLENARY SESSION 5 – MOLECULAR BIOLOGY/GENETICS

C1. DISCREPANCIES BETWEEN CLINICAL PHENOTYPE OF ROMANIAN PATIENTS WITH PREMATURE CHD AND MUTATIONS IDENTIFIED IN FAMILIAL HYPERCHOLESTEROLEMIA-ASSOCIATED GENES: LDLR, APOB, PCSK9

Minodora Dobreanu¹, George-Valeriu Moldovan¹, Laszlo Hadadi², Adina Hutanu¹, Liliana Demian¹, Răzvan Serban², Claudia Bănescu¹

1. Center for Advanced Medical and Pharmaceutical Research, „George Emil Palade” University of Medicine, Pharmacy, Science, and Technology of Targu Mures, Romania

2. Emergency Cardiovascular Disease and Transplant Institute, Targu Mures, Romania

Aim: Familial hypercholesterolemia (FH) early identification is of high public health importance. We aimed to identify the most frequent FH-causing gene variants in Romanian population, in order to obtain a useful screening panel in clinical practice.

Methods: Using multiplex-PCR combined with biochip-array-hybridization we screened 132 (103 men /29 women) Romanian patients with angiographically proved premature CHD, for 40 most frequent mutations in the coding region of the gene *LDLR*, *APOB* [c.10580G > A] and the *PCSK9* [c.1120G>T] . We also categorized the patients according to the Dutch Lipid Clinic Network Criteria (DLCNC) in order to allow a comparison between the mutations identified and the clinical phenotypes observed.

Results: Our patients were stratified according to DLCN diagnosis criteria as follows: 6.8% (9) with definite FH, 20.5% (27)- probable FH, 43.2% (57) – possible FH and 29.5% (39) – unlikely FH. In 5.3%(7) of patients we found six variants: *APOB*c.10580G>A, *LDLR*c.1618G>A, *LDLR*c. 1706-10G>A, *LDLR*c.2054C>T - all previously published as disease causing and *LDLR*c.1171G>A, *LDLR*c.1060+59A>C, both in three related patients with premature coronary heart disease, reported alone as benign until now but not together in the same subject. No mutation was found in the *PCSK9* gene.

Conclusions: Our study described for the first time in a representative central Romanian population with premature CHD, six gene variants associated with FH and confirms the clinical and genetic heterogeneity of the disease.

Keywords: early coronary heart disease, familial hypercholesterolemia, *LDLR* and *APOB* genes

C1. DISCREPANȚE ÎNTRE FENOTIPUL CLINIC ȘI MUTAȚIILE IDENTIFICATE ÎN GENELE MAJORE ASOCIATE HIPERCOLESTEROLEMIEI FAMILIALE (LDLR, APOB, PCSK9) LA PACIENȚI ROMÂNI CU BOALĂ CORONARIANĂ PREMATURĂ

Scop: Identificarea precoce a persoanelor cu hipercolesterolemie familială (FH) este o problemă medicală importantă, având în vedere frecvența mare a bolii cardiace ischemice cauzată de FH. Ne-am propus să identificăm în populația românească cele mai frecvente variante genetice cauzatoare de FH

pentru a obține un panel de screening util în practica clinică.

Metodă: La 132 pacienți români cu boală coronariană prematură confirmată coronarografic (103 bărbați/ 29 femei), au fost cercetate 40 dintre cele mai frecvente mutații în regiunea codantă a genelor *LDLR*, *APOB* [c.10580G > A] și *PCSK9*[c.1120G>T], utilizând tehnica multiplex-PCR combinată cu hibridizarea biochip-array. Am calculat de asemenea scorul fenotipic clinic Dutch Lipid Clinic Network Criteria (DLCNC) pentru a-l compara cu rata de depistare genetică.

Resultate: În funcție de criteriile de diagnostic DLCN, pacienții noștri au fost clasificați în: 6,8% (9) cu FH sigură, 20,5% (27)- FH probabilă, 43,2% (57) - FH posibilă și 29,5% (39) – FH improbabilă. La 5,3%(7) pacienți am găsit șase variante genice: *APOB*c.10580G>A, *LDLR*c.1618G>A, *LDLR*c.1706-10G>A, *LDLR*c.2054C>T - acestea patru fiind deja publicate ca patogene și *LDLR*c.1171G>A, *LDLR*c.1060+59A>C, ambele fiind identificate la trei pacienți înrudiți cu boală coronariană prematură, anterior raportate ca benigne individual, dar nu concomitent. Nu am identificat pacienți cu mutația *PCSK9*[c.1120G>T].

Concluzii: Pe o populație reprezentativă cu boală coronariană prematură din centrul României, studiul nostru a identificat pentru prima dată șase variante genetice asociate cu FH și a re-confirmat heterogenitatea clinică și genetică a acestei boli.

Cuvinte cheie: boală coronariană prematură, hipercolesterolemie familială, genele *LDLR* și *APOB*

C2. STATIN RESPONSE NOT INFLUENCED BY *APOE* STATUS

Valeriu Moldovan¹, Claudia Bănescu¹, Adina Huțanu², Laszlo Hadadi³, Minodora Dobreanu¹

1. Center for Advanced Medical and Pharmaceutical Research, George Emil Palade University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology of Targu Mures

2. Emergency County Hospital of Târgu Mureș

3. Emergency Institute for Cardiovascular Diseases and Transplantation of Târgu Mureș

Introduction: Apolipoprotein E (ApoE) functions as key regulator of plasma lipids and affects both the risk of coronary artery disease (CAD) and Alzheimer's disease. Two single-nucleotide polymorphisms within the *APOE* gene determine E2, E3, E4 allelic variants. Our aim was to estimate the lipid response to statin treatment among *APOE* variants.

Method: We enrolled 104 adult patients on chronic statin treatment with Atorvastatin, Simvastatin or Rosuvastatin, diagnosed with CAD by angiography, aged < 55years at the time of diagnosis and 87 apparently healthy controls, with similar age and gender distributions. Serum lipids were evaluated on COBAS INTEGRA400 plus (Roche Diagnostics), plasma proteins on BNProSpec (Siemens). *APOE* genotypes assessed with LightMix *APOE*:C112R, R158C on LightCycler 2.0 (Roche) and TaqMan-Assays C904973_10 and C3084793_20 on 7500 FastDx (Thermo Fisher Scientific). Only LDL-Cholesterol pre-treatment levels could be estimated based on direct LDL-Cholesterol determination and statin dose, according to the fhscore.eu calculator, while for the other parameters, pre-treatment levels could not be estimated.

Results: There was a 100% correspondence between the genetic testing methods. Both patients and controls were in Hardy-Weinberg equilibrium ($p>0.05$). *APOE* genotype distributions were similar in both groups ($p>0.05$). Mean estimated LDL-Cholesterol in patients (218mg/dl) was significantly higher than direct LDL-Cholesterol in controls (130mg/dl)($p<0.05$). Under statin treatment the levels of Cho-

lesterol, direct LDL-Cholesterol, HDL-Cholesterol, and Apolipoprotein A1 were lower ($p<0.05$) and the Lipoprotein (a) level was higher ($p<0.05$) in patients, while the levels of Triglycerides, Apolipoprotein A2, Apolipoprotein B and Apolipoprotein E showed no difference ($p>0.05$).

Discussion & Conclusion: Our study showed that response to statins may be achieved regardless of the *APOE* status, therefore there is little reason to consider the use of *APOE* genetic testing for guiding treatment with statins in patients with CAD.

Keywords: Apolipoprotein E, Coronary artery diseases, Hyperlipoproteinemia

C2. STATUSUL *APOE* NU INFLUENȚEAZĂ RĂSPUNSUL TERAPEUTIC LA STATINE

Introducere: ApolipoproteinaE (ApoE) funcționează ca reglator cheie al lipidelor plasmatice și afectează riscul de boală coronariană (BC) și boală Alzheimer. Două polimorfisme mononucleotidice ale genei *APOE* determină variantele alelice E2, E3, E4. Prin studiul desfășurat ne-am propus să evaluăm influența variantelor *APOE* asupra efectului hipolipemiant al statinelor.

Metodă: Am înrolat 104 adulți pe tratament cu Atorvastatin, Simvastatin sau Rosuvastatin, diagnosticați cu BC prin coronarografie, cu vârsta <55 ani la momentul diagnosticării și 87 persoane aparent sănătoase, cu distribuție similară a vârstei și sexului. Lipidele serice au fost evaluate utilizând COBAS INTEGRA 400 plus (Roche Diagnostics), proteinele plasmatice utilizând BNProSpec (Siemens), genotiparea *APOE* prin LightMix *APOE*:C112R, R158C pe LightCycler 2.0 (Roche) și sondele TaqMan C904973_10 și C3084793_20 pe 7500 FastDx (ThermoFisherScientific). Doar valorile pre-tratament ale LDL-Colesterolului au putut fi estimate pe baza LDL-Colesterolului direct și a dozei de statină, conform calculatorului fhscore.eu, iar pentru ceilalți parametri valorile pre-tratament nu au putut fi estimate.

Rezultate: A existat o corespondență 100% între metodele de testare genetică. Atât pacienții cât și controalele au fost în echilibru Hardy-Weinberg ($p>0.05$). Distribuțiile genotipurilor *APOE* au fost similare în ambele loturi ($p>0.05$). Media LDL-Colesterolului estimat la pacienți (218mg/dl) a fost semnificativ mai mare decât LDL-Colesterolul direct la lotul control (130mg/dl) ($p<0.05$). Sub tratament cu statine, nivelurile Colesterolului, LDL-Colesterolului direct, HDL-Colesterolului și Apolipoproteinei A1 au fost mai mici ($p<0.05$), iar nivelul Lipoproteinei (a) mai mare ($p<0.05$) la pacienți, în timp ce nivelele de Trigliceride, Apolipoproteină A 2, Apolipoproteină B și Apolipoproteină E nu au prezentat diferențe ($p>0.05$).

Discuții și Concluzii: Studiul nostru a arătat faptul că, răspunsul terapeutic la statine nu este influențat de genotipul *APOE*, utilizarea testelor genetice *APOE* având indicație redusă în ghidarea tratamentului cu statine la pacienții cu BC.

Cuvinte cheie: Apolipoproteina E, Boala coronariană, Hiperlipoproteinemie

C3. THE IMPORTANCE OF MULTIDISCIPLINARY APPROACH IN THE MANAGEMENT OF MEN2A FAMILIES

Andrei Mureșan¹, Corin Virgil Badiu^{1,2}, Iuliana Gherlan^{1,2}, Oana Monica Popa¹, Ioana Nedelcu¹, Sorina Schipor¹, Elena Emanuela Braha¹, Șerban Radian^{1,2}, Dana Alice Manda¹, Andra Caragheorgheopol¹

1. "C. I. Parhon" National Institute of Endocrinology, Bucharest
2. "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest

Introduction: Multiple endocrine neoplasia type 2A (MEN2A) is a hereditary syndrome caused by *RET* activating mutations, characterized by the coexistence of two or more endocrine tumors - medullary thyroid carcinoma (MTC), pheochromocytoma (PHEO) and parathyroid adenoma. The most common *RET* mutations associated with MEN2A were reported in exons 10, 11 and 14. The objective of the paper was to highlight the optimization of the medical management completed by genetic testing in a family where the proband was evaluated for PHEO and MTC.

Materials and methods: We are presenting the case of a patient (33 years old) with clinical suspicion of MEN2A, based on imaging and laboratory investigations. The proband was directed to genetic counseling and genetic testing. *RET* exons 5, 7, 8, 10, 11, 13, 14, 15 and 16 were sequenced by Sanger sequencing, using genomic DNA isolated from peripheral blood. Based on genetic clinical evaluation and testing, it was recommended the target testing for the pathogenic familial mutation and also clinical evaluation for the other members of the family.

Results: Only one mutation was identified in proband: c.1852T>C, p.Cys618Arg, in exon 10 of the *RET* proto-oncogene. The same mutation was then detected in proband's mother, sister and son. Prophylactic thyroidectomy was performed on the proband's mother and sister and MTC was confirmed in both of them. The son of the proband is being endocrinological monitored.

Conclusions: Targeted genetic testing in families with MEN2A syndrome and genetic counseling are increasing the diagnostic accuracy and allow for personalized medical management.

Keywords: MEN2A, *RET*, Sequencing

C3. IMPORTANȚA ABORDĂRII MULTIDISCIPLINARE ÎN MANAGEMENTUL FAMILIILOR CU SINDROM MEN2A

Introducere: Neoplazia endocrină multiplă tip 2A (MEN2A) este un sindrom ereditar determinat de mutații activatoare ale genei *RET*, caracterizat prin coexistența a două sau mai multe tumori endocrine - carcinomul medular tiroidian (CMT), feocromocitomul (PHEO) și adenomul paratiroidian. Cele mai frecvente mutații ale genei *RET* asociate cu sindromul MEN2A sunt raportate în exonii 10, 11 și 14. Obiectivul lucrării a fost evidențierea optimizării managementului medical completat de testarea genetică într-o familie în care probanda a fost evaluată pentru PHEO și CMT.

Materiale și metode: Prezentăm cazul unei paciente (33 ani) cu suspiciune clinică de MEN2A pe baza investigațiilor imagistice și de laborator. Probanda a fost îndrumată către consult genetic și testare genetică. S-a efectuat secvențierea exonilor 5, 7, 8, 10, 11, 13, 14, 15 și 16 ai genei *RET* prin metoda Sanger, utilizând ADN genomic din sânge periferic. În urma consultului și testării genetice, s-a

recomandat și testarea țintită a mutației patogene familiale și evaluarea clinică a altor membri ai familiei cu mutație pozitivă.

Rezultate: În cazul probandei a fost identificată o singură mutație: c.1852T>C, p.Cys618Arg, în exonul 10 al genei *RET*. Mutația familială a fost decelată la mama, sora și fiul probandei. S-a efectuat tiroidectomie profilactică la mama și la sora probandei, confirmându-se CMT. Fiul probandei este în monitorizare endocrinologică.

Concluzii: Testarea genetică țintită în familiile pacienților cu sindrom MEN2A și sfatul genetic cresc acuratețea diagnosticului și permit managementul medical personalizat.

Cuvinte cheie: MEN2A, *RET*, Secvențiere

C4. CYTOGENETIC AND Y CHROMOSOME MICRODELETION ANALYSIS IN INFERTILE MALES WITH AZOOSPERMIA

Stela Racoviță¹, Veaceslav Moșin¹, 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

Introduction: Male infertility has a multifactorial etiology, and in approximately 30% of cases is related to genetic disorders. Chromosomal abnormalities and Y chromosome microdeletions of the Azoospermia Factor (AZF) are clinically important genetic abnormalities associated with male infertility.

Aim: To determine chromosomal variations and Y-chromosome microdeletions of the AZF in infertile men, before referring to infertility treatment by Assisted Reproduction Techniques (ART).

Materials and methods: A group of 70 azoospermic men were investigated during genetic counseling for infertile couples referred for ART treatment. All patients signed an informed consent. G-banding of metaphase chromosomes karyotype analysis were performed in all patients. Polymerase chain reaction (PCR) was performed using specific sequence-tagged sites of AZF region: AZFa (SY86, SY84, SY620, DBY1); AZFb (SY117, SY127, SY 134, SY143); and AZFc (SY153, SY158, SY254, SY255).

Results: Out of 70 azoospermic men, 56 had normal karyotype (46, XY). Chromosomal abnormalities were detected in 14 (20%) cases, including 9 patients with Klinefelter syndrome (47,XXY), 1 patient with karyotype 46,XX, 1 patient with balanced autosomal rearrangement 46,XY,der(5), t(9;5) (9pter::5q23.3→qter) and 3 patients with chromosomal polymorphism 46,XY,15ps+, 46,XYqh+, 46,XY-,14ps+. In 6 of 70 (8,5%) azoospermic men AZF microdeletions were identified. Microdeletions were detected in each region of AZF (a,b,c) in patient with 46,XX karyotype.

Conclusion: Couples receiving the diagnosis of male infertility with azoospermia need to perform genetic testing and counseling. This is important for providing a precise diagnosis prior infertility treatment.

Keywords: male infertility; azoospermia; karyotype; AZF region; Y chromosome

C4. ANALIZA CITOGENETICĂ ȘI A MICRODELEȚIILOR CROMOZOMULUI Y LA BĂRBAȚII INFERTILI CU AZOOSPERMIE

Introducere: Infertilitatea masculină prezintă o etiologie multifactorială, iar în aproximativ 30% din cazuri are la bază tulburări genetice. Anomaliile cromozomiale și microdelecțiile cromozomului Y

ale Factorului Azoospermie (AZF) sunt anomalii genetice importante, clinic asociate cu infertilitatea masculină.

Scopul: Determinarea variațiilor cromozomiale și microdelecțiilor cromozomului Y din regiunea AZF la bărbații infertili, înainte de tratamentul infertilității prin Tehnici de Reproducere Asistată (ART).

Material și metode: Un grup de 70 de bărbați azoospermici au fost cercetați în cadrul consilierii genetice din rândul cuplurilor infertile menționate pentru tratamentul ART. Pacienții au semnat un consimțământ informat. La toți pacienții s-a efectuat analiza cariotipului prin metoda de bandare G a cromozomilor în metafază. Reacția în lanț a polimerazei (PCR) a fost efectuată folosind markeri specifici pentru regiunea AZF: AZFa (SY86, SY84, SY620, DBY1); AZFb (SY117, SY127, SY 134, SY143); și AZFc (SY153, SY158, SY254, SY255).

Rezultate: Din totalul de 70 de bărbați azoospermici, 56 au prezentat cariotip normal (46, XY). Au fost detectate anomalii cromozomiale în 14 (20%) cazuri, inclusiv 9 pacienți cu sindrom Klinefelter (47, XXY), 1 pacient cu cariotip 46, XX, 1 pacient cu rearanjare autosomală echilibrată 46, XY, der (5), t (9) ; 5) (9 cap. :: 5q23.3 → qter) și 3 pacienți cu polimorfism cromozomial 46, XY, 15ps +, 46, XYqh +, 46, XY, 14ps +. La 6 din 70 (8,5%) de bărbați azoospermici au fost identificate microdelecții ale cromozomului Y în regiunea AZF. Microdelecțiile cromozomului Y au fost detectate în fiecare regiune AZF (a, b, c) la pacientul cu cariotipul 46, XX.

Concluzie: Cuplurile cu diagnosticul de infertilitate masculină cu azoospermie trebuie să efectueze consiliere și teste genetice. Acest lucru este important pentru stabilirea unui diagnostic precis înainte de tratamentul infertilității prin ART.

Cuvinte cheie: infertilitate masculină, azoospermia, cariotip, regiunea AZF, cromozomul Y

C5. PRENATAL DIAGNOSIS IN PREGNANCIES WITH HIGH GENETIC RISK

Mariana Sprincean¹, Svetlana Hadjiu^{1,2}, Stela Racoviță¹, Elena Halabudenco², Ninel Revenco^{1,2}

1. "Nicolae Testemițanu" State University of Medicine and Pharmacy, Republic of Moldova,
Department of Molecular Biology and Human Genetics

2. PMSI Institute of Mother and Child, Chișinău, Republic of Moldova

Introduction. The diagnosis of chromosomal abnormalities (CA) is performed through non-invasive and invasive prenatal diagnostic (PD) methods.

Aim of the study: To highlight the role of PD in pregnancies with high risk of CA in fetuses at early stages of intrauterine development.

Materials and methods: We performed the medical-genetic consultation of 854 pregnant women during 2015-2019, who were divided into two groups: group I – 342 women with average and increased genetic risk that were referred for prenatal cytogenetic diagnosis: amniocentesis with the study of fetal karyotype; group II – 512 women with low genetic risk.

Results: The age of women was 17 – 44 years (mean 26.1 ± 5.3 years). The term of pregnancy at the time of presenting to the geneticist was 6 – 22 weeks of gestation (mean 14 ± 5.2). All pregnant women performed non-invasive PD: ultrasound and biochemical screening. In 40 cases fetuses were diagnosed with CA. Aneuploidies were most frequently diagnosed: Down syndrome - 15 cases ($1.6 \pm 0.18\%$), Patau syndrome 2 cases - 2 ($0.2 \pm 0.06\%$) and Edwards syndrome – 5 cases ($0.4 \pm 0.09\%$) (autosomal trisomies). Among gonosomal abnormalities we diagnosed monosomy X in 3 cases ($0.16 \pm 0.05\%$), Klinefelter syn-

drome in 3 cases ($0,21 \pm 0,07\%$), and trisomy X in one case. Triploidy was diagnosed in 2 cases, while in 9 cases ($0,7 \pm 0,12\%$) structural CA were detected.

Conclusion: PD and medical-genetic counseling help to reduce the frequency of congenital malformations in newborns and also prevent the birth of children with CA diagnosed prenatally until 21 weeks of gestation.

Keywords: prenatal diagnostic, high genetic risk, chromosomal abnormalities

C5. DIAGNOSTICUL PRENATAL ÎN SARCINILE CU RISC GENETIC ÎNALT

Introducere. Diagnosticul anomaliilor cromozomiale (AC) se realizează la nivel populațional prin intermediul tehnologiilor de diagnostic prenatal (DP) neinvaziv și invaziv.

Scopul lucrării de față constă în evidențierea rolului DP în sarcinile cu risc crescut de AC la feteși la etapele timpurii de dezvoltare intrauterină.

Material și metode. Consultul medico-genetic a 854 femei însărcinate în perioada aa. 2015-2019, care au fost împărțite în două loturi: a) lotul I – nr 342 cu risc genetic mediu și înalt; b) lotul II – nr. 512 cu risc genetic scăzut. La 342 gravide a fost efectuat DP citogenetic (DPC): amniocenteza cu studiul cariotipului fetal.

Rezultate: Vârsta femeilor din lotul I a fost de la 17 până la 44 ani (media $26,1 \pm 5,3$ ani). Termenul sarcinii la momentul adresării la genetician a fost de la 6 s.a. până la 22 s.a. (media $14 \pm 5,2$ s.a.). Toate gravidele din studiu au efectuat DP neinvaziv: screening-ul ecografic și biochimic. În 40 de cazuri au fost diagnosticate AC la feteși. Cele mai frecvente AC au fost aneuploidiile, iar dintre acestea, trisomiile autosomale: sindromul Down – 15 cazuri ($1,6 \pm 0,18\%$), sindromul Patau – 2 cazuri ($0,2 \pm 0,06\%$) și sindromul Edwards – 5 cazuri ($0,4 \pm 0,09\%$). Printre anomaliile gonosomale diagnosticate s-au numărat: monosomia X – 3 cazuri ($0,16 \pm 0,05\%$), sindromul Klinefelter – 3 cazuri ($0,21 \pm 0,07\%$) și 1 fetus cu sindrom triplu X. Triploidia a fost diagnosticată în 2 cazuri, în timp ce în alte 9 cazuri ($0,7 \pm 0,12\%$) au fost detectate AC structurale.

Concluzii: DP și consultul medico-genetic contribuie la diminuarea frecvenței malformațiilor congenitale la nou-născuți și, totodată, face posibilă prevenirea nașterii copiilor cu AC diagnosticate prenatal până la a 21 săptămână de gestație.

Cuvinte cheie: diagnostic prenatal, risc genetic crescut, anomalii cromozomiale

C6. GENETIC IDENTIFICATION IN POSTMORTEM PATERNITY TESTING FROM FORMALIN FIXED PARAFFIN EMBEDDED (FFPE) TISSUE

Raluca Dumache^{1,3}, Maria Puiu¹, Talida Georgiana Cut⁴, Alexandra Enache^{1,2}

1. "Victor Babes" University of Medicine and Pharmacy Timișoara, România

2. Institute of Forensic Medicine Timișoara, România

3. Laboratory of Forensic Genetics-Institute of Forensic Medicine Timișoara, România

4. Doctoral School- Victor Babes" University of Medicine and Pharmacy Timișoara, România

Introduction: Currently, the kinship relationship between a child and his biological father is done using panel consisting in 15 to 24 short tandem repeat (STR) markers. We present the advantage of

formalin fixed paraffin-embedded (FFPE) tissue in a DNA paternity case with a deceased alleged father (AF).

Methods: As biological samples we used saliva collected with buccal swabs from mother and son. FFPE sections were used to obtain DNA from AF. Automate DNA extraction was performed using the Maxwell 48 RSC Instrument (Promega, USA). The DNA samples were quantified on 7500 ABI Real-time PCR using the PowerQuant quantification kit (Promega, USA). The amplification of the DNA samples was performed on a ProFlex PCR System (Applied Biosystems, USA) using the multiplex STR markers from the Investigator 24plex QS amplification kit (Qiagen, Germany). After amplification, the PCR products were run on capillary electrophoresis on ABI 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, USA).

Results: In this case the paternity between the child and his AF was confirmed with a probability of paternity (PP)=99,999996483%. Statistical calculation was performed using GenoProof-3 Paternity software (Qualitype, Germany). Since the child was a male, we analysed 16 Y-STR to compare the child's Y-haplotype with that from AF. Paternity of AF and the child was confirmed on both autosomal STR markers and Y-STR markers.

Conclusions: In paternity testing, where the AF is deceased FFPE tissue represents an important biological source to obtain DNA for genetic analysis.

Keywords: paternity testing; formalin fixed paraffin-embedded (FFPE) tissue; alleged father (AF)

C6. IDENTIFICĂRI GENETICE DIN ȚESUTUL PARAFINAT ÎN CAZUL TESTELOR DE PATERNITATE POSTMORTEM

Introducere / Obiectiv: Stabilirea relației de înrudire a unui copil față de prezumtivul tată (PT) biologic se face prin analiza genetică a unui panel ce conține între 15 și 24 markeri autozomiali. Prezentăm un caz de stabilire a paternității între un copil și PT biologic decedat, în cazul acestuia din urmă folosindu-se țesut parafinat pentru obținerea probei ADN.

Metode / Metodologie: Ca probe biologice s-au folosit probe ADN salivar pentru mamă și copil, respectiv ADN obținut din țesut parafinat în cazul PT decedat. Extracția ADN în cazul acestora s-a realizat automat cu echipamentul Maxwell 48 RSC (Promega, SUA). După extracție, probele ADN au fost cuantificate cu kitul PowerQuant System (Promega, SUA) folosind echipamentul 7500 real-time PCR System (Applied Biosystems, SUA). Amplificarea fragmentelor repetitive scurte s-a realizat pe ProFlex PCR System (Applied Biosystems, SUA) folosind kitul Investigator 24plex QS kit (Qiagen, Germania). Producții PCR amplificați au fost separați și vizualizați pe 3500 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, SUA).

Rezultate: În urma testării genetice relația de paternitate între copil și PT a fost confirmată cu o probabilitate de paternitate (PP)= 99,999996483%. Calculele statistice s-au realizat cu soft-ul GenoProof-3 Paternity (Qualitype, Germania). Deoarece copilul era de sex masculin, s-au analizat și 17 markeri Y-STR folosind AmpFLSTR Y-filer Amplification kit (ThermoFischer, SUA), confirmându-se relația biologică dintre copil și PT și pe markerii haplotipului Y.

Concluzii / Discuții: În cazul testelor de paternitate postmortem când PT este decedat, țesutul parafinat reprezintă o sursă biologică importantă pentru obținerea ADN-ului în vederea identificărilor de persoane.

Cuvinte cheie: test de paternitate, țesut parafinat, tată biologic prezumtiv

POSTER SESSION – MOLECULAR BIOLOGY/GENETICS

P1. OPTIMIZATION OF LABORATORY METHODS FOR TOTAL RNA EXTRACTION FROM DIFFERENT SAMPLES OF CLINICAL RELEVANCE

Claudia Cârstea, Valeriu Moldovan, Claudia Bănescu

Center for Advanced Medical and Pharmaceutical Research „George Emil Palade” University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology of Târgu Mureș

Introduction and Objectives: Accurate and reliable analysis of gene expression and micro RNA analysis depends on the extraction of pure and high quality RNA. This study aimed to optimize techniques to quickly and easily extract total and micro RNAs using RNA later (AM7023M) stabilization for fibrous tissues and leucocyte ring.

Method: The RNA extraction from these samples presented different difficulties: fibrous tissue biopsies were difficult to homogenize before extraction, while the white blood cells preserved in RNA later had to be isolated from the rest of red blood and RNA later solution and treated as tissue culture cells for the extraction. At the same time, the RNA content in the leucocyte ring is varying depending of the white cells number, of each sample.

Results: We have optimized the protocol: 1) for the removing any residue of RNA later solution from the samples before the RNA extraction 2) for complete homogenization of the fibrous tissue before RNA extraction 3) the starting quantity and separation method of white blood cells from excess RNA later solution. For the extraction we used a commercially column based kit (mirVana Kit, cat-no.AM1561)

Conclusions and Discussion: In this study we extracted RNA of sufficient quality and quantity for robust gene expression and Micro RNA analysis. We have demonstrated that RNA later stabilization could be an optimal solution to eliminate the need to immediately process the samples (especially the samples collected inside the hospitals, were the possibility to freeze them in liquid nitrogen often represent a particular challenge).

Keywords: RNA later, microRNA, gene expression

P1. OPTIMIZAREA METODELOR DE LABORATOR PENTRU EXTRAȚIA DE ARN TOTAL DIN DIFERITE PROBE DE RELEVANȚĂ CLINICĂ

Introducere și Obiective: Analiza precisă și fiabilă a expresiei genice și analiza micro ARN-urilor depinde de extragerea ARN-ului pur și de înaltă calitate. Acest studiu a urmărit optimizarea tehnicilor pentru extragerea rapidă și ușoară a ARN-ului total și microARN-urilor, folosind soluția de stabilizarea RNA later (AM7023M) pentru țesuturile fibroase și inelul leucocitar.

Metodă: Extracția ARN din aceste probe a prezentat diferite dificultăți: biopsiile țesuturilor fibroase au fost greu de omogenizat înainte de extracție, în timp ce globulele albe din sânge conservate în RNA later, au trebuit să fie izolate de restul de celule sanguine, și să fie tratate ca celule din cultură. În același

timp, conținutul de ARN din inelul de leucocite variază în funcție de numărul de celule albe, în fiecare probă.

Rezultate; Am optimizat protocolul: 1) pentru îndepărtarea oricărui reziduu de RNA later din probe, înainte de extracția ARN 2) pentru omogenizarea completă a țesutului fibros înainte de extragerea ARN 3) cantitatea de pornire și metoda de separare a globulelor albe din sânge și eliminare excesului de RNA later. Pentru tehnicile de extracție am folosit un kit pe bază de coloane, comercial (mirVana™ miRNA, Ref. AM1561).

Concluzie și Discutii: În acest studiu am extras ARN de calitate și cantitate suficientă pentru expresie genică robustă și analiza micro ARN-urilor. Am demonstrat că RNA later ar putea fi o soluție optimă pentru a elimina nevoia de a prelucra imediat eşantioane (în special probele colectate în spitale, unde posibilitatea de a le îngheța în azot lichid reprezintă deseori o provocare).

Cuvinte cheie: RNA later, micro ARN, expresie genică

P2. HLA-ASSOCIATED DISEASE RISK ESTIMATION IN MOLDOVA BASED ON HLA-A, B, AND DRB1 ALLELE FREQUENCIES

Silvia Ionescu¹, Silvia Dăscălescu¹, Mariana Pavel-Tanasă², Corina Cianga^{1,2}, Camelia Mihăilă^{1,2}, Daniela Constantinescu^{1,2}, Petru Cianga^{1,2}

1. Immunology Laboratory, "St. Spiridon" Clinical Hospital, Iași

2. Department of Immunology, „Grigore T. Popa” University of Medicine and Pharmacy, Iași

Introduction/Objectives: HLA (Human Leukocyte Antigen) is the genomic region displaying the highest statistical association with different diseases, however, there are also HLA genes providing protection against certain diseases. Based on the frequency of the HLA alleles identified in Moldova, predictions were forecasted about the relative risk of such diseases for the population of this region.

Methods/Methodology: HLA alleles frequency was determined by phenotyping or low resolution HLA genotyping [1]. The relative risk (RR) of different diseases was calculated as the ratio between the risk in those individuals presenting the allele and the risk in those that do not present it, by corroborating literature data.

Results: For 23 out of 44 associations, the estimated RR was at least 2 times higher than the RR of the Caucasian population. Thus, we have identified frequent associations for rheumatoid arthritis with HLA-DRB1* 04 and DRB1*07, Crohn's disease with HLA-B* 37, ulcerative colitis with HLA-A*01, B*08 and B*37, type 1 diabetes mellitus with HLA-DRB1*04, miastenia gravis with HLA-B*08 and B*27, multiple sclerosis with HLA-A*03 and B*07, ankylosing spondylitis with HLA-B*27.

Conclusions/Discussions: The frequency of HLA in a given population may provide indirect clues about susceptibility or resistance to certain conditions. This type of information can be used as tools for national prevention programs, but at the same time, it should be cautiously interpreted, given that, in the determinism of a disease, multiple factors besides the genetic ones are also involved.

References: Constantinescu et al. The frequency of HLA alleles in the Romanian population. Immunogenetics. (2016).68:167–178

Keywords: HLA, relative risk, genetic susceptibility

P2. ESTIMAREA RISCULUI AFECȚIUNILOR ASOCIATE CU HLA ÎN REGIUNEA MOLDOVA PE BAZA FRECVENȚEI ALELELOR HLA-A, B, ȘI DRB1

Introducere/Obiectiv: HLA (Human Leukocyte Antigen) reprezintă regiunea genomică ce prezintă cele mai multe asocieri statistice cu diferite boli, după cum există gene HLA care oferă protecție împotriva unor afecțiuni. Luând în considerare frecvența alelelor HLA identificate în Moldova, am realizat o predicție asupra riscului apariției unor astfel de afecțiuni la nivelul populației din această regiune.

Metode/Metodologie: Calcularea frecvenței alelelor HLA s-a realizat prin fenotiparea sau genotiparea HLA de joasă rezoluție [1]. Riscul relativ (RR) al diferitelor afecțiuni a fost calculat ca raportul dintre riscul celor care prezintă alela respectivă și riscul celor care nu o prezintă, prin coroborarea datelor din literatură.

Rezultate: Pentru 23 din 44 de asocieri, RR estimat a fost de cel puțin 2 ori mai mare decât RR din populația caucaziană. Astfel, am identificat asocieri frecvente pentru artrita reumatoidă cu HLA-DRB1*04 și DRB1*07, boala Crohn cu HLA-B*37, colita ulcerativă cu HLA-A*01, B*08 și B*37, diabetul zaharat tip 1 cu HLA-DRB1*04, miastenia ravis cu HLA-B*08 și B*27, scleroza multiplă cu HLA-A*03 și B*07, spondilita anchilozantă cu HLA-B*27.

Concluzii/Discuții: Frecvența alelelor HLA într-o anumită populație poate oferi indicii indirecte asupra susceptibilității sau rezistenței față de anumite afecțiuni. Aceste informații se pot constitui ca instrumente pentru programe naționale de prevenție, dar, totodată, trebuie interpretate cu prudență, dat fiind faptul că în determinismul unei afecțiuni, intervin mulți factori pe lângă cei genetici.

Referințe: Constantinescu I, Boșcaiu V, Cianga P, Dinu AA, Gai E, Melinte M, Moise A. The frequency of HLA alleles in the Romanian population.(2016). Immunogenetics. 68:167–178

Cuvinte cheie: HLA, risc relativ, susceptibilitate genetică

P3. LACTOSE INTOLERANCE: CORRELATION BETWEEN LACTOSE PROVOCATION TEST AND GENETIC TESTING

Oana Pavelea¹, Enikő Mihály², Ștefan Barbu¹, Minodora Dobreanu^{1,3}

1. Emergency Clinical County Hospital Târgu Mureș

2. Clinical County Hospital Mureș

3. University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology "George Emil Palade" Târgu Mureș, Department of Laboratory Medicine

Introduction: The aim of this study is to assess the value of the genetic testing in diagnosing lactose intolerance confirmed by the lactose provocation test.

Material and methods: The study was conducted on 26 symptomatic subjects for whom the lactose provocation test was performed (50 g of lactose with 4 point of care glucose determinations at 0, 15, 30 and 60 minutes with Accu-Chek Active), during which we kept track of abdominal meteorism, diarrhea, abdominal colic, nausea, vomiting, fatigue, headache. The genetic testing for the MCM6 gene: 13910 C/T și 22018 G/A was made with LactoStrip (Operon). The exclusion criteria were: diabetes, Crohn disease, digestive infections at the time of testing.

Results: Of the 26 patients, 15 (57,69%) were real positive, 4 (15,38%) false negative, 1 (3,85%)

false positive and 6 (23,08%) real negative. The sensitivity of the genetic test is 78,95%, specificity is 85,71%, positive predictive value is 93,75% and the negative predictive value is 60%.

Conclusion: The concordance of the lactose provocation test with the genetic test is 80,77%. In order to increase the consistency of the study, we will continue the patient/subject recruitment.

Keywords: Lactose intolerance, provocation test, genetic test

P3. INTOLERANȚA LA LACTOZĂ: CORELARE ÎNTRE TEST DE PROVOCARE ȘI TEST GENETIC

Introducere/Obiectiv: Scopul acestui studiu este acela de a evalua valoarea testului genetic în diagnosticul intoleranței la lactoză confirmat prin testul de provocare la lactoză.

Metode/Metodologie: Studiul a fost realizat pe 26 de subiecți simptomatici la care s-a efectuat testul de provocare la lactoză (50 g de lactoză cu 4 determinări glicemice *point of care* la interval de 0, 15, 30 și 60 de minute, cu glucometrul Accu –Chek Active) și s-au monitorizat: meteorismul abdominal, diareea, colicile, greață, vărsăturile, fatigabilitatea, cefaleea. S-au tipizat mutațiile pentru gena *MCM6*: 13910 C/T și 22018 G/A cu ajutorul kitului LactoStrip (Operon). Criterii de excludere au fost: diabetul zaharat, boala Crohn, patologii infecțioase digestive la momentul testării.

Rezultate: Din totalul de pacienți, 15 (57,69%) au fost real pozitivi, 4 (15,38%) fals negativi, 1 (3,85%) fals pozitiv și 6 (23,08%) real negativi. Sensibilitatea testului genetic este de 78,95%, specificitatea de 85,71%, valoare predictivă pozitivă 93,75% și negativă 60%.

Concluzii/Discuții: Concordanța testului de provocare la lactoză cu testul genetic este de 80,77%. Pentru a crește consistența studiului vom continua înrolarea de pacienți/subiecți.

Cuvinte cheie: intoleranța la lactoză, test de provocare, teste genetice

P4. MOLECULAR AND PHENOTIPIC ASPECTS IN A PATIENT WITH RUBINSTEIN-TAYBI SYNDROME

Mădălina Anciu¹, Florin Tripon¹, Simon Marta², Claudia Bănescu¹

1. *Genetics Laboratory, Center for Advanced Medical and Pharmaceutical Research, "George Emil Palade" University of Medicine, Pharmacy, Science, and Technology of Târgu Mures, România*
2. *"George Emil Palade" University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology of Târgu Mures, România*

Introduction: CREB-binding protein (CBP) acts as a transcription coactivator, carries intrinsic histone acetyltransferase (HAT) activity and is encoded by the *CREBBP* gene. Mutations in this gene have been described in approximately half of patients with Rubinstein-Taybi syndrome (RSTS), an extremely rare disease.

Case presentation: Here, we will present the molecular and clinical findings of a newborn clinically diagnosed with RSTS. The patient presented dysmorphic facial features included down slanting palpebral fissures, preauricular sinus, prominent beaked nose, long eyelashes, long posterior hairline, hemangioma of the frontal and occipital soft tissue, hirsutism, broad thumbs and great toes, unilateral right clubfoot and right-sided postaxial hexadactyly toe. RSTS is typically characterized by hypotonia, also present in our neonatal patient. Other congenital heart defects, like abnormal constriction of the aor-

ta with a membranous curtain-like structure aspect, were also identified. Copy number changes (CNCs) analysis for *CREBBP* gene was performed using commercial Multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) kits, namely SALSA MLPA Probemix P064 (which contain two probes, for exon 3 and 31) and SALSA MLPA P245 probemix (which contain one probe for exon 1). Final ratio analysis revealed a decreased signal for *CREBBP* gene exon 1. Being only one signal, we were unable to consider a deletion and target sequencing was performed. The sequencing results and also the utility of target sequencing due to limited MLPA results will be discussed.

In conclusion, by identifying the deletions and the mutations within a larger number of cases it will be possible to establish some correlations between the type of the anomaly and the severity of the disease. An analysis on the correlation between genotype and phenotype will also be possible.

Keywords: Rubinstein-Taybi syndrome, MLPA, type of the anomaly

P4. ASPECTE MOLECULARE ȘI FENOTIPICE LA UN PACIENT CU SINDROM RUBINSTEIN-TAYBI

Introducere: Proteina care leagă CREB (CBP) acționează ca factor de transcripție cu activitate de histon-acetiltransferază intrinsecă (HAT) și este codificată de gena *CREBBP*. Mutații la nivelul acestei gene au fost descrise la aproximativ jumătate din pacienții cu sindromul Rubinstein-Taybi (RSTS), o afecțiune congenitală extrem de rară.

Prezentarea cazului: Vom prezenta rezultatele moleculare și clinice ale unui nou-născut diagnosticat clinic cu RSTS. Pacientul prezintă trăsături faciale dismorfice, respectiv fante palpebrale oblice, fosetă preauriculară, bază de implantare nazală largă, gene lungi, inserție posterioară joasă a părului, hemangiom frontal și occipital, hirsutism, police și haluce groase, talus valgus la nivelul membrului inferior stâng și hexadactilie postaxială dreaptă. RSTS este caracterizat prin hipotonie, prezentă și la pacientul nostru. Au fost identificate alte malformații cardiace congenitale, precum aspectul de diafragm la nivelul aortei istmice. Analiza variațiilor numărului de copii (CNC) pentru gena *CREBBP* a fost efectuată prin tehnica multiplex de amplificare dependentă de sondă (MLPA), folosind kiturile SALSA MLPA Probemix P064 (care conține două sonde, pentru exon 3 și 31) și SALSA MLPA P245 probemix (care conține o sondă pentru exonul 1). Analiza rezultatelor evidențiază un semnal scăzut la nivelul exonului 1 al genei *CREBBP*. Deoarece a fost identificat un singur semnal modificat nu se poate lua în considerare prezența unei deleții în această regiune și a fost efectuată secvențierea țintită. Având în vedere limitele analizei MLPA rezultatele secvențierii țintite precum și utilitatea acesteia, vor fi discutate.

În **concluzie**, prin identificarea delețiilor și a mutațiilor unui număr mai mare de cazuri va fi posibilă stabilirea unor corelații între tipul de anomalie și severitatea bolii. De asemenea, va fi posibilă o analiză a corelației dintre genotip și fenotip.

Cuvinte cheie: Sindromul Rubinstein-Taybi, MLPA, tipul anomaliei

P5. CHARACTERIZATION OF SOME CHROMOSOMAL ANOMALIES USING CYTOGENETIC TECHNIQUES – CASE REPORT

Oana Popa¹, Ioana Nedelcu^{1,2}, Sorina Schipor¹, Mădălina Vintilă¹, Elena Emanuela Braha¹

1. “C. I. Parhon” National Institute of Endocrinology, Bucharest

2. Faculty of Biology, University of Bucharest

Introduction/Objective: Turner Syndrome (TS) with mosaicism accounts for approximately 50% of cases. The aim of this case presentation is to characterize two chromosomal anomalies incidentally detected in a patient with clinical observation of TS.

Metode/Metodologie: We present the case of a patient (8 years and 7 months old) with TS suspicion based on height and weight hypotrophy, craniofacial dysmorphism, pterygium colli and aortic stenosis. The karyotype from peripheral blood lymphocyte cultures was initially performed. Genetic analysis was supplemented with fluorescence *in situ* hybridization (FISH) using commercial probes for X whole chromosome painting, XIST and Xp terminal region (CytoCell Ltd.), and with the comparative genomic hybridization (arrayCGH) using 4x180K slides and following the manufacturer's protocol (Agilent). Parents karyotype was also performed.

Results: Patient's karyotype revealed a mosaicism with two cell lines, one of them with a marker chromosome. In all metaphases, a chromosomal abnormality was observed on the short arm of chromosome 5 (possible inversion or deletion), also present in the mother's karyotype. FISH analysis confirmed that the marker chromosome is Xp, centromere and XIST region. ArrayCGH analysis did not indicate any loss of genetic material on chromosome 5.

Conclusions/Discussions: The patient's karyotype revealed a chromosomal mosaicism 45,X,inv(5)(p14.1?q12.1)[27]/46,X,del(X)(q13.2qter),inv(5)(p14.1?q12.1)[18] which establishes the final diagnosis of TS in mosaic. FISH analysis allowed the characterization of the marker chromosome, not detected by arrayCGH due to the low degree of mosaicism (40%). Based on the arrayCGH result and the mother's karyotype (with normal phenotype), the 5p chromosome abnormality detected in the patient was considered pericentric inversion.

Keywords: Turner Syndrome, cytogenetics, FISH

P5. CARACTERIZAREA UNOR ANOMALII CROMOZOMIALE PRIN TEHNICI CITOGENETICE – PREZENTARE DE CAZ

Introducere/Obiective: Sindromul Turner (ST) în mozaic reprezintă aproximativ 50% din cazuri. Scopul prezentării este caracterizarea a două anomalii cromozomiale decelate întâmplător la o pacientă cu observație clinică de ST.

Metode/Metodologie: Prezentăm cazul unei paciente (8 ani și 7 luni) cu suspiciune de ST pe baza hipotrofiei staturo-ponderale, dismorfiei cranio-faciale, pterygium colli și stenozei aortice. A fost efectuat inițial cariotipul din culturi de limfocite din sânge periferic. Ulterior au fost suplimentate analizele genetice cu hibridizare *in situ* cu fluorescență (FISH) utilizând sonde comerciale de painting

pentru cromozomul X și sonde locus specifice pentru regiunea XIST și Xp terminal (CytoCell Ltd.), și cu hibridizare genomică comparativă (arrayCGH) utilizând lame de tipul 4x180K, urmând protocolul producătorului (Agilent). S-a efectuat și cariotipul părinților.

Rezultate: Cariotipul pacientei a evidențiat un mozaic cu două linii celulare, una dintre ele având un marker cromozomial. În toate metafazele s-a observat și o anomalie cromozomială pe brațul scurt al cromozomului 5 (posibil inversie sau deleție), modificare prezentă și la mamă. Analiza FISH a confirmat faptul că markerul cromozomial derivă din cromozomul X și conține brațul scurt, centromerul și regiunea XIST. Analiza arrayCGH nu a indicat pierdere de material genetic la nivelul cromozomului 5.

Concluzii/Discuții: Cariotipul pacientei relevă un mozaicism cromozomial 45,X,inv(5)(p14.1?q12.1)[27]/46,X,del(X)(q13.2qter),inv(5)(p14.1?q12.1)[18] ce stabilește diagnosticul final de ST în mozaic. Analiza FISH a permis caracterizarea markerului cromozomial, nedectat prin arrayCGH, posibil datorită gradului redus de mozaicism (40%). Pe baza rezultatului la arrayCGH și a cariotipului mamei (cu fenotip normal) anomalia cromozomului 5p prezenta la pacientă a fost considerată inversie pericentrică.

Cuvinte cheie: Sindrom Turner, citogenetică, FISH

P6. THE UTILITY OF MLPA IN NEWBORNS WITH CONGENITAL HEART DISEASE

Elena Moldovan¹, Claudia Bănescu², Cucerea Manuela³, Valeriu Moldovan², Lucian Puscașiu³

1. *Pediatric Intensive Care Unit, Emergency Institute for Cardiovascular Diseases and Transplant of Târgu Mureș*
2. *Center for Advanced Medical and Pharmaceutical Research, "George Emil Palade" University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology of Târgu Mureș*
3. *County Emergency Clinical Hospital of Târgu Mureș*

Introduction: Congenital heart disease (CHD) is the most prevailing congenital disorder among newborns, copy number variations (CNVs) representing an etiological factor. In this study we aimed to investigate CHD-causing CNVs using the multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) assay.

Methods: In the present study 70 neonates with apparently non-syndromic CHD who needed therapeutic approach during the neonatal period were enrolled, while minor structural defects were excluded. DNA was extracted from peripheral blood using the PureLink Genomic DNA Mini Kit (Thermo Fisher Scientific). CNV investigation by MLPA was performed using the SALSA-MLPA-Probemix P311-Congenital Heart Disease (MRC Holland) on a 3500xL-Dx genetic analyzer (Applied-Biosciences). GATA Binding Protein 4 (*GATA4*) exon 1 Sanger sequencing was performed using in-house designed primers on a 3500xL-Dx genetic analyzer.

Results: Following the MLPA analysis, seven cases presented modifications within the *GATA4* exon 1 region, exhibiting Dosage Quotients of 1.3, which could not be interpreted neither as normal samples nor as duplications. In three unrelated cases Sanger sequencing showed the presence of rs35813172 within the genomic region previously investigated by MLPA.

Discussion and Conclusion: rs35813172 was not previously described in ClinVar, therefore its significance is still unknown, however, its presence was indicated by the modified MLPA results. We can conclude that a modified MLPA result, even though not clearly indicative of deletion or duplication, may

still be a sign that the studied sequence is modified, and therefore it should be further investigated.

Acknowledgments: This work was partly supported by the University of Medicine Pharmacy Science and Technology of Târgu Mureș, Research Grant number 15609/11/29.12.2017.

Keywords: Congenital heart disease, MLPA.

P6. UTILIZAREA MLPA LA NOU-NĂSCUTUL CU MALFORMAȚIE CONGENITALĂ DE CORD

Introducere: Malformația congenitală de cord (MCC) este cea mai răspândită patologie malformativă neonatală, variațiile numărului de copii (VNC) reprezentând unul din factorii etiologici. În acest studiu am investigat VNC-uri care pot conduce la MCC folosind tehnica multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA).

Metode: În prezentul studiu au fost incluși 70 de nou-născuți cu MCC aparent non-sindromică care au necesitat abordare terapeutică în perioada neonatală, pacienții cu defecte structurale minore fiind excluși. ADN-ul a fost extras din sângele periferic folosind PureLink Genomic DNA Mini Kit (Thermo Fisher Scientific). Investigarea VNC prin MLPA a fost efectuată folosind SALSA-MLPA-Probemix P311 pentru Malformații cardiace congenitale (MRC Holland) pe un analizator genetic 3500xL-Dx (Applied-Biosciences). Exonul 1 al GATA Binding Protein 4 (*GATA4*) a fost secvențiat utilizând amorse de design propriu pe un analizor genetic 3500xL-Dx.

Rezultate: În urma analizei MLPA, șapte cazuri au prezentat modificări în regiunea exonului 1 *GATA4*, prezentând valori de 1,3, care nu au putut fi interpretate ca probe normale sau duplicații genice. În trei cazuri neînrudite secvențierea a indicat prezența rs35813172 în regiunea investigată anterior prin MLPA.

Discuții și Concluzii: rs35813172 nu a fost descris anterior în ClinVar, semnificația sa fiind momentan necunoscută, dar prezența sa a fost indicată de rezultatele MLPA modificate. Putem concluziona că un rezultat MLPA modificat, chiar dacă nu indică în mod clar deleția sau duplicația genică, poate indica modificări în secvența studiată.

Mulțumiri: Acest studiu a fost susținut parțial de Universitatea de Medicină Farmacie Științe și Tehnologie din Târgu Mureș, Grant de cercetare numărul 15609/11/29.12.2017.

Cuvinte cheie: Malformație congenitală cord, MLPA.

PLENARY SESSION 6 – BIOMARKERS & VARIA

R1. SUBSTANCE HARM REDUCTION: GENERAL CONCEPTS AND THE ROLE OF THE MEDICAL LABORATORY

Cristiana Ștefan

Clinical Laboratory and Diagnostic Services, Centre for Addiction and Mental Health, Toronto

The data shows that the classical strategies of the anti-drug policies and laws (prohibition, legal penalty) did not eliminate the use of the illicit substances (drugs) regardless of the socio-economic factors. Therefore, a number of alternative strategies were sought and implemented *to reduce* (as much as possible) the negative consequences (harm) of drug use for both the individual and the society (if their complete elimination is not possible). Initially, there were the methadone substitution programs for the heroin users (such as those implemented in Canada in the 1960s).

In this course, we discuss general aspects of the concept of ‘*harm*’ caused by the use of (illicit) substances and the current alternative strategies, focusing on the *drug testing (checking)* in the laboratory. This strategy was implemented in Europe in the 1990s, and more recently adopted by Canada. Its primary purpose is to make known *to the people who use drugs* (PWUD) the drug chemical composition to facilitate the decision to consume it or not; thus, avoiding exposure to toxic substances in the category of New Psychoactive Substances (NPS), and last but not least, to protect the public health. I will also discuss the potential and the role of the medical laboratories specializing in toxicology testing of various clinical specimens (urine, blood, saliva) in the implementation of the drug testing (checking) services.

Objectives:

1. To identify different strategies to reduce the harm caused by the use of illicit substances (drugs)
2. To explain the concept of drug testing and the role of this strategy in promoting knowledge about the drug market and protecting the individual as well as the public health.
3. To discuss the role of the medical laboratories specialized in toxicology in the implementation of drug testing (checking) services

Keywords: harm, illicit drugs, drug testing

R1. REDUCEREA DAUNELOR CAUZATE DE SUBSTANTELE (ILIICITE): CONCEPTE GENERALE SI ASPECTE LEGATE DE ROLUL LABORATORULUI MEDICAL

Datele arată că strategiile clasice de politici și legi antidrog (prohibiție, penalizare legală) nu au eliminat consumul de substanțe ilicite (droguri), indiferent de factorii social-economici. Ca urmare s-au cautat și implementat un număr de strategii alternative pentru *reducera* (cât mai mult posibil, dacă eliminarea nu este posibilă), a consecințelor negative ale acestui consum, atât pentru individ cât și pentru societate. Inițial au fost programele de substituție cu metadonă pentru dependenții de heroină (ca cele implementate în Canada începând cu anii '60).

În acest curs discutăm aspecte generale ale conceptului de *reducere a daunelor* provocate de consumul de substanțe ilicite (droguri) și strategii alternative de actualitate, cu accent pe *testarea (verificarea)*

drogurilor în laborator. Această strategie a fost implementată începând cu anii '90 în Europa, și mai recent adoptată de Canada. Scopul ei principal este de a face cunoscut *persoanelor care folosesc droguri* compoziția lor chimică, pentru a facilita decizia de consum sau nu, evitând astfel expunerea la substanțe toxice din categoria substanțelor noi cu proprietăți psihoactive (SNPP), și nu în ultimul rând, pentru a proteja publicul. Voi discuta de asemenea potențialul și rolul laboratoarelor medicale specializate în teste de toxicologie pe diferite specimene clinice (urină, sânge, salivă) în implementarea serviciilor de testare (verificare) a drogurilor.

Obiective:

Să identificați diferite strategii de reducere a daunelor cauzate de consumul de substanțe ilicite (droguri)

Să explicați conceptul de testare (verificare) a drogurilor cât și rolul acestei strategii în promovarea cunoștințelor despre piața de droguri pentru protejarea sănătății individuale și publice

Să discutați rolul laboratoarelor medicale specializate în toxicologie în implementarea serviciilor de testare (verificare) a drogurilor

Cuvinte cheie: daună, substanțe ilicite, testarea drogurilor

C1. NOVEL MARKERS OF INFLAMMATORY SYNDROME IN TYPE 1 DIABETES MELLITUS

Cristina Drugan¹, Ancuța Benedec^{2,3}, Tudor C. Drugan³

1. Department of Medical Biochemistry, University of Medicine and Pharmacy „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca
2. Centre for Diabetes, Nutrition and Metabolic Diseases, University of Medicine and Pharmacy „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca
3. Department of Medical Informatics and Biostatistics, University of Medicine and Pharmacy „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca

Introduction: Inflammation is present throughout the evolution of type 1 diabetes mellitus (DM). This study aimed to assess the value of chitotriosidase and neopterin as potential markers of inflammation, and their relation with the length of disease evolution, until the onset of complications.

Material and methods: Our study involved 82 adult patients with type 1 DM, in whom the enzymatic activity of circulating chitotriosidase (nmol/mL/h) and the concentration of plasma neopterin (ng/mL) were determined.

Results: We observed statistically significant differences between chitotriosidase activity in patients with and without neuropathy (229.57 +/- 164.19 and 119.86 +/- 138.77, respectively ($p < 0.001$)). Likewise, a significant increase in chitotriosidase activity was noticed in patients with retinopathy (217.50 +/- 172.80), compared to those without this complication (128.44 +/- 129.33), $p < 0.001$. We also noticed significant chitotriosidase variations in the different stages of diabetic nephropathy. Neopterin did not display significant changes with respect to microvascular complications, though its values were higher (11.75 +/- 7.90) than those of the general population, possibly reflecting autoimmune activation in type 1 DM. Unlike neopterin, chitotriosidase showed a moderate to good correlation with disease duration (the

Spearman correlation coefficient was 0.523, with a probability of the significance test $p < 0.001$).

Conclusions: Neopterin may be considered a marker of autoimmune activation in type 1 DM, but its levels do not reflect the occurrence of microvascular complications. Chitotriosidase may be viewed as an early biomarker of the onset of complications, its activity increasing with disease evolution and reaching significantly higher values in patients with these complications.

Keywords: chitotriosidase, neopterin, type 1 diabetes mellitus.

C1. NOI MARKERI AI SINDROMULUI INFLAMATOR ÎN DIABETUL ZAHARAT DE TIP 1

Introducere: Sindromul inflamator este prezent pe tot parcursul evoluției diabetului zaharat (DZ) de tip 1. Acest studiu și-a propus evaluarea chitotriozidazei și a neopterinei, ca potențiali biomarkeri ai sindromului inflamator, în raport cu durata de evoluție până la apariția complicațiilor.

Material și metode: Studiul a inclus de 82 de pacienți adulți cu DZ de tip 1, la care am determinat activitatea enzimatică a chitotriozidazei (nmol/mL/h) și concentrația plasmatică a neopterinei (ng/mL).

Rezultate: Studiul a relevat diferențe semnificative statistic între valorile chitotriozidazei la pacienții cu neuropatie ($229,57 \pm 164,19$) și cei fără această complicație ($119,86 \pm 138,77$), $p < 0,001$. Similar, s-a evidențiat creșterea semnificativă a valorilor chitotriozidazei la pacienții cu retinopatie ($217,50 \pm 172,80$), față de cei fără această complicație ($128,44 \pm 129,33$), $p < 0,001$. Am evidențiat variații semnificative ale chitotriozidazei și în funcție de stadializarea afectării renale. Neopterina nu a variat semnificativ în funcție de complicațiile microvasculare, dar a prezentat valori crescute ($11,75 \pm 7,90$) față de cele din populația generală, indicând activarea proceselor autoimune, specifică DZ de tip 1. Spre deosebire de neopterină, chitotriozidaza s-a corelat moderat spre bine cu durata evoluției bolii, coeficientul de corelație Spearman fiind de 0,523, cu o probabilitate a testului de semnificație $p < 0,001$.

Concluzii: Neopterina poate fi considerată un marker al autoimunității specifice DZ de tip 1, dar nu și al apariției complicațiilor microvasculare. Chitotriozidaza poate fi considerată un marker precoce al apariției complicațiilor în DZ de tip 1, valorile sale crescând odată cu durata bolii și fiind semnificativ mai mari la pacienții cu aceste complicații.

Cuvinte cheie: chitotriozidaza, neopterina, diabet zaharat de tip 1.

C2. MARKERS OF ENDOTHELIAL DYSFUNCTION ASSOCIATED WITH PSORIATIC ARTHRITIS

Alexandru Caraba¹, Claudia Borza², Emeric Toth², Marilena Moțoc^{3,4}, Ioana Suceava⁵,
Camelia Vidița Gurban^{3,4}

1. *Discipline of Internal Medicine IV, Compartment of Rheumatology, Department of Internal Medicine I, "Victor Babes" University of Medicine and Pharmacy, Timisoara, Romania;*
2. *Discipline of Pathophysiology, "Victor Babes" University of Medicine and Pharmacy, Timisoara, Romania;*
3. *Discipline of Biochemistry, Department of Biochemistry and Pharmacology, "Victor Babes" University of Medicine and Pharmacy, Timisoara, Romania;*
4. *Department of Clinical Laboratory, Emergency Clinical City Hospital Timisoara;*
5. *Discipline of Medical Semiology, Department of Internal Medicine I, "Victor Babes" University of Medicine and Pharmacy, Timisoara, Romania.*

Background: Cardiovascular disease is an important cause of morbidity and mortality among psoriatic arthritis patients (PsA), being considered as an independent risk factor for accelerated atherosclerosis development. The first step in the atherosclerosis occurrence is endothelial dysfunction, associated with inflammation and insulin resistance.

The **objectives** of this study were represented by the assessment of the presence of endothelial dysfunction, as well as its correlation with the insulin resistance and the PsA activity.

Material and methods: The study was performed on a group of 30 consecutive patients with PsA and 30 healthy subjects (control group). The following parameters were analysed: Disease Activity in Psoriatic Arthritis Score (DAPSA), glycemia, insulinemia, Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance (HOMA-IR), total cholesterol, LDL-cholesterol, triglycerides, C-reactive protein (CRP), tumor necrosis factor-alpha (TNF α), and flow-mediated dilation at brachial artery (FMD), the endothelial dysfunction marker. Statistical analyses were performed using the Student's t-test, ANOVA test and the Pearson's correlation, $p < 0.05$ being considered statistically significant.

Results: In PsA patients TNF α levels of 31.23 ± 15.75 pg/ml, HOMA-IR of 4.49 ± 1.54 , were significantly increased ($p < 0.001$), and the FMD values of $9.52 \pm 2.14\%$ were significantly decreased ($p < 0.001$) vs. controls. The serum levels of total cholesterol, LDL-cholesterol, triglycerides and CRP were significantly increased in patients with APs vs. the control group ($p < 0.001$). In PsA patients, significant correlations have been identified between DAPSA and HOMA-IR ($r = 0.8078$, $p < 0.001$), and between DAPSA and FMD% ($r = -0.8367$, $p < 0.001$).

Conclusion: Endothelial dysfunction is present in PsA patients, being correlated with disease activity and insulin resistance.

Keywords: endothelial dysfunction, insulin resistance, psoriatic arthritis.

C2. MARKERII AI DISFUNȚIEI ENDOTELIALE ASOCIAȚI ARTRITEI PSORIAZICE

Introducere: Afectarea cardiovasculară reprezintă o importantă cauză de morbiditate și mortalitate printre pacienții cu artrită psoriazică (APs), aceasta fiind considerată ca un factor de risc independent

pentru dezvoltarea aterosclerozei accelerate. Primul pas în apariția aterosclerozei este reprezentat de disfuncția endotelială asociată inflamației și insulinorezistenței.

Obiectivele acestui studiu au fost reprezentate de cercetarea prezenței disfuncției endoteliale, precum și a corelației acesteia cu insulinorezistența și activitatea APs.

Material și metodă: Studiul a fost efectuat pe un grup de 30 pacienți cu APs și 30 subiecți sănătoși (grupul control). Au fost analizați următorii parametri: scorul DAPSA (Disease Activity in Psoriatic Arthritis Score), glicemia, insulinemia, HOMA-IR (Homeostatic Model Assessment for Insulin Resistance), colesterolul total, LDL-colesterolul, trigliceridele, proteina C-reactivă (CRP), factorul de necroză tumorală-alfa (TNF- α) și vasodilatația mediată de flux la nivelul arterei brahiale (FMD), marker al disfuncției endoteliale. Analiza statistică a utilizat testele t-Student, ANOVA, Pearson, $p < 0.05$ fiind considerat cu semnificație statistică.

Rezultate: La pacienții cu APs, valorile TNF- α de 31.23 ± 15.75 pg/ml, HOMA-IR de 4.49 ± 1.54 **au fost semnificativ crescute, iar ale FMD de $9.52 \pm 2.14\%$ semnificativ reduse** față de grupul control ($p < 0.001$). Nivelele serice ale colesterolului total, LDL-colesterolului, trigliceridelor și CRP au fost semnificativ crescute la pacienții cu APs vs. grupul control ($p < 0.001$). La pacienții cu APs au fost evidențiate corelații semnificative între DAPSA și HOMA-IR ($r = 0.8078$, $p < 0.001$), precum și între DAPSA și FMD% ($r = -0.8367$, $p < 0.001$).

Concluzie: Disfuncția endotelială este prezentă la pacienții cu APs, fiind corelată cu activitatea bolii și insulinorezistența.

Cuvinte cheie: disfuncția endotelială, rezistența la insulină, artrita psoriazică

POSTER SESSION BIOMARKERS & VARIA

P1. EVALUATION OF VITAMIN D LEVEL IN PRE- AND POSTMENOPAUSAL WOMEN

Elena Cojocaru^{1,2}, Cătălina Luncă¹, Gabriela Bordeianu¹, Roxana Mihaela Barbu¹

1. Faculty of Medicine, "Grigore T. Popa" University of Medicine and Pharmacy Iași

2. Netconsult Laboratory, Iași

Introduction: Previous studies suggested that menopausal stage promotes hypovitaminosis D in women. This study assessed the serum 25 - hydroxyvitamin D status among pre- and postmenopausal women.

Methods: This study was conducted at Netconsult Laboratory Iași, between March 2019 and February 2020, being analyzed all requests for vitamin D. Structured questionnaires were handed out to 48 women that were divided into two groups: a premenopausal (n=25) and a postmenopausal group (n=23). The levels of serum 25 - hydroxyvitamin D were assessed in a fasting state using ELISA method. Information about pre- and post-menopause status was obtained by a questionnaire that also included the medical diagnosis based on symptoms, and assessment of sleep disturbance, emotional status, and degree of fatigue, as well as individual symptoms. Statistical analyses were performed using MedCalc software.

Results: The average 25-hydroxyvitamin D serum level was 21.7 ± 11.3 ng/ml in premenopausal group and 22.5 ± 9.55 ng/ml in postmenopausal group. The optimal vitamin D level is 30-50 ng/ml. 72% (18 subjects) of premenopausal group and 69.5% (16 subjects) of postmenopausal group had vitamin D deficiency. In 20% of the premenopausal and 13.04% of postmenopausal women severe vitamin D deficiency (< 5 ng/ml) was reported.

Conclusions: The study found a high prevalence of 25-hydroxyvitamin D deficiency in women from Iași County, regardless of age. We observed no statistically significant association between the menopausal status and the 25-hydroxyvitamin D serum level.

Keywords: menopause, 25-hydroxyvitamin D, deficiency

P1. EVALUAREA CONCENTRAȚIEI DE VITAMINĂ D LA FEMEILE AFLATE ÎN PERIOADA PRE- SAU POSTMENOPAUZĂ

Introducere: Studii anterioare au sugerat faptul că apariția menopauzei determină hipovitaminoză D la femei. Prezentul studiu a evaluat concentrația serică de 25-hidroxi-vitamină D la femei aflate în perioada pre- sau postmenopauză.

Metode: Studiul a fost realizat în cadrul laboratorului Netconsult din Iași, în perioada martie 2019 - februarie 2020, la toate solicitantele pentru vitamina D. 48 de femei au completat chestionare, în urma cărora au fost împărțite în două grupuri: premenopauză (n=25) și postmenopauză (n=23). Concentrația serică de 25-hidroxi-vitamină D a fost determinată în probe de sânge recoltate în condiții à jeun, fiind utilizată metoda ELISA. Informația despre statusul pre- sau postmenopauză a fost obținută prin completarea unui chestionar care a inclus un diagnostic medical bazat pe simptome, evaluarea tulburărilor de somn, a stărilor emoționale, a gradului de energie/oboseală, precum și a simptomelor individuale. Analiza statistică a fost realizată utilizând software-ul MedCalc.

Rezultate: Valoarea medie a concentrației serice de 25-hidroxi-vitamină D a fost de 21.7 ± 11.3 ng/ml la grupul în premenopauză și de 22.5 ± 9.55 ng/ml la postmenopauză. Valoarea optimă a vitaminei D este de 30-50 ng/ml. 72% (18 subiecți) din grupul premenopauză și 69.5% (16 subiecți) din grupul postmenopauză au prezentat deficit de vitamină D. La 20% din participante din grupul premenopauză și 13.04% din grupul postmenopauză s-a înregistrat un deficit sever de vitamină D (< 5 ng/ml).

Concluzii: Studiul arată o prevalență mare a deficitului de 25-hidroxi-vitamină D la femeile din județul Iași, indiferent de vârstă. Nu am observat nicio semnificație statistică în asocierea statusului pre- sau postmenopauză și concentrația serică de 25-hidroxi-vitamină D.

Cuvinte cheie: menopauză, 25-hidroxi-vitamina D, deficit

P2. PREVALENCE OF VITAMIN D DEFICIENCY AMONG CHILDREN FROM GALAȚI

Alina Iancu, Caterina Dumitru, Gabriela Gurău, Miruna Drăgănescu, Liliana Baroiu, Natalia Ioniță, Maria Jarnea, Ioana Grecu, Carmen Chițescu, Dana Tutunaru

Faculty of Medicine and Pharmacy, Galați

Introduction / Aim: There are more and more studies that suggest that vitamin D can suppress pro-inflammatory cytokines, thus helping to optimize immunity. The purpose of this study is to evaluate the prevalence of 25-hydroxyvitamin D deficiency, this marker being the best indicator of vitamin D status in the body.

Methods: We have performed a prospective observational study (09.2019-02.2020) on 345 patients between the ages of 0-16 years that were referred to “Sf. Ioan” Emergency Clinical Hospital for Children, Galați. Vitamin D deficiency was defined as serum concentrations of less than 21 ng/mL. The group of patients was divided into subgroups related to 25-hydroxyvitamin D concentrations, as follows: optimal level >30 ng/mL, insufficient level 21-29 ng/mL, deficiency 11-20 ng/mL and severe deficiency <10 ng/mL.

Results: The average serum 25-hydroxyvitamin D concentration was 29.98 ng/ml. The prevalence of 25-hydroxyvitamin D deficiency was 24,74%. It was observed that 36,23% of patients had insufficient level, 20,87% deficient level and 3,87% severely deficient level. Of all patients with 25-hydroxyvitamin D deficiency 47,56% were children up to 10 years old.

Conclusions: The deficiency of 25-hydroxyvitamin D among the analyzed children was not very high. It has been observed that 25-hydroxyvitamin D deficiency was higher among boys up to 10 years old (53,85%). In the adolescent subgroup, 25-hydroxyvitamin D deficiency was higher among girls (55,81%). Since children with iron deficiency or inflammatory diseases are more prone to vitamin D deficiencies, screening them and implementing the necessary strategies to promote health would be very helpful.

Keywords: 25-hydroxyvitamin D, deficiency, children

P2. PREVALENȚA DEFICITULUI DE VITAMINĂ D LA COPIII DIN GALAȚI

Introducere / Obiectiv: Există tot mai multe studii care sugerează că vitamina D poate suprima citokinele proinflamatorii, contribuind astfel la optimizarea imunității. Scopul acestui studiu este de

a evalua prevalența deficitului de 25-hidroxitamină D, acest marker fiind cel mai bun indicator al statusului de vitamină D din organism.

Metode: Am efectuat un studiu observațional prospectiv pe 345 de pacienți cu vârsta 0-16 ani, care s-au prezentat la Spitalul Clinic de Urgență pentru copii "Sf. Ioan" Galați în perioada 09.2019-02.2020. Deficitul de vitamină D a fost definit pentru concentrații <21 ng/mL de 25-hidroxitamină D. Lotul de pacienți a fost împărțit în subgrupuri în funcție de nivelul seric de 25-hidroxitamină D, astfel: nivel optim >30ng/mL, nivel insuficient 21-29 ng/mL, deficiență 11-20 ng/mL și deficiență severă <10 ng/mL.

Rezultate: Valoarea medie a concentrației serice de 25-hidroxitamină D a fost de 29,98 ng/mL. Prevalența deficitului de 25-hidroxitamină D a fost de 24,74%. S-a observat că 36,23% din pacienți au prezentat un nivel insuficient, 20,87% nivel deficient și 3,87% nivel deficient sever. Dintre toți pacienții cu deficiență de 25-hidroxitamină D 47,56% au fost copii cu vârsta până în 10 ani.

Concluzii: Deficitul de 25-hidroxitamină D în rândul copiilor analizați nu a fost foarte mare. S-a observat că deficitul de 25-hidroxitamină D a fost mai mare la băieții cu vârste de până la 10 ani (53,85%). În subgrupa adolescenților, deficitul de vitamină D a fost mai mare la fete (55,81%). Deoarece copiii cu deficit de fier sau boli inflamatorii sunt mai predispuși la carențe ale vitaminei D, ar fi util screening-ul acestora și implementarea strategiilor necesare pentru promovarea sănătății.

Cuvinte cheie: 25-hidroxitamina D, deficiență, copii

P3. THE ROLE OF VITAMIN D AND ANTI-MÜLLERIAN HORMONE (AMH) IN WOMEN INVESTIGATED FOR INFERTILITY

Bogdan Doroftei¹, Ivona Mitu¹, Radu Maftai², Daniela Cristina Dimitriu¹

1. „Grigore T. Popa” University of Medicine and Pharmacy, Iași

2. "Cuza Vodă" Clinical Hospital of Obstetrics and Gynecology Iasi

Introduction: In the last decade, vitamin D has emerged as a pleiotropic molecule with a multitude of autocrine, paracrine and endocrine functions. The deficiency of vitamin D defined as the concentration of 25-hydroxycalciferol < 20 ng/ml is frequently noted in patients of fertility clinics.

Objective: The aim of our study was to analyze the relationship between AMH (anti-Müllerian hormone) and Vitamin D levels in women undergoing infertility investigation.

Material and methods: A lot of 184 women with no gynecological pathology diagnosed by ultrasound evaluation was organized into three groups according to vitamin D levels and four other groups according to AMH levels. Serum Vitamin D and AMH levels were obtained using electrochemiluminescence immunoassays (ECLIA). The statistical analysis was performed using SPSS v.20 software.

Results: Vitamin D correlated weakly with AMH in the age group 30-34 years ($r = 0.326$, $p = 0.024$), but strong in the age group 40-44 years ($r = 0.892$, $p = 0.108$). While vitamin D levels < 20 ng/ml demonstrated a weak negative linear relationship with age ($r = -0.210$, $p = 0.025$), vitamin D levels > 30 ng/ml demonstrated a strong positive linear relationship with age ($r = 0.622$, $p = 0.041$).

Conclusion: There is no significant correlation between the level of AMH and that of vitamin D in unexplained infertility. Vitamin D level mainly influences endometrial development and implantation. The correlation between AMH and vitamin D is weak and needs to be further analyzed together with other parameters for a more precise result.

Keywords: infertility, AMH, vitamin D

P3. ROLUL VITAMINEI D ȘI AL HORMONULUI ANTI-MÜLLERIAN (AMH) LA FEMEILE INVESTIGATE PENTRU INFERTILITATE

Introducere: În ultimul deceniu vitamina D s-a evidențiat drept o moleculă pleiotropică cu multiple funcții de tip autocrin, paracrin și endocrin. Deficiența de vitamină D este definită de o valoare a 25-hidroxicalciferol < 20 ng/ml și este frecvent întâlnită la paciențele din clinicile de fertilitate.

Obiectiv: Scopul studiului nostru este aprecierea relației dintre vitamina D și AMH (hormonul anti-Mullerian) la femeile investigate pentru infertilitate.

Material și metode: Un lot de 184 femei fără patologie ginecologică evidențiată ecografic a fost divizat în 3 grupuri în funcție de nivelul vitaminei D și în 4 grupuri în funcție de nivelul AMH-ului. Nivelurile serice ale AMH-ului și vitaminei D au fost obținute prin electrochemiluminiscență (ECLIA), iar analiza statistică a fost efectuată cu ajutorul programului SPSS (v.20).

Rezultate: Vitamina D s-a corelat slab cu AMH în grupa de vârstă 30-34 ani ($r = 0.326$, $p = 0.024$), dar strâns în grupa de vârstă 40-44 ani ($r = 0.892$, $p = 0.108$). Valorile vitaminei D < 20 ng/ml au demonstrat o corelație slabă și negativă cu vârsta ($r = -0.210$, $p = 0.025$), însă în același timp, valorile > 30 ng/ml au dovedit o corelație puternică și pozitivă cu vârsta ($r = 0.622$, $p = 0.041$).

Concluzii: În infertilitatea de cauze neprecizate nu am obținut o corelație semnificativă între AMH și vitamină D. Vitamina D influențează în principal dezvoltarea endometrială și implantarea. Recomandăm o analiză mai complexă care să cuprindă și alți parametrii pentru a obține un rezultat precis și complet.

Cuvinte cheie: infertilitate, AMH, vitamina D

P4. INFLUENCE OF THE MATERNAL TSH VALUE IN THE FIRST TRIMESTER ON NEWBORN TSH VALUE

Imola Gyorfí¹, Andrea Szabo¹, Oana Oprea^{1,2}, Minodora Dobreanu^{1,2,3}

1. Emergency Clinical County Hospital Târgu Mureș

2. "George Emil Palade" University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology Târgu Mureș,
Department of Laboratory Medicine

3. Center for Advanced Medical and Pharmaceutical Research, "George Emil Palade" University of
Medicine, Pharmacy, Science and Technology Târgu Mureș

Introduction: Maternal hypothyroidism, even subclinical, can lead to neuropsychiatric disorders of the fetus. During pregnancy, the maternal thyroid status may influence the newborn TSH level.

Materials and methods: To evaluate the correlations between the maternal and neonatal thyroid function, blood samples were collected from 50 pregnant women in the first trimester of pregnancy and TSH was determined using a CLIA method. Pregnant women completed a survey regarding the gestational age, thyroid pathology, treatments during pregnancy, including prenatal vitamins and their biotin content. Biotin was determined with an ELISA method to evaluate biotin interference. According to the national screening program, 3 days after birth two blood spots were collected from the children of these pregnant women on Whatman paper grade 903. Within the national screening program, the determination of the TSH levels was performed with the FEIA technique. Medcalc software (MedCalc Software, Belgium) was used to perform the correlations tests.

Results: Maternal TSH level was between 0.211-3.78 mUI/L and the newborn TSH level was between 1.04-7.52 mUI/L. No correlation was found between the TSH levels in mothers and their children ($p = 0.44$). Biotin levels in pregnant women were 79.66-170.21 pg/ml. There was no correlation between maternal TSH levels and biotin levels ($p = 0.54$).

Conclusions: The newborn TSH levels were not influenced by the maternal TSH levels in the first trimester of pregnancy. Also, the maternal TSH levels were not influenced by the biotin level.

Keywords: TSH, newborns, congenital hypothyroidism

P4. INFLUENȚA VALORILOR TSH-ULUI MAMEI ÎN PRIMUL TRIMESTRU DE SARCINĂ ASUPRA VALORILOR TSH-ULUI LA NOU-NĂSCUȚI

Introducere: Starea de hipotiroidie a mamei în timpul sarcinii, chiar și subclinică, poate conduce la afecțiuni neuropsihice ale fătului. Valorile TSH-ului la nou-născuți pot fi influențate de statusul tiroidian al mamei în timpul sarcinii.

Material și metodă: Pentru a evalua corelațiile între funcția tiroidiană a mamei și cea a copilului au fost recoltate probe de sânge de la 50 de gravide în primul trimestru de sarcină, TSH-ul fiind determinat cu metoda CLIA. Gravidele au completat un chestionar referitor la vârsta gestațională, o eventuală patologie tiroidiană, tratamente în timpul sarcinii inclusiv vitamine folosite prenatal și conținutul lor în biotină; în serul gravidelor s-a dozat de asemenea concentrația biotinei (metoda ELISA), pentru a verifica o eventuală interferență cu dozarea CLIA a TSH. Conform programului național de screening, nou-născuților acestor gravide li s-au recoltat la 3 zile după naștere două spoturi de sânge pe hârtie Whatman 903, determinarea valorilor de TSH în cadrul programului fiind efectuată cu tehnica FEIA. Testele de corelație între rezultatele de la mame și nou-născuții lor au fost realizate cu soft-ul Medcalc (MedCalc Software, Belgia).

Rezultate: TSH-ul mamelor s-a situat între 0,211-3,78 mUI/L, iar TSH-ul nou născuților între 1,04-7,52 mUI/L. Nu s-a constatat o corelație între valorile de TSH la mame și copii ($p=0,44$). Valorile de biotină la gravide s-au situat între 79,66-170,21 pg/ml. Nu s-a constatat corelație între TSH-ul mamelor și valorile de biotină ($p=0,54$).

Concluzii: Valorile TSH-ului la nou-născut nu sunt influențate de valorile TSH-ului la mamă în primul trimestru de sarcină. Valorile TSH-ului la mamă nu au fost influențate de nivelul de biotină.

Cuvinte cheie: TSH, nou-născuți, hipotiroidism congenital

P5. PREGNANCY AND POPULATION SPECIFIC ASSESSMENT METHODS FOR THYROID DISORDERS

Oana Mihaela Teodor¹, Florina Paula Păuleț¹, Natalia Țurcan^{1,2}, Ioniță Ducu¹,
Roxana Elena Bohîlțea^{1,3}

1. Department of Obstetrics Gynecology, University Emergency Hospital Bucharest
2. Department of Obstetrics Gynecology, "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy Doctoral School, Bucharest
3. "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest

Introduction: Thyroid disorders present some unique problems related to evaluation and treatment during pregnancy. In areas of iodine deficiency, total-body iodine stores declining gradually in pregnancy facilitate the overcoming of compensatory mechanisms that involve the serum hCG and TSH. Despite

the high prevalence of goiter and hypothyroidism in these areas, the thyroid autoimmunity receives increasing attention globally, as up to 18% of all pregnancies associate antithyroid antibody positivity, chronic autoimmune thyroiditis being the most common disorder.

Materials and methods: We conducted a retrospective analysis with an aim to determine the impact of thyroid pathology on pregnancy morbidity features in our country, given the iodine deficient area particularities.

Results: Of the cases admitted in the Department of Obstetrics and Gynecology of Bucharest University Emergency Hospital from January 2015 up to September 2019, we identified a number of 193 pregnant patients with altered thyroid function, out of which 183 were cases of hypothyroidism. Autoimmune thyroiditis accounted for 55,73% of these cases in spite of the geographical particularities.

Conclusion: A systematic screening strategy for thyroid disorders in pregnancy remains controversial. The high rate of hypothyroidism in pregnancy in our country may highlight not only the need for continued essential vigilance against iodine deficiency, but also an individualized protocol to detect the immunological background of the pregnant woman, applying reliable specific pregnancy trimester - and population reference ranges for hormone measurements.

Keywords: autoimmune thyroiditis, thyroid function in pregnancy, iodine deficiency

P5. EVALUAREA TULBURĂRILOR TIROIDIENE PRIN METODE SPECIFICE PENTRU SARCINĂ ȘI ZONA GEOGRAFICĂ

Introducere: Tulburările tiroidiene prezintă particularități legate de evaluare și tratament în timpul sarcinii. În zonele cu deficiență de iod, depozitele totale de iod din organism scad progresiv în sarcină, ceea ce facilitează depășirea mecanismelor compensatorii în care sunt implicate hCG seric și TSH. În ciuda prevalenței ridicate a gușei și a hipotiroidismului în aceste zone, autoimunitatea tiroidiană primește o atenție sporită la nivel global, deoarece până la 18% dintre toate sarcinile asociază pozitivitatea anticorpilor antitiroidieni, tiroidita autoimună cronică fiind cel mai frecvent întâlnită.

Material și metode: Prezentăm o analiză retrospectivă având ca scop evaluarea impactului patologiei tiroidiene asupra morbidității în sarcină în țara noastră.

Rezultate: Dintre cazurile admise în Departamentul de Obstetrică și Ginecologie din Spitalul Universitar de Urgență București, din ianuarie 2015 până în septembrie 2019, am identificat un număr de 193 de gravide cu funcție tiroidiană alterată, dintre care 183 au fost cazuri de hipotiroidie. Tiroidita autoimună a reprezentat 55,73% dintre aceste cazuri, în ciuda particularităților geografice.

Concluzii: O strategie de screening sistematic pentru tulburările tiroidiene în sarcină rămâne controversată. Rata ridicată de hipotiroidism în sarcină în țara noastră justifică nu numai necesitatea unei vigilențe esențiale continue împotriva deficitului de iod, ci și necesitatea unui protocol individualizat pentru a detecta fondul imunologic al femeii însărcinate, aplicând măsurători hormonale fiabile cu interval de referință adaptate fiecărui trimestru de sarcină și particularităților populaționale.

Cuvinte cheie: tiroidită autoimună, funcția tiroidiană în sarcină, deficiență de iod

P6. ALTERNATIVE METHOD FOR DECREASING RECALL RATES IN CONGENITAL HYPOTHYROIDISM SCREENING

Ștefan Barbu¹, Oana Oprea^{1,2}, Minodora Dobreanu^{1,2,3}

1. Emergency Clinical County Hospital Târgu Mureș
2. "George Emil Palade" University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology Târgu Mureș, Department of Laboratory Medicine
3. Center for Advanced Medical and Pharmaceutical Research, "George Emil Palade" University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology Târgu Mureș

Introduction: Samples for Newborn screening for congenital hypothyroidism are analyzed using FEIA on Whatman 903 grade paper. Because of the higher than recommended retest rate, additional techniques that do not involve patient recalling are required.

Material and method: Forty-one matching blood samples from newborns at the SCJU Târgu Mureș Maternity Ward during January 2020 were analyzed. Samples were drawn from the umbilical cord at birth and from the heel at 3 days from birth. Serum TSH samples were determined using CLIA, respectively FEIA for dried blood samples. Statistical analysis was performed using MedCalc (MedCalc Software, Belgium). Normal distribution of the values was tested, Passing-Bablok regression for technique comparability, F-test and correlation coefficient. P value <0,05 was considered statistically significant.

Results: Mean TSH serum values for CLIA were 2,62-3,75 mUI/L (95% CI), respectively 6,72-7,58 mUI/L (95% CI) for FEIA. A statistical significant correlation was found between serum and blood values. Only 1 newborn had a normal TSH serum value, while the dried blood spot value was above the cut-off value (10 mUI/L).

Conclusion: Serum TSH values obtained from the umbilical cord are 2 times lower than TSH blood values from dried spots, values being correlated. Newborns with high TSH values on CLIA were flagged as high using FEIA, proving that CLIA can be used as an additional technique.

Keywords: TSH, CLIA, FEIA, Newborn screening.

P6. METODĂ ALTERNATIVĂ PENTRU SCĂDEREA RECHEMĂRILOR ÎN CADRUL SCREENING-ULUI PENTRU HIPOTIROIDIE CONGENITALĂ

Introducere: Screening-ul pentru hipotiroidismul congenital se desfășoară prin tehnica fluorimetrică (FEIA), din spoturile de sânge recoltate de la nou-născuți pe hârtie Whatman, în cadrul programului național de screening (PNS). Din cauza ratei mai mari de retestare decât cea raportată în literatură, sunt necesare metode adiționale de testare care nu implică rechemări suplimentare.

Material și metodă: În luna ianuarie 2020 s-au analizat comparativ valorile TSH din 41 perechi de eșantioane de ser separat la naștere din sângele cordonului ombilical utilizând tehnica CLIA (chemiluminiscență) și din spoturile de sânge recoltate de la nou-născuți din Maternitatea SCJU Târgu Mureș în cadrul PNS, prin tehnica FEIA. Analiza statistică a fost realizată cu Medcalc (MedCalc Software, Belgia). S-a verificat distribuția rezultatelor, comparabilitatea tehnicilor utilizând regresia Passing-Bablok, corelația dintre valori utilizând F-test și coeficientul r de corelație. Valoarea $p < 0,05$ a fost considerată semnificativă statistic.

Rezultate: Valorile medii din cordonul ombilical, au variat între 2,62-3,75 mUI/L (95% CI), iar din spoturile de sânge între 6,72-7,58 mUI/L (95% CI). S-a observat o corelație semnificativă statistic ($p < 0,05$) între valorile obținute din ser și din sânge; doar 1 nou-născut a avut discordanță între valoarea normală în ser și peste cut-off-ul (10 mUI/L) din sânge în cadrul PNS.

Concluzii: Valorile obținute din sângele recoltat din cordonul ombilical se corelează cu valorile obținute prin tehnica de screening, fiind însă mai mici de 2 ori. Nou-născuții cu valori peste cut-off pe tehnica CLIA au fost depistați și prin PNS, tehnica CLIA putând fi folosită ca și metodă de screening suplimentară.

Cuvinte cheie: TSH, CLIA, FEIA, screening neonatal

P7. CLINICAL AND BIOCHEMICAL STRATEGIES FOR PREDICTING PREECLAMPSIA

Natalia Țurcan¹, Monica Mihaela Cîrstoiu², Oana Teodor², Ioniță Ducu², Bianca Mihai²,
Roxana Bohîlțea²

1. Department of Obstetrics Gynecology, „Carol Davila” University of Medicine and Pharmacy
Doctoral School, University Emergency Hospital Bucharest, 169 Splaiul Independenței, 050098,
Bucharest, Romania

2. Department of Obstetrics Gynecology, „Carol Davila” University of Medicine and Pharmacy,
University Emergency Hospital Bucharest, 169 Splaiul Independenței, 050098, Bucharest, Romania

Introduction / Objective: Preeclampsia is a disease characteristic only of human pregnancy having the birth as its only curative method. Despite the known and intensively studied risk factors, there are numerous cases of preeclampsia that occur in the absence of any risk factors. Given that preeclampsia is directly responsible for life-threatening subsequent events, one of the key points is the earliest possible diagnosis, identification of patients at high risk and action to prevent the development of this pathology.

Methodology: Markers associated with angiogenesis, respectively PLGF (placental growth factor) and sFlt-1 (truncated form of PLGF receptor type 1) have a significant prediction rate of preeclampsia being strongly associated with the increased risk for its development. The false positive rate attributed to PLGF and sFlt-1 is 5% with a sensitivity and sensibility of 32% and 26% respectively. Combining the values of Inhibin A, PLGF and PAPP-A (pregnancy-associated plasma protein) with the value of Doppler velocimetry of uterine arteries and maternal clinical markers provides the best predictive result.

Results: The preeclampsia risk assessment project was implemented as a file in Excel 2016, offering the possibility to be used in any cabinet equipped with a computer without the need for special programs. The evaluation sheet aims to gather all the data regarding the personal, familial, obstetrical history and clinical data that impact the risk of developing a hypertensive pathology in pregnancy. This file also offers the possibility to be supplemented with information useful to the clinician, it offers the possibility to place in the patient's electronic file and also to calculate a score that guides the prognosis regarding the development of preeclampsia.

Conclusions: The sub-heading of this file is represented by the fact that the anamnestic and clinical data have the highest predictive value for preeclampsia demonstrated so far.

Keywords: preeclampsia, prediction

P7. STRATEGII CLINICE ȘI BIOCHIMICE DE PREDICȚIE A PREECLAMPSIEI

Introducere / Obiectiv: Preeclampsia este o boală caracteristică doar sarcinii umane având ca și singură metodă curativă nașterea. În ciuda factorilor de risc cunoscuți și intens studiați, există numeroase cazuri de preeclampsie care survin în absența oricăror factori de risc. Având în vedere faptul ca preeclampsia este direct răspunzătoare pentru evenimente subsecvente probabile, amenințatoare de viață, unul din punctele cheie esențiale este diagnosticul cât mai precoce, identificarea pacienților cu risc crescut și acțiune pentru prevenirea dezvoltării acestei patologii.

Metodologie: Markerii asociați cu angiogeneza, respectiv PLGF (factorul de creșterea placentară) și sFlt-1 (forma trunchiată a receptorului de tip 1 a PLGF) au o rată de predicție semnificativă a preeclampsiei, fiind puternic asociați cu riscul crescut pentru dezvoltarea acesteia. Rata fals pozitivă atribuită PLGF și sFlt-1 este de 5% având o sensibilitate de 32% și 26% respectiv. Combinarea valorilor Inhibinei A, PLGF și PAPP-A (proteina plasmatică asociată sarcinii) cu valoarea velocimetriei Doppler a arterelor uterine și markerii clinici materni oferă cel mai bun rezultat al predicției.

Rezultate: Proiectul de evaluarea a riscului de preeclampsie a fost implementat sub formă de fișier în Excel 2016, oferind posibilitatea astfel de a fi folosit în orice cabinet dotat cu un computer fără a fi nevoie de programe speciale. Fișa de evaluare în cauză are scopul de a colecta toate datele referitoare la istoricul personal și heredo-colateral, obstetrical și datele clinice ce impactează riscul de dezvoltare a unei patologii hipertensive în sarcină. Această fișă oferă în plus posibilitatea de a fi suplimentată cu informații utile clinicianului, oferă posibilitatea încadrării în dosarul electronic al pacientei și, în plus, calcularea unui scor ce orientează prognosticul privind dezvoltarea preeclampsiei.

Concluzii: Substratul acestei fișe este reprezentat de faptul că datele anamnestice și clinice au pondrea cea mai mare de predicție a preeclampsiei demonstrată până acum.

Keywords: preeclampsie, predicție

P8. THE VITAMIN B₁₂ STATUS IN WOMEN: A CROSS-SECTIONAL STUDY

Elena Cristina Crăciun¹, Simina Felicia Țărmure², Ilinca Copcea³, Adrian Copcea⁴, Elena Dinte⁵, Ioana Para²

1. Department of Pharmaceutical Biochemistry and Clinical Laboratory, Faculty of Pharmacy, „Iuliu Hațieganu” University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca, Romania
2. Department of Internal Medicine 4th Medical Clinic, Faculty of Medicine, „Iuliu Hațieganu” University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca, Romania
3. Clinical Center for Diabetes, Nutrition and Metabolic Diseases, Cluj-Napoca, Romania
4. Asteco Medical Center, Cluj-Napoca, Romania
5. Department of Pharmaceutical Technology and Biopharmaceutics, Faculty of Pharmacy, „Iuliu Hațieganu” University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca, Romania

Introduction: The purpose of this study was to explore the vitamin B₁₂ status in a sample of female population from Romania.

Material and Methods: The study group included 121 women from the city of Cluj-Napoca and the surrounding rural localities (group A – 75 individuals with omnivorous diet, group B – 24 individuals

with different vegetarian diets, and group C – 22 individuals with type 2 diabetes mellitus treated with metformin). For all the groups, a complete blood count was performed, and the vitamin B₁₂ serum concentration was measured.

Results: The frequencies of the deficiency and the suboptimal status of vitamin B₁₂ (serum levels <200 pg/mL and 200-350 pg/mL, respectively) were: 6.66% and 32% in group A, 25% and 58.33% in group B, and 18.18% and 72.72% in group C. In group B, the vitamin B₁₂ deficiency has been observed only in women with long-term (15-25 years) lacto-vegetarian or ovo-vegetarian diet. 40.9% of subjects older than 50 years from group A had vitamin B₁₂ levels <350 pg/mL. All subjects had a mean corpuscular volume <100 fL. The anaemia observed in 6.66% of group A subjects and in 13.63% of group C subjects, was associated with deficiency or suboptimal vitamin B₁₂ status in 80% of cases (group A), or only with suboptimal vitamin B₁₂ status (group C).

Conclusion: The results of the study highlight the high frequency of low vitamin B₁₂ levels in all investigated groups and the importance of periodical monitoring in subjects at risk, in order to prevent the consequences of untreated vitamin B₁₂ deficiency.

Keywords: vitamin B₁₂, deficiency, women

P8. STATUSUL VITAMINEI B12 LA FEMEI: UN STUDIU TRANSVERSAL

Introducere: Scopul acestui studiu a fost determinarea statusului vitaminei B₁₂ într-un eșantion din populația feminină din România.

Material și Metode: În grupul de studiu au fost incluse 121 de femei din Cluj-Napoca și localitățile rurale învecinate (grupul A – 75 femei cu dietă omnivoră, grupul B – 24 femei cu diferite diete vegetariene, și grupul C – 22 femei cu diabet zaharat de tip 2 tratat cu metformin). Pentru toate grupurile s-a evaluat hemoleucograma și s-a determinat concentrația serică a vitaminei B₁₂.

Rezultate: Frecvența deficienței vitaminei B₁₂ și a statusului suboptimal (nivele serice <200 pg/mL și respectiv 200-350 pg/mL) a fost: 6,66% și 32% în grupul A, 25% și 58,33% în grupul B, respectiv 18,18% și 72,72% în grupul C. În grupul B, deficiența vitaminei B₁₂ a fost observată numai la femei cu regim lacto-vegetarian sau ovo-vegetarian de lungă durată (15-25 ani). 40,9% din subiecții cu vârsta peste 50 de ani din grupul A, au avut nivele ale vitaminei B₁₂ <350 pg/mL. Toti participanții au avut valori ale volumului eritocitar mediu <100 fL. Anemia, prezentă la 6,66% din subiecții din grupul A și la 13,63% din subiecții din grupul C, a fost asociată cu deficiența sau statusul suboptimal la 80% din cazuri (grupul A) și doar cu status suboptimal al vitaminei B₁₂ (grupul C).

Concluzii: Rezultatele studiului evidențiază frecvența ridicată a nivelelor scăzute de vitaminei B₁₂ în toate grupurile din eșantionul studiat și importanța monitorizării periodice la subiecții cu risc pentru a preveni consecințele datorate deficienței de vitamina B₁₂.

Cuvinte cheie: vitamina B₁₂, deficiență, femei

P9. OMEGA-6/OMEGA-3 RATIO ALTERED IN OBESE CHILDREN

Adina Huțanu^{1,2}, Mihaela Zaharia¹, Lenard Farczadi², Raluca Pop³, Ionela Pașcanu⁴,
Minodora Dobreanu^{1,2}

1. Department of Laboratory Medicine, "George Emil Palade" University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology of Târgu Mureș
2. Center for Advanced Medical and Pharmaceutical Research, "George Emil Palade" University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology of Târgu Mureș
3. Research Methodology Department, "George Emil Palade" University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology of Târgu Mureș
4. Endocrinology Department, "George Emil Palade" University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology of Târgu Mureș
- 5.

Introduction/Objective: Increasing evidence suggests the importance of polyunsaturated fatty acids (PUFAs) in obesity, insulin resistance, and cognitive development during childhood. Additionally, PUFAs exert modulatory effects on inflammation, adipocyte maturation, and fat storage. Data regarding the influence of plasma free fatty acids on weight, adipose tissue and insulin resistance in children are scarce. The aim of the study was to evaluate plasma levels of free n-3 PUFAs docosahexaenoic (DHA), eicosapentaenoic (EPA), n-6 PUFAs arachidonic acid (AA) and Omega-6/Omega-3 ratio in children with and without obesity.

Methods: Plasma levels of free fatty acids were measured using a validated high-throughput LC-MS method (AB Sciex4600) in 202 children (127 obese and 75 non-obese), age and sex-matched. Lipid and glucose profiles were assessed with current laboratory methods, while insulin resistance and beta-cell function were evaluated using HOMA-IR and HOMA- β respectively.

Results: Plasma concentration of DHA was lower in the obese group without reaching the statistical threshold; however, AA and Omega 6/Omega3 ratio was significantly higher in obese children ($p=0.042$ for AA and $p<0.0001$ for Omega-6/Omega-3 ratio) regardless of age and gender. A statistically significant negative correlation, although moderate, was found between DHA, EPA and HOMA-IR. However, after adjustment for age and gender only DHA remains a negative predictive factor for insulin resistance. Omega-6/Omega-3 ratio positively correlates with fat mass percentage ($r=0.224$, $p=0.002$).

Conclusions: Omega-6/Omega-3 ratio is significantly higher in obese children, while low plasma DHA is predictive for insulin resistance evaluated by HOMA-IR.

Keywords: PUFA, obesity, HOMA-IR

P9. RAPORTUL OMEGA-6/OMEGA-3 MODIFICAT LA COPIII CU OBEZITATE

Introducere/Obective: Date recente sugerează contribuția importantă a acizilor grași polinesaturați la dezvoltarea obezității și a insulino-rezistenței la copii, având în vedere rolul acestora în inflamație și maturarea adipocitelor. Sunt puține date referitoare la impactul acizilor grași polinesaturați liberi asupra greutateii, țesutului adipos sau insulino-rezistenței la această vârstă. Studiul și-a propus evaluarea acizilor grași liberi Omega-3 (acidul docosahexaenoic DHA, eicosapentaenoic EPA), Omega-6 (acidul arahidonic AA) dar și a raportului Omega-6/Omega-3 la copiii cu și fără obezitate.

Methodă: Acizii grași polinesaturați liberi au fost măsurați în plasmă printr-o metodă validată LC-MS de înaltă performanță (AB Sciex4600) la un grup de 202 copii (127 cu și 75 fără obezitate), potriviți ca vârstă și sex. Profilul lipidic și glicemic au fost evaluate cu metode curente de laborator, iar rezistența la insulină și rezerva funcțională a celulelor beta-pancreatice au fost evaluate cu indexul HOMA-IR respectiv HOMA-β.

Rezultate: În grupul cu obezitate nivelul plasmatic al DHA a fost mai redus, fără semnificație statistică; nivelul AA și raportul Omega-6/Omega-3 au fost însă semnificativ mai mari în grupul copiilor obezi ($p=0,042$ pentru AA și $p<0,0001$ pentru Omega-6/Omega-3) indiferent de vârstă și sex. S-a observat o corelație negativă moderată, semnificativă statistic, între DHA, EPA și HOMA-IR, dar după ajustare pentru vârstă/sex doar DHA a rămas predictor negativ pentru rezistența la insulină. Omega-6/Omega-3 se corelează pozitiv cu procentul de grăsime din organism ($r=0,224$, $p=0,002$).

Concluzii: Raportul Omega-6/Omega-3 este semnificativ mai mare la copiii cu obezitate, iar un nivel plasmatic redus al DHA este predictiv pentru rezistența la insulină evaluată cu HOMA-IR.

Cuvinte cheie: acizi grași polinesaturați, obezitate, HOMA-IR

P10. EVALUATION OF NITRIC OXIDE IN PATIENTS WITH NASAL POLYPOSIS

Ala Istrateco^{1,2}, Anatolie Vișnevschi¹, Vasile Cabac², Valentin Gudumac^{1,3}

1. Department of Laboratory Medicine, "Nicolae Testemițanu" State University of Medicine and Pharmacy, Chișinău, Republic of Moldova
2. Department of Otorhinolaryngology, "Nicolae Testemițanu" State University of Medicine and Pharmacy, Chișinău, Republic of Moldova
3. Laboratory of biochemistry, "Nicolae Testemițanu" State University of Medicine and Pharmacy, Chișinău, Republic of Moldova

Introduction: Nasal polyposis (NP) is a chronic inflammatory disease with negative impact on quality of life. Its causes are not fully understood. Recent studies suggest that nitric oxide (NO) and its metabolites are involved in NP pathogenesis. Purpose of study: To evaluate the nasal NO and nitrate (NO_3^-) levels in patients with and without NP and to establish the relationship between NO level and nasal obstruction.

Methods: Eighty-two patients were recruited into the study and divided into two groups: case group ($N_1=41$) consisted of patients with NP and control group ($N_2=41$) consisted of patients with septal deviations and turbinate hypertrophies. Polyp and nasal mucosa specimens were taken from all patients recruited into the study. Concentration of NO and NO_3^- was measured by spectrometric method in homogenized tissue specimens. The difference of mean concentrations was analyzed with Mann-Whitney test. Correlational analyses were used to examine the relationship between the NO level and nasal obstruction.

Results: We have found significant difference between mean NO and NO_3^- concentration in study groups. Compared to control group, case group had significantly lower NO levels ($U=171.5$, $p<0.0005$) and NO_3^- levels ($U=318$, $p<0.0005$) in tissue specimens. Analysis of the Pearson's correlation coefficient for NO level and nasal obstruction showed the negative moderate correlation ($r=-0.4$, $p<0.001$).

Conclusions: Nasal polyp environment is characterized by abnormalities in NO metabolism that might predispose to altered regulation of tissue growth. NO level in NP seems to be dependent on the degree of obstruction of osteomeatal complex. NO and NO_3^- may be important in the pathogenesis of NP.

Keywords: Nasal polyposis, nitric oxide, nitrate.

P10. EVALUAREA OXIDULUI NITRIC LA PACIENȚII CU POLIPOZĂ NAZALĂ

Introducere: Polipoza nazală (PN) este o patologie cronică inflamatorie cu impact negativ asupra calității vieții. Cauzele PN nu au fost pe deplin elucidate. Studiile recente stipulează despre implicarea oxidului nitric (NO) și a metaboliților săi în patogenia PN. Scopul studiului: Evaluarea nivelului NO și nitraților (NO_3^-) nazali la pacienții cu și fără PN și stabilirea relației pentru nivelul NO tisular și obstrucția nazală.

Metode: În studiu au fost recrutați 82 pacienți, divizați în 2 grupuri: grupul cazuri ($N_1=41$), format din pacienți cu PN și grupul control ($N_2=41$), format din pacienți cu deviația septului nazal și hipertrofia cornetelor. Specimene de polipi și mucoasă nazală au fost prelevate din ambele grupuri de studiu. Concentrația NO și NO_3^- din speciemenle omogenate s-a măsurat prin metoda spectrometrică. Diferența concentrațiilor medii s-a analizat cu testul Mann-Whitney. Analiza corelațională pentru nivelul NO și obstrucția nazală s-a efectuat cu ajutorul coeficientului Pearson.

Rezultate: S-a identificat diferență semnificativă între concentrația medie a NO și NO_3^- în grupurile de studiu. Comparativ cu grupul control, în grupul cazuri s-a constatat nivel semnificativ mai scăzut de NO ($U=171.5$, $p<0.0005$) și NO_3^- ($U=318$, $p<0.0005$). Analiza coeficientului Pearson pentru nivelul NO tisular și obstrucția nazală a relevat o corelație negativă moderată ($r=-0.4$, $p<0.001$).

Concluzii: Homeostazia polipilor nazali este caracterizată prin tulburări ale metabolismului NO, ceea ce poate determina reglarea defectuoasă a creșterii tisulare. Nivelul NO nazal în PN pare să fie dependent de gradul de obstrucție a complexului osteomeatal. NO și NO_3^- pot fi importanți în patogenia PN.

Cuvinte cheie: Polipoză nazală, oxid nitric, nitrat.

P11. OXIDATIVE STRESS AND HYDRATION STATUS ASSOCIATED TO PHYSICAL ACTIVITIES

Mihaela Ștefan¹, Gabriela Ștefan¹, Laura Găman², Mihaela Badea¹

1. Faculty of Medicine, Transilvania University Brașov, Romania

2. Faculty of Medicine, "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania,

Introduction. Oxidative stress results from increased production of pro-oxidant radicals (ROS), along with a defective defense of the body's antioxidant system. Hydration is under homeostatic control, through mechanisms that modify the excretory pathways and stimulate the intake (thirst).

Materials and methods. A cross-sectional study was designed including 69 young subjects from Brașov (Romania), divided into two groups: sedentary group ($N=38$) and athletes ($N=31$). Biological samples (blood and urine) were collected from all volunteers, but the athletes were sampled twice (after the effort). The physical effort required the volunteers to run for 20 minutes. Thus, 5 minutes after the

movement, another set of analyzes was taken. The study design was approved by the Ethical Committee of the Faculty of Medicine, Transilvania University of Brasov, Romania.

Results. It was observed that the urinary pH decreased in the athletes' group after the physical exercise, compared to the athletes' group before the physical effort. The hematocrit in the sedentary group was lower than the hematocrit in the sports group before physical exertion, the difference being of statistical value ($p = 0.036$). The creatinine and uric acid level was higher after physical effort than before effort ($p = 0.05$). An increase in the number of white blood cells ($p=0.025$), lymphocytes ($p=0.026$), and neutrophils ($p = 0.006$) was observed after physical effort for our athletes group, comparing with athletes group before physical effort.

Conclusions. Dehydration influences hematological parameters (increases hematocrit). Sport has a beneficial effect on the proper functioning of the human body's systems, which can have a positive impact on diseases' prevention.

Keywords: physical effort, hydration status, oxidative stress

P11. STRESUL OXIDATIV ȘI STATUSUL HIDRIC ASOCIATE CU ACTIVITĂȚILE SPORTIVE

Introducere. Stresul oxidativ rezultă în urma unei producții crescute de radicali pro-oxidanți (ROS), concomitent cu o apărare defectuoasă din partea sistemului antioxidant al organismului. Hidratarea se află sub control homeostatic, prin mecanisme care modifică căile de excreție și stimulează aportul (setea).

Materiale și metode. Studiul de tip chestionar a utilizat un lot de 69 de persoane, împărțite în două grupuri: 31 de persoane care fac sport și 38 de persoane care nu fac sport. S-au recoltat probe biologice (sânge și urină) tuturor voluntarilor, iar sportivilor li s-au recoltat probe și după 5 minute de la efortul fizic (alergare timp de 20 de minute). Studiul a respectat toate regulile de etică a cercetărilor științifice.

Rezultate. S-a observat faptul că hematocritul din lotul sedentarelor este mai scăzut față de hematocritul din lotul sportivilor înaintea efortului fizic ($p = 0.036$). S-a remarcat faptul că pH-ul urinar în lotul sedentarelor este mai scăzut față de pH-ul din lotul sportivilor înainte de efort fizic.

Nivelul acidului uric și al creatininei este mai crescut după efectuarea efortului fizic decât înainte de efort ($p = 0.05$). S-a observat o creștere semnificativă a numărului leucocitelor ($p=0.025$), limfocitelor ($p= 0.026$), neutrofilelor ($p = 0.006$) în lotul sportivilor după efort față de starea inițială (înainte de efortul fizic).

Concluzii. Deshidratarea influențează parametrii hematologici (crește hematocritul). Sportul are un efect benefic asupra bunei funcționări a aparatelor și sistemelor organismului uman, având un impact pozitiv asupra prevenirii unor afecțiuni.

Cuvinte cheie: efort fizic, hidratare, stres oxidativ

P12. FECAL CALPROTECTIN IN THE LABORATORY PRACTICE

Stanca-Lucia Pandrea^{1,2}, Monica Ioana Ciontea¹, Manuela Tompa¹, Luminița Matroș², Lia Sorina Pepelea², Stanca-Maria Pandrea³, Ronald Tompa³, Andreea Monica Benea¹

1. Regional Institute of Gastroenterology and Hepatology, 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

Introduction / Objective: Calprotectin is a calcium binding protein secreted mainly in neutrophils and monocytes and, when detected in stool, it has a direct relationship (consequence of neutrophil degranulation) to bowel mucosal damage, characteristic of inflammatory bowel disease. Fecal calprotectin is regularly used as indicator for inflammatory bowel disease (IBD) during treatment and as a diagnostic marker, and to distinguish from irritable bowel disease and IBD. In this paper we report our experience with rapid chromatographic and ELISA fecal calprotectin (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) tests in order to validate an internal laboratory work protocol.

Methods: We tested 82 fecal samples for the presence of calprotectin with the rapid and ELISA tests, in order to calculate the specificity of the rapid test.

Results: We performed in parallel 82 rapid and ELISA tests between 1 and 29 february 2020 in order to determine the presence of fecal calprotectin in patients referred to our hospital with random gastro-intestinal pathologies. We had 48 positive rapid tests and 44 of these were confirmed by ELISA. From the 34 negative rapid tests, all were also negative on the immuno-enzymatic method, resulting a 100% specificity for the rapid tests.

Conclusion: After obtaining 100% specificity, and because of the rapidity of obtaining a valid result, we propose an internal work protocol for the workout of fecal calprotectin, with initial rapid tests and then confirmatory ELISA only for the positive results.

Keywords: Fecal calprotectin, rapid test, immuno-enzymatic test

P12. CALPROTECTINA FECALĂ ÎN PRACTICA LABORATORULUI

Introducere / Obiective: Calprotectina fecală este o proteină secretată în principal în citosolul neutrofilelor și monocitelor. Detectarea ei în materiile fecale este o consecință a degranulării neutrofilelor, semn de afectare a mucoasei intestinale, caracteristică bolilor inflamatorii intestinale (BII). Calprotectina fecală este folosită ca marker de diagnostic și monitorizare a tratamentului în bolile inflamatorii intestinale, dar și în diferențierea sindromului de intestin iritabil de BII. În această prezentare raportăm experiența noastră cu testele rapide cromatografice și testele ELISA (Enzyme Linked Immunosorbent Assay) în determinarea calprotectinei fecale, pentru a valida un protocol intern de lucru.

Metode: Am efectuat în paralel, pe un număr de 82 de probe, test rapid cromatografic și testare ELISA pentru dozarea calprotectinei fecale, pentru a calcula valoarea specificității testului rapid.

Rezultate: În perioada 01.02-29.02.2020 am efectuat 82 teste rapide cromatografice și imunoenzimatic de determinare a calprotectinei fecale în scaun, la pacienții din spitalul nostru, cu patologii intestinale diverse. La testele rapide, am avut 48 teste pozitive, iar dintre acestea 44 s-au confirmat prin metoda ELISA. Din cele 34 teste negative prin metoda cromatografică, toate au fost negative și prin metoda ELISA, rezultând o specificitate de 100% pentru testele rapide.

Concluzii: Având în vedere specificitatea maximă obținută, precum și rapiditatea validării rezultatului, ne propunem implementarea unui protocol intern care să cuprindă efectuarea de teste rapide inițiale, iar pentru probele pozitive să continuăm dozarea calprotectinei fecale.

Cuvinte cheie: Calprotectina fecală, test rapid, metoda imuno-enzimatică

PLENARY SESSION 7 – QUALITY MANAGEMENT, AUTOMATION, TRAINING IN LABORATORY MEDICINE

R1. HOW TO USE THE MEASUREMENT UNCERTAINTY IN INTERPRETATION OF PACIENT RESULTS.

Crezante Lazar
RoEQALM, Bucharest

The calculation of the measurement uncertainty (MU) of the measured quantitative values is a requirement (5.5.1.4) of the SR EN ISO 15189:2013 standard and is fulfilled by medical laboratories that are accredited in Romania.

However, the practical use of MU is poorly understood and widespread in the professional community. The paper presents concrete ways and examples of how to use MU in interpretation of the quantitative patient test results, performed for both diagnostic and monitoring purposes. The situations in which caution is required in this approach are also highlighted.

Keywords: Measurement uncertainty

R1. UTILITATEA CUNOAȘTERII INCERTITUDINII DE MĂSURARE A REZULTATELOR ÎN MEDICINA DE LABORATOR

Calcularea incertitudinii de măsurare (MU) a valorilor cantitative măsurate este o cerință (5.5.1.4) a standardului SR EN ISO 15189:2013 și este indeplinită de laboratoarele medicale care sunt acreditate.

Utilizarea în practică a MU este însă puțin înțeleasă și răspândită în comunitatea profesională. Lucrarea prezintă modalități concrete și exemple de folosire a MU în interpretarea rezultatelor testelor cantitative ale pacienților, efectuate atât în scop diagnostic cât și de monitorizare. Se evidențiază și situațiile în care se impune prudență în demersul respectiv.

Cuvinte cheie: incertitudine de măsurare

R2. REFERENCE INTERVALS OR CLINICAL DECISION LIMITS?

Oana Oprea
Central Laboratory of Emergency Hospital Targu Mures

In laboratory medicine the term normal values is considered obsolete and CLSI document EP28:A3 recommends “reference interval” (RI) term to be used. Clinical decision limits are also used in practice, but these are not meant to replace RI’s. Although all manufactures state RI’s for a certain test, they advise that each laboratory should establish its own RI’s suited for the population that addresses the laboratory. In contrast, clinical decision limits are established by guidelines. They separate healthy individuals from those who are diagnosed with a certain pathology and are also used to separate clinical categories. In order to establish RI’s a laboratory should apply the CLSI EP 28:A3 protocol. In some cases (neonates, children) it is accepted that the protocol may be difficult to apply and a smaller sample population is accepted but a robust method is recommended.

When a laboratory is facing a new test method it is accepted to apply the manufacturers RI's if that method is comparable with the old method used and RI's have been previously verified. Along with direct methods (parametric or nonparametric), indirect methods are described. These indirect methods use data from the laboratory information system. If for some parameters a laboratory uses clinical decision limits instead of RI's, these should not be verified by the laboratory but the agreement of these methods with the reference method must be. Any laboratory may choose to use reference intervals or, if available, clinical decision limits but no matter the choice these must be appropriate for the population that is applied to.

Keywords: reference intervals, clinical decision limits

R2. INTERVALE DE REFERINȚĂ SAU LIMITE DE DECIZIE CLINICĂ?

În medicina de laborator termenul de valori normale este considerat depășit iar documentul EP28:A3 recomandă termenul de interval de referință. În practică se mai folosesc și limitele de decizie clinică, dar acestea nu ar trebui să înlocuiască termenul de interval de referință. Deși toți producătorii oferă în prospect intervalul de referință, aceștia recomandă ca fiecare laborator să își stabilească propriul interval. Limitele de decizie clinică sunt stabilite prin consens în ghiduri clinice. Acestea separă indivizii sănătoși de cei cu o anumită patologie și categoriile clinice între ele. Pentru a stabili intervalul de referință laboratorul trebuie să aplice protocolul EP28:A3. În unele cazuri (nou-născuți, copii) este acceptat un număr mai mic de indivizi dar cu condiția aplicării unei metode robuste de calcul.

Când un laborator își schimbă metoda de lucru pentru un test este acceptată utilizarea intervalului de referință al producătorului dacă noua metodă este comparabilă cu cea anterioară iar intervalul a fost verificat anterior. Alături de metodele directe (parametrice sau non-parametrice) sunt descrise metode indirecte. Acestea utilizează date din sistemul informatic al laboratorului. Limitele de decizie clinică nu trebuie verificate de către laborator dar în aceste cazuri se verifică concordanța cu metoda de referință. Un laborator poate utiliza intervale de referință sau limite de decizie clinică dar indiferent de alegere, acestea trebuie să fie potrivite populației la care sunt aplicate.

Cuvinte cheie: interval de referință, limită de decizie clinică

C1. BIORISK MANAGEMENT IN THE MEDICAL LABORATORY - FROM CURRICULA TO PRACTICE

Gabriel Ionescu^{1,2}

1. "Cantacuzino" National Military Medical Institute of Research-Development, Bucharest

2. „Carol Davila” University of Medicine and Pharmacy, Bucharest

The concept of biorisk was defined about 20 years ago, and guidelines and standards regarding biorisk management are readily available. Although the personnel of the medical laboratories are more exposed to biological pathogens than other professional categories, important gaps in their knowledge about biorisks have been identified, especially in their practices for biorisk mitigation by means of biosafety and biosecurity measures.

These deficiencies are especially obvious when cases of occupational acquired infections occur or when the staff is subjected to pressure created by epidemics with large numbers of samples to be analyzed or in special epidemiological situations.

How can we effectively solve this situation? We must have a holistic approach, that should:

- be based on international experience synthesized in guidelines, standards and scientific publications;
- respect the principles of adult life-long learning;
- follow the Deming cycle and the quality management principles;
- start with training the trainers and a curricula continuously adapted;
- focus on practical exercises, scenarios and simulated cases, from risk assessment to its mitigation/elimination
- underline the importance of basic hygiene measures, standard and supplementary precautions, as well as the good microbiological techniques and wearing of personal protective equipment
- promote the staff's awareness and responsibility.

The success of this approach is conditioned by the firm commitment of the management for the allocation of resources and the monitoring of the efficiency of the process.

Keywords: biorisk management, curricula

C1. MANAGEMENTUL BIORISULUI ÎN LABORATORUL MEDICAL – DE LA CURRICULĂ LA PRACTICĂ

Bioriscul este un concept care a fost definit în urmă cu circa 20 ani, iar ghiduri și standarde în materie de management al acestuia sunt larg disponibile. Deși personalul laboratoarelor medicale este mai expus la agenți biologici patogeni decât alte categorii profesionale, s-a constatat că există importante lacune în cunoștințele lor despre riscurile biologice și mai ales în practicile de reducere a acestora prin măsuri de biosiguranță și biosecuritate.

Aceste deficiențe ies în evidență mai ales când apar cazuri de îmbolnăviri profesionale sau când personalul este supus unor presiuni create de epidemii cu număr mare de eșantioane care trebuie analizate sau în situații epidemiologice speciale.

Cum putem rezolva eficient această situație? Abordarea trebuie să fie holistică și:

- să se bazeze pe experiența internațională sintetizată în ghiduri, standarde, publicații științifice;
- să respecte principiile învățării la adult, pe tot parcursul vieții profesionale;
- să urmeze ciclul Deming și principiile de management al calității;
- să plece de la formarea formatorilor în domeniu și de la o curriculă continuu actualizată;
- să se concentreze pe exerciții practice, scenarii și cazuri simulate, de la evaluarea riscului până la minimizarea/eliminarea acestuia;
- să sublinieze importanța măsurilor elementare de igienă, a precauțiilor standard și a celor suplimentare, precum și a practicilor microbiologice corecte și de purtare a echipamentului individual de protecție.
- să promoveze conștientizarea și responsabilizarea întregului personal.

Succesul acestui demers este condiționat de fermitatea angajării managementului pentru alocarea resurselor și monitorizarea eficienței procesului.

Cuvinte cheie: managementul bioriscului, curricula

C2. STRENGTHS AND WEAKNESSES IN THE IMPLEMENTATION OF RISK MANAGEMENT IN A CLINICAL LABORATORY

Remona Eliza David, Minodora Dobreanu

“George Emil Palade” University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology of Târgu Mureș

Introduction: In the past few years, according to ISO 15189:2012 standard, accreditation requirements have been stipulated that make the implementation of risk management necessary for clinical laboratory. Everywhere people work there is a possibility of errors. In medical practice, nobody wants to admit making a mistake. Thus, errors are covered by silence. Risk management can reduce costs and prevent from losing the laboratory image when the errors occur. The organization management must analyze the issues and develop a risk strategy for clinical laboratory.

Material and method: The risk management process includes five phases and is understood as a cycle. The present paper describes the activities of the risk management process for the pre-analytical process in the biochemistry department. First, the planning of risk management process, which include documentation of risks and measures, was designed. The laboratory used different techniques to identify the risks (brainstorming, FMEA - Failure Modes and Effects Analysis). The qualitative analysis determined the risk prioritization based on their impact on the patient's health, using the Risk Priority Number (RPN). Next, the strategies for the risk response (avoid, mitigate, transfer or accept) were established for each risk. The activities of the analyzed process were continuously monitored.

Conclusions: Each risk owner is responsible for monitoring and early detection of risks in his own area of competence.

Keywords: risk management, risk, risk priority number (RPN)

C2. PUNCTE TARI ȘI PUNCTE SLABE ÎN IMPLEMENTAREA MANAGEMENTUL RISCURILOR ÎNTR-UN LABORATOR CLINIC

Introducere: În ultimii ani, conform standardului ISO 15189:2012, sunt menționate cerințele de acreditare care fac necesară implementarea managementului riscurilor pentru laboratorul clinic. Oriunde oameni lucrează există posibilitatea unor erori. În practica medicală, nimeni nu vrea să recunoască că a greșit. Astfel, erorile sunt acoperite de tăcere. Managementul riscurilor poate reduce costurile și previne prejudiciul de imagine al laboratorului atunci când erorile apar. Managementul organizației trebuie să analizeze problemele și să adopte o strategie cu privire la risc pentru laboratorul clinic.

Material și metodă: Procesul de management al riscurilor include cinci faze și este înțeles ca un ciclu. Această lucrare descrie activitățile procesului de management al riscurilor pentru procesul pre-analitic în departamentul de biochimie. În prima etapă, a avut loc planificarea procesului de management al riscurilor, care include documentația riscurilor și măsurilor. Laboratorul a utilizat diferite tehnici de identificare a riscurilor (brainstorming și FMEA – Analiza modurilor de defectare și a efectelor lor). Analiza calitativă a determinat prioritizarea riscurilor bazată pe impactului acestora asupra sănătății pacientului, folosind numărul prioritar de risc (RPN). În etapa următoare, pentru fiecare risc au fost stabilite strategiile de răspuns la risc (evitare, diminuare, transfer sau acceptare). Activitățile procesului analizat au fost monitorizate continuu.

Concluzii: Fiecare proprietar de risc este responsabil pentru monitorizarea și detectarea timpurie a riscurilor în domeniul său de competență.

Cuvinte cheie: managementul riscurilor, risc, număr prioritar de risc (RPN)

POSTER SESSION - QUALITY MANAGEMENT, AUTOMATION, TRAINING IN LABORATORY MEDICINE

P1. IS THE INTERPRETATION OF TEST RESULTS MODIFIED BY REFERENCE INTERVALS?

Maria Totan^{1,2}, Camelia Grigore¹, Cristea Ștefan¹, Nicolae Grigore^{1,3}

1. "Lucian Blaga" University of Sibiu, Faculty of Medicine, Sibiu, Romania

2. Pediatric Hospital of Sibiu, Romania

3. Academic Emergency Hospital Sibiu

Introduction: Worldwide, more and more studies show a high prevalence of vitamin D deficiency. There is always link between vitamin D status and different diseases (bone, allergic, autoimmune, neurological, asthma). The objectives of this study were to determine the prevalence of vitamin D deficiency in children in the Sibiu area, using the optimal values recommended by the National Health Program for assessing the vitamin D status in children.

Material and method: A retrospective study was carried out on a batch of 528 children, age between 1 month and 5 years, admitted to the Pediatric Clinic, Sibiu, between January 2018 and January 2019. Dosing 25 (OH) D was performed using ELFA method, on the VIDAS PC analyzer. A comparison was made between the values suggested in the Romanian Guide (levels of 25 (OH) D $\leq$ 12 ng / ml) and those recommended by the Guide of the American Society of Endocrinology (levels of 25 (OH) D $\leq$ 20 ng/ml).

Results: Of the 528 children tested, 64 children (12,2%) had values below 12 ng/ml, being considered as having vitamin D deficiency, according to the guide from the Romanian National Program, and 181 children (34.2%) had values below 20 ng/ml being considered deficient according to the guideline of the American Society of Endocrinology.

Conclusions: There are differences between the percentage of the pediatric population considered deficient in vitamin D depending on the guide used to determine the optimal values. According to the Guide recommended by the National Vitamin D Program, the percentage of the population deficient in vitamin D among children is not very high, but using the Guide of the American Society the percentage increases 3 times.

Keywords: 25 (OH) D, deficiency, children

P1. INTERPRETAREA REZULTATELOR TESTELOR ESTE MODIFICATĂ DE INTERVALELE DE REFERINȚĂ?

Introducere: La nivel mondial tot mai multe studii arată o prevalență ridicată a deficitului de vitamina D. Se face mereu legătura între statusul vitaminei D și diferite boli (boli osoase, alergice, autoimune, neurologice, astm). Obiectivele acestui studiu au fost de a determina prevalența deficitului de vitamină D la copiii din zona Sibiu folosind valorile optime recomandate de Programul Național de sănătate pentru evaluarea statusului vitaminei D la copii.

Material și metodă: A fost efectuat un studiu retrospectiv pe un lot de 528 de copii, cu vârste cuprinse între 1 lună și 5 ani internați în Clinica de Pediatrie, Sibiu, în perioada ianuarie 2018 – ianuarie 2019.

Dozarea 25(OH)D s-a efectuat prin metoda ELFA, pe analizorul VIDAS PC. S-a făcut o comparație între valorile sugerate în Ghidul românesc (niveluri ale 25(OH)D $\leq$ 12 ng / ml) și cele recomandate de Ghidul Societății americane de endocrinologie (niveluri ale 25(OH)D $\leq$ 20 ng / ml).

Rezultate: Din totalul de 528 de copii testați, 64 copii (12,2%) au avut valori sub 12 ng/ml, fiind considerați ca având deficit de vitamina D, conform ghidului din Programul național român și 181 copii (34,2%) au avut valori sub 20 ng/ml fiind considerați deficitari conform ghidului Societății Americane de Endocrinologie.

Concluzii: Există diferențe între procentul populației pediatrice considerate deficitare în vitamina D în funcție de ghidul folosit pentru stabilirea valorilor optime. Conform Ghidului recomandat de Programul național de vitamina D procentul populației deficitare în vitamina D din rândul copiilor nu este foarte ridicat, dar folosind Ghidul Societății americane procentul crește de 3 ori.

Cuvinte cheie: 25(OH)D, deficiență, copii

P2. RAPID DETECTION OF C-REACTIVE PROTEIN USING MICROSCREEN PRINTED ELECTRODES

Nicolae-Bogdan Mincu^{1,2}, Marioara Avram^{1,3}, Petruța Preda³, Diana Stan¹,
Lorena-Andreea Mateescu¹, Veronica Lazar²

1. DDS Diagnostic, Bucharest

2. Faculty of Biology, University of Bucharest, Bucharest

3. National Institute for Research and Development in Microtechnologies – IMT, Bucharest

Introduction / Objective: C-reactive protein (CRP) is a biomarker for the diagnosis of an inflammatory process with different etiology; it is an acute phase protein that binds to lysophosphatidylcholine (LPC) – a product that results from partial hydrolyzation of phosphatidylcholine released by apoptotic cells. The inflammatory process is triggered as a defense mechanism of the body in response to tissue damage induced by infectious agents, mechanical trauma, burns, toxins, exposure to excessive heat, metabolic syndrome, autoimmune diseases, etc. During an acute or chronic inflammatory process, the concentration of CRP in blood plasma raises significantly; this parameter has value for the therapeutic decision orientation.

Methods / Metodology: Self-assembled monolayers (SAMs) were attached to the active surface of the screen-printed electrodes (screen printed on a ceramic surface), after which specific anti-CRP antibodies were immobilized. The measurement of the electrochemical signal was carried out by electrochemical impedance spectroscopy (EIS) with the aid of the Gamry 1010E potentiostat.

Results: The optimization and characterization of the surface of the electrodes was performed and the targeted protein (CRP) was efficiently detected, even at small concentrations (aprox. 0,5 mg/L).

Conclusions/ Discussions: The method developed by us showed great affinity for the targeted protein, high sensitivity, reduced analysis cost, in comparison to currently available methods and a rapid response time (<5 min.). It is also noteworthy that through the functionalization using this type of self-assembled monolayers we were able to successfully avoid steric hindrance during the attachment of CRP to the electrodes surface phase.

Keywords: screen-printed electrodes, C-reactive protein, impedance spectrometry.

Acknowledgement: This paper was supported by project POC, Axa1. CF52/05.09.2016, SMIS

105631 CS925/03.07.2019 (INTELBIOMED), funded by MEC/OI for research and co-funded by DDS Diagnostic.

P2. DETECȚIA RAPIDĂ A PROTEINEI C-REACTIVE UTILIZÂND MICROELECTROZI SERIGRAFIAȚI MODIFICAȚI

Introducere / Obiectiv: Proteina C reactivă (CRP), un biomarker pentru evidențierea proceselor inflamatorii de diferite etiologii, este o proteină de fază acută care are capacitatea de a lega lizofosfatidilcolina (LPC) – un produs rezultat prin hidroliza parțială a fosfatidilcolinei, eliberată de celulele apoptotice. Procesul inflamator este declanșat ca un răspuns de apărare a organismului la leziuni tisulare cauzate de agenți infecțioși, traume mecanice, toxine, arsuri, sindrom metabolic, maladii autoimune etc. În cursul unui proces inflamator, acut sau cronic, nivelul concentrației CRP în plasmă crește considerabil; acest parametru are valoare pentru orientarea deciziei terapeutice.

Metode / Metodologie: Pe suprafața activă a electrozilor, serigrafiați pe o suprafață ceramică, s-au atașat monostraturi autoasamblate mixte (SAMs), apoi s-a realizat imobilizarea anticorpilor specifici anti CRP. Măsurarea semnalului electrochimic s-a efectuat prin spectrometrie de impedanță cu ajutorul potențostatului Gamry 1010E.

Rezultate: S-a realizat optimizarea și caracterizarea suprafeței electrozilor, proteina de interes (CRP) fiind detectată cu succes chiar și la concentrații scăzute (aprox. 0,5 mg/L).

Concluzii / Discuții: Metoda dezvoltată de noi prezintă afinitate ridicată pentru proteina țintă, sensibilitate ridicată, costuri reduse comparativ cu metodele existente pe piață la acest moment și un timp de răspuns rapid (<5 min.). Este de menționat faptul că prin funcționalizarea cu acest tip de monostraturi autoasamblate s-a evitat cu succes fenomenul de împiedicare sterică în etapa atașării CRP din probă pe suprafața electrozilor.

Cuvinte cheie: electrozi serigrafiați, proteina C-activă, spectrometrie de impedanță.

Mulțumiri: Această lucrare a fost realizată în cadrul proiectului POC, Axa1. CF52/05.09.2016, SMIS 105631 CS925/03.07.2019 (INTELBIOMED), finanțat de MEC/OI pt cercetare și cofinanțat de DDS Diagnostic.

P3. THE IMPORTANCE OF THE SIGNAL CODES OF THE ACL TOP ANALYZERS, IN INTERPRETING THE RESULTS OF THE COAGULATION TESTS

Carmen Delianu^{1,2}, Liliana Foia^{1,2}, Mihaela Moscalu¹, Ion Hurjui¹, Claudia Cristina Tărniceriu^{1,2}, Loredana Liliana Hurjui^{1,2}

1. "Grigore T. Popa" University of Medicine and Pharmacy, Iasi, Romania

2. Emergency County Clinical Hospital "Sf. Spiridon", Iasi, Romania

Introduction: The source of errors in Laboratory Medicine appears most frequently in the pre pre-analytical phase, once the biological product is collected, but the interpretation of the signal codes of the coagulation analyzers remains dependent on the laboratory specialists, thus contributing to the accuracy and reliability of the reported results.

Purpose: Point out the signals related to the analytical and biological interference with the measurement of coagulation parameters in relation to the signaling codes that indicate the manner through which the data did not meet the criteria defined for the mentioned analysis.

Material and methods: The ACL TOP analyzers manual from the Instrument Laboratory has been consulted.

Results: Hemolytic, icteric and latescent plasma samples are signaled with the code “5770”, and “5751” indicates insufficient collected volume and the presence of fibrin that impedes plasma aspiration. The possible interference with the determination of coagulation tests is explained textually with the release of the results. Results reported as “*FAILED*” (UNDETECTABLE) may be errors (E) or warning (W) of: sample, „SE”, coagulation „CE/CW”; outside ranges: of individual results, „RE”, therapeutic „HR/T (↑↓)”, linearity of results „LR/L (↑↓)”, normal reference „NR/N (↓)”. There are also mentioned errors or warnings of: hardware „HE/HW”, materials (reagents) „ME”, quality control „QC”, calibration „CA”, and maintenance „MT”. This type of signaling indicates that an error has been detected and that it will determine the absence of a result.

Conclusions: From this perspective, proper interpretation of the signal codes of the reaction curve can guarantee an accurate test approach, while unreliable results could endanger the dosage of anticoagulant therapies, the medical decisions, and the patient’s safety.

Keywords: signaling, errors, warnings.

P3. IMPORTANȚA CODURILOR DE SEMNALIZARE ALE ANALIZOARELOR ACL TOP ÎN INTERPRETAREA REZULTATELOR TESTELOR DE COAGULARE

Introducere: Sursa erorilor în Medicina de Laborator apare cel mai frecvent în faza pre-analitică odată cu prelevarea produsului biologic, însă interpretarea codurilor de semnalizare ale analizoarelor de coagulare rămâne dependentă de specialiștii de laborator, având o contribuție semnificativă în ceea ce privește corectitudinea și fiabilitatea rezultatelor raportate.

Scop: Prezentarea semnalizărilor ce țin de interferența analitică și biologică cu măsurarea parametrilor de coagulare în raport cu codurile de semnalizare care indică modul în care datele nu au îndeplinit criteriile definite pentru acea analiză.

Material și metode: A fost consultat manualul analizoarelor ACL TOP de la Instrument Laboratory.

Rezultate: Plasma hemolizată, icterică și lactescentă este semnalizată cu codul „5770”, iar „5751” semnalizează volumul insuficient prelevat și prezența fibrinei ce obstrucționează aspirarea plasmei. Posibila interferență cu determinarea testelor de coagulare este explicată textual odată cu eliberarea rezultatelor. Rezultatele raportate ca „*FAILED*” (NEDETECTABIL) pot fi erori (E) sau avertizări (W) de: eșantion „SE”, coagulare „CE/CW”, ale rezultatelor individuale „RE”; în afara intervalului: terapeutic „HR/T(↑↓)”, de liniaritate al rezultatelor „LR/L(↑↓)”, normal de referință „NR/N (↓)”. Sunt menționate și erori sau avertizări de: hardware „HE/HW”, privind materialele (reactivii) „ME”, control al calității „QC”, calibrare „CA” și mentenanță „MT”. Acest tip de semnalizări indică faptul că a fost depistată o eroare care va determina absența generării unui rezultat.

Concluzii: Din această perspectivă, interpretând corect codurile de semnalizare ale curbei de reacție, putem garanta pentru o determinare exactă a testelor, deoarece rezultatele nesigure ar putea pune în pericol dozarea terapiilor anticoagulante, luarea deciziilor medicale și siguranța pacientului.

Cuvinte cheie: semnalizări, erori, avertizări.

P4. COMPARABILITY OF HS-TROPONIN I RESULTS OBTAINED USING SNIBE-MAGLUMI 800 AND ABBOTT-ARCHITECT CI 4100

Andreea Oltean¹, David Kodori¹, Minodora Dobreanu^{1,2}

1. Central Medical Laboratory of Târgu Mureș County Emergency Hospital

2. Dept. Laboratory Medicine, "George Emil Palade" University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology Târgu-Mureș

Introduction: The goal of this study was to analyze comparability between HS-Troponin I (HSTnI) results obtained from two analyzers: Snibe–Maglumi 800 (chemiluminescence immunoassay - CLIA) and Abbott-Architect Ci 4100 (chemiluminescent microparticle immunoassay - CMIA).

Material and Method: 124 consecutive serum samples with normal and pathological values were collected in emergency laboratory of Târgu-Mureș County Hospital. We verified the correlation between the results obtained using Pearson's correlation and the Passing-Bablok regression. To appreciate the differences between the pairs of values we used the Bland Altman method. We decided to divide the results into two groups of values above and below 15.6 pg/ml, the threshold used as biomarker for myocardial injury (reference range women = 0 -15.6 pg/ml, men = 0-34.2 pg/ml).

Results: There was a poor correlation for the HSTnI results obtained by the two analyzers for values below and above the 15.6 pg/ml threshold (CI=0.855). The bias was positive for Maglumi for HSTnI results in the reference range, with a 95% confidence interval. For HSTnI results above the reference range, the bias was negative (mean= - 813.7) with a correlation coefficient of 0.856.

Conclusion: The bias was negative for Maglumi. The two methods are not equivalent and they are not commutable. Thus, patients with possible myocardial injury should only be monitored on one analyzer.

Keywords: correlation, bias, Bland Altman

P4. COMPARABILITATEA REZULTATELOR HS-TROPONINEI I OBȚINUTE PE ANALIZOARELE SNIBE-MAGLUMI 800 ȘI ABBOTT-ARCHITECT CI 4100

Introducere: Scopul acestui studiu a fost analiza comparabilității între rezultatele hs-Troponinei I, obținute pe cele două analizoare: Snibe–Maglumi 800 (Test Imunologic de Chemiluminiscență - CLIA) și Abbott-Architect Ci 4100 (Test Imunologic de Chemiluminiscență pe bază de Microparticule - CMIA).

Material și metodă: 124 seruri consecutive cu valori normale și patologice au fost colectate în laboratorul de urgență al Spitalului Clinic Județean de Urgență. Am analizat corelația dintre rezultatele obținute utilizând corelația Pearson și regresia Passing Bablok. Pentru aprecierea diferențelor dintre perechile de valori am folosit metoda Bland Altman. Am decis să împărțim rezultatele în două grupuri de valori: sub și peste pragul de 15.6 pg/ml folosit ca biomarker pentru ischemia miocardică (valori normale femei = 0-15.6 pg/ml, bărbați = 0-34.2 pg/ml).

Rezultate: S-a obținut o corelație slabă pentru rezultatele HSTnI obținute pe cele două analizoare pentru valori sub și peste pragul 15.6 pg/ml (CI=0.855). Biasul a fost pozitiv pe Maglumi pentru rezultate HSTnI în intervalul de referință, cu un interval de confidență de 95%. Pentru rezultate HSTnI în afara

intervalului de referință, biasul a fost negativ (media= - 813.7) cu un coeficient de corelație de 0.856.

Concluzie: Biasul a fost negativ pe Maglumi. Cele două tehnici nu sunt echivalente și nu sunt comutabile. Pacienții cu posibilă ischemie miocardică trebuie monitorizați pe un singur tip de analizor.

Cuvinte cheie: corelație, bias, Bland Altman

P5. ATELLICA CH 930 VS. ARCHITECT CI4100 – COMPARABILITY ON A NINE-ANALYTE CHEMISTRY PANEL IN AN EMERGENCY LABORATORY

Ion Bogdan Mănescu¹, Oana Roxana Oprea^{1,2}, Ramona Ancuța Simionese¹, Minodora Dobreanu^{1,2}

1. Central Laboratory of County Emergency Clinical Hospital Târgu Mureș

2. George Emil Palade University of Medicine, Pharmacy, Science, and Technology of Târgu Mureș, Department of Laboratory Medicine

Introduction: A new automated chemistry analyzer, Atellica-CH930 (Siemens, Germany), was introduced to our laboratory. According to ISO SR EN 15189:2013, it is the laboratory's responsibility to determine the agreement between the new analyzer and the established one. The aim of this study was to perform a preliminary comparison between the newly arrived Atellica-CH930 and the already established Architect-ci4100 (Abott, US) from the emergency laboratory.

Material and methods: A minimum of 20 (up to 50) patient serum samples were tested for 9 frequently ordered analytes on both analyzers. Data sets were tested for correlation and the regression equation was computed using Passing-Bablok analysis. The limits of agreement were established with Bland-Altman statistical method and the mean of differences (D%) was compared to the within-subject biological variation (CVi) for each analyte.

Results: The correlation coefficient (r) was >0.99 for all analytes except sodium (r=0.94) and chloride (r=0.98). The D% between analyzers exceeded the CVi for potassium (D%=-4.51%, CVi=4.1%), urea (D%=15.42%, CVi=13.9%) and glucose (D%=10.29%, CVi=5%), but was clinically significant only for glucose. For conjugated bilirubin, the D% (-24.09%) did not exceed the CVi (36.8%), but was clinically significant.

Conclusion: Despite the overall good agreement between the two analyzers, this study shows that not all differences between Atellica-CH930 and Architect-ci4100 can be explained by the within-subject biological variation. Moreover, not all differences exceeding the CVi have clinical implications, while not all differences within the CVi are clinically irrelevant. However, for a robust comparability between these two analyzers, more extensive investigations on all decision levels must be performed.

Keywords: Atellica ch 930, Architect ci4100, agreement

P5. ATELLICA CH 930 VS. ARCHITECT CI4100 – COMPARABILITATE PE UN PANEL DE NOUĂ ANALIȚI ÎN LABORATORUL DE URGENȚĂ

Introducere: Un nou analizor, Atellica-CH930 (Siemens, Germania), a fost introdus în laboratorul central al spitalului. Conform ISO SR EN 15189:2013, este responsabilitatea laboratorului să stabilească

gradul de comparabilitate între noul analizor și cele aflate deja în uz. Scopul acestui studiu a fost realizarea unei scurte comparații preliminare între noul Atellica-CH930 și analizorul Architect ci4100 (Abott, SUA) din Laboratorul de Urgență.

Material și metodă: Nouă analiți de rutină au fost testați pe ambele aparate, folosind 20-50 de seruri de pacienți. Seturile de date au fost testate statistic pentru corelație, iar ecuația de regresie a fost calculată cu testul Passing-Bablok. Limitele de acord au fost stabilite folosind testul Bland-Altman, iar media diferențelor (D%) a fost comparată cu coeficientul de variație intra-biologică (CVi) specific fiecărui analit.

Rezultate: Coeficientul de corelație (r) a fost >0.99 pentru toți analiții cu excepția sodiului ($r=0.94$) și clorului ($r=0.98$). D% între analizoare a depășit CVi pentru potasiu ($D\%=-4.51\%$, $CVi=4.1\%$), uree ($D\%=15.42\%$, $CVi=13.9\%$) și glucoză ($D\%=10.29\%$, $CVi=5\%$), dar a fost semnificativă clinic doar pentru glucoză. Pentru bilirubină conjugată, D% (-24.09%) nu a depășit CVi (36.8%), dar a fost semnificativă clinic.

Concluzii: În ciuda unei bune comparabilități generale între cele două analizoare, acest studiu arată că nu toate diferențele dintre Atellica-CH930 și Architect ci4100 pot fi atribuite variației biologice intra-individuale. De asemenea, nu toate diferențele care depășesc CVi au implicații clinice și nu toate diferențele încadrate în CVi sunt clinic ne semnificative. O analiză mai elaborată care să includă toate nivelurile de decizie clinică este necesară pentru a efectua o comparație temeinică între cele două analizoare.

Keywords: Atellica ch 930, architect ci4100, comparabilitate

P6. ATELLICA CH930 VS. COBAS 6000 – COMPARABILITY ON A 15-ANALYTE CHEMISTRY PANEL

Mihaela Zaharia^{1,2}, Ștefan Barbu¹, Eszter Madacsy¹, Minodora Dobreanu^{1,2}

1. Central Laboratory of County Emergency Clinical Hospital Târgu Mureș

2. "George Emil Palade" University of Medicine, Pharmacy, Science, and Technology of Târgu Mureș

Introduction: A new automated chemistry analyzer, Atellica-CH930 (Siemens, Germany), was introduced to our laboratory. According to ISO SR EN 15189:2013, the laboratory has the responsibility to determine the level of agreement between the new analyzers and the existing ones. In this study, we aimed to perform a preliminary comparison between the newly arrived Atellica-CH930 and the already established Cobas 6000 (Roche, Switzerland) from our laboratory.

Material and methods: A minimum of 20 (up to 80) patient serum samples were tested for 15 frequently ordered analytes on both analyzers. Data sets were statistically tested for correlation and Passing-Bablok analysis was performed to compute the regression equation. The limits of agreement were established with Bland-Altman statistical method and the mean of differences (D%) was compared to the within-subject biological variation (CVi) for each analyte.

Results: The correlation coefficient (r) was >0.99 for all analytes except calcium ($r=0.76$) and magnesium ($r=0.94$). The D% between analyzers exceeded the CVi for sodium ($D\%=1.94\%$, $CVi=0.5\%$), amylase ($D\%=9.21\%$, $CVi=6.6\%$), uric acid ($D\%=10.16\%$, $CVi=8.6\%$), bilirubin ($D\%=27.96\%$, $CVi=21.8\%$), GGT ($D\%=-10.63\%$, $CVi=8.8\%$) and total protein ($D\%=-6.49\%$, $CVi=2.6\%$), but was clinically significant only for bilirubin and uric acid.

Conclusion: Although the overall agreement between the two analyzers was good, this study showed that the within-subject biological variation is not responsible for all the differences between Atellica-CH930 and Cobas-6000. Moreover, not all differences exceeding the CVi have clinical implications. However, for a robust comparability between these two analyzers, more extensive investigations on all decision levels must be performed.

Keywords: Atellica ch 930, Cobas 6000, agreement

P6. SIEMENS ATELLICA CH 930 VS. ROCHE COBAS 6000 – COMPARABILITATE PE UN PANEL DE CINCISPREZECE ANALIȚI DE BIOCHIMIE

Introducere: Un nou analizor, Atellica-CH930 (Siemens, Germania), a fost introdus în laboratorul central al spitalului. Conform ISO SR EN 15189:2013, laboratorul are responsabilitatea de a stabili gradul de comparabilitate între noul analizor și cele aflate deja în uz. Scopul acestui studiu a fost realizarea unei scurte comparații preliminare între noul Atellica-CH930 și analizorul Cobas 6000 (Roche, Elveția) din laboratorul nostru.

Material și metodă: Cincisprezece analiți de rutină au fost testați pe ambele aparate, folosind 20-80 de seruri de pacienți. Seturile de date au fost testate statistic pentru corelație, iar testul Passing-Bablok a fost folosit pentru calcularea ecuației de regresie. Prin metoda Bland-Altman, au fost stabilite limitele de acord între analizoare, iar media diferențelor (D%) a fost comparată cu coeficientul de variație intra-biologică (CVi) specific fiecărui analit.

Rezultate: Coeficientul de corelație (r) a fost >0.99 pentru toți analiții cu excepția calciului ($r=0.76$) și magneziului ($r=0.94$). D% între analizoare a depășit CVi pentru sodiu ($D\%=1.94\%$, $CVi=0.5\%$), amilază ($D\%=9.21\%$, $CVi=6.6\%$), acid uric ($D\%=10.16\%$, $CVi=8.6\%$), bilirubină ($D\%=27.96\%$, $CVi=21.8\%$), GGT ($D\%=-10.63\%$, $CVi=8.8\%$) și proteine totale ($D\%=-6.49\%$, $CVi=2.6\%$), dar a fost semnificativă clinic doar pentru bilirubină și acid uric.

Concluzii: În ciuda unei bune comparabilități generale între cele două analizoare, acest studiu arată că nu toate diferențele dintre Atellica-CH930 și Cobas 6000 pot fi atribuite variației biologice intra-individuale. De asemenea, nu toate diferențele care depășesc CVi au implicații clinice. O analiză mai elaborată care să includă toate nivelurile de decizie clinică este necesară pentru a efectua o comparație temeinică între cele două analizoare.

Keywords: Atellica ch 930, Cobas 6000, comparabilitate

AUTHORS INDEX**Index de autori****A**

Achiței, Emanuela 11
Anciuc, Mădălina 47, 63
Angelescu, Silvana 34
Anghel, Andrei 46
Anisie, Ecaterina 27
Anton, Gabriela 36
Aposteanu, Silvia 32
Arghir, Aurora 34, 45
Avram, Marioara 95

B

Badea, Mihaela 85
Badiu, Corin Virgil 55
Barbu, Roxana Mihaela 73
Barbu, Ștefan 62, 79, 100
Baroiu, Liliana 74
Bădescu, Daniela 24
Bănescu, Adrian 22
Bănescu, Gabriela 22
Bănescu, Claudia 47, 52, 53, 60, 63, 66
Benea, Andreea Monica 28, 87
Benedec, Ancuța 69
Berbec, Nicoleta 34
Berceanu, Iulia 49
Berlea, Narcis 40
Bleotu, Coralia 36
Bohilțea, Roxana Elena 50, 77, 80
Bordeianu, Gabriela 40, 73
Borsi, Ema 46
Borza, Claudia 71
Botezatu, Anca 36
Braha, Elena Emanuela 55, 65
Brînzaniuc, Klara 12
Brudașcă, Ioana 42, 43
Bumbea, Horia 34, 45

C

Cabac, Vasile 84
Caraba, Alexandru 71
Caragheorghopol, Andra 55

Cândea, Marcela 47
Cârstea, Claudia 60
Chiorean, Erica 28
Chițescu, Carmen 74
Chivu-Economescu, Mihaela 36
Cianga, Corina 27, 61
Cianga, Petru 27, 61
Cighir, Anca 19, 20
Ciontea, Monica Ioana 28, 87
Ciontea, Simona Adriana 24
Cisleanu, Diana 34
Ciurea, Cristina Nicoleta 12, 19, 20, 30
Cîrstoiu, Monica Mihaela 50, 80
Codiță, Irina 7
Cojocaru, Elena 73
Constantinescu, Daniela 27, 61
Constantinescu, Ileana 26
Constantinescu, Ștefan N. 36
Copăcianu, Brîndușa 11
Copcea, Adrian 81
Copcea, Ilinca 81
Coriu, Daniel 32, 36
Cosma, Adriana-Stela 47
Cotar, Ani Ioana 24
Crăciun, Elena Cristina 81
Cristea, Daniela 24
Cristea, Ștefan 18
Cucerea, Manuela 66
Cut, Talida Georgiana 58

D

Dabu, Bogdan 22
David, Remona Eliza 92
Dăscălescu, Silvia 27, 61
Deac, Liana Monica 15
Defour, Jean-Philippe 36
Delianu, Carmen 96
Demian, Liliana 52
Diaconu, Carmen C. 36
Didbaridze, Tamar 10
Dimitriu, Daniela Cristina 40, 75
Dinte, Elena 81
Dobreanu, Minodora 52, 53, 62, 76, 79, 83, 92, 98,

99, 100

Dobre, Maria 34
Doroftei, Bogdan 75
Dragomir, Mihaela 32
Dragos, Loredana M. 38
Drăgănescu, Miruna 74
Drugan, Cristina 69
Drugan, Tudor C. 69
Ducu, Ioniță 50, 77, 80
Dumache, Raluca 58
Dumitru, Caterina 74
Dumitru, Ion 34

E

Enache, Alexandra 58
Enache, Cristina 34
Erbescu, Alina 34, 45

F

Farczadi, Lenard 83
Fere, Cătălina Roxana 26
Foia, Liliana 96
Fotache, Florina 11

G

Găman, Laura 85
Găman, Mihaela 34
Gherlan, Iuliana 55
Gliga, Dumitru Viorel 15
Gorduza, Eusebiu Vlad 56
Grecu, Ioana 74
Grigoraș, Claudia E. 38
Grigore, Camelia 18, 94
Grigore, Nicolae 18, 94
Gubernat, Laura 18
Gudumac, Valentin 84
Gurău, Gabriela 74
Gurban, Camelia Vidița 71
Gurban, Petruta 36
Gyorfi, Imola 76

H

Hadadi, Laszlo 52, 53
Hadjiu, Svetlana 57
Halabudenco, Elena 57
Hurjui, Ion 96

Hurjui, Loredana Liliana 96
Huțanu, Adina 52, 53, 83

I

Iamandi, Mihaela-Emilia 23
Iancu, Alina 74
Iconaru, Simona 24
Ionescu, Gabriel 24, 90
Ionescu, Silvia 27, 61
Ioniță, Hortensia 46
Ioniță, Ioana 46
Ioniță, Natalia 74
Istratenco, Ala 84
Ivanov, Iuliu C. 38

J

Jardan, Cerasela 32
Jardan, Dumitru 32
Jarnea, Maria 74
Jimbu, Laura 49
Jitaru, Daniela 38

K

Kodori, David 98
Kosovski, Irina-Bianca 30
Kovacs, Monika 12

L

Lazar, Crezante 89
Lazar, Veronica 95
Licker, Monica 16
Luncă, Cătălina 73

M

Madacsy, Eszter 100
Maftai, Radu 75
Mambet, Cristina 36, 41
Man, Adrian 12, 19, 20, 30
Manda, Dana Alice 55
Mare, Anca 19, 20, 30
Marinescu, Cristina 34
Marta, Simon 63
Marunțelu, Ion 26
Mateescu, Lorena-Andreea 95
Matei, Lilia 36

Matroș, Luminița 28, 87
 Mănescu, Ion Bogdan 99
 Mentel, Mihaela 38
 Mesaros, Oana 49
 Mihai, Bianca 80
 Mihai, Stejara Nicoleta 26
 Mihály, Enikő 62
 Mihăilă, Camelia 61
 Miklosik, Ioana 9
 Mincu, Nicolae-Bogdan 95
 Mitu, Ivona 75
 Moldovan, Elena 66
 Moldovan, George-Valeriu 30, 52, 53, 60, 66
 Moscalu, Mihaela 96
 Moșin, Veaceslav 56
 Moțoc, Marilena 71
 Murat, Meilin 34
 Mureșan, Andrei 55

N

Nagy-Bota, Monica Cristina 12
 Nășcuțiu, Alexandra-Maria 24
 Necula G., Laura 36
 Nedeianu, Saviana 36
 Nedelcu, Ioana 55, 65
 Nicolescu, Anca 34
 Niculescu-Mizil, Emilia 36

O

Oana, Raluca E. 38
 Olariu, Tudor Rareș 14
 Oltean, Andreea 98
 Oprea, Oana Roxana 76, 79, 89, 99

P

Pandrea, Stanca-Lucia 28, 87
 Pandrea, Stanca-Maria 28, 87
 Papuc, Sorina Mihaela 34, 45
 Pap, Zsuzsanna 12
 Para, Ioana 81
 Pașcanu, Ionela 83
 Patrinoiu, Oana 34
 Pațiu, Mariana 49
 Pavelea, Oana 62
 Pavel-Tanasă, Mariana 27, 61
 Păcurar, Mariana 12

Păduraru, Luminița 40
 Păuleț, Florina Paula 77
 Pepelea, Lia Sorina 28, 87
 Pescaru, Monica 46
 Pinte-Simon, Ionela Anca 12, 19
 Pinte-Simon, Ionela-Anca 20, 30
 Pintilie, Oana M. 38
 Popa, Oana Monica 55, 65
 Popescu, Bogdan 32
 Popescu, Mihaela 34
 Popov, Viola 34
 Pop, Raluca 83
 Potre, Cristina 46
 Potre, Ovidiu 46
 Preda, Petruța 95
 Predoi, Daniela 24
 Pribac, Mirela 12
 Puiu, Maria 58
 Puscașiu, Lucian 66

R

Racoviță, Stela 56, 57
 Radian, Șerban 55
 Rădulescu, Cezar-Cristian 23
 Revenco, Ninel 57

S

Samfireag, Miruna 46
 Saussoy, Pascale 36
 Săndulescu, Ioana 27
 Schipor, Sorina 55, 65
 Serban, Răzvan 52
 Simionese, Ramona Ancuța 99
 Sireteanu, Adriana 38
 Soare, Dan 34
 Sprincean, Mariana 56, 57
 Stanca, Oana 34
 Stan, Diana 95
 Stăncioaica, Camelia 32
 Stoian, Iulia Teodora 26
 Suceava, Ioana 71
 Szabo, Andrea 76
 Szász, Izabella 9
 Székely, Edit 9, 30
 Șaramet, Beatrice Irina 23
 Ștefan, Cristea 94

Ștefan, Cristiana 68
Ștefan, Gabriela 85
Ștefan, Mădălina C. 38
Ștefan, Mihaela 85
Șuvei, Andra-Ioana 23

T

Tatic, Aurelia 32, 36
Tărniceriu, Claudia Cristina 96
Teodor, Oana Mihaela 50, 77, 80
Timișescu, Vlad-Alexandru 27
Toma, Carmen 23
Toma, Felicia 19
Toma, Raluca-Ioana 11
Tompă, Manuela 28, 87
Tompă, Ronald 28, 87
Totan, Maria 18, 94
Toth, Emeric 71
Trifa, Adrian 47
Tripon, Florin 47, 63
Tutunaru, Dana 74
Țărmure, Simina Felicia 81

Țurcan, Natalia 50, 77, 80
Țurcanu, Gabriela 24

U

Ursuleac, Iulia 36
Usein, Codruța Romanița 24

V

Vas, Krisztina Eszter 8, 9
Văcărean-Trandafir, Irina C. 38
Vintilă, Mădălina 65
Vișnevschi, Anatolie 84
Vlădăreanu, Ana-Maria 34, 45
Voican, Irina 34
Vulpe, Adriana 32

Z

Zaharia, Mihaela 83, 100
Zdrenghea, Mihnea 49
Zonda, Gabriela Ildiko 40

Information and guidelines for authors

Manuscript submission

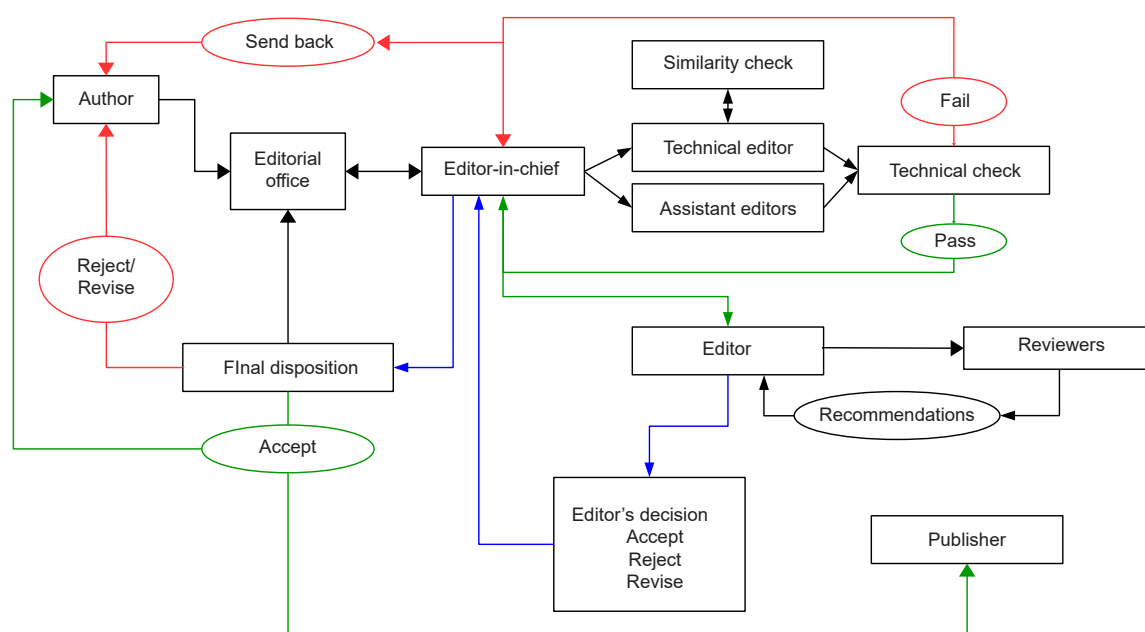
Manuscripts and all attached files (tables and illustrations) should be submitted in electronic form, using the on-line manuscript submission system Editorial System available for Romanian Journal of Laboratory Medicine at <https://www.editorialsystem.com/editor/rrml>

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 Benoist 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 re-submitted 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 proof-reading. 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 Tirgu Mures (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

--

