
Revista Română de Medicină de Laborator

SUPLIMENT 1 LA VOL. 32, NR. 2, APRILIE, 2024

ADVISORY BOARD

Maurizio Ferrari (Univ. „Vita-Salute San Raffaele”, Milan, Italy)

Steliana Huhulescu (Institut für med. Mikrobiologie und Hygiene, Viena, Austria)

Trefor Higgins (DynaLIFE Dx Laboratories, Edmonton, Canada)

Claudia Istrate (Institute of Hygiene and Tropical Medicine, Portugal)

Janos Kappelmayer (Univ. Debrecen, Hungary)

Bernd Kaina (Institute of Toxicology, University Medical Center, Mainz, Germany)

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)

Diana Hortensia Portan (Mech. Eng.& Aeronautics Dept., University of Patras, Greece)

Dan Simionescu (Clemson University, USA)

Ana Maria Simundic (Univ. Zagreb, Croatia)

Cristina Skrypyk (Arabian Gulf University, Manama, Bahrain)

Robert Soslow (Memorial Sloan Kettering Cancer Center, New York, USA)

Graham Beastall (Glasgow Royal Infirmary, U.K.)

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)

Eugen Carasevici (UMF „Gr. T. Popa” Iaşi, Romania)

Petru Cianga (UMF „Gr. T. Popa” Iaşi, Romania)

Daniel Coriu (UMF „Carol Davila” Bucureşti, Romania)

Vlad Gorduza (UMF „Gr. T. Popa” Iaşi, Romania)

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

Evi Lianidou (Clinical Chemistry, Analysis of Circulating Tumor Cells lab, Dept of Chemistry, University of Athens, Greece)

Monica Licker (UMF Timișoara, Romania)

Claudiu Mărgăritescu (UMF Craiova, Romania)

Ioana Neagoe (UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca, Romania)

Dan Oțelea (Institutul Național de Boli Infecțioase „Matei Balș”, Romania)

Tomris Ozben (Akdeniz University Medical Faculty Dept. of Clinical Biochemistry 07. 05. 8 Antalya Turkey)

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

Maya Simionescu (INBC Nicolae Sîminonescu, Bucureşti, Romania)

Margit Şerban (UMF „Victor Babeş” Timișoara, Romania)

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. 32, Nr. 2, Aprilie, 2024

Comitetul de redacție

Redactor șef

Minodora Dobreanu

Redactor adjunct

Adrian Man

Redactori de specialitate

Claudia Bănescu
Ioana Brudașcă
Simona Cernea
Adela Boilă
Daniela Cristina Dimitriu
Doina Ramona Manu
Cristina Mambet
Alina Scridon
Cristina Elena Selicean
Edit Szekely
Camil Vari

Redactori tehnici

Adrian Man
Ion-Bogdan Mănescu
Mihaela Iancu
Marius Mărușteri
Adrian Năznean
Aurora Pașcan
Anișoara Pop
Emanuela Tegla
Marian Pop

Secretariat redacție

Adina Huțanu

Creditări RRML

ISI Web of Knowledge - Începând cu anul 2008, RRML este indexată în ISI Web of Knowledge - Web of Science - Science Citation Index Expanded (Clarivate Analytics).

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

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

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

Table of contents

The 15th National Conference of the Romanian Association of Laboratory Medicine, with international participation	S5
Organizers / Organizatori	S6
Abstracts* / Rezumate*	S7
Authors Index / Index de autori	S95
Information and Guidelines for Authors / Informații și Ghiduri pentru Autori	S99

* The responsibility for the content of the abstracts belongs entirely to the authors.
Responsabilitatea pentru conținutul rezumatelor aparține în întregime autorilor.



VOLUME OF ABSTRACTS

THE 15th NATIONAL CONFERENCE OF THE ROMANIAN ASSOCIATION OF LABORATORY MEDICINE WITH INTERNATIONAL PARTICIPATION

15-17 May 2024, Eforie Nord, Romania



UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ,
FARMACIE, ȘTIINȚE ȘI TEHNOLOGIE
„GEORGE EMIL PALADE”
DIN TÂRGU MUREȘ



UMF
UNIVERSITATEA DE
MEDICINĂ ȘI FARMACIE
IULIU HAȚIEGANU
CLUJ-NAPOCA



UNIVERSITATEA DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
GRIGORE T. POPA IAȘI



UNIVERSITATEA
DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE
„VICTOR BABEȘ” DIN TIMIȘOARA

ORGANIZING COMMITTEE

TÂRGU MUREȘ

Minodora DOBREANU
Adina HUȚANU
Oana OPREA
Marta Andrea FODOR
Ion-Bogdan MĂNESCU
Valeriu MOLDOVAN
Krisztina PÁL
Ramona URZICĂ

BUCUREȘTI

Ileana CONSTANTINESCU
Ariadna RĂDULESCU

IAȘI

Daniela JITARU
Iuliu IVANOV
Mihaela ZLEI

CLUJ NAPOCA

Ioana BRUDAȘCĂ
Cristina SELICEAN

SCIENTIFIC COMMITTEE

Minodora DOBREANU
Ioana BRUDASCĂ
Claudia BĂNESCU
Ileana CONSTANTINESCU
Daniel CORIU
Adina HUȚANU
Oana OPREA
Cristina MAMBET
Daniela JITARU
Iuliu IVANOV
Mihaela ZLEI
Cristina SELICEAN
Adrian MAN
Irina CODIȚĂ
Gabriel IONESCU

R1. TIME FOR A SUSTAINABLE TRANSITION WITHIN THE MEDICAL LABORATORIES

Tomris Ozben

International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (IFCC), President
European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM), Past-President
EFLM Task Force-Green and Sustainable Labs, Chair

Laboratory medicine should contribute to a sustainable healthcare system ensuring that resources are used efficiently from ecological, social, and economical perspectives, while providing high-quality services to patients and physicians. It will be a challenge for clinical laboratories to achieve sustainable operations. Clinical laboratories use more energy and water than offices and generate huge amounts of hazardous and non-hazardous wastes every year. Clinical laboratories can limit their environmental impact and provide sustainable laboratory services making reductions in four key areas—energy consumption, water consumption, waste production, and use of hazardous chemicals. Establishing sustainable development goals and applying multiple means for reductions in these key areas, clinical laboratories can reduce their environmental impact. By being mindful of the environmental impact of everyday actions in a lab, and by taking steps to minimize energy, water, and hazardous chemical use, as well as waste generation, a clinical lab can be transformed into a safe, sustainable space. Sustainability measures should be a key feature in the rapidly changing healthcare environment to reduce their negative impacts on the environment and economy. Laboratory medicine community should lead the shift to carbon neutrality by decreasing their deleterious environmental impact and implementing efficient approaches to address the effects of climate change and pollution without compromising the quality of healthcare. In order to provide high-quality, effective, and safe healthcare services, sustainable healthcare systems need to overcome major economic and social challenges. Though there will be initial capital costs, there is a long-term cost-saving potential of a more efficient use of energy and other resources in healthcare systems. Despite this, there is a long way to go for environment-friendly hospitals, healthcare structures, and clinical laboratories to become the norm. Good collaboration among the healthcare systems and a common vision for future actions would help to achieve such goals.

R2. SUSTENABILITATEA ÎN LABORATOARELE MEDICALE DIN ROMÂNIA

Adina Huțanu^{1,2}

¹ Spitalul Clinic Județean de Urgență, Laborator Analize Medicale, Târgu Mureș

² Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie "George Emil Palade" Târgu Mureș, Departamentul M2, Medicină de Laborator

Introducere: Sectorul de sănătate, inclusiv laboratoarele, contribuie cu 4,4% la emisiile globale de gaze cu efect de seră. În concordanță cu obiectivele stabilite în Green Deal-ul Comisiei Europene, EFLM a inițiat în anul 2022 Grupul de Lucru Green&Sustainable Labs, cu misiunea de a promova sustenabilitatea în laboratoarele medicale, concentrându-se asupra utilizării eficiente a resurselor și implementării practicilor durabile.

Metode: Studiul desfășurat sub umbrela AMLR își propune evaluarea prin intermediul unui chestionar anonim a aspectelor legate de sustenabilitate în cadrul laboratoarelor medicale din România, analizând adoptarea conceptului de "Laborator Verde", deschiderea către inovații tehnologice și utilizarea echipamentelor și resurselor cât mai eficient din punct de vedere energetic. De asemenea, s-a urmărit evaluarea gradului de conștientizare și pregătire a personalului pentru practici sustenabile.

Rezultate: Atât laboratoare de stat cât și particulare au răspuns la chestionar, o proporție semnificativă a respondenților fiind deja familiarizați cu conceptul de sustenabilitate în laboratorul de analize medicale. Majoritatea laboratoarelor nu au o politică de sustenabilitate la nivel organizațional, nu au o persoană desemnată pentru această tranziție, și nici nu este cunoscută opinia conducerii instituției pe această temă.

Concluzii: Procesul de transformare a laboratoarelor către o activitate sustenabilă vizează reducerea cheltuielilor și a resurselor prin abordarea simultană a celor patru domenii principale: conservarea energiei, reducerea consumului de apă, gestionarea substanțelor chimice și gestionarea deșeurilor. La nivel instituțional însă, este necesară integrarea factorilor de mediu într-un concept mai extins care să includă și factorii sociali și de guvernare corporativă.

Cuvinte cheie: sustenabilitate, amprenta de carbon, mediul

R2. SUSTAINABILITY IN ROMANIAN MEDICAL LABORATORIES

Adina Huțanu^{1,2}

¹ Emergency Clinical County Hospital of Târgu Mureș

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

Introduction: The healthcare sector, including laboratories, contributes to 4.4% of global greenhouse gas emissions. In line with the objectives established in the Green Deal of the European Commission, the Green&Sustainable Labs Working Group was initiated in 2022 by EFLM to promote sustainability in medical laboratories, focusing on efficient resource use and sustainable practices implementation.

Methods: The study evolved under the AMLR umbrella aims to evaluate sustainability across Romanian medical laboratories, through an anonymous questionnaire. It analyzes the implementation of the "Green Laboratory" concept, the openness to technological innovations, and the efficient use of equipment and resources from an energy point of view. The study also evaluates staff awareness and training for sustainable practices.

Results: Both state and private laboratories responded to the questionnaire, with a significant proportion of respondents already familiar with the concept of sustainability in the medical laboratory. However, most laboratories do not have a sustainability policy at the organizational level, nor a person designated for this transition, and the management opinion on this topic is unknown.

Conclusions: The process of transforming laboratories into sustainable ones aims to reduce expenses and resources by simultaneously addressing the four main areas, energy conservation, water reduction, chemicals, and waste management. However, at the institutional level, it is necessary to integrate the specific environmental factors into an extended concept that incorporates social and corporate governance factors.

Keywords: sustainability, carbon footprint, environment

R3. ESG FOR MEDICAL LABORATORIES, HOW TO IMPLEMENT FROM THEORY TO PRACTICE

Carlos Garces

Medical Society of Clinical Laboratory of Chile, President

The term ESG (Environmental, Social, and Governance) has become a central element in the business and financial world in recent decades. At its core, ESG represents a set of criteria used to evaluate a company's performance in areas related to the environment, social aspects, and corporate governance. These criteria not only consider a company's financial aspects but also its impact on society and the environment in which it operates. Now, how is this applied to clinical laboratories, and what are the implications in the context of European regulations?

To understand the application of ESG in clinical laboratories, it is essential to break down each of the components that make up this approach.

Starting with the environment, clinical laboratories have a significant impact in terms of natural resource consumption, waste generation, and emissions. From energy usage to chemical and biological waste management, a laboratory's operations can have both direct and indirect effects on the environment. In this regard, implementing sustainable practices, such as reducing energy consumption, recycling waste, and adopting cleaner technologies, can not only contribute to environmental protection but also to operational efficiency and long-term cost reduction.

Regarding the social component of ESG, clinical laboratories have the responsibility to ensure the safety and well-being of both their staff and patients. This includes aspects such as equity in access to healthcare, workplace safety, diversity and inclusion, and respect for human rights. Additionally, in a broader context, laboratories can contribute to social and economic development in the communities they operate in, whether through corporate social responsibility programs, collaborations with educational institutions, or community development initiatives.

Finally, concerning corporate governance, it is crucial for clinical laboratories to operate with high standards of transparency, ethics, and accountability. This entails establishing clear policies and procedures in areas such as risk management, ethics in medical research, financial disclosure, and independence of governance bodies. Moreover, given the growing interest of investors and regulators in sustainability and corporate responsibility, clinical laboratories can benefit from robust governance that fosters trust and credibility both internally and externally.

In the context of European regulations, it is important to highlight that the European Union has adopted a progressive approach to integrating ESG considerations into legislation and policies related to the business sector. For example, in the environmental field, the EU has established directives and regulations to promote energy efficiency, reduce greenhouse gas emissions, and encourage the circular economy. In the social field, measures have been implemented to protect labor rights, ensure workplace safety, and promote gender equality. Regarding corporate governance, standards have been set to enhance transparency in information disclosure, strengthen the independence of boards of directors, and promote shareholder engagement in corporate decision-making.

In this regulatory context, clinical laboratories operating in the European Union are subject to a series of requirements and obligations related to environmental compliance, social responsibility, and corporate transparency. This means that they must integrate ESG considerations into their business strategy, adopt sustainable practices in their operations, and comply with the disclosure standards required by European legislation.

In summary, the ESG approach offers an opportunity for clinical laboratories to not only improve their environmental, social, and governance performance but also to strengthen their competitive position, increase their attractiveness to investors, and contribute to the well-being of society as a whole. In an increasingly sustainability- and corporate responsibility-oriented European regulatory environment, effectively integrating ESG considerations into the operation and management of clinical laboratories emerges as both an ethical and strategic imperative.

R4. NEW REIMBURSEMENT MODELS TO PROMOTE BETTER PATIENT OUTCOMES AND OVERALL VALUE IN LABORATORY MEDICINE AND HEALTHCARE

Tommaso Trenti

Director of Department of Laboratory Medicine, OCSAE, Azienda USL of Modena, Modena, Italy

The most widespread healthcare reimbursement models, including diagnostic laboratory services, are Fee-for-Service Model, Reference Pricing, Diagnosis-Related Groups where healthcare providers are rewarded for each specific service or procedure they operate.

Healthcare payers are increasingly exploring new systems, such as bundled payments or value-based reimbursement to encourage better patient outcomes together overall value of care rather than just the amount of delivered services. These alternative models are advised as more effective in promoting cost-effective, high-quality laboratory testing improving patient health outcomes.

If the outcomes-based evaluation is a pillar in a new thinkable “Medicine Value-Based Healthcare”, an active policy of Value-Based Reimbursement in Laboratory Medicine is assuring both an efficiency-based sustainability and a high-quality effectiveness-based diagnostic activity.

The aim of this presentation is to review current proofs on reimbursement models to develop a wider agenda to provide more effective Value-Based Healthcare and Value-Based Reimbursement in Laboratory Medicine consequently guiding the quality of care. This change will have several potential benefits for healthcare providers, patients and laboratory professionals, through the promotion of value-based care, cost effectiveness and quality improvement. Linking healthcare outcome evidence to diagnostic tests is a very challenging issue, but it is vital to demonstrate the key role of laboratory medicine.

The greatest challenge will be in the definition of appropriate outcome measurements in establishing meaningful outcome metrics that reflect the value of diagnostic testing among healthcare providers and payers. Laboratory professionals have responsibility to facilitate optimal use of the laboratory tests, and have the adequate knowledge to improve a clinical diagnosis in consultation with a physician. It is possible to promote a Value-Based Healthcare and Value-Based Reimbursement in laboratory medicine by merging the “production process cost evaluations” with the assessment of outcomes in an integrated framework linking theory to diagnostic clinical practice.

R5. INTELIGENȚA ARTIFICIALĂ ÎN MEDICINA DE LABORATOR A SECOLULUI XXI

Minodora Dobreanu^{1,2}

- 1 Spitalul Clinic Județean de Urgență, Laborator Analize Medicale, Târgu Mureș
- 2 Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie "George Emil Palade" Târgu Mureș, Departamentul M2, Medicină de Laborator

Inteligența artificială (AI) și învățarea automată (ML) nu sunt concepte noi pentru laboratoarele clinice, dar în zilele noastre au conotații noi și devin mai integrate în viața noastră profesională (și de zi cu zi).

Câteva exemple de implementare imediată a AI / ML în rutina laboratorului clinic care au fost studiate și utilizate, cum ar fi automatizarea totală a laboratorului (TLA), optimizarea fluxului de lucru, interpretarea personalizată a testelor de laborator, îmbunătățirea sistemelor informatice de medicină de laborator și încorporarea AI pentru detectarea modelelor în utilizarea testelor care ar putea fi îmbunătățite. Indiferent de mărimea și organizarea internă a laboratorului, TLA este produs pentru a efectua integrarea activității standard a autoanalizoarelor multifuncționale. Au fost propusi algoritmi AI (cum ar fi *Delta check*, *Moving average*, *Reference change values*, etc) care pot monitoriza activitățile de laborator în timp real pentru a identifica anomalii, erori sau inconsecvențe. AI joacă un rol crucial nu numai în controlul calității și detectarea erorilor în medicina de laborator, ci și în monitorizarea și optimizarea diferitelor procese. Acest lucru ajută la asigurarea acurateții și fiabilității rezultatelor testelor, îmbunătățind în cele din urmă asistenta și siguranța pacienților.

Laboratoarele clinice produc o cantitate imensă de informații, dintre care rezultatele pacienților sunt doar o parte. Datele produse de laboratoare sunt componente importante încorporate în instrumentele IA pentru a genera soluții clinice. Soluțiile AI / ML promet să utilizeze cantități mari de date medicale pentru a crea interpretări personalizate ale rezultatelor testelor. Modelele IA vor ajuta numai dacă datele utilizate vor reflecta populația deservită : trebuie implementată validarea clinică a algoritmilor.

Există provocări importante pe care laboratoarele trebuie să le rezolve înainte ca AI / ML avansat să poată fi utilizat în activitatea de rutină: necesitatea de a colecta date de calitate și de a gestiona costurile asociate cu personalul și infrastructura pentru a dezvolta instrumentele software și algoritmi; siguranța că datele de laborator generate sunt cât mai robuste posibil, deoarece performanța instrumentelor AI / ML va avea calitatea rezultata din cea a pachetelor de date colectate. Considerații etice: nu sunt încă disponibile recomandări general acceptate privind bunele practici pentru consimțământul pacienților și protecția vieții private în colectarea și utilizarea datelor pentru AI / ML în cercetarea biomedicală; lipsa de familiarizare cu noua tehnologie poate fi o barieră în selectarea soluțiilor IA adecvate.

Cuvinte cheie: Inteligență artificială (AI), învățare automată (ML), algoritmi

R5. ARTIFICIAL INTELLIGENCE IN THE LABORATORY MEDICINE OF THE XXIST CENTURY

Minodora Dobreanu^{1,2}

- 1 Emergency Clinical County Hospital of Târgu Mureș
- 2 George Emil Palade University of Medicine, Pharmacy, Science, and Technology of Târgu Mureș, Department of Laboratory Medicine

Artificial Intelligence (AI) and machine learning (ML) are not new concepts to clinical laboratories, but nowadays they have new connotations and become more integrated into our professional (and daily) lives.

Some examples of immediate AI/ML implementation in routine clinical laboratory that have been studied and used, such as total laboratory automation (TLA), workflow optimization, personalized laboratory test interpretation, improving laboratory medicine information systems and incorporating AI for detecting patterns in test utilization that could be improved. Regardless of size and internal laboratory organization, the TLA is produced to carry out the standard work of integrated multi-purpose auto-analysers. AI algorithms (like Delta check, Moving average, Reference change values, i.e.) can monitor laboratory processes in real-time to identify anomalies, errors or inconsistencies. AI plays a crucial role not only in quality control and error detection in laboratory medicine, but also in monitoring and optimizing various processes. This helps ensure the accuracy and reliability of test results, ultimately improving patient care and safety.

Clinical laboratories produce a huge amount of information, of which patients' results are only a part. Data produced by laboratories are important components incorporated into AI tools to generate clinical solutions. AI/ML technology promises to use large amounts of medical data to create personalized interpretations of test results. AI models will help only if the data used will reflect the population served: clinical validation of the algorithms needs to be implemented.

There are important challenges laboratories needs to solve before the advanced AI/ML can be used in routine work: the need to collect quality data and to manage costs associated with personnel and infrastructure to develop software tools and algorithms; to be sure that the generated laboratory data is as robust as possible, because AI/ML tools performance is only going to be as good as the collected data sets are. Ethical Considerations: for patient consent and privacy protection no generally accepted guidelines on good practices in collection and using of AI/ML data for biomedical research are available yet; lack of familiarity with the new technology can be a barrier to selecting appropriate AI solutions for use.

Keywords: Artificial Intelligence (AI), machine learning (ML), algorithms

R6. NOUA POLITICĂ ILAC P9 ȘI CERINȚELE ESENȚIALE ASOCIATE PENTRU FURNIZORII DE ÎNCERCĂRI DE COMPETENȚĂ

Radu Ilinca, Ionuț Adrian Chiriac, Ionela Ganea

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

Introducere: Încercările de competență (PT) au un rol important în activitatea unui laborator de analize medicale. PT-urile sunt utilizate pentru a monitoriza validitatea rezultatelor emise de către laborator. Alegerea unui furnizor de PT-uri nu este întotdeauna o decizie imediată și o serie de criterii trebuie îndeplinite pentru a asigura o selecție adecvată. Politica ILAC P9:01/2024 și standardul ISO 17043:2023 reprezintă documente care oferă informații utile laboratorului în vederea definirii unei strategii de selecție a furnizorului de PT-uri.

Metode: Politica ILAC P9:01/2024 și standardul ISO 17043:2023 sunt documente disponibile online. Pe baza unei analize corelate a acestor documente, un set de cerințe cheie au fost identificate pentru ca laboratorul să poată selecta un furnizor de PT-uri adecvat. Aceste cerințe din ISO 17043:2023 ajută laboratorul să evalueze un potențial furnizor de PT-uri în vederea selectării.

Rezultate: Cu toate că a fost emis în special pentru organismele de acreditare (OA), Politica ILAC P9:01/2024 oferă definiții importante pentru termeni generici precum disponibilitate și adecvare a furnizorilor de PT-uri din perspectiva unui laborator de analize medicale. Politica definește o ierarhie de decizie în ceea ce privește selectarea furnizorilor de PT-uri. Este de asemenea specificat că laboratorul este cel din urmă responsabil în ceea ce privește confirmarea competenței tehnice a furnizorului. Competența tehnică poate fi demonstrată și printr-o evaluare derulată de către laborator. Comparările interlaboratoare pot fi luate în calcul doar în cazul în care un furnizor de PT-uri adecvat nu este disponibil.

Concluzii: Stabilirea și documentarea criteriilor de selectare a furnizorilor de PT/ILC este o activitate esențială în procesul de selecție. Nou actualizatele documente ILAC P9:01/2024 și ISO 17043:2023 aduc clarificări suplimentare pentru un laborator de analize medicale.

R6. THE NEW ILAC P9 POLICY AND THE ESSENTIAL REQUIREMENTS FOR A COMPETENT PT PROVIDER

Radu Ilinca, Ionuț Adrian Chiriac, Ionela Ganea

"Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania

Introduction: Proficiency testing (PT) plays an important role in the framework of a medical laboratory. PT is to be used to monitor the laboratory's validity of results. Selecting a proficiency testing provider is not always straightforward and several criteria have to be met in order to ensure an adequate selection. The ILAC P9:01/2024 and ISO 17043:2023 documents provide useful information for a laboratory which help to tailor the best strategy for selecting a proficiency testing provider.

Methods: The ILAC P9:01/2024 and ISO 17043:2023 documents are available online. By a correlated careful analysis of these documents, several objective key points were identified such that a medical laboratory can select an appropriate proficiency testing provider. Relevant key requirements from ISO 17043:2023 that help assess the PT-provider towards selection were identified.

Results: While mainly written for Accreditation Bodies (AB), ILAC P9:01/2024 gives important definitions for generic terms, like availability and appropriateness of a PT-provider from the laboratory's perspective. The Policy specifies a decision hierarchy for selecting the PT-providers. It is also specified that the laboratory is ultimately responsible for determining the technical competence of a provider. Technical competence can also be proved by an assessment done by the laboratory. Interlaboratory Comparisons are to be envisaged only when an adequate PT-provider is not available.

Conclusions: Establishing objective and documented criteria for selection of a PT/ILC provider is an essential part of the selection process. The newly updated ILAC P9:01/2024 and ISO 17043:2023 bring much clarification for a medical laboratory.

Referințe / References:

1. ILAC P9:01/2024 ILAC Policy for Proficiency Testing and/or Interlaboratory comparisons other than Proficiency Testing. [Internet]. ILAC.2024; [cited 2024 March 20]. Available from: <https://ilac.org/publications-and-resources/ilac-policy-series/>
2. Iso/iec 17043:20123 [Internet]. ISO. 2020 [cited 2022 Nov 13]. Available from: <https://www.iso.org/standard/80864.html>

C1. SCORUL Z - INSTRUMENT ESENȚIAL ÎN EVALUAREA CONTROLULUI EXTERN AL CALITĂȚII

Diana Handolescu¹, Oana Oprea^{1,2}, Minodora Dobreanu^{1,2}

¹ Spitalul Clinic Județean de Urgență, Laborator Analize Medicale, Târgu Mureș

² Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie "George Emil Palade" Târgu Mureș, Departamentul M2, Medicină de Laborator

Introducere: Scorul Z este cel mai des folosit parametru de evaluare în cadrul programelor de control extern. Acesta evidențiază abaterile standard ale unei valori obținute față de valoarea medie atribuită prin metode statistice. Scopul studiului a fost de a evalua scorul Z în cadrul unui program în care se utilizează seruri comutabile.

Metode: Prezentul studiu a fost desfășurat pe perioada a 5 runde. În fiecare rundă a fost preparată o probă de origine umană în laboratorul 1, care a fost ulterior expediată către celelalte 32 de laboratoare participante la studiu. Probele au fost rulate în termen de 24-48h, pe unul sau mai multe aparate, în funcție de dotarea fiecărui laborator. Din rezultatele obținute, s-a calculat deviația standard (DS), media și scorul Z pentru fiecare echipament participant.

Rezultate: A fost calculat un total de 3255 scoruri Z, dintre care: 67% (2183 rezultate) au fost cuprinse între $-/+1$ (dintre acestea 141 = 0), 26% (826 rezultate) au fost cuprinse între $-/+2$ iar 5% (173 rezultate) au fost cuprinse între $-/+3$, iar restul de 2% (73 rezultate) au fost peste $-/+3$.

Concluzii: Realizarea unui control extern cu seruri comutabile poate contribui la evaluarea rezultatelor laboratorului în raport cu alte echipamente și metode, fără a exista efect de matrice.

Cuvinte cheie: scor z, control extern

C1. Z-SCORE - AN ESSENTIAL TOOL IN ASSESSING EXTERNAL QUALITY CONTROL

Diana Handolescu¹, Oana Oprea^{1,2}, Minodora Dobreanu^{1,2}

¹ Emergency Clinical County Hospital of Târgu Mureș

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

Introduction: The Z-score is the most frequently used parameter in external control programs. It highlights the standard deviations of a value obtained from the average value assigned by statistical methods. The aim of the study was to evaluate the Z-score in a program using switchable serums.

Methods: The present study was conducted during 5 rounds. In each round, a sample of human origin was prepared in laboratory 1, which was subsequently shipped to the other 32 laboratories participating in the study. The samples were tested within 24-48 hours, on one or more devices, depending on the equipment available in each laboratory. From the obtained results, the standard deviation (SD), average value and Z-score were calculated for each participating equipment.

Results: A total of 3255 Z-scores were calculated, of which: 67% (2183 results) were between $-/+1$ (of which 141 = 0), 26% (826 results) were between $-/+2$ and 5% (173 results) were between $-/+3$, and the remaining 2% (73 results) were above $-/+3$.

Conclusions: Performing an external control with switchable serums can contribute to the evaluation of laboratory results in relation to other equipment and methods, without matrix effect.

Keywords: z-score, external control

R7. INTERPRETAREA CONTROLULUI EXTERN: ALTERNATIVE LA SCORUL Z

Oana Oprea^{1,2}, Diana Handolescu¹, Minodora Dobreanu^{1,2}

¹ Spitalul Clinic Județean de Urgență, Laborator Analize Medicale, Târgu Mureș

² Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie "George Emil Palade" Târgu Mureș, Departamentul M2, Medicină de Laborator

Introducere: Majoritatea schemelor comerciale de evaluare externă a calității analizează performanța laboratorului utilizând scorul Z și valorile de consens ale parametrilor evaluați. Standardul SR EN 15189:2023 permite abordarea alternativă a evaluării externe a calității. Scopul studiului a fost de a analiza rezultatele obținute de participanți la controlul extern utilizând variația biologică (CVi%) și compararea acestora în funcție de nivelele de decizie clinică.

Metode: În cadrul acestui studiu pilot, care a inclus 33 de laboratoare, au fost distribuite probe de ser de origine umană pe parcursul a 5 runde, pentru testarea a 14 parametri de biochimie. Pentru 5 dintre parametri a fost calculată diferența între echipamente la nivele de decizie clinică recomandate. În cadrul rundei a 5-a a fost solicitat suplimentar coeficientul de variație analitic (CVa). Pe baza CVa și a Bias-ului calculat pe parcursul rundelor de control a fost calculată eroarea totală a metodei.

Rezultate: Raportat la criteriile de diagnostic ale diabetului zaharat și a rezultatelor obținute pentru glicemie, în două dintre laboratoarele participante pacientul a fost clasificat în altă categorie. Pentru profilul lipidic în cinci laboratoare pacientul a fost inclus în altă categorie de risc, în timp ce 12 laboratoare au inclus pacientul în altă categorie de afectare renală, în funcție de rata filtrării glomerulare estimată. În unele cazuri, deși valoarea scorului Z a fost acceptabilă, Bias-ul metodei a depășit cerințele minime acceptate.

Concluzii: Schemele de control extern pot aduce informații suplimentare referitoare la performanța analitică și la includerea pacienților în diverse categorii, în funcție de pragurile de decizie clinică.

Cuvinte cheie: abordare alternativă, control extern, coeficient de variație

R7. EXTERNAL QUALITY ASSESSMENT: ALTERNATIVES FOR THE Z-SCORE

Oana Oprea^{1,2}, Diana Handolescu¹, Minodora Dobreanu^{1,2}

¹ Emergency Clinical County Hospital of Târgu Mureș

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

Introduction: The majority of external quality assessment schemes evaluate laboratory performance using Z-score and consensus values of the evaluated parameters. The SR EN 15189:2023 standard allows for an alternative approach to external quality assessment. The aim of the study was to assess the results obtained by participants using biological variation (CVi%) and comparing the results obtained based on clinical decision levels.

Methods: In a pilot program, human serum samples were distributed to 33 participating laboratories over 5 rounds. The participating laboratories performed and reported results for 14 biochemical parameters. For 5 parameters, the difference between equipments at recommended clinical decision levels was calculated. In round 5, the analytical coefficient of variation (CVa) was also requested. Using CVa and the calculated Bias in the control rounds, the Total Error was calculated.

Results: In the case of blood glucose, in two laboratories, the patient is included into another category based on the diagnostic criteria for diabetes mellitus. Five laboratories have reclassified the patient into another risk category based on the level of serum lipids, while 12 laboratories have included the patient in another category based on the estimated glomerular filtration rate. In some cases, although the obtained Z-score value was acceptable, the method's bias exceeded the minimum accepted requirements.

Conclusion: External quality control schemes can provide additional information regarding the classification of patients into various clinical categories and the analytical performance achieved.

Keywords: alternative approach, external quality assessment, Z score

R8. TESTELE DE CITOMETRIE ÎN FLUX DEZVOLTATE ÎN LABORATOR ȘI RIGORILE REGULAMENTULUI UNIUNII EUROPENE 2017/746

Mihaela Zlei, Mihaela Mențel, Claudia Grigoras, Daniela Jitaru

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

Introducere: Regulamentul Uniunii Europene 2017/746 (EU-IVDR) indică faptul că testele de laborator certificate CE-IVD utilizate în afara intenției lor clinice, într-o manieră semnificativ diferită sau în combinații (cum ar fi panelurile de anticorpi monoclonali/Ac fluorocromati utilizate în diagnosticul bolilor hemato-oncologice prin citometrie în flux-FC) devin teste in house (Laboratory Developed Tests- LDTs) [1-3]. Prin urmare, laboratoarele care efectuează teste hematologice specializate pentru diagnosticul, clasificarea și monitorizarea leucemiilor/limfoamelor se bazează în principal pe LDTs, întrucât de regulă nu există pe piață alternative CE-IVD. Aceste laboratoare se ghidează după experiența consorțiilor multicentre (e.g. EuroFlow) capabile să livreze combinații standard de markeri, care răspund optim la întrebări clinice relevante.

Metode: În Departamentul de Imunofenotipare IRO-Iași s-au inventariat testele utilizate și statutul lor IVD/RUO.

Rezultate: Cincisprezece teste (paneluri de 249 intrari de Ac-fluorocromati) sunt utilizate în prezent la IRO pentru diagnosticarea și monitorizarea bolilor hemato-oncologice prin FC. 11/15 paneluri IRO sunt EuroFlow-echivalente în proporție de 97% (7/249 Ac sunt non-EuroFlow), 65% Ac sunt certificați CE-IVD și 3/87 Ac-RUO au o alternativă CE-IVD disponibilă pe piață. Patru paneluri IRO pentru care nu există încă o alternativă standard EuroFlow/CE-IVD (pentru monitorizare în leucemia acută mieloidă, leucemia acută limfoblastică-T, sindroamele limfoproliferative cu celule B/SLP-B și SLP-T) sunt create in house, prin modificarea panelurilor de diagnostic EuroFlow.

Concluzii: EU-IVDR nu furnizează un cadru clar de reglementare a utilizării clinice a testelor de FC, prin urmare, detaliile tehnice despre cum se implementează FC-LDTs în rutină, cum se testează performanța lor și cum se elaborează planurile/rapoartele de validare trebuie stabilite prin ghiduri naționale.

Cuvinte cheie: legislație europeană, citometrie în flux, teste in house

R8.FLOW CYTOMETRY LABORATORY-DEVELOPED TESTS AND REQUIREMENTS OF EUROPEAN UNION REGULATION 2017/746

Mihaela Zlei, Mihaela Mențel, Claudia Grigoras, Daniela Jitaru

Medical Laboratory, Regional Institute of Oncology, Iasi, Romania

Introduction: EU-IVDR (European Union Regulation 2017/746) indicates that CE-IVD-certified laboratory tests used outside their declared intended clinical purpose, significantly altered, or in combinations (such as the use of diagnostic panels of fluorochrome-conjugated monoclonal antibodies by flow cytometry-FC) are classified as in house/laboratory developed tests (LDTs) [1-3]. Therefore, laboratories performing specialized hematology assays to diagnose, classify, and monitor leukemias/lymphomas rely mostly on LDTs and the availability of CE-IVDs alternatives for whole combinations (panels) is very scarce. Such laboratories rely on guidance from multi-center consortia (such as EuroFlow) capable of designing and testing standard combinations of markers that optimally address relevant clinical questions.

Methods: An inventory of tests used in the Department of Flow-Cytometry, IRO-Iasi and the check of their EU regulatory status was performed.

Results: Fifteen tests (panels of 249 entries of fluorochrome conjugated antibodies/Abs) are currently used in our department for the diagnosis and monitoring of malignant hemopathies by FC. 11/15 IRO-panels are 97% EuroFlow equivalent (7/249 Abs are non-EuroFlow), 65% Abs are CE-IVD-certified and 3/87 RUO reagents have a CE-IVD alternative available on the market. Four IRO panels (for the assessment of measurable residual disease in acute myeloid leukemia, T-acute lymphoblastic leukemia, B-cell lymphoproliferative diseases/B-CLPD and T-CLPD) that do not yet have an EuroFlow/CE-IVD standard alternative are designed in house as an adaptation of diagnostic EuroFlow panels.

Conclusions: EU-IVDR does not cover the lack of a regulatory framework for FC-based assays, technical details on how to introduce LDTs into routine, how to test their performance, nor how to design validation plans/reports.

Keywords: IVDR, Flow cytometry, LDTs

Referințe / References:

1. The European Parliament and the Council of the European Union (2017). Regulation (EE) 2017/746 Of The European Parliament and of the Council of 5 April 2017 on in vitro diagnostic medical devices and repealing Directive 98/79/EC and Commission Decision 2010/227/EU. Official Journal of the European Union, p117-176.
2. Lambert C et al (2020). Flow Cytometric Analyses of Lymphocyte Markers in Immune Oncology: A Comprehensive Guidance for Validation Practice According to Laws and Standards. Front Immunol. 2020 Sep 17;11:2169
3. Lubbers BR et al (2023). Experience With IVDR Implementation in Three Diagnostic Laboratories: Messages to EU Health Institutions, Diagnostic Healthcare Payers, and Authorities. Hemasphere. 2023 Mar 7;7(4):e865

C2. VERIFICAREA TRANSFERABILITĂȚII VALORILOR DE REFERINȚĂ ALE CRE-ATININEI SERICE

Oana Oprea^{1,2}

¹ Spitalul Clinic Județean de Urgență, Laborator Analize Medicale, Târgu Mureș

² Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie "George Emil Palade" Târgu Mureș, Departamentul M2, Medicină de Laborator

Introducere: Valorile de referință pe care laboratorul le raportează pe buletinele de analiză trebuie să fie potrivite populației care se adresează laboratorului. Acestea pot fi preluate din mai multe surse dar transferabilitatea lor trebuie să fie justificată. Scopul studiului a fost de a verifica transferabilitatea valorile de referință ale producătorului pentru creatinina serică la adulți.

Metode: Au fost selectați câte 20 de pacienți adulți, femei și bărbați, care au îndeplinit criteriile necesare pentru a face parte din populația de referință. Criteriile de partiție au fost stabilite în funcție de criteriile din literatura de specialitate și conform caracteristicilor populației care se adresează laboratorului. Selecția indivizilor incluși a fost efectuată prospectiv, nerandomizat. Rezultatele creatininei serice au fost comparate cu valorile din prospectul producătorului, conform recomandărilor.

Rezultate: Pe lângă partiția în funcție de sex, a fost stabilite două partiții de vârstă: 18-65 ani, respectiv peste 65 ani, atât pentru femei cât și pentru bărbați. S-au obținut 4 grupuri, din fiecare fiind incluși câte 20 de indivizi. În niciunul din cele 4 grupuri, mai mult de 2 indivizi nu s-au situat în afara valorilor de referință raportate de producătorul reactivului.

Concluzii: Valorile obținute la indivizii selectați au îndeplinit criteriile recomandate pentru transferabilitate astfel că laboratorul poate raporta valorile de referință ale producătorului.

Cuvinte cheie: transferabilitate, valori de referință, creatinină

C2. VERIFICATION OF THE TRANSFERABILITY OF REFERENCE VALUES FOR SERUM CREATININE

Oana Oprea^{1,2}

¹ Emergency Clinical County Hospital of Târgu Mureș

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

Introduction: The reference values reported by the laboratory on the analysis reports must be appropriate for the population addressed by the laboratory. These values can be obtained from multiple sources, but their transferability must be verified. The aim of the study was to verify the transferability of the manufacturer's reference values for serum creatinine in adults.

Methods: Twenty adult patients, both females and males, who met the necessary criteria to be part of the reference population, were selected. Partition criteria were established based on criteria from the specialized literature and according to the characteristics of the population addressed by the laboratory. The selection of included individuals was prospective and non-randomized. Serum creatinine results were compared with the values from the manufacturer's insert, following recommendations.

Results: In addition to partitioning by sex, two age partitions were established: 18-65 years and over 65 years, both for females and males. Four groups were obtained, each including 20 individuals. In none of the four groups did more than 2 individuals fall outside the reference values reported by the reagent manufacturer.

Conclusion: The values obtained from the selected individuals met the recommended criteria for transferability, thus allowing the laboratory to report the manufacturer's reference values.

Keywords: transferability, reference values, creatinine

P1. BIOSENZOR ELECTROCHIMIC PENTRU MONITORIZAREA TRATAMENTULUI ONCOLOGIC CU ETOPOZID

Dana Stan, Andreea-Cristina Mirică, Sorin Mocanu, Diana Stan, Lorena-Andreea Bocancia-Mateescu

DDS Diagnostic SRL

Introducere: Cancerul reprezintă a doua cea mai mare cauză de deces în țările Uniunii Europene, iar procentul de mortalitate crește de la an la an [1]. Conform raportului „Sănătatea pe scurt: Europa”, diagnosticarea timpurie și administrarea mai eficientă a tratamentului pot preveni peste 40% din cazurile de cancer [2]. Scopul principal al acestui studiu este dezvoltarea unui biosenzor electrochimic pentru cuantificarea medicamentului antineoplazic etopozid.

Metode: Experimentele electrochimice au fost efectuate utilizând potențostatul Interface 1010E (Gamry Instruments) și electrozi serigrafiați cu electrodul de lucru din aur (Nanom Mems SRL). Suprafața electrozilor a fost funcționalizată prin tehnica MIP (Molecularly Imprinted Polymer). Tehnica a constat în electropolimerizarea pirrolului în prezența etopozidului, care a fost extras ulterior, lăsând în urmă cavități complementare ca dimensiune, formă și grupări funcționale ca medicamentul, ceea ce permite detecția selectivă a acestuia cu ajutorul metodelor electrochimice precum Voltametria în Puls Diferențial (DPV).

Rezultate: Caracterizările electrochimice obținute în etapa de funcționalizare a senzorului pentru obținerea MIP arată depunerea polipirrolului cu molecula *șablon înglobată*, precum și excizarea acesteia, obținându-se cavitățile complementare. Rezultatele preliminare au demonstrat că biosenzorul obținut poate detecta cu acuratețe o gamă de concentrații de etopozid, de la 0,6 μM până la 2 μM , cu un coeficient de determinare $R^2=0.98$.

Concluzii: Dezvoltarea biosenzorilor electrochimici pentru detecția agenților antitumorali abordează nevoia critică de monitorizare personalizată în oncologie. Conform rezultatelor obținute, în etapele următoare ne propunem optimizarea biosenzorului și validarea acestuia în laborator prin testarea cu probe din ser/plasmă, sintetice, îmbogățite cu medicament.

Mulțumiri: Această lucrare a fost susținută de un grant al Ministerului Educației și Cercetării din România CCCDI- UEFSCDI, numărul de proiect PN-III-P2-2.1-PTE-2021-0444, 69PTE/2022, în cadrul PNCDI III și cofinanțată de către DDS Diagnostic.

Cuvinte cheie: biosenzor, medicină personalizată

P1. ELECTROCHEMICAL BIOSENSOR FOR MONITORING ONCOLOGICAL TREATMENT WITH ETOPOZIDE

Dana Stan, Andreea-Cristina Mirică, Sorin Mocanu, Diana Stan, Lorena-Andreea Bocancia-Mateescu

DDS Diagnostic SRL

Introduction: Cancer is the second leading cause of death in European Union countries, and the mortality rate is increasing every year [1]. According to the report “Health in a Nutshell: Europe”, early diagnosis and more effective administration of treatment can prevent more than 40% of cancer cases [2]. The main goal of this study is the development of an electrochemical biosensor for the quantification of the antineoplastic drug etoposide.

Methods: Electrochemical experiments were performed using the Interface 1010E potentiostat (Gamry Instruments) and screen-printed electrodes with gold working electrode (Nanom Mems SRL). The surface of the electrodes was functionalized by the MIP (Molecularly Imprinted Polymer) technique. The technique consisted in the electropolymerization of pyrrole in presence of etoposide, which was subsequently extracted, leaving behind cavities complementary in size, shape and functional groups to the drug, which allows selective detection using electrochemical methods such as Differential Pulse Voltammetry (DPV).

Results: The electrochemical characterizations obtained in the functionalization stage of the sensor show the deposition of the polypyrrole with the embedded template molecule, as well as its excision, obtaining the complementary cavities. Preliminary results demonstrated that the obtained biosensor can accurately detect a range of etoposide concentrations, from 0.6 μM to 2 μM , with a coefficient of determination $R^2=0.98$.

Conclusions: The development of electrochemical biosensors for the detection of antitumor agents addresses the critical need for personalized monitoring in oncology, aiming to improve patient treatment efficacy and outcomes by precisely controlling drug levels in biological samples. According to the results obtained, in the following stages we propose to optimize the biosensor and validate it in the laboratory by testing synthetic, drug-enriched, serum/plasma samples.

Acknowledgments: This work was supported by a grant of the Romanian Ministry of Education and Research, CCCDI- UEFISCDI, project number PN-III-P2-2.1-PTE-2021-0444, 69PTE/2022, within PNCDI III and co-financed by DDS Diagnostic.

Keywords: biosensor, personalized medicine

Referințe / References:

- OECD (2024), Beating Cancer Inequalities in the EU: Spotlight on Cancer Prevention and Early Detection, OECD Health Policy Studies, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/14fdc89a-en>
- OECD/European Union (2022), Health at a Glance: Europe 2022: State of Health in the EU Cycle, OECD Publishing, Paris, <https://doi.org/10.1787/507433b0-en>

P2. GENOTIPAREA EGFR ÎN NSCLC – EXPERIENȚA LABORATORULUI DE ANALIZE MEDICALE IRO IAȘI

Cristiana Filip¹, Elena Nisioi², Iuliu C. Ivanov², Loredana Mihaiela Dragoș², Mihaela Mențel^{2,3}, Irina C. Vacarean-Trandafir³, Adriana Sireteanu², Daniela Jitaru²

¹ Universitatea de Medicină și Farmacie „Grigore T. Popa”, Iași, România

² Laboratorul de Analize Medicale, Institutul Regional de Oncologie, Iași, România

³ TRANSCEND, Institutul Regional de Oncologie, Iași, România

Introducere: Testarea receptorului factorului de creștere epidermic (EGFR) în cancerul pulmonar non-microcelular (CPNM) este crucială pentru ghidarea tratamentului și prognosticul pacienților. Alegerea între testarea pe țesut și biopsia lichidă are implicații semnificative în diagnostic și management. Obținerea unei mostre de țesut adecvate poate fi uneori dificilă din cauza localizării tumorii sau a stadiului avansat al bolii. Pe de altă parte, biopsia lichidă oferă o alternativă non-invazivă sau complementară la biopsia de țesut.

Metode: Lotul de studiu cuprinde pacienți diagnosticați în IRO Iași în perioada 2017–2023, prin tehnica RealTimePCR calitativ pe platforma Cobas z480, cu probe obținute din țesut parafinat și din plasmă.

Rezultate: Din cele 316 de probe analizate, pentru 7 s-a obținut ADN neamplificabil, iar la 12 cazuri blocul de parafină nu a mai prezentat celule tumorale. La 217 probe nu s-au identificat mutațiile EGFR investigate, 40 din ele având procent mic de celule tumorale, pentru care s-a indicat repetarea testării dintr-o nouă probă de țesut sau biopsie lichidă. În 48 probe au fost identificate mutații EGFR, cea mai frecventă fiind Ex19del (30 cazuri), urmată de L858R (17 cazuri). Mutația T790M a fost identificată doar în 3 probe în combinație cu Ex19del (6 cazuri) și L858R (un caz).

Concluzii: Decizia între testarea pe țesut și biopsia lichidă trebuie luată având în considerare stadiul bolii, disponibilitatea mostrelor de țesut și necesitatea monitorizării continue cu scopul este de a oferi pacienților oportunitatea de a beneficia de terapiile țintite și de a îmbunătăți rezultatele clinice în cancerul pulmonar non-microcelular.

Cuvinte cheie: EGFR, biopsie lichida, cancer pulmonar

P2. EGFR GENOTYPING IN NSCLC – THE EXPERIENCE OF THE IRO IAȘI MEDICAL ANALYSIS LABORATORY

Cristiana Filip¹, Elena Nisioi², Iuliu C. Ivanov², Loredana Mihaiela Dragoș², Mihaela Mențel^{2,3}, Irina C. Vacarean-Trandafir³, Adriana Sireteanu², Daniela Jitaru²

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

² Medical Analysis Laboratory, Regional Institute of Oncology, Iași, Romania

³ TRANSCEND, Regional Institute of Oncology, Iași, Romania

Introduction: Epidermal growth factor receptor (EGFR) testing in non-small cell lung cancer (NSCLC) is crucial for guiding treatment and patient prognosis. The choice between tissue testing and liquid biopsy has significant implications in diagnosis and management. Obtaining an adequate tissue sample can sometimes be difficult due to the location of the tumor or the advanced stage of the disease. Liquid biopsy offers a non-invasive or complementary alternative to tissue biopsy.

Methods: The study group includes patients diagnosed in IRO Iasi between 2017 and 2023, using the qualitative RealTimePCR technique on the Cobas z480 platform, with samples obtained from paraffin-embedded tissue and plasma.

Results: Of the 316 analyzed samples, non-amplifiable DNA was obtained for 7, and in 12 cases the paraffin block no longer showed tumor cells. In 217 samples, the investigated EGFR mutations were not identified, 40 of them had a small percentage of tumor cells, for which repeat testing from a new tissue sample or liquid biopsy was indicated. EGFR mutations were identified in 48 samples, the most frequent being Ex19del (30 cases), followed by L858R (17 cases). The T790M mutation was identified in only 3 samples in combination with Ex19del (6 cases) and L858R (one case).

Conclusions: The decision between tissue testing and liquid biopsy should be made taking into account the stage of the disease, the availability of tissue samples and the need for continuous monitoring with the aim of providing patients with the opportunity to benefit from targeted therapies and improving clinical outcomes in non-small cell lung cancer.

Keywords: EGFR, liquid biopsy, lung cancer

P3. ANALIZA ARN MESAGER PRIN SECVENȚIERE DE NOUĂ GENERAȚIE ÎN OSTEOSARCOM

Eugen Radu^{1,2}, Cosmin-Florentin Niculae¹, Mădălina Cîrnu¹

¹ Laboratorul de patologie moleculară – Spitalul Universitar de Urgență București

² Disciplina de Microbiologie, Universitatea de Medicină și Farmacie “Carol Davila” București

Introducere: Analiza ARN mesager (ARNm) prin secvențiere de nouă generație (NGS) oferă date complexe privind expresia genelor: nivel, existența unor variante de secvență și a unor structurale, fenotipuri ARN aberante. Genele de fuziune sunt cunoscute și integrate în clasificarea moleculară a sarcoamelor, dar osteosarcoamele adultului nu prezintă frecvent astfel de aberații. În studiul de față ne-am propus să testăm mai multe modalități de analiză a NGS ARN pentru a caracteriza cât mai bine transcriptomul tumoral, inclusiv prin analiza expresiei diferențiale a genelor (DGE).

Metode: Am extras ARN din probe de țesut tumoral provenind de la 8 pacienți cu osteosarcom cu RNeasy Fibrous Tissue Mini (QIAGEN). Am pregătit biblioteca de fragmente folosind TruSight RNA Pan-Cancer (Illumina), un panel cu 1385 gene și am secvențiat folosind sistemul MiniSeq. Pentru analiza secundară a datelor am utilizat 3 protocoale diferite: RNA-Seq Alignment, Dragen RNA (Illumina) și un protocol propriu, bazat pe FastQC, Trimmomatic, HISAT2, stringtie, Ballgown și BulkDGD, ultimul utilizând un model generativ antrenat pe țesuturi sănătoase.

Rezultate: Cele două protocoale de analiză Illumina sunt ușor de utilizat și validate, însă oferă opțiuni limitate în privința identificării izoformelor non-canonice și a analizei DGE care necesită utilizarea probelor control, dificil de definit în cazul osteosarcoamelor. BulkDGD permite însă identificarea genelor sub/supraexprimate fără un control „normal”. Prezentăm detalii despre peisajul transcriptomic la cazurile analizate, cu accent pe informațiile suplimentare date de protocolul nostru.

Concluzii: Protocoalele bine stabilite de analiză a datelor de secvențiere a ARNm li se pot adăuga unele ce facilitează analiza DGE și încadrarea osteosarcoamelor în grupe bazate pe profilul expresiei ARN.

Cuvinte cheie: secvențiere ARN, osteosarcom, analiza expresiei diferențiale a genelor

P3. CONTROL-FREE DIFFERENTIAL GENE EXPRESSION ANALYSIS IN RNA SEQUENCING USING A DEEP GENERATIVE MODEL

Eugen Radu^{1,2}, Cosmin-Florentin Niculae¹, Mădălina Cîrnu¹

¹ Molecular Pathology Laboratory – Bucharest Emergency University Hospital

² Microbiology Department, University of Medicine “Carol Davila” and Pharmacy Bucharest

Introduction: Messenger RNA (mRNA) analysis through next-generation sequencing (NGS) provides complex data on gene expression: levels, the existence of sequence and structural variants, and aberrant RNA phenotypes. Fusion genes are already integrated into the molecular classification of sarcomas, but adult osteosarcomas do not often present such abnormalities. In this study, we aimed to test several methods of NGS RNA analysis to best characterize the tumor transcriptome, including through differential gene expression (DGE) analysis.

Methods: We extracted tumor RNA from 8 patients with osteosarcoma using RNeasy Fibrous Tissue Mini (QIAGEN). We prepared the fragment library using TruSight RNA Pan-Cancer (Illumina), a panel of 1385 genes, and sequenced using the MiniSeq system. For secondary data analysis, we used 3 different protocols: RNA-Seq Alignment, Dragen RNA (both Illumina), and a proprietary protocol, based on FastQC, Trimmomatic, HISAT2, stringtie, Ballgown, and BulkDGD, the latter using a generative model trained on healthy tissues.

Results: The two Illumina analysis protocols are easy to use and validated, but offer limited options in identifying non-canonical isoforms and DGE analysis, the latter requiring the use of control samples, difficult to define in the case of osteosarcomas. However, BulkDGD allows for the identification of under/overexpressed genes without a “normal” control. We present details about the transcriptomic landscape in the analyzed cases, with an emphasis on the additional information provided by our protocol.

Conclusions: Well-established pipelines for mRNA NGS data analysis can be supplemented with control-free DGE analysis, allowing osteosarcoma classification into RNA expression profile groups.

Keywords: RNA sequencing, osteosarcoma, differential gene expression analysis

P4. CUANTIFICAREA BCR-ABL1 UTILIZÂND SISTEMUL DE PCR DIGITAL ÎN TIMP REAL: APLICAȚII CLINICE ȘI PERSPECTIVE

Dan-Cristian Marinescu¹, Eugen Radu^{1,2}

1 Laboratorul de Patologie Moleculară - Spitalul Universitar de Urgență București

2 Departamentul Microbiologie III, Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila" București

Introducere: Cuantificarea precisă a transcripților *BCR::ABL1* este esențială pentru managementul leucemiei mieloide cronice (LMC) și a leucemiei limfoblastice acute cu cromozom Philadelphia (LAL Ph+). În ciuda progreselor tehnologice ale testelor PCR cu reverstranscriere în timp real (RT-qPCR), există încă nevoia pentru metode mai sensibile și precise. Acest studiu a evaluat utilitatea diagnostică a PCR digital cu revers transcriere (dRT-PCR) pentru cuantificarea *BCR::ABL1* în evaluarea bolii reziduale minime (MRD).

Metode: Au fost incluși doisprezece pacienți cu LMC sau LAL Ph+. Probele de sânge periferic sau măduvă osoasă, colectate în tuburi de conservare a ARN-ului PaxGene, au fost extrase cu instrumentul QIASymphony SP folosind kitul QIASymphony PaxGene Blood RNA (QIAGEN, Germania). dRT-PCR realizat pe analizorul LOAA a folosit kitul de detecție Dr. PCR BCR-ABL1 CE_IVD (ambele OPTOLANE Technologies, Coreea de Sud). Prin utilizarea unei sonde de hidroliză dublu marcate și a primerilor specifici, acest protocol a permis amplificarea și detectarea simultană a transcripților *BCR::ABL1 e13a2* și *e14a2* și *ABL1*. Rezultatele, exprimate sub forma numărului de copii/μL, au fost folosite pentru a calcula procentul pe Scala Internațională (%IS) și valoarea răspunsului molecular (MR).

Rezultate: dRT-PCR a demonstrat o sensibilitate ridicată a cuantificării, cea mai mică valoare %IS fiind de 0,02%. O cantitate constantă de ARN de calitate totalizând 110 ng/reacție a fost de importanță majoră pentru reacții reușite. Acest test s-a dovedit mai rapid și mai ușor de utilizat decât RT-PCR convențional și nu a necesitat standarde sau calibratori.

Concluzii: Studiul susține fezabilitatea dRT-PCR pentru monitorizarea MRD în LMC sau LAL Ph+. Obiectivele viitoare ale laboratorului nostru includ extinderea repertoriului de diagnostic folosind această platformă, pentru îmbunătățirea gestionării pacienților.

Cuvinte cheie: PCR digital, BCR::ABL1, Optolane, Leucemia mieloidă cronică, Leucemia limfoblastică acută

P4. QUANTITATIVE BCR-ABL1 ASSAY USING REAL-TIME DIGITAL PCR SYSTEM: CLINICAL APPLICATIONS AND INSIGHTS

Dan-Cristian Marinescu¹, Eugen Radu^{1,2}

1 Molecular Pathology Laboratory - Bucharest Emergency University Hospital

2 Microbiology III Department, "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy Bucharest

Introduction: Accurate quantification of *BCR::ABL1* transcripts is paramount for the management of chronic myeloid leukemia (CML) and Philadelphia-positive acute lymphoblastic leukemia (Ph+ ALL). Despite advancements in Real-Time Reverse Transcription PCR (RT-qPCR), the need for more sensitive and precise assays remains. This study evaluated the diagnostic utility of digital reverse transcription PCR (dRT-PCR) for *BCR::ABL1* quantification in assessing minimal residual disease (MRD).

Methods: Twelve patients with CML or Ph+ ALL were included. Peripheral blood or bone marrow samples, collected in PaxGene RNA preservation tubes, were extracted with the QIASymphony SP instrument using the QIASymphony PaxGene Blood RNA kit (QIAGEN, Germany). dRT-PCR conducted on the LOAA analyzer, utilized the Dr. PCR BCR-ABL1 Detection Kit CE_IVD (OPTOLANE Technologies, South Korea). By employing a dual-labeled hydrolysis probe and target-specific primers, this protocol enabled the simultaneous amplification and detection of *BCR::ABL1* transcripts *e13a2* and *e14a2* and *ABL1*. The resulting copy numbers/μL were used to calculate the International Scale percentage (%IS) and the molecular reduction (MR) value and analyzed for clinical correlations.

Results: Digital RT-PCR demonstrated high precision in quantifying *BCR::ABL1* transcripts, the lowest %IS value being 0.02%. A consistent quality RNA sample totalizing 110 ng/reaction was crucial for successful reactions. This assay proved faster and easier than conventional RT-PCR and did not require standards or calibrators.

Conclusions: This study supports the feasibility of digital RT-PCR for quantitative analysis. Future objectives for our laboratory include expanding our diagnostic repertoire using this platform, for enhancing patient care.

Keywords: Digital PCR, BCR::ABL1, Optolane, Chronic Myeloid Leukemia, Acute Lymphoblastic Leukemia

P5. ANALIZA MUTAȚIEI *TP53* ÎN LEUCEMIA LIMFATICĂ CRONICĂ PRIN SECVENȚIEREA FRAGMENTELOR LUNGI DE ACIZI NUCLEICI

Mădălina Cîrnu, Dan-Sebastian Soare, Cosmin-Florentin Niculae, Horia Bumbea, Eugen Radu

Laboratorul de Patologie Moleculară - Spitalul Universitar de Urgență București

Introducere: Mutațiile genei *TP53* sunt întâlnite în leucemia limfatică cronică (LLC) în ~10% din cazurile netratate și în 50% din cazurile refractare sau recidivante astfel încât analiza statusului mutațional este o practică de rutină în diagnosticul și orientarea terapiei. Prezentăm punerea la punct a unui test de evaluare a statusului mutațional al *TP53* bazat pe secvențiere de generația a 3-a.

Metode: ADN-ul genomic a fost amplificat folosind polimeraza Q5 de înaltă fidelitate (New England Biolabs) și primeri specifici pentru exonii 2-9 și 10-11 ai *TP53* prin tehnica nested PCR. Designul primerilor a fost realizat folosind NCBI primer-BLAST. Biblioteca genomică fost pregătită folosind Native Barcoding Kit (Oxford Nanopore Technologies, Marea Britanie) și secvențiată folosind celule Flongle pe MinION Mk1B. Secvența de baze a fost identificată folosind Dorado v0.4.3, filtrate, aliniat la genomul uman de referință GRCh38p.14, iar variantele genice au fost detectate folosind Clair3 v1.0.4.

Rezultate: Parametrii de calitate ai secvențierii au fost mulțumitori, sensibilitatea fiind stabilită la o frecvență a alelelor variante de 10%. După eliminarea variantelor din regiunile intronice și a celor fără semnificație patologică, au rezultat 3 SNV-uri relevante clinic. Variantele au fost exprimate respectând nomenclatura HGVS, iar semnificația patologică a fost stabilită prin compararea cu The *TP53 Database*.

Concluzii: În final, am validat metoda folosind probe din programul extern de control al calității oferit de ERIC, obținând astfel certificarea analizei *TP53* în laboratorul nostru. Tehnica de analiză prezintă costuri relativ reduse, timp de lucru satisfăcător și sensibilitate mai bună decât secvențierea Sanger.

Cuvinte cheie: *TP53*, secvențiere, MinION

P5. ANALYSIS OF *TP53* MUTATION IN CHRONIC LYMPHOCYtic LEUKEMIA THROUGH LONG-READ NUCLEIC ACID SEQUENCING

Mădălina Cîrnu, Dan-Sebastian Soare, Cosmin-Florentin Niculae, Horia Bumbea, Eugen Radu

Molecular Pathology Laboratory - Emergency University Hospital Bucharest

Introduction: Mutations occurring in the *TP53* gene are encountered in chronic lymphocytic leukemia (CLL) in ~10% of untreated cases and in 50% of refractory or relapsed cases, making mutational status analysis a routine practice in the diagnosis and guidance of therapy in CLL. In this paper, we present the development of a test for assessing the mutational status of *TP53* based on third-generation sequencing.

Methods: Genomic DNA was amplified using high-fidelity Q5 polymerase (New England Biolabs) and specific primers for exons 2-9 and 10-11 of *TP53* through nested PCR technique. Primer design was performed using NCBI Primer-BLAST. The library was prepared using the Native Barcoding Kit (Oxford Nanopore Technologies, United Kingdom) and sequenced using Flongle flow cells on the MinION Mk1B instrument. Reads were basecalled using Dorado v0.4.3, followed by filtering and alignment to the human reference genome GRCh38p.14. Variants were called using Clair3 v1.0.4.

Results: The quality parameters of the sequencing were satisfactory. The method's sensitivity was established at a variant allele frequency of 10%. Following the elimination of variants in intronic regions and those lacking pathological significance, three clinically relevant SNVs were identified. Variants were annotated following HGVS nomenclature, and their pathological significance was determined by comparison with *The TP53 Database*.

Conclusions: We successfully validated the method using quality control samples provided by ERIC's external quality assessment program, thereby obtaining certification for *TP53* analysis in our laboratory. The analytical technique offers relatively low costs, satisfactory turnaround time, and improved sensitivity compared to Sanger sequencing.

Keywords: *TP53*, sequencing, MinION

P6. UTILIZAREA UNUI SCOR POLIGENIC DE PREDICȚIE A PROGNOSTICULUI LAM

Florin Tripon¹, George Andrei Crauciuc^{1,2}, Erzsebet Benedek³, Claudia Bănescu^{1,2}

¹ UMFST G. E. Palade Târgu Mureș, România, disciplina Genetică

² CCAMF UMFST G. E. Palade Târgu Mureș, România

³ UMFST G. E. Palade Târgu Mureș, România, disciplina Medicină Internă

Objective: Scopul acestui studiu a fost de a aplica utilizarea unui scor de predicție a prognosticului pentru pacienții cu leucemie acută mieloidă (LAM).

Metode: Am inclus în studiu un număr de 400 de pacienți diagnosticați cu LAM care au fost investigați și din punct de vedere genetic utilizând diverse tehnici de testare genetică (PCR, ARMS PCR, electroforeza capilară, MLPA, real time PCR pentru fuziuni genice și expresie genică, secvențiere de nouă generație). Datele clinice și paraclinice au fost analizate din punct de vedere statistic prin analiza de tip regresie logistică pentru a identifica variabilele care pot fi integrate într-un scor de predicție a evoluției/prognosticului pacientului. Pentru 95 de pacienți au fost disponibile toate variantele (datele) incluse în analiza statistică.

Rezultate: În analizele statistice univariabile am identificat multiple rezultate cu semnificație statistică privind evoluția, prognosticul, supraviețuirea pacienților cu LAM și variante somatice patogene (de exemplu clasicele mutații din gena FLT3 ITD, NPM1, DNMT3A, IDH1, IDH2, ASXL1, RUNX1) dar și dintre expresia genică aberantă cu/fără mutații somatice și evoluția, prognosticul, supraviețuirea pacienților cu LAM. În scorul de predicție am identificat asocieri și am inclus în acest scor următoarele: vârsta la diagnostic, sexul, numărul de blasti, numărul de leucocite, nivelul LDH plasmatic, scorul citogenetic, mutațiile FLT3 ITD și TKD, DNMT3A, NPM1, TP53, KRAS, NRAS, RUNX1, IDH1/2, CEBPA, WT1 și/sau expresia aberantă a acestor gene. Rezultatele pe larg vor fi prezentate în cadrul sesiunii de prezentare.

Concluzii: Utilizarea unui scor multigenic, molecular, de predicție a prognosticului și a evoluției poate să îmbunătățească managementul clinic al pacienților cu LAM, încadrarea lor în clasele de risc citogenetic și molecular și nu în ultimul rând șansa la o terapie personalizată

Mulțumiri: Acest studiu a fost finanțat în cadrul unui proiect de cercetare finanțat de către CNCS—UEFISCDI, număr proiect PN-III-P4-ID-PCE-2020-1928, PNCDI III, număr contract PCE 72/2021

P6. USE OF A POLYGENIC SCORE TO PREDICT AML PROGNOSIS

Florin Tripon¹, George Andrei Crauciuc^{1,2}, Erzsebet Benedek³, Claudia Bănescu^{1,2}

¹ UMFST G. E. Palade Târgu Mureș, România, department of Genetics

² CCAMF UMFST G. E. Palade Târgu Mureș, România

³ UMFST G. E. Palade Târgu Mureș, România, department of Internal Medicine

Objective: The aim of this study was to apply the use of a polygenic prognosis prediction score for patients with acute myeloid leukemia (AML).

Methods: We included a number of 400 patients diagnosed with AML who were investigated from the genetic point of view using various genetic testing techniques (PCR, ARMS PCR, capillary electrophoresis, MLPA, real time PCR for gene fusions and gene expression, next-generation sequencing). Clinical and paraclinical data were statistically analyzed by logistic regression analysis to identify variables that can be integrated into a patient outcome/prognosis polygenic prediction score. For 95 patients, all variants (data) included in the statistical analysis were available.

Results: In the univariable statistical analyses, we identified multiple results with statistical significance regarding the evolution, prognosis, overall survival of patients with AML and pathogenic somatic variants (for example the classic pathogenic variants in the FLT3 gene-ITD and TKD, NPM1, DNMT3A, IDH1, IDH2, ASXL1, RUNX1) but also between aberrant gene expression with/without somatic mutations and evolution, prognosis, survival of AML patients. In the prediction score we identified associations and we included in this score the following: age at diagnosis, sex, blast count, leukocyte count, plasma LDH level, cytogenetic score, FLT3 ITD and TKD mutations, DNMT3A, NPM1, TP53, KRAS, NRAS, RUNX1, IDH1/2, CEBPA, WT1 and/or aberrant expression of these genes. The extensive results will be presented in the presentation session.

Conclusions: The use of a multigenic molecular score in order to predict prognosis and evolution of AML can improve the clinical management of AML patients, their classification into cytogenetic and molecular risk classes and last but not least the chance for a personalized therapy

Acknowledgments: This study was funded within a research project funded by CNCS—UEFISCDI, project number PN-III-P4-ID-PCE-2020-1928, PNCDI III, contract number PCE 72/2021

P7. ROLUL FROTIULUI SANGUIN ÎN DIAGNOSTICUL UNUI CAZ DE LIMFOM NON-HODGKIN CU CELULE B DE MANTA, DIGESTIV, EXTINS

Luminița Matroș^{1,2}, Stanca-Lucia Pandrea^{1,2}, Monica Ioana Ciontea¹, Manuela Tompa¹, Andreea Monica Benea¹, Lia Sorina Pepelea², Claudia Hagiu^{1,3}

- 1 Institutul Regional de Gastroenterologie și Hepatologie "Prof. Dr. O. Fodor" (IRGH), Cluj-Napoca
- 2 Universitatea de Medicină și Farmacie, "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca, Departamentul de Științe Moleculare,
- 3 Universitatea de Medicină și Farmacie, "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca, Departamentul de Medicină internă, Cardiologie și Gastroenterologie

Introducere: Limfoamele maligne sunt considerate neoplazii solide ale sistemului imunitar și pot fi localizate în orice zonă a corpului, dar mai ales acolo unde există o reprezentare importantă a țesutului limfoid. Ele sunt clasificate în două categorii: limfoame Hodgkin și limfoame non-Hodgkin (LNH). LNH au originea în limfocitele T (LT) sau în limfocitele B (LB), localizarea digestivă reprezintă 1/3 din LNH, ele având forme foarte heterogene, în ce privește localizarea, simptomatologia clinică, aspectul histopatologic și prognosticul.

Prezentarea cazului: Prezentăm cazul unei paciente în vârstă de 69 ani, internată în IRGH Cluj–Napoca, cu boală Crohn, cu diaree (4-5 scaune/zi) și durere abdominală, cu HTA, glaucom și gușă tiroidiană macronodulară. Pacienta a prezentat în antecedente un adenom tubulo–vilos al colonului cu displazie joasă, pentru care s-a efectuat rezecție sigmoidiană. Hemoleucograma evidențiază o leucocitoză ușoară (15.420/μL), anemie moderată microcitară hipocromă și trombocite normale. Frotiul sanguin evidențiază: o limfocitoză (54%) cu limfocite atipice, limfomatoase, cu aspect cerebriform, specifice pentru LNH cu celule B de manta și frecvente umbre nucleare Gumprecht, tablou leucoeritroblastic, anemie feriprivă. Tomografia computerizată decelează splenomegalie importantă și blocuri adenopaticice de mari dimensiuni la nivel celiac, în hilul hepatic, inter-aorto-cav, paraaortic, la nivelul mezenterului, în mezorect. Examenul histopatologic efectuat din biopsia gastrică, biopsia colonului și din tumora retroperitoneală evidențiază un infiltrat limfocitar difuz, cu atipii reduse, iar examenul imunohistochimic evidențiază următorii markeri: CD20+, CD5+, Cyclina D1+, CD43+, Bcl-2+, markeri specifici pentru LNH cu celule B de manta.

Concluzii: LNH cu localizare digestivă sunt frecvente, frotiul sanguin are un rol major în diagnosticarea lor.

Cuvinte cheie: limfom non-Hodgkin, limfoame digestive, aspectul limfocitelor în LNH cu celule B de manta

P7. THE ROLE OF THE BLOOD SMEAR IN THE DIAGNOSIS OF A CASE OF EXTENDED, DIGESTIVE NON-HODGKIN MANTLE B CELL LYMPHOMA

Luminița Matroș^{1,2}, Stanca-Lucia Pandrea^{1,2}, Monica Ioana Ciontea¹, Manuela Tompa¹, Andreea Monica Benea¹, Lia Sorina Pepelea², Claudia Hagiu^{1,3}

- 1 Regional Institute of Gastroenterology and Hepatology (RIGH), Cluj-Napoca
- 2 Department of Microbiology "Iuliu Hațieganu" University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca
- 3 Department of Internal Medicine, Cardiology and Gastroenterology, "Iuliu Hațieganu" University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca

Introduction: Malignant lymphomas are considered solid neoplasms of the immune system and can be located in any area of the body, but especially where there is an important representation of lymphoid tissue. They are classified into two categories: Hodgkin lymphomas and non-Hodgkin lymphomas (NHL). NHL originate in T lymphocytes (LT) or B lymphocytes (LB), digestive localization represents 1/3 of NHL, they have very heterogeneous forms, in terms of location, clinical symptoms, histopathological appearance and prognosis.

Case presentation: We present the case of a 69-year-old patient, hospitalized in IRGH Cluj–Napoca, with Crohn's disease, with diarrhea (4-5 stools/day) and abdominal pain, with hypertension, glaucoma and macronodular thyroid goiter. The patient had a history of tubulo-villous adenoma of the colon with low dysplasia, for which sigmoid resection was performed. Complete blood count reveals mild leukocytosis (15,420/μL), moderate hypochromic microcytic anemia, and normal platelets. The blood smear reveals: lymphocytosis (54%) with atypical lymphocytes with cerebriform appearance, specific for mantle cell lymphoma and frequent Gumprecht nuclear shadows, leukoerythroblastic reaction, iron deficiency anemia. Computed tomography detects important splenomegaly and large adenopathic blocks at the celiac level, in the hepatic hilum, inter-aorto-caval, paraaortic, at the level of the mesentery, in the mesorectum. The histopathological examination performed from the gastric biopsy, the colon biopsy and from the retroperitoneal tumor reveals a diffuse lymphocytic infiltrate, with reduced atypia, and the immunohistochemical examination reveals the following markers: CD20+, CD5+, Cyclin D1+, CD43+, Bcl-2+, specific markers for mantle cell lymphoma.

Conclusions: NHL with digestive localization are common, the blood smear has a major role in their diagnosis.

Keywords: non-Hodgkin's lymphoma, digestive lymphomas, the morphological appearance of lymphocytes in mantle B-cell NHL

P8. MODIFICĂRI HEMATOLOGICE ÎNTÂLNITE ÎN CIROZELE HEPATICE DECOMPENSATE

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

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

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

Introducere: Ciroza hepatică (CH) este rezultatul proceselor microscopice și macroscopice cu evoluție îndelungată, cauzate de: toxice (etanol), virusuri (virusul hepatitei B–VHB, coinfecția VHB–VHD, virusul hepatitei C–VHC) sau autoimunitate, determinând fibrozarea difuză, continuă, ireversibilă, a parenchimului hepatic, cu distrucția arhitecturii normale a ficatului și apariția unor noduli hepatocitari cu structură anormală. Complicațiile hematologice din CH: leucopeniile sau leucocitozele, anemiile, trombocitopeniile, pot degrada rapid starea clinică a pacienților.

Metode: Am analizat retrospectiv, timp de 2 luni (septembrie–octombrie 2022), modificările hematologice întâlnite la pacienții cu CH decompensată din secțiile IRGH Cluj-Napoca. Am analizat rezultatele hemoleucogramelor efectuate pe analizorul automat Sysmex®XN1000 corelate cu examinarea frotiului sanguin (colorația May-Grunwald-Giemsa).

Rezultate: Au fost analizați 30 pacienți, 22 bărbați cu vârste între 39-81 ani și 8 femei, cu vârste între 22–73 ani, diagnosticați cu CH etanolică (n=18), CH biliară primitivă (n=1), CH mixtă, toxică și virală (n=3), CH complicată cu hepatocarcinom (n=4), CH autoimună (n=4). S-au înregistrat leucopenii severe (n=8) și leucocitoze ușoare și moderate (n=10), iar tabloul sanguin a relevat devierea la stânga a seriei granulocitare neutrofile până la blaști (n=4). Jumătate din cazuri au asociat anemie normocitară normocromă, 30% din cazuri anemie macrocitară normocromă, iar 13,33% din cazuri anemie microcitară hipocromă. S-au înregistrat bicitopenii (n=11): anemie+leucopenie (n=4), anemie+trombocitopenie (n=7) și pancitopenie severă (n=6). Un caz a prezentat trombocitopenie izolată, iar altul trombocitoză.

Concluzii: Modificările hematologice întâlnite în CH sunt nespecifice, însă ele trebuie urmărite permanent de-a lungul evoluției bolii, pentru că pot prevesti complicații grave hematologice, care pot fi fatale pentru pacient.

Cuvinte cheie: ciroza hepatică, etanol, modificări hematologice

P8. HEMATOLOGICAL CHANGES ENCOUNTERED IN DECOMPENSATED LIVER CIRRHOSIS

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

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

Introduction: Liver cirrhosis (LC) is the result of microscopic and macroscopic processes with long evolution, caused by ethanol, viruses (hepatitis B virus–HBV, HBV–VHD coinfection, hepatitis C virus–HCV) or autoimmunity, causing diffuse, continuous, irreversible fibrosis of the liver parenchyma, with the destruction of the normal architecture of the liver and the appearance of hepatocytic nodules with an abnormal structure. The hematological complications of LC: leukopenia, leukocytosis, anemia, thrombocytopenia, can rapidly degrade the clinical condition of patients.

Methods: We retrospectively analyzed, for 2 months (September–October 2022), the hematological changes found in patients with decompensated LC from the IRGH wards. We analyzed the results of blood counts performed on the analyzer Sysmex®XN1000 correlated with the blood smear examination (May-Grunwald-Giemsa staining).

Results: 30 patients were analyzed, 22 men aged 39-81 years and 8 women aged 22-73 years, diagnosed with ethanolic LC(n=18), primitive biliary LC(n=1), mixed LC, toxic and viral(n=3), LC complicated with hepatocarcinoma (n=4), autoimmune LC(n=4). Severe leukopenia (n=8) and mild and moderate leukocytosis(n=10) were noted, and the blood count revealed a left shift of the neutrophil granulocyte series to blasts (n=4). Half of cases were associated with normochromic normocytic anemia, 30% of cases with normochromic macrocytic anemia, 13.33% of cases with hypochromic microcytic anemia. Bicytopenias were recorded (n=11): anemia+leukopenia (n=4), anemia+thrombocytopenia (n=7) and severe pancytopenia (n=6). One case presented isolated thrombocytopenia and another thrombocytosis.

Conclusions: The hematological changes encountered in LC are non-specific, but must be monitored constantly throughout the course of the disease, as they may portend serious hematological complications that may be fatal for the patient.

Keywords: liver cirrhosis, ethanol, hematological changes

P9. EFECTELE DIFERITELOR FORME DE RECOLTARE PENTRU PARAMETRII HEMOLEUCOGRAMEI

Georgiana-Gabriela Văcărașu¹, Amalia Zăgan¹, Oana Oprea^{1,2}

¹ Spitalul Clinic Județean de Urgență, Laborator Analize Medicale, Târgu Mureș

² Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie "George Emil Palade" Târgu Mureș, Departamentul M2, Medicină de Laborator

Introducere: Un aspect important care influențează rezultatele analizelor îl constituie faza preanalitică, în mod special tehnica de recoltare. Scopul studiului a fost compararea a două metode de recoltare a hemoleucogramei.

Metode: Au fost incluse 118 probe recoltate de la pacienți din Unitatea Primiri Urgențe, prin puncție venoasă cu sistem seringă și holder cu filet-Vacutainer. Studiul a fost efectuat în perioada noiembrie- decembrie 2023, în Laboratorul de Urgență al Spitalului Clinic Județean de Urgență Târgu Mureș. Pentru fiecare pacient s-a urmărit în paralel parametrii hemoleucromei folosind analizorul Sysmex XN 1000. Comparabilitatea datelor obținute au fost analizate statistic utilizând soft-ul Medcalc.

Rezultate: Datele au avut o distribuție nonparametrică iar comparația statistică *între* cele două metode s-a făcut utilizând testul Friedman. S-au observat diferențe statistic semnificative pentru parametri: IG ($p=0.04$), MCH ($p=0.005$), MCHC ($p=0.004$), MONO($p=0.002$), NRBC($p=0.024$). Reprezentarea vizuală a diferențelor dintre cele două tehnici de recoltare s-a realizat prin grafice de tip Bland-Altman. Media diferențelor *între* cele două tehnici de recoltare pentru analiții cu diferențe semnificative statistic a fost pentru IG=0 (IC 95%:-0.05-0.06), pentru MCH=0.3 (IC 95%:-2.7-3.3), pentru MCHC=-0.3 (IC 95%:-9.3-8.8), pentru MONO=2.4 (IC 95%:-21.1-26).

Concluzii: În urma studiului, s-a observat diferențe statistic semnificative pentru cinci parametri (IG, MCH, MCHC, MONO și NRBC), însă această diferență nu este relevantă din punct de vedere clinic.

Cuvinte cheie: faza preanalitică, hemoleucograma, recoltare

P9. EFFECTS OF DIFFERENT METHODS OF COLLECTION FOR COMPLETE BLOOD COUNT PARAMETERS

Georgiana-Gabriela Văcărașu¹, Amalia Zăgan¹, Oana Oprea²

¹ Emergency Clinical County Hospital of Târgu Mureș

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

Introduction: An important aspect influencing the results of the analyses is the pre-analytical phase, particularly the collection technique. The aim of the study was to compare two complete blood count (CBC) collection methods.

Methods: 118 samples collected from patients in the Emergency Department by venipuncture with syringe and BC-Vacutainer holder were included. The study was carried out between November and December 2023, in the Emergency Laboratory of the Emergency Clinical Hospital of Târgu Mureș. For each patient, CBC parameters were monitored in parallel using the Sysmex XN 1000 analyser. Comparability of the obtained data was statistically analyzed using Medcalc software.

Results: The data had a nonparametric distribution and statistical comparison between the two methods was done using the Friedman test. Statistically significant differences were observed for the parameters: GI ($p=0.04$), MCH ($p=0.005$), MCHC ($p=0.004$), MONO($p=0.002$), NRBC($p=0.024$). Visual representation of the differences between the two collection methods was done by Bland-Altman plots. Mean differences between the two collection methods for analytes with statistically significant differences were for GI=0 (95% CI:-0.05-0.06), for MCH=0.3 (95% CI:-2.7-3.3), for MCHC=-0.3 (95% CI:-9.3-8.8), for MONO=2.4 (95% CI:-21.1-26).

Conclusions: Statistically significant differences were observed for five parameters (GI, MCH, MCHC, MONO and NRBC), but this difference is not clinically relevant.

Keywords: pre-analytical phase, complete blood count, collection

P10. EVALUAREA IMUNOLOGICĂ A EXANTEMULUI VIRAL LA PACIENȚII SPITALULUI DE BOLI INFECȚIOASE CONSTANȚA ÎN PERIOADA OCTOMBRIE 2023 - MARTIE 2024

Sergiu Dan Buzdugan¹, Bogdan-Florentin Nițu^{1,2}, Raluca Vasilica Mihai¹, Nicoleta Chipăilă¹, Nicola-Maria Militaru³, Iulia Dulgheru³, Dana Margareta Petcu¹, Nicoleta Lungu¹, Maria-Angela Tomozei¹, Roxana Ioana Dinică¹, Petronela-Anca Dumitrescu¹, Elena Dumea^{1,2}, Simona-Claudia Cambrea^{1,2}

¹ Spitalul Clinic de Boli Infecțioase Constanța

² Universitatea "Ovidius" Constanța

³ Spitalul Clinic Județean de Urgență "Sf. Apostol Andrei" Constanța

Obiectiv: Corelația exanțemului viral și infecția cu virusul Rujeolic, Coxsackie, Echovirus și Epstein Barr.

Metode: Evaluarea imunologică a fost realizată pe un lot total de 869 de pacienți ai Spitalului Clinic de Boli Infecțioase Constanța, pe o perioadă de 6 luni (Octombrie 2023-Martie 2024). S-a folosit metoda CLIA (Chemiluminiscență) pentru determinarea IgM (Imunoglobuline de tip M).

Rezultate: Din lotul total de 869 de prezentări, 106 pacienți au prezentat diferite aspecte de exantem viral, 36% au prezentat serologie pozitivă IgM Rujeola, 25% serologie pozitivă IgM Echovirus, 25% serologie pozitivă IgM Coxsackie și 14% serologie pozitivă IgM Epstein Barr. La Rujeolă grupul de pacienți după categoria de vârstă cea mai afectată sunt copiii până în 9 ani reprezentând 60% din totalul cazurilor confirmate.

Concluzii: Sindroamele eruptive se mențin în actualitate prin faptul că imensa lor majoritate ajung în procesul dificil al diagnosticării etiologice în serviciile de boli infecțioase. Diagnosticul precoce este foarte important, atât pentru identificarea unor afecțiuni cu evoluție severă și instituirea tratamentului adecvat, cât și pentru izolarea pacientului, în vederea limitării transmiterii infecției. Cele mai frecvente cazuri de infecții virale însoțite de exantem, au fost determinate de virusul rujeolic. Indicele de contagiozitate este foarte mare, sursa de infecție fiind umană. Numărul total de cazuri confirmate cu rujeolă în România, raportate de CNSCBT (Centrul Național de Supraveghere și Control al Bolilor Transmisibile) până la data de 24 Martie 2024 este 9.695, din care 11 decese. Din acest număr județul Constanța reprezintă doar 1% comparat cu alte județe ce ajung și la 13%. Rata mică de cazuri se datorează în mare parte campaniei de vaccinare susținută împotriva Rujeolei la nivel național pe tot parcursul anului 2017. Conform Metodologiei INSP orice pacient cu febră, rash maculo-papular și cel puțin un simptom al triplului catar (conjunctival, respirator și digestiv), cuplate cu prezența anticorpilor specifici anti-virus rujeolic în ser, susțin diagnosticul de infecție acută.

P10. IMMUNOLOGICAL EVALUATION OF VIRAL EXANTHEM BETWEEN OCTOBER 2023-MARCH 2024, IN CONSTANTA INFECTIOUS DISEASE CLINIC

Sergiu Dan Buzdugan¹, Bogdan-Florentin Nițu^{1,2}, Raluca Vasilica Mihai¹, Nicoleta Chipăilă¹, Nicola-Maria Militaru³, Iulia Dulgheru³, Dana Margareta Petcu¹, Nicoleta Lungu¹, Maria-Angela Tomozei¹, Roxana Ioana Dinică¹, Petronela-Anca Dumitrescu¹, Elena Dumea^{1,2}, Simona-Claudia Cambrea^{1,2}

¹ Clinical Hospital of Infectious Diseases Constanța

² "Ovidius" University Constanța

³ County Clinical Emergency Hospital Constanța

Objective: The link between viral exanthem and viral infections with measles virus, Coxsackie, Echovirus and Epstein Barr virus (EBV).

Methods: A total of 869 patients who presented at the Clinical Hospital of Infectious Diseases of Constanta over a period of 6 months (October 2023 to March 2024) were subjected to immunological evaluation using chemiluminescent immunoassay (CLIA) to determine IgM (immunoglobulin type M).

Results: 106 of the total 869 of patients exhibited various forms of viral exanthema, 36% tested positive for Rubeola IgM from serum, 25% positive for Coxsackie IgM and 14% positive for EBV. The most frequent age group affected by measles were children of up to 9 years of age, accounting for 60% of confirmed cases.

Conclusions Skin rashes remain a topic of interest since most of these cases require etiologic diagnosis within an infectious diseases centre. Early identification is important for detecting potentially severe cases and initiating the adequate treatment, as well as patient isolation to prevent the transmission of pathogens. The majority of the cases presenting with exanthem were caused by measles virus which is highly contagious and is transmitted from an infected person. The total number of measles confirmed cases in Romania reported by the National Centre for Disease Control and Prevention up to 24 of March 2024 is 9 695 with 11 deaths. The number of cases in Constanta County accounts for only 1% compared to other counties, which can account for up to 13% of confirmed cases. The low rate of cases is owed to the national measles vaccination campaign held throughout 2017. According to the National Public Health Institute methodology, any patient presenting with fever, maculopapular rash and at least one symptom of the triple cathar (conjunctivitis, respiratory, digestive) along with serum measles virus antibodies are suggestive of acute viral infection.

P11. TESTAREA DIAGNOSTICĂ A BOLII CELIACE PEDIATRICE

Anatolie Vişnevschi, Ninel Revenco

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemișanu" din Republica Moldova

Introducere: Boala celiacă (BC) este cauzată de un răspuns inflamator al propriului sistem imunitar al pacientului, care contribuie la deteriorarea vilozităților intestinale. Boala celiacă este o afecțiune răspândită la nivel mondial care afectează 1:100-1:200 de persoane. CD poate apărea la orice vârstă, inclusiv la populația pediatrică.

Metode: O revizuire sistematică a literaturii în PubMed și HINARI a fost efectuată pentru articolele originale pe baza unei strategii de căutare legate de obiective.

Rezultate: Testele serologice pentru CD sunt mai puțin consumatoare de timp, mai puțin invazive, cu costuri mai mici și pot fi utilizate pentru screening-ul pe scară largă. Autoanticorpii testabili includ anticorpi anti-TTG și anti-DGP. Testele clinice pentru anticorpii anti-TTG și anti-DGP sunt disponibile într-o varietate de formate. Unele dintre primele teste disponibile pentru testele clinice de rutină au fost testele imunosorbente legate de enzime (ELISA), în care antigenul de interes (TTG sau DGP) este aderat necovalent în godeurile unei plăci de microtitrare; legarea unui anticorp de la pacient la antigen este detectată prin utilizarea unei imunoglobuline antiomane marcate cu enzimă cu detectarea absorbăției. În plus față de imunotestele specifice antigenului, anticorpii anti-TTG pot fi de asemenea evaluați prin imunofluorescență indirectă (IIF); aceasta este denumită testul de anticorpi antiendomiziali (EMA). Pentru anti-TTG, anti-DGP și anti-EMA, este disponibilă testarea pentru izotipurile IgA și IgG.

Concluzii: Orice persoană cu un TTG-IgA > 10X limita superioară a normalului și un EMA pozitiv ar putea fi diagnosticat cu boală celiacă fără biopsie. În comparație, un TTG-IgA pozitiv <10X limita superioară a normalului sau un TTG-IgA pozitiv > 10X limita superioară a normalului cu o EMA negativă ar necesita o biopsie.

Cuvinte cheie: biomarkeri ai bolii celiace

P11. DIAGNOSTIC TESTING OF PEDIATRIC CELIAC DISEASE

Anatolie Vişnevschi, Ninel Revenco

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy of the Republic of Moldova

Introduction: Celiac disease (CD) is caused by an inflammatory response of the patient's own immune system, leading to damage of the small intestinal villi. Celiac disease is a worldwide spread condition affecting 1:100-1:200 individuals. CD can present at any age, including the pediatric population.

Methods: A systematic literature review of PubMed, and HINARI was performed for original articles, based on a search strategy related to the objectives.

Results: Serologic tests for CD are less time consuming, less invasive, lower in cost, and can be used for large-scale screening. The testable autoantibodies include anti-TTG and anti-DGP antibodies. Clinical assays for anti-TTG and anti-DGP antibodies are available in a variety of formats. Some of the first assays available for routine clinical testing were enzyme-linked immunosorbent assays (ELISAs), in which the antigen of interest (TTG or DGP) is noncovalently adhered within wells of a microtiter plate; binding of a patient antibody to the antigen is detected through use of an enzyme-labeled antihuman immunoglobulin with absorbance detection. In addition to the antigen-specific immunoassays, anti-TTG antibodies can also be assessed by indirect immunofluorescence (IIF); this is referred to as the antiendomysial antibody (EMA) assay. For anti-TTG, anti-DGP, and anti-EMA, testing for IgA and IgG isotypes is available.

Conclusions: Any individual with a TTG-IgA >10X the upper limit of normal and a positive EMA could be diagnosed with celiac disease without a biopsy. In comparison, a positive TTG-IgA <10X the upper limit of normal or a positive TTG-IgA >10X the upper limit of normal with a negative EMA would require a biopsy.

Keywords: celiac disease biomarkers

P12. VALOAREA EOZINOFILIEI ÎN ALERGIILE COPILULUI

Camelia Grigore¹, Ștefan Cristea¹, Andreea Barbu^{1,2}, Maria Totan^{1,3}, Nicolae Grigore^{3,4}

- 1 Spital Clinic de Pediatrie Sibiu
- 2 Universitatea de Științe Agricole și Medicina Veterinară Cluj-Napoca
- 3 Universitatea Lucian Blaga, Facultatea de Medicină
- 4 Spitalul Clinic Județean de Urgență Sibiu

Introducere: Eozinofilia a reprezentat, multă vreme, unul din markerii importanți în diagnosticul sindroamelor alergice. Diagnosticul modern al alergiilor se bazează și pe alte tipuri de markeri: IgE total și IgE specific la diverși alergeni.

Metode: Studiul nostru retrospectiv a analizat un număr de 391 copii testați în Spitalul de Pediatrie pe parcursul anului 2023, cu suspiciunea clinică de sindrom alergic. Testele efectuate au fost: hemoleucograma, IgE total și Panel Pediatric IgE specific – 27 alergeni.

Rezultate: Din cei 391 pacienți testați, 25% au avut eozinofilie, 45% au avut IgE total crescut și 71% au avut IgE specific-Panel Pediatric modificat. Analizând cei 99 de pacienți cu eozinofilie, s-a constatat că 62% au avut și IgE total peste limită și 59% au avut IgE specific modificat la minim 1 alergen din panelul pediatric. Din cei 177 de pacienți cu IgE total crescut doar 35% au avut eozinofilie, 85% au avut IgE specific modificat la minim 1 alergen din panel.

Concluzii: Eozinofilie apare la doar 25% din pacienții suspecții de sindrom alergic, diagnosticul bazandu-se în principal pe determinările IgE specific. Sub 50% din pacienții testați au avut IgE total modificat, în concluzie nici acest test nu reprezintă un marker util în diagnosticul alergiilor la copii. Majoritatea pacienților cu panel Pediatric pozitiv sunt plurialergici, iar cei mai frecvenți alergeni pozitivi fiind: beta-lactoglobulina, dermatophagoides farinae, polen graminee mix 2, albus de ou. Cu cât numărul de alergeni din panel este mai mare, cu atât șansa de identificare a tipului de alergie este mai mare.

P12. THE VALUE OF EOSINOPHILIA IN CHILD ALLERGIES

Camelia Grigore¹, Ștefan Cristea¹, Andreea Barbu^{1,2}, Maria Totan^{1,3}, Nicolae Grigore^{3,4}

- 1 Sibiu Pediatric Clinical Hospital
- 2 University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine Cluj-Napoca
- 3 Lucian Blaga University, Faculty of Medicine
- 4 Sibiu County Emergency Clinical Hospital

Introduction: Eosinophilia has been, for a long time, one of the important markers in the diagnosis of allergic syndromes. The modern diagnosis of allergies is also based on other types of markers: total IgE and specific IgE to various allergens.

Methods: Our retrospective study analyzed a number of 391 children tested in the Pediatric Hospital during the year 2023, with the clinical suspicion of allergic syndrome. The tests performed were blood count, total IgE and specific IgE Pediatric Panel- 27 allergens.

Results: Of the 391 patients tested, 25% had increased eosinophilia, 45% had increased total IgE and 71% had specific IgE-modified Pediatric Panel. Analyzing the 99 patients with eosinophilia, it was found that 62% had total IgE above the limit and 59% had specific IgE modified to at least 1 allergen from the pediatric panel. Of the 177 patients with elevated total IgE, only 35% had eosinophilia, 85% had specific IgE modified to at least 1 allergen from the panel.

Conclusions: Eosinophilia occurs in only 25% of suspected allergic syndrome patients, the diagnosis being based mainly on specific IgE determinations. Less than 50% of the tested patients had total IgE modified, in conclusion, this test is not a useful marker in the diagnosis of allergies in children either. Most patients with a positive Pediatric panel are pluriallergic, the most common positive allergens being: beta-lactoglobulin, dermatophagoides farinae, graminee mix 2 pollen, egg white. The greater the number of allergens in the panel, the greater the chance of identifying the type of allergy.

P13. PROFILUL ALERGENILOR ÎN RÂNDUL PACIENȚILOR PEDIATRICI DIN AREALUL TÂRGU MUREȘ

Oana Pavelea^{1,2}, Adina Huțanu^{1,3}, Andreea Ciobanu¹, Minodora Dobreanu^{1,3}

- 1 Spitalul Clinic Județean de Urgență Târgu Mureș, Romania
- 2 Școala Doctorală, Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie "George Emil Palade" Târgu Mureș
- 3 Centrul de Avansat de Cercetări Medicale și Farmaceutice, UMFST G.E. Palade Târgu Mureș

Obiectiv: Studiul își propune evaluarea retrospectivă a profilului alergenilor respiratori și alimentari în rândul pacienților pediatrici internați în SCJU Târgu Mureș.

Metode: În perioada ianuarie 2020- noiembrie 2023 au fost testați 965 de copii pentru profilul IgE serice specifice (EUROLINE Panel Pediatric IgE), panelul mixt cuprinde 28 de alergeni inclusiv markerul CCD (cross-reactive carbohydrate-determinant). Interpretarea rezultatelor a fost făcută în funcție de clasele RAST. Au fost excluse duplicatele și pacienții cu rezultate pozitive la CCD, neavând informații despre simptomatologia pacienților în vederea interpretării rezultatelor.

Rezultate: Distribuția pe sexe a fost similară (fete n=387, băieți=391), alergenii cel mai frecvent identificați fiind cei derivați din acarieni, lapte de vacă, beta-lactoglobulina și cartof. Majoritatea pacienților (58%) au avut rezultate negative, încadrați în clasele 0-1 RAST, restul fiind în categoria 2 cu probabilitate de a dezvolta alergie în viitor și clasele 3-6 RAST, semnificative clinic. Alergia la laptele de vacă și beta-lactoglobulina a fost predominantă la copiii în vârstă de până la 5 ani, în timp ce peste această vârstă predominantă a fost alergia la acarieni. Dintre subiecții cu CCD pozitiv (n=52), 42,3% au avut titrul de anticorpi specifici IgE încadrat în cel puțin clasa 3 RAST, pentru cel puțin un alergen.

Concluzii: Profilul alergic se modifică în funcție de vârstă la pacienții pediatrici. Dat fiind numărul mare de rezultate negative, o selecție riguroasă a pacienților ar reduce semnificativ numărul testărilor inutile.

Cuvinte cheie: alergie, IgE specific, panel pediatric

P13. THE ALLERGENS PROFILE AMONG PEDIATRIC PATIENTS IN THE TÂRGU MUREȘ AREA

Oana Pavelea^{1,2}, Adina Huțanu^{1,3}, Andreea Ciobanu¹, Minodora Dobreanu^{1,3}

- 1 Târgu Mureș County Emergency Clinical Hospital, Romania
- 2 Doctoral School, George Emil Palade University of Medicine, Pharmacy, Sciences, and Technology of Târgu Mureș
- 3 Advanced Center for Medical and Pharmaceutical Research, George Emil Palade University of Medicine, Pharmacy, Sciences, and Technology of Târgu Mureș

Objective: This retrospective study aims to evaluate the respiratory and food allergen profiles of pediatric patients admitted to Târgu Mureș County Emergency Clinical Hospital.

Methods: The study was conducted from January 2020 to November 2023. A total of 965 children were tested for serum specific IgE profiles using the EUROLINE Pediatric IgE kit, a panel consisting in 28 allergens, including the cross-reactive carbohydrate determinant (CCD) marker; the results were interpreted based on RAST classes. The duplicate samples and patients with CCD-positive results were excluded from the study.

Results: There was a similar distribution of boys and girls among the patients (girls n=387, boys=391). Dust mites, cow's milk, beta-lactoglobulin, and potatoes were the most frequently identified allergens. Of the 965 patients, 58% had negative results (RAST classes 0-1), while the remaining patients were classified in class 2 RAST, which suggests a likelihood of developing allergies in the future, and classes 3-6 RAST which are considered clinically significant. The study also found that cow's milk and beta-lactoglobulin allergy were predominant in children up to 5 years old, while older children were more likely to have a dust mite allergy. Additionally, 42.3% of patients with positive CCD had results classified in at least class 3 RAST for at least one allergen.

Conclusions: The study concludes that there is a variation in allergic profiles with age among pediatric patients. However, given the considerable number of negative results, a rigorous patient selection process can significantly reduce the number of unnecessary tests.

Keywords: allergy, specific IgE, pediatric panel

P14. DEFICITUL DE VITAMINA D ȘI RĂSPUNSUL INFLAMATOR

Marta Andrea Fodor^{1,2}, Ionela Cotoi¹, Adina Huțanu^{1,2}

¹ Spitalul Clinic Județean de Urgență, Laborator Analize Medicale, Târgu Mureș

² Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie "George Emil Palade" Târgu Mureș, Departamentul M2, Medicină de Laborator

Introducere: Vitamina D este cunoscută pentru efectele sale la nivel osos și extrascheletal. Prezentul studiu și-a propus să evalueze relația dintre statusul vitaminei D și răspunsul inflamator sistemic la o populație pediatrică.

Metode: Studiul retrospectiv a fost efectuat în perioada 1 ianuarie 2023–31 decembrie 2023, în Laboratorul Central al Spitalului Clinic Județean de Urgență Târgu-Mureș. Au fost evaluate nivelurile serice ale vitaminei D, ale reactanților de fază acută și indicilor inflamatori derivați din hemograma completă. Au fost analizate corelațiile dintre nivelul seric al vitaminei D, diagnosticul clinic, statusul inflamator și alți parametri de laborator.

Rezultate: Studiul a relevat hipovitaminoza D la populația studiată, cu o mediană de 23,0 ng/ml (IQR 17-30,9 ng/ml), doar 26,9% dintre subiecți având niveluri optime de vitamina D. Indicii inflamatori derivați din hemoleucograma (SII și NLR) și CRP au fost semnificativ mai mari în grupul cu hipovitaminoză D ($p < 0,0001$). După ajustarea pentru vârstă și sex, vitamina D a rămas predictor independent pentru răspunsul inflamator evaluat de SII. La copiii diabetici (DZ1) ($n=42$, 17,1%), nivelurile de vitamina D au fost mai scăzute comparativ cu pacienții non-diabetici ($p=0,042$). Procentul celor cu control glicemic slab ($HbA1c > 8\%$) a fost mai mare în rândul celor cu deficit de vitamina D (31% vs 6,6%), dar diferența nu a atins pragul de semnificație statistică.

Concluzii: Studiul subliniază prevalența ridicată a deficienței de vitamina D în populația pediatrică și asocierea acesteia cu răspunsul inflamator sistemic și patologii extraosoase precum T1DM.

Cuvinte cheie: hipovitaminoza D, indicele inflamator sistemic, raportul neutrofile-limfocite

P14. VITAMIN D DEFICIENCY AND INFLAMMATORY RESPONSE

Marta Andrea Fodor^{1,2}, Ionela Cotoi¹, Adina Huțanu^{1,2}

¹ Emergency Clinical County Hospital of Târgu Mureș

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

Introduction: Vitamin D is known for its skeletal and extra-skeletal effects. The present study aimed to assess the relationship between vitamin D status and systemic inflammatory response in a pediatric population.

Methods: A retrospective analysis was carried out between January 1, 2023, and December 31, 2023, in the Department of Laboratory Medicine at the Târgu-Mureș Emergency Clinical County Hospital. The analysis included the assessment of serum vitamin D levels, acute-phase reactants, and inflammatory indices derived from complete blood count (CBC). Correlations between vitamin D levels, clinical diagnosis, inflammatory status, and other laboratory parameters were assessed.

Results: The study revealed hypovitaminosis D in the studied population, with a median of 23.0 ng/ml (IQR 17-30.9 ng/ml), with only 26.9% of subjects having optimal vitamin D levels. The CBC-derived inflammatory indices (SII and NLR), and CRP were significantly higher in the vitamin D deficiency group ($p < 0.0001$). After adjustment for age and gender, vitamin D remained an independent predictor for inflammatory response evaluated by SII. In diabetic children (T1DM) ($n=42$, 17.1%), vitamin D serum levels were lower compared to non-diabetic patients ($p=0.042$). The percentage of those with poor glycemic control ($HbA1c > 8\%$) was higher among those with vitamin D deficiency (31% vs 6.6%), but the difference did not reach statistical significance.

Conclusions: The study underscores the high prevalence of vitamin D deficiency in the pediatric population and its association with systemic inflammatory response and extra-skeletal pathologies such as T1DM.

Keywords: hypovitaminosis D, Systemic Inflammatory Index, neutrophil-to-lymphocyte ratio

P15. ROLUL INFLAMAZOMULUI NLRP3 ÎN BOALA PARODONTALĂ

Iulia-Ioana Stănescu-Spînu, Radu Ilinca, Daniela Miricescu, Tudor-Claudiu Spînu, Andreea Cristiana Didilescu

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

Introducere: Boala parodontală este o afecțiune orală caracterizată de existența unui mediu disbiotic și perturbarea răspunsului imun. Deteriorarea progresivă a țesuturilor parodontale, semn distinctiv al bolii parodontale, este asociată cu proteoliza și inflamația cronică. Recent, s-a demonstrat că studierea rolului inflamazomilor ar putea aduce o nouă perspectivă asupra înțelegerii convenționale a bolii parodontale. În acest context, scopul acestei cercetări este de a evalua rolul NLRP3 în boala parodontală.

Metode: Complexul multiproteic cunoscut sub numele de NLRP3 (NOD-like receptor family, pyrin domain containing) este implicat în răspunsul imun înnăscut și în perturbările celulare, activând caspaza-1 și promovând sinteza interleukinei 1 β și a interleukinei 18, două citokine cu rol cheie în procesul inflamator.

Rezultate: Alcătuit din proteina NLRP3, proteina ASC (apoptotic speck protein containing a C-terminal caspase recruitment domain) și caspaza-1, acest inflamazom care poate fi activat de prezența unor specii bacteriene, s-a demonstrat că prezintă niveluri crescute în boala parodontală în comparație cu țesuturile parodontale sănătoase. Mai mult, s-a constatat că nivelurile salivare ale NLRP3 sunt corelate cu severitatea bolii.

Concluzii: NLRP3 este de departe cel mai bine cunoscut și cel mai investigat inflamazom, implicarea sa în afecțiunile inflamatorii și potențialul pentru terapia țintită fiind deja un subiect major de interes în cercetare, inclusiv în ceea ce privește mecanismele implicate în boala parodontală.

Mulțumiri: Această lucrare a fost susținută financiar de Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila" București, România prin Contractul nr. 33PFE/30.12.2021 finanțat de Ministerul Cercetării și Inovării în cadrul PNCDI III, Programul 1-Dezvoltarea sistemului național de cercetare-dezvoltare, Subprogramul 1.2-Performanță instituțională-Proiecte de finanțare a proiectelor de excelență în CDI.

P15. ROLE OF NLRP3 INFLAMMASOME IN PERIODONTAL DISEASE

Iulia-Ioana Stănescu-Spînu, Radu Ilinca, Daniela Miricescu, Tudor-Claudiu Spînu, Andreea Cristiana Didilescu

"Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania

Introduction: Periodontal disease is an oral disorder mediated by a combination of a dysbiotic environment and aberrant immune responses. The progressive deterioration of periodontal tissues, the hallmark of periodontal disease is associated with proteolysis and chronic inflammation. Recently, it has been shown that investigating the role of the inflammasomes might bring new perspective to the conventional understanding of periodontal disease. In this context, the aim of this research is to evaluate the role of NLRP3 in periodontal disease.

Methods: The multiprotein complex known as NOD-like receptor family, pyrin domain containing 3 (NLRP3) is involved in innate immune response and cellular damage, activating caspase-1 and promoting interleukin 1 β and interleukin 18 synthesis, two key cytokines in the inflammatory process.

Results: Being comprised of the protein NLRP3, apoptotic speck protein containing a C-terminal caspase recruitment domain (ASC) and caspase-1, this inflammasome which can be activated by the presence of bacterial species, has been shown to present increased levels in periodontal disease compared to healthy periodontal tissues. Furthermore, salivary levels of NLRP3 were found to correlate with disease severity.

Conclusions: NLRP3 is by far the best known and most investigated inflammasome, its involvement in inflammatory conditions and potential for targeted therapy being already a major topic of interest in research, including in the underlying mechanisms of periodontal disease.

Acknowledgements: This work was financially supported by "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy Bucharest, Romania through Contract no. 33PFE/30.12.2021 funded by the Ministry of Research and Innovation within PNCDI III, Program 1—Development of the National RD system, Subprogram 1.2—Institutional Performance—RDI excellence funding projects.

P16. MARKERI DE STRES OXIDATIV UTILIZAȚI ÎN EVALUAREA DIFERITELOR TIPURI DE LUCRĂRI DENTARE

Mircea Grigoria, Steliana Gabriela Buștiuc, Gheorghe Raftu, Aureliana Caraiane, Alexandra Bizanti, Florin Ciprian Badea

Facultatea de Stomatologie, Universitatea "Ovidius" din Constanța

Introducere: În cadrul stresului oxidativ (SO), radicalii liberi, printre care și Oxidul Nitric (ON), afectează celulele la nivel membrar sau nuclear, putând duce la apariția a peste 200 de afecțiuni. Ionii din metalele folosite în producerea lucrărilor dentare pot induce SO și astfel să genereze diferite afecțiuni oro-dentare. Scopul studiului este de a evalua nivelul de SO în cavitatea orală a pacienților la care s-au fixat lucrări protetice realizate din două tipuri de materiale – metalo-ceramice și zirconiu-ceramice.

Metode: Grupul de studiu a cuprins 60 de pacienți, evaluați clinic oro-dentar, la care s-a cuantificat nivelul de ON înainte și la 6 luni după fixarea lucrărilor dentare (20 cu lucrări metalo-ceramice și 40 cu zirconiu-ceramice). Cuantificarea ON s-a realizat prin metoda imunocromatografică semicantitativă folosind Nitric Oxide Saliva Test Strips, Berkeley, USA.

Rezultate: Rezultatele studiului au arătat că valorile ON înainte și la 6 luni după fixarea lucrărilor dentare prezintă diferențe înalt semnificativ statistice ($p=0.0005$) în cazul celor metalo-ceramice, în timp ce la pacienții cu lucrări zirconiu-ceramice nu am obținut diferențe semnificativ statistice ($p=0.31$), susținând astfel caracteristicile superioare ale zirconiului și faptul că nu are efecte nocive asupra organismului uman.

Concluzii: Oxidul Nitric este un marker de SO care poate fi folosit pentru evaluarea intensității acestui fenomen în cavitatea orală a pacienților cu diferite tipuri de lucrări protetice.

Cuvinte cheie: oxid nitric, lucrări metalo-ceramice, lucrări zirconiu-ceramice

P16. OXIDATIVE STRESS MARKERS USED IN THE EVALUATION OF DIFFERENT TYPES OF DENTAL RESTORATIONS

Mircea Grigoria, Steliana Gabriela Buștiuc, Gheorghe Raftu, Aureliana Caraiane, Alexandra Bizanti, Florin Ciprian Badea

Faculty of Stomatology, "Ovidius" University from Constanța

Introduction: As part of oxidative stress (OS), free radicals, including Nitric Oxide (NO), affect cells at the membrane or nuclear level, and could lead to the appearance of over 200 diseases. The ions from the metals used in the production of dental restorations can induce OS and thus generate various oro-dental diseases. The purpose of the study is to evaluate the level of OS in the oral cavity of patients who have fixed prosthetic restorations made of two types of materials – porcelain fused to metal and zirconium-ceramics.

Methods: The study group included 60 patients, that were clinically oro-dentally evaluated, in which the level of NO was quantified before and at 6 months after the fixation of dental restorations (20 with porcelain fused to metal and 40 with zirconium-ceramics). Quantification of NO was performed by semi-quantitative immunochromatographic method using the Nitric Oxide Saliva Test Strips, Berkeley, USA.

Results: The results of the study showed that the NO values quantified before and 6 months after the fixation of dental restorations present a highly statistically significant difference ($p=0.0005$) in the case of porcelain fused to metal ones, while in patients with zirconium-ceramics restorations we did not obtain statistically significant differences ($p=0.31$), thus supporting the superior characteristics of zirconium and the fact that it has no harmful effects on the human body.

Conclusions: Nitric Oxide is a marker of OS that can be used to evaluate the intensity of this phenomenon in the oral cavity of patients with different types of prosthetic restorations.

Keywords: Nitric Oxide, porcelain fused to metal restorations, zirconium-ceramics restorations

P17. CORELAȚIA VALORILOR IL-6 CU REZULTATELE POSTOPERATORII ÎN CHIRURGIA CANCERULUI GASTRIC

Anca Alexandra Molnar-(Lilea)^{1,2}, Adina Huțanu^{2,3}, Cătălin Cosma^{1,2}, Minodora Dobreanu^{2,3,4}

- Școala Doctorală, Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie "George Emil Palade" Târgu Mureș
- Spitalul Clinic Județean de Urgență Târgu Mureș, Romania
- Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie "George Emil Palade" Târgu Mureș, Departamentul M2, Medicină de Laborator
- Centrul de Avansat de Cercetări Medicale și Farmaceutice, UMFST G.E. Palade Târgu Mureș

Introducere: Interleukina-6 (IL-6) este recunoscută pentru rolul său în procesul inflamator, în reglarea imunitară și în progresia cancerului. Acest studiu are ca obiectiv stabilirea unei corelații dintre nivelurile serice de IL-6 și posibilitatea apariției complicațiilor postoperatorii la pacienții diagnosticați și tratați chirurgical cu neoplasm gastric.

Metode: Studiul prospectiv a inclus 39 de pacienți cu cancer gastric, împărțiți pe baza prezenței (grupul cu complicații, n=12) sau absenței (grupul fără complicații, n=27) complicațiilor postoperatorii. Nivelurile serice de IL-6 au fost măsurate cantitativ preoperator în ziua internării, la 2 zile și la 5 zile postoperator, precum și cuantificarea nivelurilor de proteina C reactivă (CRP) și ale indicelui inflamator sistemic (SII).

Rezultate: Nivelul mediu preoperator de IL-6 a fost înregistrat la 5.6 ± 1.8 pg/mL. Acest nivel a crescut semnificativ la 48 de ore post-chirurgie la 195.1 ± 3.6 pg/mL și a scăzut la 86.6 ± 2.1 pg/mL în ziua a 5-a. Comparând grupurile cu și fără complicații, nu s-a găsit o diferență semnificativă în nivelurile de IL-6 la niciunul dintre punctele măsurate ($p=0.62$ preoperator, $p=0.57$ la 48 de ore și $p=0.59$ în ziua a 5-a). Similar, nu s-a identificat o corelație semnificativă statistic între nivelurile de IL-6 și incidența complicațiilor locale ale plăgii sau apariția fistulelor postoperatorii timpurii ($p=0.62$ și $p=0.57$, respectiv). Nivelurile ridicate de CRP post-operator au fost asociate cu complicații locale (supurația plăgii) ($p=0.04$).

Concluzii: Considerăm că fluctuațiile perioperatorii ale nivelurilor de IL-6 nu sunt semnificativ asociate cu rata apariției fistulelor anastomice postoperatorii, dar pot constitui un factor predictiv în apariția complicațiilor parietale abdominale. Valoarea predictivă limitată a IL-6 ca biomarker în aprecierea evoluției postoperatorii precum și a indicelui inflamator sistemic rămâne în continuare o preocupare aflată în derularea acestui studiu.

Cuvinte cheie: interleukina-6 (IL-6), indicele inflamator sistemic(SII), cancer gastric

P17. CORRELATION OF IL-6 VALUES WITH POSTOPERATIVE OUTCOMES IN GASTRIC CANCER SURGERY

Anca Alexandra Molnar-(Lilea)^{1,2}, Adina Huțanu^{2,3}, Cătălin Cosma^{1,2}, Minodora Dobreanu^{2,3,4}

- Doctoral School, George Emil Palade University of Medicine, Pharmacy, Sciences, and Technology of Târgu Mureș
- Târgu Mureș County Emergency Clinical Hospital, Romania
- George Emil Palade University of Medicine, Pharmacy, Science, and Technology of Târgu Mureș, Department of Laboratory Medicine
- Advanced Center for Medical and Pharmaceutical Research, George Emil Palade University of Medicine, Pharmacy, Sciences, and Technology of Târgu Mureș

Introduction: Interleukin-6 (IL-6) is recognized for its role in the inflammatory process, immune regulation and cancer progression. This study aims to establish a correlation between serum IL-6 levels and the possibility of postoperative complications in patients diagnosed and surgically treated with gastric neoplasm.

Methods: The prospective study included 39 patients with gastric cancer, divided based on the presence (group with complications, n=12) or absence (group without complications, n=27) of postoperative complications. Serum IL-6 levels were quantitatively measured preoperatively on the day of admission, 2 days, and 5 days postoperatively, as well as quantification of C-reactive protein (CRP) and Systemic Inflammatory Index (SII) levels.

Results: The mean preoperative IL-6 level was recorded at 5.6 ± 1.8 pg/mL. This level increased significantly at 48 hours post-surgery to 195.1 ± 3.6 pg/mL and decreased to 86.6 ± 2.1 pg/mL on day 5. Comparing the groups with and without complications, no significant difference was found in IL-6 levels at any of the time points measured ($p=0.62$ preoperatively, $p=0.57$ at 48 hours, and $p=0.59$ at day 5). Similarly, no statistically significant correlation was identified between IL-6 levels and the incidence of local wound complications or the occurrence of early postoperative fistulas ($p=0.62$ and $p=0.57$, respectively). High post-operative CRP levels were associated with local complications (wound suppuration) ($p=0.04$).

Conclusions: We believe that perioperative fluctuations in IL-6 levels are not significantly associated with the rate of postoperative anastomotic fistulas, but may be a predictive factor in the occurrence of abdominal parietal complications. The limited predictive value of IL-6 as a biomarker in the assessment of postoperative evolution as well as the systemic inflammatory index remains a concern in the course of this study.

Keywords: interleukin-6 (IL-6), systemic Inflammatory Index (SII), gastric cancer

P18. FERITINA, INTERLEUKINA-6 ȘI PROCALCITONINA CA POTENȚIALI PREDICTORI AI MORTALITĂȚII LA PACIENȚII INTERNAȚI ÎN SECȚIA ATI

Elena Cojocaru^{1,2}, Daniela Cristina Dimitriu^{1,3}, Marius Gabriel Dabija^{1,2}, Cristian Cojocaru¹

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

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

³ Spitalul Clinic de Obstetrică și Ginecologie "Cuza Vodă" Iași, România

Introducere: Acest studiu prezintă o analiză a posibilului rol al valorilor concentrației serice a feritinei, Interleukinei-6 și procalcitoninei ca predictori ai mortalității la pacienții internați într-o Secție de Terapie Intensivă (ATI). Prin sintetizarea datelor din prezentul studiu, ne propunem să contribuim cu informații valoroase în ceea ce privește utilitatea prognostică a acestor biomarkeri în secțiile de asistență medicală critică.

Metode: Un studiu retrospectiv a evaluat relația dintre biomarkerii inflamatori și mortalitatea pacienților internați în secția de terapie intensivă a Spitalului Clinic de Urgență "Prof. Dr. N. Oblu" din Iași în perioada ianuarie 2023- martie 2024. Grupul de studiu a cuprins 184 de pacienți (71,7% bărbați), iar grupul de control 144 de pacienți (56,9% bărbați). Criteriile de includere au fost: perioada de spitalizare la secția de terapie intensivă și concentrațiile serice de feritină, IL-6 și PCT.

Rezultate: Au existat diferențe semnificative din punct de vedere statistic ($p < 0,001$) la toți parametrii investigați- perioada de spitalizare (19,9 zile vs 11,0 zile), feritina (841,1 ng/mL vs 203,0 ng/mL), IL-6 (293,6 pg/mL vs 3,5 pg/mL) și PCT (3,6 ng/ml vs 0,2 ng/ml). Aceste constatări au evidențiat o dovadă substanțială a valorii predictive a feritinei, IL-6 și PCT în cadrul secției ATI.

Concluzii: Acest studiu oferă date cu privire la asocierea dintre concentrațiile serice ale feritinei, IL-6 și PCT ca predictori ai mortalității la pacienții internați în ATI. Ne-am propus să oferim o imagine mai clară a semnificației prognostice a acestor biomarkeri și a sinergiei lor potențiale în predicția mortalității pacienților. Constatările acestui studiu pot contribui la viitoarele direcții de cercetare și la perfecționarea strategiilor de stratificare a riscului în îngrijirea din cadrul secției ATI.

Cuvinte cheie: feritină, interleukina-6, procalcitonină

P18. FERRITIN, INTERLEUKIN-6 AND PROCALCITONIN AS POTENTIAL PREDICTORS OF MORTALITY IN ICU PATIENTS

Elena Cojocaru^{1,2}, Daniela Cristina Dimitriu^{1,3}, Marius Gabriel Dabija^{1,2}, Cristian Cojocaru¹

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

² "Prof. Dr. N. Oblu" Emergency Clinical Hospital, Iași, România

³ "Cuza Vodă" Clinical Hospital of Obstetrics and Gynaecology, Iași, România

Introduction: This study presents an analysis of potential association between serum ferritin, Interleukin-6 (IL-6) and procalcitonin (PCT) levels as predictors of mortality in Intensive Care Unit (ICU) patients. By synthesizing data from present study, we aim to contribute valuable insights into the prognostic utility of these biomarkers in critical care settings.

Methods: A retrospective study explored the relationship between inflammatory biomarkers and mortality in ICU patients at "Prof. Dr. N. Oblu" Emergency Clinical Hospital in Iasi between January 2023 and March 2024. The study group comprised 184 patients (71.7% male) and the control group 144 patients (56.9% male). Inclusion criteria comprised ICU hospitalization period and serum concentrations of ferritin, IL-6 and PCT.

Results: There were statistically significant differences ($p < 0.001$) in all parameters investigated- hospitalization period (19.9 days vs 11.0 days), ferritin (841.1 ng/mL vs 203.0 ng/mL), IL-6 (293.6 pg/mL vs 3.5 pg/mL) and PCT (3.6 ng/ml vs 0.2 ng/ml). These findings revealed substantial evidence of the predictive value of ferritin, IL-6 and PCT in ICU settings.

Conclusions: This study offers consolidated data on the association between ferritin, IL-6 and PCT serum levels as predictors of mortality in ICU patients. We aimed to provide a clearer picture of the prognostic significance of these biomarkers and their potential synergy in predicting patient outcomes. The findings of this analysis may inform future research directions and contribute to the refinement of risk stratification strategies in critical care.

Keywords: ferritin, interleukin-6, procalcitonin

P19. VALORILE SERICE ALE PROTEINEI C REACTIVE LA COPII CU ARSURI SEVERE

Daniela Miricescu¹, Silviu Constantin Badoiu^{2,3}, Dan Mircea Enescu⁴, Raluca Tatar⁴, Maria Greabu¹, Iulia-Ioana Stănescu-Spînu⁵, Viorel Jinga^{6,7}

- 1 Disciplina de Biochimie, Facultatea de Stomatologie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila"
- 2 Disciplina de Anatomie și Embriologie, Facultatea de Medicină, Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila"
- 3 Disciplina de Chirurgie Plastică și Reconstructivă, Spitalul Life Memorial
- 4 Disciplina de Chirurgie Plastică și Reconstructivă, Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii, Grigore Alexandrescu, Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila"
- 5 Disciplina de Fiziologie, Facultatea de Stomatologie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila"
- 6 Disciplina de Urologie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila"
- 7 Academia Oamenilor de Știință din România

Introducere: Arsurile severe reprezintă o traumă gravă, asociată cu multiple modificări metabolice, răspuns inflamator sistemic, spitalizare prelungită, complicații septice și o rată crescută a mortalității. Scopul principal al studiului a fost de a evalua valorile serice ale proteinei C reactive (CRP) la copiii cu arsuri severe cu peste 25% suprafață corporală total arsă, în trei momente diferite după arsură: 48 de ore (T1), ziua 10 (T2) și ziua 21 (T3).

Metode: Studiul nostru a inclus 32 de copii cu arsuri produse de flacără, lichid fierbinte și arc electric și 21 de subiecți sănătoși. Determinarea serică a CRP s-a realizat folosind tehnica Multiplex.

Rezultate: Valorile serice ale CRP au fost statistic crescute în toate cele trei momente la copiii cu arsură severă comparativ cu grupul control ($p < 0,001$). La pacienții arși, CRP a crescut la T1, de la T1 la T2, apoi au scăzut spre T3 ($p < 0,05$). Am observat corelații negative statistic semnificative între CRP la T1 și procentul de suprafață corporală total arsă ($p = 0,02$, $R = -0,409$) și perioada de spitalizare ($p = 0,001$, $R = -0,545$).

Concluzii: CRP este unul dintre cei mai studiați biomarkeri ai fazei acute în diferite patologii inflamatorii, inclusiv arsuri. Valorile CRP la copiii arși evidențiază o evoluție bună și un răspuns inflamator scăzut. CRP poate fi utilizată pentru a monitoriza pacienții arși în primele 21 de zile.

P19. SERUM LEVELS OF CRP IN CHILDREN WITH SEVERE BURNS

Daniela Miricescu¹, Silviu Constantin Badoiu^{2,3}, Dan Mircea Enescu⁴, Raluca Tatar⁴, Maria Greabu¹, Iulia-Ioana Stănescu-Spînu⁵, Viorel Jinga^{6,7}

- 1 Department of Biochemistry, Faculty of Dentistry, "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy
- 2 Department of Anatomy and Embryology, Faculty of Medicine, "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy
- 3 Department of plastic and reconstructive surgery, Life Memorial Hospital
- 4 Department of plastic and reconstructive surgery, Emergency Clinical Hospital for Children Grigore Alexandrescu, "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy
- 5 Department of Physiology, Faculty of Dentistry, "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy
- 6 Department of Urology, "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy
- 7 Academy of Romanian Scientists

Introduction: Severe burns represent a serious health problem, associated with multiple metabolic alterations, systemic inflammatory response, prolonged hospitalization, septic complications, and increased rate of mortality. The main aim of our study was to evaluate the serum levels of C-reactive protein (CRP) in children with severe burns with more than 25% total burned surfaced area, in three different moments: 48 hours (T1), day 10 (T2), and day 21 (T3) post-burn.

Methods: Our study included 32 children with burns produced by flame, hot liquid, and electric arc and 21 healthy subjects. Serum CRP was evaluated using the Multiplex technique.

Results: Serum levels of CRP were statistically increased in all three moments in burned children compared with the control group ($p < 0.001$). In our study, the serum CRP levels increased at T1, from T1 to T2, and then decreased towards T3 ($p < 0.05$). Significant and negative correlations were observed between CRP at T1 and the percentage of burned body surface ($p = 0.02$, $R = -0.409$) and hospitalization period ($p = 0.001$, $R = -0.545$).

Conclusions: CRP is one of the most studied biomarkers of acute-phase in various inflammatory pathologies including burns. The CRP levels in burned children indicate good evolution and decreased inflammatory response. Serum CRP can monitor burned patients within the first 21 days.

P20. CALPROTECTINA ȘI ZONULINA SERICE ȘI FECALE - BIOMARKERI ÎN BOALA PARKINSON

Daciana S. Marta^{1,2}, Laura Dumitrescu^{3,4}, Adela Dănău^{3,4}, Delia Tulbă^{3,4}, Emilia Manole^{1,4}, Mihaela Gherghiceanu^{1,3}, Laura C. Ceafalan^{1,3}, Bogdan O. Popescu^{1,3,4}

- 1 Institutul Național "Victor Babeș", București, România
- 2 Universitatea "Titu Maiorescu"- Facultatea de Medicină, București, România
- 3 Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București, România
- 4 Spitalul Clinic Colentina, București, România

Introducere: Calprotectina - marker al inflamației intestinale și zonulina - marker al barierei intestinale, au fost studiate mai ales în patologia gastrointestinală, dar și în boli neurodegenerative. O afecțiune neurodegenerativă foarte răspândită la nivel mondial este boala Parkinson (BP). Mecanismele etiopatogenice ale formelor sporadice ale BP sunt incomplet înțelese. La majoritatea indivizilor patologia începe în intestin de unde se propagă la nivel cerebral probabil printr-un mecanism de tip prionic.

Metode: Studiul nostru a urmărit analiza comparativă a nivelurilor serice și fecale ale calprotectinei și zonulinei la pacienți cu BP sporadică (n=28) și martori fără BP (n=28). Realizarea studiului a fost aprobată de Comisia de Etică a Spitalului Colentina. Biomarkerii au fost evaluați prin tehnica imunoenzimatică ELISA, utilizând kituri comerciale.

Rezultate: Am obținut valori medii semnificativ mai mari ale calprotectinei serice și fecale la pacienții cu BP sporadică comparativ cu martorii fără BP (ser: 13,77 mcg/ml vs. 6,88 mcg/ml, p=0,004; scaun: 187,16 mcg/g vs. 57,94 mcg/g, p<0,001). Nivelurile medii ale zonulinei serice și fecale au fost, de asemenea, semnificativ mai mari la pacienții cu BP sporadică comparativ cu martorii fără BP (ser: 26,69 ng/ml vs. 21,5 ng/ml, p=0,0018; scaun: 94,72 ng/ml vs. 38,6 ng/ml, p<0,001).

Concluzii: Rezultatele studiului nostru sugerează că inflamația intestinală și alterarea barierei intestinale sunt posibili biomarkeri ai BP sporadice. Studiul viitoare sunt necesare pentru o mai bună înțelegere a relației dintre inflamația intestinală, permeabilitatea barierei intestinale și mecanismele declanșării și progresiei neurodegenerării în BP sporadică.

Mulțumiri: Studiu finanțat prin 31PFE/2021, ANCSI PN 19.20.02.01/ 2019.

Cuvinte cheie: calprotectină, zonulină, boală Parkinson

P20. SERUM AND FECAL CALPROTECTIN AND ZONULIN – BIOMARKERS IN PARKINSON'S DISEASE

Daciana S. Marta^{1,2}, Laura Dumitrescu^{3,4}, Adela Dănău^{3,4}, Delia Tulbă^{3,4}, Emilia Manole^{1,4}, Mihaela Gherghiceanu^{1,3}, Laura C. Ceafalan^{1,3}, Bogdan O. Popescu^{1,3,4}

- 1 Victor Babeș National Institute of Pathology, Bucharest, Romania
- 2 Faculty of Medicine, Titu Maiorescu University, Bucharest, Romania
- 3 Carol Davila University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania
- 4 Colentina Clinical Hospital, Bucharest, Romania

Introduction: Calprotectin (a marker of intestinal inflammation) and zonulin (a marker of intestinal barrier permeability) have been studied in gastrointestinal pathology, as well as in association with neurodegenerative disorders. Parkinson's disease (PD) is a common neurodegenerative condition. The etiopathogenesis of the sporadic forms is incompletely understood. In most individuals the pathology begins in the gut, spreading to the brain probably by a prion-like mechanism.

Methods: Our study compared the serum and fecal levels of calprotectin and zonulin in patients with sporadic PD (n=28) and controls without PD (n=28). The study was approved by the Ethics Committee of Colentina Hospital. The biomarkers were evaluated by enzyme-linked immunosorbent assay, using commercially available kits.

Results: We found significantly higher mean levels of serum and fecal calprotectin in the sporadic PD group compared to controls (serum: 13.77 mcg/ml vs. 6.88 mcg/ml, p=0.004; stool: 187.16 mcg/g vs. 57.94 mcg/g, p<0.001). The mean serum and fecal zonulin levels were also significantly higher in sporadic BP compared to controls (serum: 26.69 ng/ml vs. 21.5 ng/ml, p=0.0018; stool: 94.72 ng/ml vs. 38.6 ng/ml, p<0.001).

Conclusions: The results of our study suggest that intestinal inflammation and altered intestinal barrier permeability are potential biomarkers of sporadic PD. Further investigations are required for a better understanding of the relationship between intestinal inflammation, intestinal barrier permeability and the onset and progression of neurodegeneration in sporadic PD.

Acknowledgements: This study was funded by 31PFE/2021, ANCSI PN 19.20.02.01/ 2019 grants.

Keywords: calprotectin, zonulin, Parkinson's disease

P21. DISPLAZIA BRONHOPULMONARĂ – CAZ CLINIC

R. Dorobantu¹, L. Lele¹, B. Luncan²

¹ Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie, Departament Discipline Medicale

² Spitalul Clinic Județean De Urgență Bihor, Sectia Neonatologie

Introducere: Bronhodiesplazia pulmonară sau boala pulmonară cronică a prematurității, reprezintă o complicație extremă a nou născutului prematur. Nou născuții cu prematuritate extremă, cu vârstă gestațională sub 28 săptămâni, prezintă cel mai mare risc de a dezvolta bronhodiesplazia pulmonară. Patogeneza bolii este complexă, iar la declanșarea acestei patologii participă atât factori antenatali cât și factori postnatali. Factorii antenatali sunt reprezentați de: infecții ale mamei (inclusiv corioamniotita), ruptura prematură a membranelor, restricția de creștere intrauterină, HTA indusă de sarcină/ preeclampsia, factori genetici, fumatul. Factorii postnatali implicați în dezvoltarea bronhodiesplaziei pulmonare sunt: oxigenoterapia, ventilația mecanică, imaturitatea pulmonară, asfixia neonatală, infecția/ sepsisul neonatal, statusul nutrițional deficitar.

Prezentarea cazului: Prezentăm cazul unui nou născut cu prematuritate extremă, cu vârsta de gestație de 28 săptămâni, greutatea la naștere de 800 gr, sex masculin, provenit din mamă cu hipertensiune arterială indusă de sarcină GI PI, naștere prin operație cezariană, scor Apgar 3/4, reanimat la sala de naștere. Postnatal, prezintă sindrom de detresă respiratorie prin deficit de surfactant. Factorul de gravitate este reprezentat de infecția materno-fetală și pneumonia congenitală, complicate cu hemoragia pulmonară. Aceste complicații au făcut ca modul de ventilație să devină o provocare. În evoluție dezvoltă bronhodiesplazie pulmonară, formă severă, greu reversibilă la schemele de tratament utilizate. Oxigenodependența a fost de 4 luni, fiind sistată cu câteva zile înainte de externare.

Concluzii: Factorii asociați, cum ar fi starea septică și hemoragia pulmonară, joacă un rol extrem de important în apariția complicațiilor tardive ale prematurității, cum ar fi bronhodiesplazia pulmonară.

Cuvinte cheie: nou născut prematur, sepsis, hemoragie pulmonară, bronhodiesplazie pulmonară

P21. BRONCHOPULMONARY DYSPLASIA – CLINICAL CASE

R. Dorobantu¹, L. Lele¹, B. Luncan²

¹ University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy, Department of medical Disciplines

² Neonatology Department, Bihor County Hospital, Romania

Introduction: Bronchopulmonary dysplasia or chronic lung disease of prematurity represents an extreme complication of the premature babies. Extremely premature babies, with gestational age under 28 weeks, present the highest risk of developing bronchopulmonary dysplasia. The pathogenesis of BPD is complex. Antenatal and postnatal factors participate in the triggering of this pathology. Antenatal factors are represented by: maternal infections (including chorioamnionitis), premature rupture of membranes, intrauterine growth restriction, pregnancy-induced hypertension/preeclampsia, genetic factors, smoking. The postnatal factors involved in the development of pulmonary bronchodysplasia are: oxygen therapy, mechanical ventilation, pulmonary immaturity, neonatal asphyxia, neonatal infection/sepsis, poor nutritional status.

Case presentation: We report a case of a male newborn with extreme prematurity, with 28 weeks of gestational age, birth weight - 800 gr, GI, PI mother with pregnancy-induced hypertension, delivered by caesarean section, Apgar score 3/4, resuscitated in the delivery room. Postnatally, he presented respiratory distress syndrome due to surfactant deficiency. The high-risk factor is represented by maternal-fetal infection and congenital pneumonia, complicated with pulmonary hemorrhage. Selecting the ventilation mode was a challenge, considering all the mentioned complications. In evolution, the newborn developed a severe form of pulmonary bronchodysplasia, hardly reversible despite the treatment used. Oxygen dependency lasted for 4 months, being stopped just a few days before discharge from the hospital.

Conclusions: Associated factors, like sepsis and pulmonary hemorrhage, play a very important role in the development of late complications of prematurity, such as pulmonary bronchodysplasia.

Keywords: premature newborn, sepsis, pulmonary hemorrhage, bronchopulmonary dysplasia

R9. NEOPLAZII MIELOIDE ÎNSOȚITE DE EOZINOFILIE

Cristina Mambet^{1,2,3}, Patricia Pîrvan¹, Stejara-Nicoleta Mihai¹ Cristina Tatiana Enache^{1,2},
Ana Maria Vlădăreanu^{1,2}

¹ Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila" București

² Clinica de Hematologie, Spitalul Universitar de Urgență București

³ Institutul de Virusologie "Ștefan S Nicolau" București

Eozinofilia reprezintă o modificare a hemoleucogramei întâlnită frecvent în practica de laborator, în cele mai multe cazuri fiind secundară unor condiții benigne, cum ar fi alergiile, parazitozele, reacțiile la medicamente, bolile autoimune, și rareori unor afecțiuni maligne, fie tumori solide, fie limfoame.

Eozinofilia clonală se caracterizează printr-o proliferare malignă a eozinofilelor, în prezența unor date morfologice, citogenetice și moleculare relevante pentru o neoplazie mieloidă. Conform clasificării OMS 2022 a neoplaziilor mieloidă, categoria de "neoplasme mieloidă/limfoide cu eozinofilie și rearanjări genice caracteristice" include câteva afecțiuni asociate cu un număr crescut de eozinofile în sângele periferic, măduva osoasă și uneori cu infiltrate extramedulare cu eozinofile, cu semne atât de mieloproliferare cât și de mielodiplazie și cu fuziuni genice ce implică tirozinkinaze la nivel molecular. În afara acestei categorii de boli, eozinofilia clonală mai poate fi detectată și în alte neoplazii mieloidă: leucemia mieloidă cronică, neoplasmele mieloproliferative BCR::ABL1-negative, leucemia acută mieloidă cu fuziunea genică CBF::MYH11, neoplasmele mielodisplazice, și neoplasmele mielodisplazice/mieloproliferative.

Scopul acestei lucrări este de a prezenta succint neoplaziile mieloidă însoțite de eozinofilie clonală, fiind evidențiate anomaliile genetice și metodele lor de detecție, împreună cu câteva cazuri clinice relevante.

Cuvinte cheie: eozinofilie clonală, fuziuni genice, tirozinkinaze

R9. MYELOID NEOPLASMS ACCOMPANIED BY EOSINOPHILIA

Cristina Mambet^{1,2,3}, Patricia Pîrvan¹, Stejara-Nicoleta Mihai¹ Cristina Tatiana Enache^{1,2}, Ana Maria
Vlădăreanu^{1,2}

¹ "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest

² Department of Hematology, Bucharest Emergency University Hospital

³ "Ștefan S Nicolau" Institute of Virology, Bucharest

Eosinophilia is a common hematologic finding in the laboratory practice, in most cases being secondary to benign conditions, such as allergies, parasitosis, drug reactions, autoimmune diseases, and seldom to malignancies, either solid tumours or lymphomas.

Clonal eosinophilia is defined by a malignant proliferation of eosinophils, with morphologic, cytogenetic and molecular documentation of a myeloid neoplasm. According to 2022 WHO classification of myeloid neoplasms, the category of "myeloid/lymphoid neoplasms with eosinophilia and defining gene rearrangements" includes several disorders associated with peripheral blood, bone marrow and sometimes extramedullary infiltrations with eosinophils, both myelodysplastic and myeloproliferative features, and specific tyrosine kinase gene fusions at molecular level. Apart from this disease category, clonal eosinophilia may be detected in other myeloid neoplasms: chronic myeloid leukemia, BCR::ABL1-negative myeloproliferative neoplasms, acute myeloid leukemia with CBF::MYH11 gene fusion, myelodysplastic neoplasms, and myelodysplastic/myeloproliferative neoplasms.

The purpose of this presentation is to provide a brief overview on myeloid disorders accompanied by clonal eosinophilia, with the focus on the defining genetic alterations, their methods of detection, and a few clinical case reports.

Keywords: clonal eosinophilia, gene fusions, tyrosine kinases

C3. LIMFOHISTIOCITOZA HEMOFAGOCITARĂ, O PROVOCARE ÎN DIAGNOSTICUL CITOMORFOLOGIC LA PACIENȚII ONCOLOGICI

Raluca-Elena Oană, Mirela Alina Veringu, Mihaela Zlei, Mihaela Mențel, Angela Dăscălescu, Daniela Jitaru

Institutul Regional de Oncologie Iași

Introducere: Limfohistiocitoza hemofagocitară (HLH) este un sindrom rar de disfuncție multiorganică, în care sistemul imun devine hiperactiv datorită inabilității limfocitelor T de a răspunde la un factor imunologic declanșator. Acest răspuns imun exagerat, caracterizat prin bucle de feed back pozitiv dereglate între limfocitele CD8 și macrofage conduce la hipercitokinemie, citoliză și infiltrație tisulară cu celule imune. În funcție de datele epidemiologice, clinice și de laborator, HLH a fost dihotomizat într-o formă moștenită pentru cei cu antecedente familiale sau cu mutații genetice critice pentru calea citolitică mediată de perforină. Forma secundară este mai frecventă fiind o manifestare patologică precipitată de infecții, boli autoimune, imunodeficiențe și malignități. Scopul studiului de față este de a identifica repere histomorfologice distinctive, care pot consolida specificitatea testării citomorfologice în diagnosticul HLH.

Metode: În perioada 2019-2024 au fost evaluați 20 pacienți din secțiile de hematologie, oncologie și ATI cu modificări morfologice de hemofagocitoză medulară. Au fost evaluate caracteristicile histomorfologice specifice HLH prin examinarea citomorfologică a probelor de aspirat medular (colorație May Grunwald-Giemsa) de la pacienți confirmați clinic cu HLH secundar, conform criteriilor clinice și de laborator din clasificarea HLH-2004 (excluzând funcția NK) și de la pacienți fără HLH confirmat, cu alte patologii hematologice maligne (limfoame, leucemii). Cinci sute celule nucleate intacte au fost evaluate morfologic pe fiecare probă de aspirat, per caz în zonele cu cea mai mare densitate de hemofagocite.

Rezultate: La toate cazurile investigate și diagnosticate cu HLH, aspiratele medulare pun în evidență hiperplazia histiocitelor și fenomenul de hemofagocitoză, care este un proces patologic de activare prin care macrofagele înglobează eritrocite, celule eritroide nucleate, leucocite și trombocite.

Concluzii. Diagnosticarea precoce și intervenția terapeutică țintită a pacienților cu HLH este critică, întrucât această patologie poate fi frecvent fatală din cauza colapsului hemodinamic și leziunilor terminale de organ.

Cuvinte cheie: hemofagocitoză, macrofag, malign

C3. CYTOMORPHOLOGY IN ONCOLOGICAL PATIENTS HEMOPHAGOCYTTIC LYMPHOHISTIOCYTOSIS, A CHALLENGE IN DIAGNOSTIC

Raluca-Elena Oană, Mirela Alina Veringu, Mihaela Zlei, Mihaela Mențel, Angela Dăscălescu, Daniela Jitaru

Iasi Regional Institute of Oncology

Introduction: Hemophagocytic lymphohistiocytosis (HLH) is a rare syndrome of dysfunction in an immunological triggering factor. This exaggerated immune response, characterized by multi-organic feedback loops, in which the immune system becomes hyperactive due to the inability of T lymphocytes to respond positively, deregulated between CD8 lymphocytes and macrophages, leads to hypercytokinemia, cytolysis and tissue infiltration with immune cells. Depending on the epidemiological, clinical and laboratory data, HLH can be a manifestation for the cytolytic pathway mediated by perforin. The dichotomized form in an inherited form for those with family history or with critical secondary genetic mutations is more frequent pathological, precipitated by infections, autoimmune diseases, immunodeficiencies and malignancies. The aim of the present study is to identify distinctive histomorphological landmarks, which may strengthen the specificity of cytomorphological testing in the diagnosis of HLH.

Methods: In the 2019-2024 period, 20 patients from the wards of hematology-oncology and ATI with morphological changes of marrow hemophagocytosis were evaluated. The specific histomorphological characteristics of HLH were evaluated through the cytomorphological examination of marrow aspirate samples (May Grunwald-Giemsa staining) from the patients clinically confirmed with secondary HLH, according to clinical and laboratory criteria from the HLH-2004 classification (excluding NK function) and from patients without confirmed HLH, with other malignant hematological pathologies (lymphomas, leukemias). Five hundred intact nucleated cells were morphologically evaluated on each aspirate sample, per case in the areas with the highest density of hemophagocytes.

Results: In all cases investigated and diagnosed with HLH, the marrow aspirates highlight the hyperplasia of histiocytes and the phenomenon of hemophagocytosis, which is a pathological process of activation by which macrophages engulf erythrocytes, nucleated erythroid cells, leukocytes and platelets.

Conclusions: Early diagnosis and targeted therapeutic intervention of patients with HLH is critical, as this pathology can frequently be fatal due to hemodynamic collapse and terminal organ.

Keywords: hemophagocytosis, macrophage, malignant

R10. SENESCENCE AND CELL DEATH INDUCED BY ALKYLATING DRUGS IN GLIOBLASTOMA THERAPY

Bernd Kaina

Institute of Toxicology, University Medical Center, Mainz, Germany

First-line chemotherapeutic for the most severe form of brain cancer, glioblastoma, is the alkylating drug temozolomide (TMZ). The mechanism of TMZ has been studied intensively by us (see references) and others. TMZ methylates the DNA and induces, among other adducts, O⁶-methylguanine - a highly cytotoxic and mutagenic/genotoxic lesion. In glioblastoma cells treated with TMZ, not only apoptosis but also cellular senescence (CSEN) is induced, with CSEN being the major response. Apoptosis and CSEN rest on conversion of O⁶-methylguanine through mismatch repair into DNA double-strand breaks (DSB) that trigger downstream apoptosis and senescence pathways. Consequently, DNA repair has a great impact on glioblastoma resistance, and evidence was provided for the repair pathways mediated by MGMT, mismatch repair, DSB repair through BRCA2, Rad51, XRCC3 and others. Downstream are ATR/ATM triggered signaling cascades that activate apoptosis and senescence pathways. Data will be shown demonstrating that the ATR/ATM-SIAH1-HIPK2-p53ser46 pathway plays a key role in regulating temozolomide-induced apoptosis and presumably also senescence. The question of whether there are thresholds for activating survival and death pathways will be addressed and results of a search for senolytic drugs that specifically kill senescent glioblastoma cells will be presented.

Acknowledgements: This work is supported by DFG-KA724/31-1.

References:

- Knizhnik et al., PLoS One, 8, e55665, 2013
- Quiros et al., Cell Cycle, 9, 168-178, 2010;
- He et al., Mol. Cancer Res., 17, 1129-41, 2019
- Aasland et al., Cancer Res., 79, 99-113, 2019
- Stratenwerth et al., Mol. Cancer Ther., 20, 1789-99, 2021
- Beltzig et al., Cancers, 14, 2233,1-20, 2022
- Kaina et al., Front. Oncol., 12, 98281, 2022

C4. CANCERELE REZISTENTE LA TERAPIE: UN FLUX DE LUCRU PROPUȘ PENTRU SCREENING-UL TERAPIILOR PE BAZA SETURILOR DE DATE ȘI METODELOR BIOINFORMATICE

Monica Dugăeșescu^{1,2}, Andra-Maria Păun², Iulia Andrei-Bitere¹

¹ Institutul Clinic Fundeni, București

² Facultatea de Biologie, Universitatea din București, București

Introducere: Datele de tip FAIR (findable, accessible, interoperable, reusable) se apropie de a deveni un standard pentru cercetarea biomedicală. Tot mai multe seturi de date experimentale devin disponibile pentru cercetătorii din întreaga lume, având un potențial enorm de a accelera descoperiri cu impact semnificativ asupra managementului pacienților.

Metode: Procedurile computaționale și instrumentele au fost identificate din studiile despre bioinformatica căilor oncologice și identificarea terapiilor țintite, apoi sortate și clasificate în categorii separate, pe baza aplicațiilor potențiale pentru screeningul terapiilor pentru cancerule rezistente. Instrumentele și procedurile au fost conectate într-un flux de lucru complet, care pornește de la setul de date biologice și se încheie cu lista de potențiale terapii.

Rezultate: Protocolul de analiză generat este un flux de lucru non-linear, cu multiple ramuri care converg în puncte diferite, pe baza tipului de date de intrare experimentale, incluzând cel mai frecvent seturi de date genomice sau transcriptomice, dar și de disponibilitatea și aplicațiile instrumentelor bioinformatic. Etapele protocolului reflectă fluxul informației în biologia moleculară: de la ADN la ARN la proteine, care interacționează cu alte proteine și participă la căi de semnalizare. Pentru toți acești pași, instrumente specifice de analiză au fost definite. Odată ce constelația de modificări biologice a fost identificată, protocolul de selecție a potențialelor terapii a fost stabilit.

Concluzii: Disponibilitatea unui cadru de lucru general pentru analiza bioinformatică a datelor biologice în oncologie poate accelera tranziția progreselor tehnologice în managementul pacientului. Trebuie stabilite valori prag și criteriile de acceptare specifice pentru rezultatele analizei bioinformatic, îmbunătățind astfel eficacitatea validării în laborator.

Cuvinte cheie: cancer rezistent, terapie țintită, bioinformatică

C4. TREATMENT-RESISTANT CANCERS: A PROPOSED WORKFLOW FOR THERAPY SCREENING BASED ON DATASETS AND BIOINFORMATIC TOOLS

Monica Dugăeșescu^{1,2}, Andra-Maria Păun², Iulia Andrei-Bitere¹

¹ Fundeni Clinical Institute, Bucharest

² Faculty of Biology, University of Bucharest, Bucharest

Introduction: FAIR (findable, accessible, interoperable, reusable) data is approaching becoming a standard in biomedical research. More and more experimental datasets are made available for researchers worldwide, having an enormous potential to accelerate discoveries with life-changing impact on patients' management.

Methods: Computational procedures and tools were identified in bioinformatic studies regarding oncology pathways and targeted therapy identification, and then sorted and classified into separate categories, based on their potential applications for resistant cancer therapy screening. The tools and procedures were then connected into a complete workflow which starts from a biological dataset and ends with a list of potential drug candidates.

Results: The generated analysis protocol is a non-linear workflow, with multiple branches converging at various points, based on the nature of experimental input, including most frequently genomic or transcriptomic datasets, and also on the availability and applications of the bioinformatic tools. The steps of the protocol reflect the flow of information in molecular biology: from DNA to RNA and then to proteins, which can interact with other proteins and participate in signaling pathways. For each of these steps, specific analysis tools were defined. Once a constellation of connected biological alterations was identified, a potential therapy selection protocol was established.

Conclusions: The availability of a general framework for biological data bioinformatic analysis in oncology can accelerate the translation of technological progress into patient management. Specific thresholds and acceptance criteria for bioinformatic analysis results must be established to increase the efficacy of further laboratory validation.

Keywords: resistant cancer, targeted therapy, bioinformatic

C5. ADN-UL LIBER CIRCULANT – DETERMINAREA PROFILULUI DE METILARE UTILIZÂND TEHNOLOGIA NANOPORE

Karina-Alexandra Cojocaru¹, Lucian-Mihai Antoci², Roxana Popescu², Georgeta Liliana Foia^{1,3}

¹ Departamentul de Biochimie, Universitatea de Medicina si Farmacie „Grigore T. Popa”, Iași, România

² Departamentul de Genetică Medicală, Universitatea de Medicina si Farmacie „Grigore T. Popa”, Iași, România

³ Spitalul Clinic Județean de Urgențe Sf. Spiridon Iași

Introducere: Caracterizarea epigenetică a ADN-ului liber circulant reprezintă o problemă de interes major în cadrul diverselor patologii datorită numărului vast de aplicații clinice. ADN-ul liber circulant este derivat din ADN-ul genomic, dar și din ADN-ul mitocondrial extra-cromozomial; acesta este identificat ca fragmente de ADN asociate proteinelor sau veziculelor extracelulare, în fluidele circulante fiziologice ale indivizilor sănătoși și bolnavi. Tehnologia Nanopore reprezintă a 3-a generație de secvențiere și se bazează pe măsurarea modificărilor conductibilității electrice generate de trecerea ADN-ului printr-un por biologic. În studiul de față am dezvoltat un protocol pentru secvențierea ADN-ului liber circulant utilizând tehnologia Nanopore.

Metode: Lotul de studiu a constat în 22 de subiecți diagnosticați cu diabet zaharat tip II. ADN-ul plasmatic a fost izolat din plasmă folosind NucleoSpin cfDNA XS, Micro kit (Macherey nagel, Düren, Germany) respectând instrucțiunile producătorului. Ulterior cuantificarea s-a realizat prin electroforeza fragmentelor ADN utilizând sistemul Agilent TapeStation (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA). În etapa finală am realizat secvențierea utilizând tehnologia Nanopore. Pentru realizarea acestei tehnici am adaptat protocolul de generare a bibliotecilor de secvențiere (SQK-LSK109) pentru cantități reduse de ADN, rata bilelor magnetice AMPure XP beads (Beckman Coulter, A63880) pentru fiecare probă fiind crescută cu 1,8x pentru stadiile de spălare ce preced legarea adaptorilor și 2,5x pentru stadiile ulterioare.

Rezultate: Utilizarea acestui protocol a generat un număr de 2,68 milioane de citiri și 19,65 GB date produse. Pentru aceste citiri am identificat distribuția dimensiunii fragmentelor de ADN liber circulant utilizând un prag de 250pb și o limită maximă a fragmentelor de 600pb. Pragul de 250pb este utilizat pentru diferențierea mono și dinucleosomilor. Numărul total de citiri cu dimensiunea fragmentelor peste 250pb a fost 447,423, iar numărul total de citiri cu dimensiunea fragmentelor sub 250pb a fost 2,188,089. În următoarea etapă am realizat profilul de metilare pentru ADN-ul liber circulant. Din numărul total de baze identificate 10% prezintă metilarea citozinei la nivelul carbonului 5 (5mC), iar 9% sunt descrise ca baze hidroximetilate (5hmC).

Concluzii: Tehnologia Nanopore necesită utilizarea unor cantități ADN de ordinul sutelor de nanograme pentru prepararea bibliotecilor de secvențiere. Amplificarea prin metoda PCR nu poate fi utilizată pentru identificarea bazelor metilate. Deși numărul probelor incluse în acest studiu este redus, considerăm că protocolul poate fi utilizat pentru determinarea profilului epigenetic al ADN-ului liber circulant.

Cuvinte cheie: ADN liber circulant, metilare, Nanopore

C5. METHYLATION PROFILE OF CIRCULATING CELL FREE DNA USING NANOPORE SEQUENCING

Karina-Alexandra Cojocaru¹, Lucian-Mihai Antoci², Roxana Popescu², Georgeta Liliana Foia^{1,3}

¹ Department of Biochemistry, University of Medicine and Pharmacy, “Grigore T. Popa”, Iasi, Romania

² Department of Medical Genetics, University of Medicine and Pharmacy, “Grigore T. Popa”, Iasi, Romania

³ St. Spiridon Iasi County Emergency Clinical Hospital

Introduction: The epigenetic characterization of circulating cell free DNA is a topic of significant interest in various pathologies due to the vast number of clinical applications. Circulating cell free DNA is derived from genomic DNA, but also from extra-chromosomal mitochondrial DNA; it is identified as DNA fragments associated with proteins or extracellular vesicles, in the physiological circulating fluids of both healthy and diseased individuals. Nanopore technology represents the third generation of sequencing, based on the measuring changes in electrical conductivity caused by DNA passing through a biological pore. In this study, we have developed a protocol for sequencing cell free DNA using Nanopore technology.

Methods: The study group consisted of 22 subjects diagnosed with type II diabetes. Plasma DNA was isolated from plasma using NucleoSpin cfDNA XS, Micro kit (Macherey nagel, Düren, Germany) following the manufacturer's instructions. The quantification was performed by electrophoresis of the DNA fragments using the Agilent system TapeStation (Agilent Technologies Inc., Santa Clara, CA, USA). In the final step we performed sequencing using Nanopore technology. We developed a strategy and adapted the sequencing library generation protocol (SQK-LSK109) for small amounts of DNA, the rate of AMPure XP beads (Beckman Coulter, A63880) for each sample being increased by 1.8x for the washing steps preceding ligation of the adapters and 2.5x for the subsequent steps.

Results: This approach generated a total of 2.68 million reads and 19.65 GB of data produced. For these reads we identified the fragment size distribution of circulating cell free DNA using a threshold of 250bp and a maximum fragment limit of 600bp. The 250bp threshold is used to differentiate between mono and dinucleosomes. The total number of DNA fragments above 250bp was 447,423, and the total number of DNA fragments below 250bp was 2,188,089. Then, we performed the methylation profile for circulating cell free DNA. Of the total number of bases identified, 10% have cytosine methylation at carbon 5 (5mC), and 9% are described as hydroxymethylated bases (5hmC).

Conclusions: Nanopore technology requires hundreds of nanograms of DNA for the preparation of sequencing libraries. PCR amplification cannot be used to identify methylated bases. Although the sample size in this study is limited, we are confident that the protocol can be used to determine the epigenetic profile of circulating cell free DNA.

Keywords: circulating cell free DNA, methylation, Nanopore

R11. TESTAREA NGS ÎN CANCERUL COLORECTAL – EXPERIENȚA IRO IAȘI

Iuliu C. Ivanov¹, Adriana Sireteanu¹, Iuliana Strugariu¹, Loredana Mihaiela Dragoș¹, Mihaela Mențel¹, Claudia Gorovei¹, Mihaela Zlei¹, Carmen Cozmei¹, Elena Nisioi¹, Angela Dăscălescu^{2,3}, C. Danaila^{2,3}, I. Antohe², Gabriela Dorohoi³, Daniela Jitaru¹

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

² Universitatea de Medicină și Farmacie „Grigore T. Popa”, Iași, România

³ Clinica de Hematologie, Institutul Regional de Oncologie, Iași, România

Cancerul colorectal este cel mai frecvent tip de cancer din Europa și al treilea cel mai frecvent din lume. Markerii tumorali moleculari joacă un rol important în diagnosticul și tratamentul cancerului colorectal și contribuie la alegerea strategiei de terapie pentru fiecare pacient. Mutațiile genelor KRAS, NRAS și BRAF sunt predictive pentru prognostic după stabilirea diagnosticului. Tehnica de secvențiere de generație următoare (NGS) este considerată în prezent una dintre cele mai complete tehnici, reușind să aducă simultan un număr foarte mare de informații cu valoare diagnostică și prognostică. Cu toate acestea, atunci când este utilizat în patologia neoplazică, are dezavantajul de a oferi un rezultat cumulativ asupra tuturor clonelor prezente în proba analizată. De asemenea, pentru identificarea clonelor minore este necesar să se obțină adâncimi de citire foarte mari. Studiul actual a inclus 87 de pacienți diagnosticați cu cancer colorectal în Institutul Regional de Oncologie din Iași, care au fost testați prin NGS, folosind kitul TrueSyghtTumor15 de la Illumina, pe platforma MiSeq. Au fost găsite mutații importante în KRAS, NRAS, PIK2CA și TP53. Investigarea mutațiilor declanșatoare în genele implicate în cascada de semnalizare EGFR sunt utilizate în mod obișnuit pentru diagnostic și instaurare a terapiei, cu rol predictiv pentru răspunsul la tratament, dar o evaluare completă a pacientului cu cancer colorectal, folosind un panou NGS mare, este obligatorie pentru identificarea markerilor cheie precum TP53 și PIK3CA.

Cuvinte cheie: cancer colorectal, NGS

R11. NGS TESTING IN COLORECTAL CANCER – IRO IAȘI DIAGNOSTIC LABORATORY EXPERIENCE

Iuliu C. Ivanov¹, Adriana Sireteanu¹, Iuliana Strugariu¹, Loredana Mihaiela Dragoș¹, Mihaela Mențel¹, Claudia Gorovei¹, Mihaela Zlei¹, Carmen Cozmei¹, Elena Nisioi¹, Angela Dăscălescu^{2,3}, C. Danaila^{2,3}, I. Antohe², Gabriela Dorohoi³, Daniela Jitaru¹

¹ Laboratory of Molecular Diagnostic, Regional Institute of Oncology, Iasi, Romania

² University of Medicine and Pharmacy, “Gr. T. Popa”, Iasi, Romania

³ Hematology Clinic, Regional Institute of Oncology, Iasi, Romania

Colorectal cancer is the most common type of cancer in Europe and the third most common in the world. Molecular tumor markers play an important role in the diagnosis and treatment of colorectal cancer and contribute to the choice of therapy strategy for each patient. Mutations in KRAS, NRAS and BRAF genes are predictive for prognosis after establishing of the diagnosis. The next generation sequencing (NGS) technique is currently considered one of the most complete techniques, managing to simultaneously bring a very large amount of information of diagnostic and prognostic value. However, when used in neoplastic pathology, it has the disadvantage of providing a cumulative result over all clones present in the analyzed sample. Also, for the identification of minor clones it is necessary to obtain very high reading depths. The current study included 87 patients diagnosed with colorectal cancer in Regional Oncology Institute from Iasi, who were tested by NGS, using the kit TrueSyghtTumor15 from Illumina, on MiSeq platform. There were important mutations found in KRAS, NRAS, PIK2CA and TP53. Investigation of trigger mutations in the genes involved in the EGFR signaling cascade is routinely used for diagnosis and therapy instauration, with a predictive role for response to treatment, but a complete assessment of the patient with colorectal cancer, using a large NGS panel, is mandatory for identification of the key markers like TP53 and PIK3CA.

Keywords: colorectal cancer, NGS

R12. NGS ÎN HEMATOPATIILE MALIGNNE. ABORDĂRI TEHNICE – AVANTAJE ȘI DEZAVANTAJE

Iuliu C. Ivanov¹, Adriana Sireteanu¹, Iuliana Strugariu¹, Loredana Mihaiela Dragoș¹, Mihaela Mențel¹, Claudia Gorovei¹, Mihaela Zlei¹, Carmen Cozmei¹, Elena Nisioi¹, Angela Dăscălescu^{2,3}, C. Danaila^{2,3}, I. Antohe², Gabriela Dorohoi³, Daniela Jitaru¹

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

² Universitatea de Medicină și Farmacie „Grigore T. Popa”, Iași, România

³ Clinica de Hematologie, Institutul Regional de Oncologie, Iași, România

Detectarea anomaliilor genetice este o premisă obligatorie pentru diagnosticul, clasificarea și evaluarea post terapeutică a bolilor hematologice maligne. Tehnicile de biologie moleculară pot oferi informații pentru stabilirea unui diagnostic precis și, respectiv, a unui tratament personalizat. Tehnica de secvențiere de generație următoare (NGS) este considerată în prezent una dintre cele mai complete tehnici, reușind să aducă simultan un număr foarte mare de informații cu valoare diagnostică și prognostică. Cu toate acestea, atunci când este utilizat în patologia neoplazică, are dezavantajul de a oferi un rezultat cumulativ asupra tuturor clonelor prezente în proba analizată. De asemenea, pentru identificarea clonelor minore este necesar să se obțină adâncimi de citire foarte mari. Studiul actual a inclus 44 de pacienți diagnosticați cu diferite hematologice maligne la Institutul Regional de Oncologie din Iași. Au fost folosite două kituri NGS diferite, de la producători diferiți. Au fost comparate tehnologiile utilizate pentru pregătirea bibliotecii, panelurile de gene și software-ul dedicat. Mutațiile găsite au fost raportate ca nivel 1 până la nivelul 3, în funcție de semnificația clinică. O cerință de evaluare completă a pacientului cu hematologie malignă este obligatorie pentru a identifica de la diagnostic markeri valoroși pentru evaluarea tratamentului, prognosticului și răspunsului la tratament.

Cuvinte cheie: hematopatii maligne, NGS

R12. NGS IN MALIGNANT HEMOPATHIES. TECHNICAL APPROACHES – ADVANTAGES AND DISADVANTAGES.

Iuliu C. Ivanov¹, Adriana Sireteanu¹, Iuliana Strugariu¹, Loredana Mihaiela Dragoș¹, Mihaela Mențel¹, Claudia Gorovei¹, Mihaela Zlei¹, Carmen Cozmei¹, Elena Nisioi¹, Angela Dăscălescu^{2,3}, C. Danaila^{2,3}, I. Antohe², Gabriela Dorohoi³, Daniela Jitaru¹

¹ Laboratory of Molecular Diagnostic, Regional Institute of Oncology, Iasi, Romania

² University of Medicine and Pharmacy, “Gr. T. Popa”, Iasi, Romania

³ Hematology Clinic, Regional Institute of Oncology, Iasi, Romania

The detection of genetic abnormalities is a mandatory premise for the diagnosis, classification and post-therapeutic evaluation of malignant hematological diseases. Molecular biology techniques can provide information to establish a precise diagnosis and, respectively, a personalized treatment. The next generation sequencing (NGS) technique is currently considered one of the most complete techniques, managing to simultaneously bring a very large amount of information of diagnostic and prognostic value. However, when used in neoplastic pathology, it has the disadvantage of providing a cumulative result over all clones present in the analyzed sample. Also, for the identification of minor clones it is necessary to obtain very high reading depths. The current study included 44 patients diagnosed with different malignant hematological in Regional Oncology Institute from Iasi. There were two different NGS kits used, from different producers. The technologies used for library preparation, the panels and the dedicated software were compared. Mutations found were reported as tier1 to tier3 depending on the clinical significance. A complete assessment requirement of the patient with malignant hemopathy is mandatory in order to identify from the diagnosis valuable markers for treatment.

Keywords: malignant hematopathies, NGS

C6. IDENTIFICAREA VARIANTELOR GENOMICE ÎN LAM PRIN SECVENȚIERE NGS

Andreea-Alexandra Ureche-Fotea¹, Ștefania-Andreea Negru¹, Eugen Radu^{1,2}

¹ Laboratorul de Patologie Moleculară, Spitalul Universitar de Urgență București

² Disciplina de Microbiologie III, Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila” București

Introducere: Secvențierea de următoare generație (NGS) permite detectarea unor variante genomice: polimorfisme uninucleotidice (SNP), inserții/deleții, variante structurale (ITD, Internal Tandem Duplications). Este utilă în diagnosticul, tratamentul și monitorizarea leucemiilor acute mieloide (LAM).

Metode: În studiul prezentat, am selectat 8 pacienți diagnosticați cu LAM, asociat cu variante *FLT3-ITD*, *NPM1*, fuziune *BCR-ABL*, identificate prin tehnici moleculare clasice. S-a extras ADN din sânge periferic și măduvă osoasă cu kitul Qiagen „QiaSymphony DSP DNA Mini Kit”. Bibliotecile de fragmente au fost obținute cu kit-ul de reactivi ce analizează 52 gene „SureSeq Pan-Myeloid NGS Panel” (Oxford Gene Technology) și secvențiate cu platforma Illumina miniSeq. Achiziția datelor și analiza primară (identificarea secvenței de baze) s-au realizat cu Illumina Local Run Manager v.2.4.1. Fișierele fastq generate au fost analizate (alinierea la genomul de referință, identificarea variantelor, controlul calității) cu softul „Interpret” (OGT). Analiza terțiară (evaluarea semnificației biologice și clinice a variantelor identificate) s-a realizat consultând baze de date cu acces deschis și programe de estimare a impactului funcțional asupra proteinelor codificate: ClinVar, GnomAd, Cosmic, Versome, OpenCravat.

Rezultate: În lotul de pacienți s-au găsit un număr total de 289 SNP cu o medie de 36 per pacient. Printre acestea, s-au identificat mai multe SNP și indel patogene/probabil patogene, precum și ITD la 4 pacienți. Sunt discutate câteva variante de interes clinic întâlnite în lotul studiat.

Concluzii: Analiza panelului de 52 gene, realizată în premieră pentru laboratorul nostru, a permis identificarea unor variante cu semnificație diagnostică și prognostică.

Cuvinte cheie: secvențiere de următoare generație, LAM, variante genomice

C6. IDENTIFICATION OF GENOMIC VARIANTS IN AML USING NGS SEQUENCING

Andreea-Alexandra Ureche-Fotea¹, Ștefania-Andreea Negru¹, Eugen Radu^{1,2}

¹ Molecular Pathology Laboratory, University Emergency Hospital of Bucharest

² Microbiology III Department, “Carol Davila” University of Medicine and Pharmacy Bucharest

Introduction: NGS (Next-Generation Sequencing) detects genomic variants such as single nucleotide variants (SNPs), insertions/deletions, structural variants (ITDs, Internal Tandem Duplications), proving useful in the diagnosis, treatment and monitoring of acute myeloid leukemia (AML).

Methods: We have selected 8 patients diagnosed with AML, associating genetic alterations (FLT3-ITD, NPM1 and BCR::ABL fusions), previously tested by conventional molecular techniques. DNA was extracted from peripheral blood and bone marrow samples, using QiaSymphony DSP DNA Mini Kit (Qiagen). We have obtained fragment libraries using the SureSeq Pan-Myeloid NGS Panel (Oxford Gene Technology) reagent kit (testing 52 genes) and sequenced them using the Illumina MiniSeq platform. Data acquisition and primary analysis (basecalling, demultiplexing) were performed using Illumina Local Run Manager v.2.4.1. We have acquired fastq files, which were analysed (alignment to the reference genome, variant identification, quality control) using the “Interpret” software (OGT). Tertiary analysis (evaluation of the biological and clinical significance of the identified variants) was conducted by consulting open-access databases and programs (ClinVar, GnomAd, Cosmic, Versome, OpenCravat), to estimate the functional impact on encoded proteins.

Results: A total of 289 SNPs were found, with an average of 36 per patient. Several pathogenic/likely pathogenic SNPs, indels were identified, as well as ITDs (in 4 patients). We further present several of the clinically relevant variants found within this study group.

Conclusions: The analysis of the 52 gene panel, conducted for the first time in our laboratory, allowed the identification of variants with diagnostic and prognostic significance, within the patient group.

Keywords: NGS, acute myeloid leukemia, genomic variants

C7. METODE UTILIZATE ÎN CUANTIFICAREA CHIMERISMULUI HEMATOPOIETIC DUPĂ TRANSPLANT: STR-PCR ȘI QPCR

Loredana Mihaiela Dragoș¹, Iuliu C. Ivanov¹, Elena Nisioi¹, Cristina Mădălina Ștefan¹, Mihaela Mențel^{1,4}, Mihaela Zlei¹, Claudia Gorovei¹, Amalia Titianu^{2,3}, Angela Dăscălescu^{2,3}, Daniela Jitaru¹

¹ Departamentul de Diagnostic Molecular, Institutul Regional de Oncologie, Iași, România

² Clinica de Hematologie, Institutul Regional de Oncologie, Iași, România

³ Departamentul de Hematologie, Universitatea de Medicină și Farmacie „Grigore T. Popa”, Iași, România

⁴ Centrul de cercetare fundamentală și dezvoltare experimentală în medicina translațională – TRANSCEND, Institutul Regional de Oncologie, Iași, România

Introducere: Analiza himerismului prin identificarea procentului de celule sanguine ale donatorului găsit în sângele primitorului în transplantul de celule hematopoietice (HCT) este un instrument important în monitorizarea evoluției post-transplant. Prin această metodă se poate evalua grefa donatorului, se poate detecta semnele precoce de respingere a grefei și se poate monitoriza boala minimă reziduală.

Metode: În acest studiu au fost evaluate probe 10 probe de sânge periferic sau măduvă osoasă de la pacienți internați în Institutul Regional de Oncologie, Iași și care au beneficiat de HCT. Testarea s-a realizat atât prin metoda clasică STR-PCR folosind kit-ul AmpFLST Identifiler PCR Amplification Kit (16 STR), cât și prin qPCR cu kiturile KMRtype (39 markeri) și KMRtrack.

Rezultate: Metoda qPCR prin utilizarea a 39 de markeri oferă o imagine mai clară și mai precisă asupra prezenței sau absenței celulelor provenite de la primitor și donator în proba analizată post-transplant și o sensibilitate mai mare cu 10-30 procente în comparație metoda clasică (STR-PCR).

Concluzii: Metodele cu o sensibilitate ridicată utilizate pentru monitorizarea himerismului celular îmbunătățesc semnificativ evaluarea pacienților post-transplant și permit identificarea pacienților cu risc ridicat de recidivă.

Cuvinte cheie: himerism, STR-PCR, qPCR

C7. QUANTIFICATION OF HEMATOPOIETIC CHIMERISM AFTER TRANSPLANTATION BY STR-PCR AND QPCR

Loredana Mihaiela Dragoș¹, Iuliu C. Ivanov¹, Elena Nisioi¹, Cristina Mădălina Ștefan¹, Mihaela Mențel^{1,4}, Mihaela Zlei¹, Claudia Gorovei¹, Amalia Titianu^{2,3}, Angela Dăscălescu^{2,3}, Daniela Jitaru¹

¹ Molecular Diagnosis Department, Regional Institute of Oncology, Iasi, Romania

² Department of Hematology, Regional Institute of Oncology, Iasi, Romania

³ Department of Hematology, “Grigore T. Popa” University of Medicine and Pharmacy, Iasi, Romania

⁴ Center for Fundamental Research and Experimental Development in Translation Medicine—TRANSCEND, Regional Institute of Oncology, Iasi, Romania

Introduction: Chimerism analysis by identifying the percentage of donor blood cells found in recipient blood in hematopoietic cell transplantation (HCT) is an important tool in monitoring post-transplant evolution. Through this method donor engraftment can be assessed, early signs of graft rejection can be detected, and minimal residual disease can be monitored.

Methods: In this study, 10 samples of peripheral blood or bone marrow from patients hospitalized in Regional Institute of Oncology, Iași that benefited from HCT were evaluated. The testing was carried out both by the classic method with short tandem repeat PCR (STR-PCR) using the AmpFLSTR Identifiler PCR Amplification Kit (16 STR) and by qPCR, with the kit’s KMRtype (39 markers) and KMRtrack.

Results: The qPCR method by using 39 markers provides a clearer and more accurate picture of the presence or absence of recipient and donor cells in the analyzed sample and increased sensitivity by 10-30 percent compared to the classical method (STR-PCR).

Conclusions: Methods with a high sensitivity for monitoring cell chimerism significantly improve the assessment of patients post-transplant, and they enable the identification of patients with high relapse risk.

Keywords: chimerism, STR-PCR, qPCR

R13. TESTAREA PRIN CITOGENETICĂ CLASICĂ (CARIOTIP ȘI FISH) ȘI MLPA A ANOMALIILOR CROMOZOMIALE ÎNTÂLNITE ÎN SINDROAMELE MIELODISPLAZICE

Iuliu C. Ivanov¹, Adriana Sireteanu¹, Iuliana Strugariu¹, Loredana Mihaiela Dragoș¹, Mihaela Mențel¹, Claudia Gorovei¹, Mihaela Zlei¹, Carmen Cozmei¹, Elena Nisioi¹, Angela Dăscălescu^{2,3}, C. Danaila^{2,3}, I. Antohe², Gabriela Dorohoi³, Daniela Jitaru¹

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

² Universitatea de Medicina și Farmacie „Gr. T. Popa”, Iași, România

³ Clinica de Hematologie, Institutul Regional de Oncologie, Iași, România

Tehnica Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) este considerată în prezent una dintre cele mai sensibile tehnici citogenetice, reușind să aducă simultan un număr mare de informații cu valoare diagnostică și prognostică, chiar dacă nu oferă o vedere genomică. Cu toate acestea, atunci când este utilizat în patologia neoplazică, are dezavantajul de a oferi un rezultat cumulativ asupra tuturor clonelor prezente în proba analizată și, uneori, este dificil de interpretat. Acumularea de informații obținute prin diferitele tehnici citogenetice, împreună cu tehnicile de biologie moleculară și imunofenotipizare pot completa tabloul clinic pentru a realiza clasificarea corectă a patologiei și identificarea markerilor de răspuns prognostic și de urmărire. Laboratorul de Analize Medicale IRO Iasi are o experienta îndelungată în utilizarea în conjuncție a cariotipului, FISH și MLPA. În laboratorul nostru, într-o perioadă de doi ani, au fost testate 146 de probe folosind MLPA pentru SMD, la o treime au fost identificate anomalii, iar la restul nu au identificat nicio variație a numărului de copii care a fost verificată de kit. Kitul P414 MLPA identifică variația numărului de copii (CNV) în cromozomii 3, 5q, 7, 8, 11q, 12p, 17, 19, 20q și cromozomul Y (ZFY). Mai mult, acest amestec de probe conține, de asemenea, o sondă specifică pentru JAK2 p.V617F (c.1849G>T) și 12 sonde de referință. Pentru identificarea corectă a anomaliilor cromozomiale multiple, a numărului de clone maligne și a raportului procentual al fiecăreia dintre ele, este strict necesară combinarea analizei cromozomiale standard cu tehnica FISH și MLPA.

Cuvinte cheie: Sindroame mielodisplazice, anomalii cromozomiale, MLPA

R13. CHROMOSOMAL ABNORMALITIES IN MYELODYSPLASTIC SYNDROMES: KARYOTYPE, FISH VERSUS MLPA

Iuliu C. Ivanov¹, Adriana Sireteanu¹, Iuliana Strugariu¹, Loredana Mihaiela Dragoș¹, Mihaela Mențel¹, Claudia Gorovei¹, Mihaela Zlei¹, Carmen Cozmei¹, Elena Nisioi¹, Angela Dăscălescu^{2,3}, C. Danaila^{2,3}, I. Antohe², Gabriela Dorohoi³, Daniela Jitaru¹

¹ Laboratory of Molecular Diagnostic, Regional Institute of Oncology, Iasi, Romania

² University of Medicine and Pharmacy, "Grigore T. Popa", Iasi, Romania

³ Hematology Clinic, Regional Institute of Oncology, Iasi, Romania

Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) technique is currently considered one of the most sensitive cytogenetic techniques, managing to simultaneously bring a large amount of information of diagnostic and prognostic value, even if it doesn't provide a genome view. However, when used in neoplastic pathology, it has the disadvantage of providing a cumulative result over all clones present in the analyzed sample, and sometime is difficult to interpret. The accumulation of information obtained through the various cytogenetic techniques, together with molecular biology and immunophenotyping techniques can complete the clinical picture in order to achieve the correct classification of the pathology and the identification of prognostic and follow-up response markers. IRO Iasi Medical Testing Laboratory has a long experience using karyotyping, FISH and MLPA in conjunction. In our laboratory, in two years' period, 146 samples were tested using MLPA for MDS, one third found as abnormal and the rest didn't identify any copy number variations that were checked by the kit. P414 MLPA kit identifies copy number variation (CNV) in chromosomes 3, 5q, 7, 8, 11q, 12p, 17, 19, 20q and the Y-chromosome (ZFY). Furthermore, this probe mix also contains one probe specific for JAK2 p.V617F (c.1849G>T) and 12 reference probes. For the correct identification of multiple chromosomal anomalies, the number of malignant clones and the percentage ratio of each of them, it is strictly necessary to combine the standard chromosomal analysis with the FISH technique and MLPA.

Keywords: myelodysplastic syndromes, chromosomal abnormalities, MLPA

R14. TESTAREA MONOCLONALITĂȚII BCR/TCR ÎN PATOLOGIA HEMATO-ONCOLOGICĂ

Daniela Jitaru¹, Adriana Sireteanu¹, Iuliana Strugariu¹, Loredana Mihaiela Dragoș¹, Mihaela Mențel¹, Claudia Gorovei¹, Mihaela Zlei¹, Carmen Cozmei¹, Elena Nisioi¹, Angela Dăscălescu^{2,3}, C. Danaila^{2,3}, I. Antohe², Gabriela Dorohoi³, Iuliu C. Ivanov¹

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

² Universitatea de Medicina si Farmacie „Grigore T. Popa”, Iași, România

³ Clinica de Hematologie, Institutul Regional de Oncologie, Iași, România

Monoclonalitatea se referă la starea unei linii celulare care a fost derivată dintr-o singură origine clonală. Testele de rearanjare a genei pentru lanțul greu de imunoglobuline (IGH) și lanțul ușor Kappa (IGK) sunt utile pentru studierea identificării populațiilor de celule B clonale. Rearanjamentele genelor receptorului pentru antigen apar în timpul ontogenezei în limfocitele B și T. Aceste rearanjamente ale genelor generează produse care sunt unice ca lungime și secvență pentru fiecare celulă. Prin urmare, testele de PCR pot fi utilizate pentru a identifica populațiile de limfocite derivate dintr-o singură celulă prin detectarea rearanjamentelor unice ale genei V-J prezente în acești loci receptori de antigen. Testul PCR utilizează primeri ADN consens multipli care vizează regiuni genetice conservate în receptorul BCR sau TCR. Acest test este utilizat pentru a detecta marea majoritate a malignităților clonale ale ADN-ului celulelor B sau T. Lotul de studiu a constat din 27 de probe de la pacienți cu leucemie acută, limfoame și sindroame limfo-proliferative. Produsele de testat au fost analizate utilizând electroforeza capilară în Analizorul Genetic ABI 3500. În receptorul TCR, 66% au fost găsiți ca monoclonali, iar rearanjarea monoclonală BCR a fost identificată în doar o treime din cazurile testate. Standardizarea fazelor pre-analitice și post-analitice este esențială pentru a preveni interpretarea greșită și concluziile incorecte. Deoarece testarea clonalității nu este un test cantitativ, ci se referă mai degrabă la recunoașterea unor tipare moleculare, standardizarea pentru interpretarea și raportarea corectă a rezultatelor este obligatorie.

Cuvinte cheie: monoclonalitate, patologie hemato-oncologica

R14. BCR/TCR MONOCLONALITY TESTING IN HEMATO-ONCOLOGICAL PATHOLOGY

Daniela Jitaru¹, Adriana Sireteanu¹, Iuliana Strugariu¹, Loredana Mihaiela Dragoș¹, Mihaela Mențel¹, Claudia Gorovei¹, Mihaela Zlei¹, Carmen Cozmei¹, Elena Nisioi¹, Angela Dăscălescu^{2,3}, C. Danaila^{2,3}, I. Antohe², Gabriela Dorohoi³, Iuliu C. Ivanov¹

¹ Laboratory of Molecular Diagnostic, Regional Institute of Oncology, Iasi, Romania

² University of Medicine and Pharmacy, "Grigore T. Popa", Iasi, Romania

³ Hematology Clinic, Regional Institute of Oncology, Iasi, Romania

Monoclonality refers to the state of a cell line that has been derived from a single clonal origin. Immunoglobulin heavy chain (IGH) and Kappa light chain (IGK) rearrangement assays are useful for the identification of clonal B-cell populations. Antigen receptor gene rearrangements occur during ontogeny in B and T lymphocytes. These gene rearrangements generate products that are unique in length and sequence for each cell. PCR assays have been used in IRO Iasi Medical Testing Laboratory, in order to identify single cell-derived lymphocyte populations by detecting unique V-J gene rearrangements present in TCR/BCR antigen receptor loci. The PCR assay uses multiple consensus DNA primers targeting conserved genetic regions in the BCR or TCR receptor. This test is used to detect the vast majority of clonal B or T cell DNA malignancies. The study lot consisted of 27 samples from patients with acute leukemia, lymphomas and lympho-proliferative syndromes. Test products was analyzed using capillary electrophoresis in ABI 3500 Genetic Analyzer. In TCR receptor, 66% were found as monoclonal, and BCR monoclonal rearrangement was identified in only one third of tested cases. Standardization of pre-analytical and post-analytical phases is now essential to prevent misinterpretation and incorrect conclusions. Since clonality testing is not a quantitative test, but rather refers to the recognition of molecular patterns, standardization for correct interpretation and reporting of results is mandatory.

Keywords: monoclonality, hemato-oncological pathology

C8. EVALUAREA RĂSPUNSULUI TERAPEUTIC ÎN HEMOPATIILE MALIGNHE PRIN CITOMETRIE ÎN FLUX

Mihaela Mențel^{1,2}, Grigoras E. Grigoraș¹, Mihaela Zlei¹, Loredana Mihaiela Dragoș¹, Elena Nisioi¹, Iuliu C. Ivanov¹, Mirela Alina Veringu¹, Raluca-Elena Oană¹, Daniela Jitaru¹

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

² Centrul de cercetare fundamentală și dezvoltare experimentală în medicina translațională – TRANSCEND, Institutul Regional de Oncologie, Iași, România

Introducere: Citometria în flux multiparametrică (MFC) are un rol important atât în diagnosticul bolilor onco-hematologice, cât și în evaluarea răspunsului la terapie. În prezent, MFC este cea mai utilizată tehnică în detectarea bolii reziduale măsurabile, împreună cu identificarea mutațiilor recurente prin biologie moleculară.

Metode: În acest studiu, s-au analizat retrospectiv pacienți diagnosticați cu leucemie acută în anul 2023 și care au fost evaluați post-terapie atât prin MFC, cât și prin biologie moleculară. Analiza imunofenotipică s-a realizat prin combinarea celor două strategii de analiză cunoscute, respectiv prin identificarea markerilor exprimați aberant în linia celulară urmărită (LAIP, identificați la diagnostic), cât și prin raportarea la expresia predefinită a markerilor (antigenelor) pe celulele hematopietice normale. Genele de fuziune s-au identificat prin extracție de ARN, urmată de RT-PCR și analiza fragmentelor obținute.

Rezultate: În perioada menționată, s-au analizat 137 cazuri de leucemie acută, atât prin citometrie în flux, cât și prin biologie moleculară. 50% dintre cazurile analizate au avut o modificare genetică ce a putut fi urmărită la evaluarea post-terapeutică. Analiza comparativă dintre imunofenotipul precursorilor identificați la BMR și testele de biologie moleculară, au arătat faptul că boala măsurabilă reziduală este comparativă între cele două tehnici, în special în cazul în care blastii identificați la diagnostic prezintă markeri exprimați aberanți (de ex. CD56, CD19, CD7).

Concluzii: Evaluarea post-terapeutică prin citometrie în flux prezintă o încredere crescută în cazul în care blastii de la diagnostic au fenotip aberant, și are un rol informativ, de descriere a fenotipului blastilor, în cazul absenței markerilor atipici.

Cuvinte cheie: citometrie în flux, boala reziduală măsurabilă, leucemie acută

C8. THE EVALUATION OF THERAPEUTIC RESPONSE IN HAEMATOLOGICAL MALIGNANCIES BY FLOW CYTOMETRY

Mihaela Mențel^{1,2}, Grigoras E. Grigoraș¹, Mihaela Zlei¹, Loredana Mihaiela Dragoș¹, Elena Nisioi¹, Iuliu C. Ivanov¹, Mirela Alina Veringu¹, Raluca-Elena Oană¹, Daniela Jitaru¹

¹ Medical Analysis Laboratory, Regional Institute of Oncology, Iasi, Romania

² Center for Fundamental Research and Experimental Development in Translation Medicine—TRANSCEND, Regional Institute of Oncology, Iasi, Romania

Introduction: Multiparametric flow cytometry (MFC) has an important role both in the diagnosis of onco-hematological diseases and in the assessment of response to therapy. Currently, MFC is the most widely used technique in the detection of measurable residual disease, along with the identification of recurrent mutations by molecular biology.

Methods: In this study, patients diagnosed with acute leukaemia in 2023 and who were assessed post-therapy by both MFC and molecular biology were retrospectively analysed. Immunophenotypic analysis was performed by combining the two known analysis strategies, i.e. by identifying aberrantly expressed markers in the targeted cell line (LAIP, identified at diagnosis) and by relating to the predefined expression of markers (antigens) on normal haematopoietic cells. Fusion genes were identified by RNA extraction followed by RT-PCR and analysis of the fragments obtained.

Results: In this period, 137 cases of acute leukaemia were analysed by both flow cytometry and molecular biology. 50% of the cases analysed had a genetic change that could be traced at post-therapy evaluation. Comparative analysis between the immunophenotype of precursors identified at evaluation and molecular biology assays showed that measurable residual disease is comparative between the two techniques, especially when the blasts identified at diagnosis show aberrantly expressed markers (e.g. CD56, CD19, CD7).

Conclusions: Post-treatment assessment by flow cytometry shows increased confidence if blasts at diagnosis have aberrant phenotype, and has an informative role in describing the phenotype of blasts, in the absence of atypical markers.

Keywords: flow cytometry, residual measurable disease, acute leukemia

R15. HIGH-SENSITIVITY CARDIAC TROPONIN I FOR CARDIOVASCULAR RISK STRATIFICATION IN APPARENTLY HEALTHY INDIVIDUALS

Sanja Stankovic

Center for Medical Biochemistry University Clinical Center of Serbia, Belgrade, Serbia

Department of Biochemistry, Faculty of Medical Sciences, University of Kragujevac, Serbia

Cardiovascular disease (CVD) is still the leading cause of mortality globally and represents a significant burden on healthcare systems. Prevention of CVD in the general population plays an increasingly important role today, and is based on accurate risk stratification and appropriate interventions (clinical, pharmacological, lifestyle modifications) to enhance patient outcome. Many CV risk assessment tools for stratifying asymptomatic individuals are available, but they have many limitations. A large number of studies have demonstrated that cardiac biomarkers could improve CV risk stratification. Cardiac troponin-I (cTnI) measurement could be very useful in this context. Better analytical performance of high sensitivity (hs) assays for cTnI determination (increased analytical sensitivity, improved imprecision profile) allowed the detection of considerably low concentrations of cTnI in the majority of the general population. The variation of cTnI levels within the normal range independently predicts CVD risk (CV death, acute myocardial infarction, heart failure, coronary revascularization, ischemic stroke) in asymptomatic individuals. Addition of hs-TnI to assessment algorithms can assist in: earlier patient management for those at high risk, avoiding unnecessary tests and treatments in low-risk patients, and reducing the growing cost burden of CVD. A potential target population in which hs-cTnI could be used to refine further CV risk could be individuals with intermediate CV risk according to risk prediction tools, SCORE2 risk charts. Proposed algorithm for the use of high-sensitivity cardiac troponin I in cardiovascular risk stratification in asymptomatic individuals will be presented.

R16. METABOLIC SYNDROME BIOMARKERS

Tommaso Trenti

Director of Department of Laboratory Medicine, OCSAE, Azienda USL of Modena, Italy

Metabolic syndrome with the spread of the Western lifestyle across the globe, has now become a truly global problem. The two basic forces spreading this syndrome are the increase in consumption of high calorie-low fiber fast food and the decrease in physical activity due to mechanized transportations and sedentary form of leisure time activities. The syndrome supports the spread of diseases like type 2 diabetes, coronary diseases, stroke, liver disease and other disabilities. The total cost of the condition including the cost of health care and loss of potential economic activity is in trillions.

Mechanisms highlighting Metabolic Syndrome are chronic inflammation, insulin resistance, hormonal activation due to endocrine adipose tissue function. In Metabolic Syndrome, Clinical Chemistry tests are fundamental and essential to recognize the syndrome, such as Glucose, Cholesterol, HDL Cholesterol, Triglycerides, as requested by WHO, NECEP (National Cholesterol Education Program ATP3) and other international scientific and healthcare organizations. The American Heart Association (AHA), American College of Cardiology (ACC) and American Heart Association, European Society of Cardiology (ESC), National Institute for Health and Care Excellence (NICE- UK) and World Health Organization (WHO) in their Guidelines for the assessment and management of cardiovascular risk, are all including the use of biomarkers and risk prediction tools focusing on the importance of measuring lipid profiles, including total cholesterol, low-density lipoprotein cholesterol (LDL-C), high-density lipoprotein cholesterol (HDL-C), and triglycerides, and now focusing on non HDLC. HbA1c, Kidney Function Tests, Inflammatory Markers, Liver Function Tests, Full Blood Count and additional tests such as apolipoprotein A (ApoA) or apolipoprotein B (ApoB), homocysteine, etc. are proposed.

Consensus Statement from the 1st Strategic Conference of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine proposed advanced analytical performance of tests that may contribute to improved clinical and cost-effectiveness of the clinical diagnostic-treatment pathway.

C9. TESTAREA ASOCIERII DINTRE GENA PON1 RS662 ȘI RS854560 CU SINDROMUL METABOLIC LA PACIENȚII CU OBEZITATE

Alexandra Alina Stanislav

Departamentul de Biochimie, Laboratorul de analize medicale, Spitalul Județean de urgență Giurgiu, România

Introducere: Gena PON1 (paraoxonase 1) este o glicoproteină, localizată genomic pe 7q21.3. Polimorfismul genei PON1 rs854560 este asociat cu retinopatia diabetică, DZ1, și sindromul metabolic (SM). Polimorfismul genei PON1 rs662 este asociat cu riscul de a dezvolta hipertensiunea arterială (HTA). Scopul studiului este testarea asocierii dintre gena PON1 cu SM la pacienții cu obezitate pe baza datelor clinice, investigații de laborator, metode genetice și bioinformatică.

Metode: Studiul a fost realizat pe 75 de subiecți de la Spitalul Județean de Urgență Giurgiu; 55 cu obezitate (OB) și 20 controlați, pe baza datelor clinice: IMC, HTA, sex și vârstă, investigații de laborator biochimice: glucoză, trigliceride, colesterol, HDL, LDL, acid uric, magneziu, HbA1c efectuate pe aparatul BS300 Mindray. Pe aparatul BS3000 Mindray au fost efectuate analizele hematologice: WBC, RBC, HGB, și HCT. Polimorfismele genei PON1 rs854560 și rs662 au fost secvențiate prin RFLP-PCR și Advanced NGx. Rezultatele au fost prelucrate prin programul Graph Pad Prism 7.0.3, MDR 3.0.2 și Matlab R2009b.

Rezultate: Polimorfismele rs854560 și rs662 au prezentat valori crescute ale concentrațiilor de glucoză și HbA1c, sunt asociate cu boli cardiovasculare, diabet și obezitate, care pot crește riscul de SM.

Concluzii: Gena PON1 cu rs854560 și rs662 ($OR > 1$ și $p < 0.0001$, $OR = 2$), este asociată cu sindromul metabolic.

Cuvinte cheie: gena PON1, sindromul metabolic, obezitate

C9. THE ASSOCIATION BETWEEN THE PON1 GENES RS662 AND RS854560 WITH THE METABOLIC SYNDROME IN PATIENTS WITH OBESITY

Alexandra Alina Stanislav

Department of Clinical Chemistry, Clinical Laboratory, Giurgiu County Emergency Hospital, Romania

Introduction: The PON1 (paraoxonase 1) gene is a glycoprotein, genomically located on 7q21.3. The PON1 rs854560 gene polymorphism is associated with diabetic retinopathy, DM1, and metabolic syndrome (MS). The PON1 rs662 gene polymorphism is associated with the risk of developing high blood pressure (HT). The purpose of the study is to test associations between the PON1 gene and MS in patients with obesity based on clinical data, laboratory investigations, genetic methods and bioinformatics.

Methods: The study was carried out on 75 subjects from the Giurgiu County Emergency Hospital; 55 with obesity (OB) and 20 controls, based on clinical data: BMI, hypertension, sex and age, biochemical laboratory investigations: glucose, triglycerides, cholesterol, HDL, LDL, uric acid, magnesium, HbA1c performed on the BS300 Mindray machine. The hematological analyzes were performed on the BS3000 Mindray machine: WBC, RBC, HGB and HCT. The PON1 gene polymorphisms rs854560 and rs662 were sequenced by RFLP-PCR and Advanced NGx. The results were processed by the program Graph Pad Prism 7.0.3, MDR 3.0.2 and matlab R2009b.

Results: It turns out that rs854560 and rs662 polymorphisms showed increased values of glucose and HbA1c concentrations, and are associated with cardiovascular diseases, diabetes and obesity, which can increase the risk of MS.

Conclusions: The PON1 gene with rs854560 and rs662 ($OR > 1$ and $p < 0.0001$, $OR = 2$) is associated with the metabolic syndrome.

Keywords: PON1 gene, metabolic syndrome, obesity

C10. ROLUL TESTELOR DE SCREENING ÎN DEFINIREA PREVALENȚEI RISCULUI DE BOLI CARDIOVASCULARE

Antoanela Curici^{1,2}, Gabriela-Irina Marinescu¹, Ana Corina Ionescu^{1,3,4}

¹ Synevo România, București, România

² Disciplina Biologie Celulară, Moleculară și Histologie, Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila” București, România

³ Disciplina Radioterapie Oncologică și Imagistică Medicală, Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila” București, România

⁴ Clinica de Radioterapie, Spitalul Clinic Colțea, București, România

Introducere: Studiile epidemiologice recente efectuate în România au confirmat o tendință ascendentă a prevalenței factorilor de risc pentru bolile cardiovasculare (BCV), precum diabetul zaharat (DZ), obezitatea și dislipidemia. Scopul acestui studiu a fost de a descrie profilul factorilor de risc cardiovascular și comportamentul preventiv la un eșantion reprezentativ al populației adulte din zonă de Est a României.

Metode: În perioada septembrie 2022 – decembrie 2023, un eșantion aleatoriu din populația adultă a fost recrutat din zona de Est a României. Subiecții eligibili au primit un chestionar privind datele socio-demografice, istoricul medical și familial, alți factori de risc cardiovascular și comportamentul preventiv privind măsurarea tensiunii arteriale (TA) și au fost supuși măsurărilor antropometrice (greutate și înălțime) împreună cu măsurarea TA înainte de recoltarea probei de sânge.

Rezultate: Peste 70% din populația studiată avea un indice de masă corporală (IMC) peste intervalul normal pentru vârsta lor. Pentru subiecții supraponderali și obezi, factorii de risc cuantificabili pentru BCV, colesterolul total, colesterolul LDL, trigliceridele și glucoza au fost semnificativ mai mari la subiecții cu un IMC peste intervalul normal. 46% din populație a declarat nicio boală cunoscută, dar cu toate acestea, 4,8% aveau diabet conform criteriului Asociației Americane de Diabet, 79,1% dislipidemie și 16,7% hipertensiune arterială.

Concluzii: Monitorizarea de rutină a testelor de sânge poate fi un instrument ușor și ieftin pentru a ghida intervențiile educaționale și medicale pentru a evalua factorii de risc CV modificabili în populația adultă pentru a preveni consecințele fatale ale bolilor cardiovasculare.

Cuvinte cheie: teste de laborator, screening, dislipidemie

C10. DEFINING THE PREVALENCE OF CARDIOVASCULAR DISEASE RISK – THE ROLE OF SCREENING TESTS

Antoanela Curici^{1,2}, Gabriela-Irina Marinescu¹, Ana Corina Ionescu^{1,3,4}

¹ Synevo Romania, Bucharest, Romania

² Department of Cellular and Molecular Biology and Histology, “Carol Davila” University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania

³ Department of Oncological Radiotherapy and Medical Imaging, “Carol Davila” University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania.

⁴ Department of Radiotherapy, Colțea Clinical Hospital, Bucharest, Romania

Introduction: Recent epidemiologic studies carried out in Romania confirmed an ascending trend for cardiovascular disease (CVD) risk factor prevalence, such as diabetes mellitus (DM), obesity and dyslipidemia. The aim of this study is to describe the CVD risk factor profile and preventative behavior in a representative sample of the general adult population of an Eastern Romanian area.

Methods: Between September 2022 and December 2023, a random sample of the adult population was recruited out of the residents of Eastern Romania area. Eligible subjects received a questionnaire concerning socio-demographic data, medical and familial history, other cardiovascular risk factors and blood pressure (BP)-preventive behavior, and they underwent anthropometric measurements (weight and height) and BP measurements before blood sample collection.

Results: More than 70% of the studied population had a body mass index (BMI) above the normal range for their age. For the overweight and obese subjects, the quantifiable CVD risk factors, total cholesterol, LDL-cholesterol, triglycerides, and glucose were significantly higher in subjects with a BMI above the normal range. 46% of the population declared no known disease, but despite that, 4.8% had diabetes according to American Diabetes Association criterion, 79.1 % dyslipidemia and 16.7% hypertension.

Conclusions: Routine blood test monitoring may be an easy and inexpensive tool to guide educational and medical interventions to address modifiable cardiovascular (CV) risk factors in the adult population to prevent the fatal consequences of cardiovascular disease.

Keywords: laboratory tests, screening, dyslipidemia

C11. RELAȚIA DINTRE INDICELE ATEROGENIC AL PLASMEI ȘI CONCENTRAȚIA ACIDUL URIC SERIC ÎN RÂNDUL POPULAȚIEI GENERALE

Mirela Victoria Tătaru¹, Ioannis Otheitis², Marialena Misailidou¹

¹ Laboratorul de Microbiologie, K. Y. Spaton, Attica, Grecia

² Laboratorul de Microbiologie Otheiti, Chalandri, Attica, Grecia

Introducere: Acidul uric (AU), un compus cu activități paradoxale antioxidante și/sau pro-oxidante, joacă un rol semnificativ în multe afecțiuni asociate cu inflamația vasculară, trombogeneză și ateroscleroza. Indicele Aterogenic al Plasmei (AIP) este un nou marker folosit pentru a evalua „zona de risc aterogen”. Scopul prezentului studiu a fost de a determina relația dintre concentrația serică a AU și indicele AIP într-o cohortă de pacienți adulți neselectați, din ambulatoriu.

Metode: Au fost analizate retrospectiv datele a 708 pacienți (313 bărbați și 395 femei), cu vârsta >18 ani. AU și parametrii profilului lipidic au fost măsurați folosind metodele standard de laborator (AMS-Ellipse-Chemistry Analyzer). AIP a fost calculat după formula $\log[\text{trigliceride(TG)/lipoproteine cu densitate înaltă(HDL-c)}]$. Populația studiată a fost divizată în quartile pe baza nivelurilor AU specifice sexului [bărbați: (Q1: ≤ 4.5 , Q2: 4.5–5.4, Q3: 5.4–6.25, Q4: >6.25 mg/dL; femei: Q1: ≤ 3.3 , Q2: 3.3–4.2, Q3: 4.2–5.1, Q4: >5.1 mg/dL)]. Analizele statistice au fost efectuate folosind programul MedCalc v.19.1.5.

Rezultate: 12,14% bărbați și 9,62% femei au suferit de hiperuricemie (HUA). Testul de corelație Spearman a stabilit o corelație pozitivă între AU și AIP, la ambele sexe (bărbați: $r=0,281, p<0,0001$ /femei: $r=0,358, p<0,0001$). O tendință semnificativă de creștere a AIP a fost observată în quartilele AU la ambele sexe [(bărbați: Q1: $0,26 \pm 0,21$, Q2: $0,35 \pm 0,24$, Q3: $0,4 \pm 0,26$, Q4: $0,44 \pm 0,27$ ($p<0,001$)/femei: Q: $0,10(-0,08-0,28)$, Q2: $0,22(0,06-0,40)$, Q3: $0,32(0,09-0,42)$, Q4: $0,34(0,19-0,54)$ ($p<0,001$)]. Analiza ROC a arătat că AUC (aria sub curbă) a fost de $0,598(0,542-0,653)$ ($p<0,05$) la bărbați și $0,716(0,635-0,797)$ ($p<0,001$) la femei. Rezultatele regresiei liniare multiple au indicat un efect colectiv semnificativ între nivelurile colesterolului total (TC), trigliceridelor (TG), lipoproteinelor cu densitate joasă (LDL-c), AIP și AU (femei: $p<0,001, R^2=0,21, R^2_{adj}=0,2$ /bărbați: $p<0,001, R^2=0,16, R^2_{adj}=0,15$).

Concluzii: Studiul prezent dezvăluie existența unei asocieri semnificative între valorile crescute ale indicelui AIP și nivelurile serice ridicate ale AU, sugerând că AIP ar putea prezice prevalența HUA în populația generală. Prezența concomitentă a valorilor AIP crescute și HUA predispozează la un risc înalt de dezvoltare a afecțiunilor aterosclerotice.

Cuvinte cheie: indicele aterogenic al plasmei, acid uric, populația generală

C11. THE RELATIONSHIP BETWEEN ATHEROGENIC INDEX OF PLASMA AND SERUM URIC ACID CONCENTRATION IN GENERAL POPULATION

Mirela Victoria Tătaru¹, Ioannis Otheitis², Marialena Misailidou¹

¹ Microbiology Laboratory, K. Y. Spaton, Attica, Greece

² Otheiti Microbiology Laboratory, Chalandri, Attica, Greece

Introduction: Uric acid (UA), a compound with antioxidant and/or pro-oxidant paradoxical activities, plays a significant role in many diseases associated with vascular inflammation, thrombogenesis and atherosclerosis. Atherogenic Index of Plasma (AIP) is a novel marker used to evaluate the “zone of atherogenic risk”. The aim of the present study was to determine the association between serum UA concentration and AIP in a cohort of unselected adult outpatients.

Methods: Data of 708 patients (313 male and 395 female), aged >18 years, were retrospectively analyzed. UA and lipid profile parameters were measured using standard laboratory methods (AMS-Ellipse-Chemistry Analyzer). AIP was calculated as $\log[\text{triglycerides(TG)/high-density lipoprotein cholesterol(HDL-c)}]$. The study population was divided into quartiles based on gender-specific UA levels [male: (Q1: ≤ 4.5 , Q2: 4.5–5.4, Q3: 5.4–6.25, Q4: >6.25 mg/dL/female: Q1: ≤ 3.3 , Q2: 3.3–4.2, Q3: 4.2–5.1, Q4: >5.1 mg/dL)]. Statistical analyses were performed using MedCalc v.19.1.5 program.

Results: 12.14% men and 9.62% women suffered from hyperuricemia (HUA). Spearman rank test established a positive correlation between AU and AIP, in both sexes (men: $r=0.281$ and women: $r=0.358$, both $p<0.0001$). A significant increasing trend of AIP was observed in both genders across UA quartiles [(male: Q1: $0,26 \pm 0,21$, Q2: $0,35 \pm 0,24$, Q3: $0,4 \pm 0,26$, Q4: $0,44 \pm 0,27$ ($p<0,001$)/female: Q: $0,10(-0,08-0,28)$, Q2: $0,22(0,06-0,40)$, Q3: $0,32(0,09-0,42)$, Q4: $0,34(0,19-0,54)$ ($p<0,001$)]. ROC analysis showed that AUC (area under the curve) was $0.598(0.542-0.653)$ ($p<0,05$) for male and $0.716(0.635-0.797)$ ($p<0,001$) for female. Results of the multiple linear regression indicated a collective significant effect between total cholesterol (TC), triglycerides (TG), low-density lipoprotein cholesterol (LDL-c), AIP and UA (female: $p<0,001, R^2=0.21, R^2_{adj}=0.2$ /male: $p<0,001, R^2=0.16, R^2_{adj}=0.15$).

Conclusions: The present study reveals a significant association of increased AIP index with elevated serum UA levels, suggesting that AIP could predict the prevalence of HUA in general population. The simultaneous presence of high AIP and HUA predispose to an increased risk of developing atherosclerotic conditions.

Keywords: atherogenic index of plasma, uric acid, general population

C12. CUANTIFICAREA MICRO-ARN PLASMATIC ÎN PATOLOGIA CARDIACĂ

Ștefania-Andreea Negru¹, Andreea-Alexandra Ureche-Fotea¹, Eugen Radu^{1,2}

¹ Laboratorul de Patologie Moleculară, Spitalul Universitar de Urgență București, România

² Disciplina de Microbiologie III, Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila" București, România

Introducere: Micro-ARN reprezintă o clasă importantă de molecule de ARN necodant (~18-24 nucleotide) implicate în reglarea expresiei genice și în multiple procese biologice. Disfuncții în reglarea micro-ARN au fost asociate cu afecțiuni precum cancerul, bolile cardiovasculare, neurologice și inflamatorii. Au fost publicate numeroase studii și articole de cercetare referitoare la rolul micro-ARN în patologia cardiacă (cardiomiopatii): potențiale ținte terapeutice sau markeri biologici pentru diagnostic, prognostic și monitorizarea răspunsului la tratament.

Metode: Pentru analiza cantitativă a miARN au fost utilizate probe de plasmă provenite de la un număr de 94 de pacienți diagnosticați cu cardiomiopatii. Extracția ARN s-a realizat folosind reactivii Qiagen "miRNeasy Serum/Plasma Kit"; pentru reverstranscriere s-au utilizat reactivii Qiagen "miScript II RT Kit"; amplificarea PCR s-a realizat cu reactivii Qiagen "miScript SYBR Green PCR Kit". Detecția s-a făcut folosind sistemul Real-Time PCR Light Cyclor LC480II și programul de achiziție/analiză Light Cyclor 480 SW 1.5. S-a analizat expresia următoarelor specii miARN: M16, M21, M21*, M126, M126*, M29, M29* și a controlului endogen Ce-miR-39_1 (inclus în kit).

Rezultate: În urma reacției PCR, s-au obținut curbele de amplificare corespunzătoare probelor și speciilor miARN testate, utilizate ulterior pentru calcularea valorii Ct. Pentru atestarea specificității reacției de amplificare am realizat o analiză a temperaturii de denaturare a ampliconilor rezultați. Metoda Δ Ct a fost folosită pentru cuantificare. Analiza statistică a datelor s-a realizat în programul Jamovi.

Concluzii: Posterul prezintă diferențele de expresie ale miARN analizate în funcție de patologia pacienților din lotul de control, cu accent pe valoarea predictivă a acestor informații. S-au constatat diferențe de procesare între anumite specii de miARN analizate (ex.: M21 și M29 comparativ cu M126).

Cuvinte cheie: micro-ARN, cardiomiopatii, PCR

C12. QUANTITATIVE ASSESSMENT OF PLASMA MICRO-RNA IN CARDIAC PATHOLOGY

Ștefania-Andreea Negru¹, Andreea-Alexandra Ureche-Fotea¹, Eugen Radu^{1,2}

¹Molecular Pathology Laboratory, Bucharest Emergency University Hospital, Romania

²Microbiology III Department, University of Medicine and Pharmacy "Carol Davila" Bucharest, Romania

Introduction: MicroRNA represents an important class of non-coding RNA molecules (~18-24 nucleotides) involved in gene expression regulation and multiple biological processes. Dysfunctions in microRNA regulation have been associated with diseases such as cancer, cardiovascular, neurological and inflammatory diseases. Numerous studies and research articles have been published regarding the role of microRNAs in cardiac pathology (cardiomyopathies): potential therapeutic targets or biological markers for diagnosis, prognosis and treatment response monitoring.

Methods: For the quantitative analysis of miRNA, plasma samples from 94 patients diagnosed with cardiomyopathies were used. RNA extraction was performed using Qiagen reagents "miRNeasy Serum/Plasma Kit"; for reverse transcription, Qiagen reagents "miScript II RT Kit" were used; PCR amplification was carried out using Qiagen reagents "miScript SYBR Green PCR Kit". Detection was performed using the Real-Time PCR Light Cyclor LC480II system and Light Cyclor 480 SW 1.5 acquisition/analysis software. The expression of the following miRNA species was analyzed: M16, M21, M21*, M126, M126*, M29, M29*, as well as the endogenous control Ce-miR-39_1 (included in the kit).

Results: Following PCR reaction, amplification curves corresponding to the tested plasma samples and miRNA species were obtained, subsequently used for Ct value calculation. To confirm the specificity of the amplification reaction, an analysis of the denaturation temperature of the resulting amplicons was conducted. The Δ Ct method was used for quantification. Statistical analysis of the data was performed using the Jamovi program.

Conclusions: The poster presents the expression differences of analyzed miRNAs based on the pathology of patients from the control group, focusing on the predictive value of this information. Differences in processing were observed among certain species of analyzed miRNAs (e.g., M21 and M29 compared to M126).

Keywords: microRNA, cardiomyopathies, PCR

C13. UTILIZAREA MACHINE LEARNING ÎN PREDICȚIA RISCULUI DE TROMBOZĂ LA PACIENȚII CARDIACI

Sabrina Danciu^{1,2}, Raluca Dumache^{3,4}, Alexandra Enache^{3,4}, Daniela Stefania Grecu^{1,3}, Marina Adriana Mercioni⁵, Cristina Tudoran^{2,3}

- 1 Laborator Central Analize Medicale, Spitalul Clinic Județean de Urgență "Pius Brînzeu" Timișoara, România
- 2 Spitalul Clinic Județean de Urgență "Pius Brînzeu" Timișoara, România
- 3 Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara, România
- 4 Institutul de Medicină Legală Timișoara, România
- 5 Universitatea Politehnică Timișoara, România

Introducere: Trombofilia este primară (genetică) și secundară (dobândită). Cele mai frecvente mutații genetice sunt la Factorul V și II. În prezentul studiu s-a efectuat testare genetică pentru identificarea celor mai frecvente mutații cu risc de apariție a tulburărilor de coagulare și evaluarea factorului de impact. Am selectat 47 de pacienți cu afectare cardiovasculară, între 45 și 73 de ani. Am evaluat următorii parametri: sex, tensiune arterială sistolică/ diastolică, saturația oxigenului, frecvență cardiacă, număr de leucocite, trombocite, viteza de sedimentare a hematiilor, Proteina C Reactivă și parametrii coagulogramei.

Metode: S-au recoltat cinci mililitri de sânge venos în eprubete conținând EDTA. Testarea genetică s-a efectuat prin Real-Time PCR pe ABI 7500, folosind GeneProof Mutation Detection. Mutațiile genetice căutate au fost: PAI 1 4G/5G și 5G/5G, MTHFR C677T T/T și C/C, MTHFR A1298C C/C, Factor II G/A, Factor V G/A și G/G. Rezultatele s-au introdus în algoritmi Machine Learning (XGBoost, Neural Networks, SVM, Gradient Boosting, Random Forest, Decision Tree, Logistic Regression, kNN).

Rezultate: Din 47 de pacienți, 20 au prezentat mutații genetice. Folosind modelul Machine Learning, am obținut corelații între variantele patogene și riscul de apariție a evenimentelor tromboembolice. Conform algoritmilor Decision Tree și Gradient Boosting, cu acuratețe de 100% și 89%, PAI 1 4G/5G și 5G/5G, MTHFR C677T T/T și Factor II G/A au cel mai mare impact.

Concluzii: Aceste mutații sunt citate și în literatură cu risc de a genera evenimente trombotice. Utilizarea Machine Learning în selecția pacienților care îndeplinesc criteriile de testare genetică aduce îmbunătățiri în profilaxie și scăderea riscului de deces subit.

Cuvinte cheie: trombofilie, mutații, machine learning

C13. MACHINE LEARNING APPROACH IN PREDICTION OF TROMBOSIS RISKS IN CARDIAC PATIENTS

Sabrina Danciu^{1,2}, Raluca Dumache^{3,4}, Alexandra Enache^{3,4}, Daniela Stefania Grecu^{1,3}, Marina Adriana Mercioni⁵, Cristina Tudoran^{2,3}

- 1 Medical laboratory, Timiș County Emergency Clinical Hospital "Pius Brînzeu", Timisoara, Romania
- 2 Timiș County Emergency Clinical Hospital "Pius Brînzeu", Timisoara, Romania
- 3 "Victor Babeș" University of Medicine and Pharmacy Timisoara, Romania
- 4 Institute of Forensic medicine Timisoara, Romania
- 5 Polytechnic University of Timisoara, Romania

Introduction: Thrombophilia is primary (genetic) or secondary (acquired). The most common genetic defects are Factor V and II mutations. In the present study, genetic testing was performed to identify the most frequent mutations presenting risk of coagulation and to evaluate their impact factor. We selected 47 patients with cardiovascular disease, between 45 and 73 years. The criteria followed were: sex, age, systolic/diastolic blood pressure, oxygen saturation, heart rate, number of leukocytes, platelets, erythrocyte sedimentation rate, C Reactive Protein and coagulogram parameters.

Methods: Five milliliters of venous blood were collected in EDTA tubes. Genetic testing was performed with Real-Time PCR method on an ABI 7500, using the GeneProof Mutation Detection kit. The genetic mutations searched were: PAI 1 4G/5G and 5G/5G, MTHFR C677T T/T and C/C, MTHFR A1298C C/C, Factor II G/A, Factor V G /A and G/G. The results were entered into Machine Learning algorithms (XGBoost, Neural Networks, SVM, Gradient Boosting, Random Forest, Decision Tree, Logistic Regression, kNN).

Results: From 47 patients, 20 presented gene mutations. Using the Machine Learning model, we obtained correlations between the tested pathogenic variants and the risk of thromboembolic events. According to the Decision Tree and Gradient Boosting algorithms, with an accuracy of 100% and 89%, PAI 1 4G/5G and 5G/5G, MTHFR C677T T/T and Factor II G/A have the highest rate of impact.

Conclusions: These mutations are also cited in current literature as having risk of generating thrombotic events. Use of Machine Learning algorithms in selecting patients that meet the genetic testing criteria brings improvements in prophylaxis and decreases the risk of sudden death.

Keywords: thrombophilia, genetic defects, machine learning

C14. IMPORTANȚA INDICILOR TROMBOCITARI ÎN TRATAMENTULUI PACIENȚILOR CU FIBRILAȚIE ATRIALĂ NON-VALVULARĂ

Olga Bernaz, Anatolie Vișnevschi, Livi Grib

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemișanu" din Republica Moldova

Introducere: Fibrilația atrială (FA) este cea mai frecventă aritmie în practica clinică. În hemoleucogramă, indicii trombocitari; lățimea de distribuție a mărimii trombocitelor (PDW); volumul mediu al trombocitelor (MPV) și plachetocritul (PCT) sunt parametri care reflectă caracteristicile morfologice ale trombocitelor și totodată pot fi utilizate în practica clinică pentru a evalua eficacitatea utilizării warfarinei stratificată prin raportul internațional normalizat (INR).

Metode: Studiul a inclus 60 de pacienți cu FA non-valvulară, care au fost randomizați în 2 grupuri: grupul de studiu I (GS I) – 30 de pacienți la care INR se încadra în interval 2.0 și 3.0; grupul de studiu II (GS II) – 30 de pacienți la care INR < 2.0, grupul de control (GC) – 30 de pacienți sănătoși. S-au analizat indicii de laborator: INR, PDW, MPV, PCT la internare în staționar.

Rezultate: Vârsta medie a pacienților a constituit $69,22 \pm 1.14$ ani; Valoarea medie a MPV, PDW și PCT a fost semnificativ mai înaltă în GS II de cât în GS I și GC, și similară între GS I și GC. MPV a corelat pozitiv cu PDW ($r=0,338$, $p<0,001$) și PCT ($r=0,047$, $p<0,001$) și, s-a observat o corelație negativă cu valoarea INR ($r=-0,06$, $p<0,001$). Efectuind analiza de regresie logistică multivariată, MPV, PDW și PCT au fost predictori independenți a valorilor scăzute a INR.

Concluzii: Rezultatele acestui studiu au arătat că MPV, PDW și PCT au demonstrat valori crescute la pacienții cu FA non-valvulară fără tratament eficient cu warfarină. Utilizarea warfarinei ajustată cu INR este asociată cu valori mai mici ale indicilor plachetari.

Cuvinte cheie: fibrilația atrială, trombocite, raportului internațional normalizat

C14. THE IMPORTANCE OF PLATELET INDICES IN THE TREATMENT OF PATIENTS WITH NON-VALVULAR ATRIAL FIBRILLATION

Olga Bernaz, Anatolie Vișnevschi, Livi Grib

Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy of the Republic of Moldova

Introduction: Atrial fibrillation (AF) is the most common arrhythmia in clinical practice. In the blood count, platelet indices; platelet size distribution width (PDW); mean platelet volume (MPV) and plateletcrit (PCT) are parameters that reflect the morphological characteristics of platelets and can also be used in clinical practice to assess the effectiveness of warfarin use stratified by the international normalized ratio (INR).

Methods: The study included 60 patients with non-valvular AF, who were randomized into 2 groups: study group I (GS I) – 30 patients whose INR was between 2.0 and 3.0; study group II (GS II) – 30 patients with INR < 2.0, control group (GC) – 30 healthy patients. Laboratory indices were analyzed: INR, PDW, MPV, PCT at inpatient admission.

Results: The average age of the patients was 69.22 ± 1.14 years; The mean value of MPV, PDW and PCT was significantly higher in GS II than in GS I and GC, and similar between GS I and GC. MPV correlated positively with PDW ($r=0.338$, $p<0.001$) and PCT ($r=0.047$, $p<0.001$), and a negative correlation was observed with INR value ($r=-0.06$, $p<0.001$). Performing multivariate logistic regression analysis, MPV, PDW and PCT were independent predictors of low INR values.

Conclusions: The results of this study showed that MPV, PDW and PCT demonstrated increased values in patients with non-valvular AF without effective warfarin treatment. INR-adjusted warfarin use is associated with lower values of platelet indices.

Keywords: Atrial fibrillation, platelets, international normalized ratio

R17. ROLUL DETERMINĂRILOR BIOCHIMICE ÎN EVALUAREA ERORILOR ÎNNĂSCUTE DE METABOLISM

Daniela Cristina Dimitriu^{1,2}, Corina Ciobanu¹, Ivona Mitu¹

¹ Departamentul de Biochimie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Grigore T. Popa", Iași, România

² Spitalul de Obstetrică și Ginecologie -Cuza Vodă, Iași, România

Erorile înnăscute de metabolism (EIM) sunt tulburări genetice care au ca rezultat faptul că organismul unei persoane are dificultăți în descompunerea anumitor substanțe (cum ar fi carbohidrații, proteinele sau grăsimile). Aceste tulburări sunt cauzate, de obicei, de defecte ale enzimelor implicate în metabolizarea acestor substanțe, fapt ce duce la o acumulare de substanțe toxice cu efecte grave. Erorile înnăscute de metabolism care afectează metabolismul energetic pot fi clasificate în mai multe categorii, în funcție de calea metabolică specifică afectată (tulburări de stocare a glicogenului, tulburări de oxidare a acizilor grași, tulburări mitocondriale, tulburări ale metabolismului aminoacizilor, tulburări ale lanțului de transport al electronilor). Determinarea IEM implică, cel mai adesea, combinarea evaluării clinice, cu teste biochimice, analize genetice și alte tehnici de diagnostic specializate (teste funcționale, metabolomică, imagistică metabolică). Metodele biochimice joacă un rol crucial în determinarea și diagnosticarea IEM. Aceste metode implică analiza sângelui, a urinei, a lichidului cefalorahidian (LCR) sau a altor lichide corporale pentru a detecta anomalii ale metaboliților sau ale activității enzimaticice asociate cu tulburări metabolice specifice. Metodele biochimice utilizate sunt: spectrometrie de masă în tandem MS/MS, cromatografie în fază gazoasă-spectrometrie de masă (GC-MS), cromatografie lichidă de înaltă performanță (HPLC), teste de fluorescență. Aceste metode biochimice, împreună cu evaluarea clinică și testele genetice, permit furnizorilor de servicii medicale să diagnosticheze cu precizie și să gestioneze erorile congenitale de metabolism, îmbunătățind strategiile terapeutice și calitatea vieții pacienților.

Cuvinte cheie: erori înnăscute de metabolism, metode biochimice, enzime

R17. THE ROLE OF BIOCHEMICAL DETERMINATIONS IN THE EVALUATION OF INBORN ERRORS OF METABOLISM

Daniela Cristina Dimitriu^{1,2}, Corina Ciobanu¹, Ivona Mitu¹

¹ Department of Biochemistry, "Grigore T. Popa" University of Medicine and Pharmacy, Iasi, Romania

² Obstetrics and Gynecology Hospital-Cuza Voda, Iasi, Romania

Inborn errors of metabolism (IEM) are genetic disorders that result in a person's body having difficulty breaking down certain substances (such as carbohydrates, proteins, or fats). These disorders are usually caused by defects in enzymes that help metabolize these substances, leading to a buildup of toxic compounds in the body. IEM affecting energetical metabolism can be classified into several categories based on the specific metabolic pathway altered (glycogen storage disorders, fatty acid oxidation disorders, mitochondrial disorders, disorders of amino acid metabolism, disorders of the electron transport chain). The determination of IEM typically involves an integration of clinical evaluation, biochemical testing, genetic analysis, and other specialized diagnostic techniques (functional assays, metabolomics, metabolic imaging). Among these, biochemical methods play a crucial role in assessing IEM. They involve the analysis of blood, urine, cerebrospinal fluid (CSF), or other bodily fluids, in order to detect abnormalities in metabolites or enzyme activity associated with specific metabolic disorders. Biochemical methods utilized comprise of: tandem mass spectrometry MS/MS, Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS), High-Performance Liquid Chromatography (HPLC), Fluorescence Assays. Accordingly, often used in combination with clinical evaluation and genetic testing, these techniques enable healthcare providers to accurately diagnose and manage IEM, ultimately improving patient outcomes and quality of life.

Keywords: inborn errors of metabolism, biochemical testing, enzymes

R18. ACTUALIZĂRI ÎN GENOTIPARE HLA: O ANALIZĂ A IMPACTULUI ASUPRA COMPATIBILITĂȚII ȘI SUPRAVIEȚUIRII TRANSPLANTULUI RENAL

Adriana Tălăngescu^{1,2}, Corina Rotarescu^{1,2}, Ion Mărunțelu^{1,2}, Ileana Constantinescu^{1,2,3,4}

- 1 Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila” București, România
- 2 Centrul de Imunogenetică și Virusologie, Institutul Clinic Fundeni, București, România
- 3 Academia Oamenilor de Știință din România (AOSR), București, România
- 4 Centrul de Excelență “Emil Palade” Pentru Inițierea Tinerilor În Cercetarea Științifică, AOSR, București, România

Moleculile antigenului leucocitar uman (HLA) sunt cele mai polimorfe din genomul uman și joacă un rol crucial în sistemul imunitar prin prezentarea peptidelor celulelor imune. Regiunea HLA este unică prin polimorfismul său extraordinar, dezechilibrul extins al legăturii și funcția critică pentru imunorecunoaștere și dezvoltarea răspunsului imunitar. Compatibilitatea HLA este foarte importantă în transplantul de organe solide și joacă un rol cheie în managementul imunologiei transplantului. Succesul optim al grefei apare atunci când donatorul și receptorul prezintă compatibilitate deplină, minimizând nepotrivirile alelelor HLA. Nivelul rezoluției de tipare influențează semnificativ probabilitatea de potrivire al alelelor în timpul selecției donatorului. De-a lungul timpului, tehnicile de tipizare HLA au avansat, oferind metode din ce în ce mai precise. Inițial, fenotiparea s-a bazat pe detectarea proteinelor HLA pe suprafețele celulare folosind anticorpi specifici, înlocuite treptat de metode de tipizare bazate pe ADN. Astăzi, tiparea HLA prin Next-Generation Sequencing (NGS) oferă informații la fel de specifice precum diferențele de nivel de aminoacizi, identificarea de noi alele, alelele cu un profil de expresie aberant, alelele nule și alelele cu exprimare scăzută și contribuie foarte mult la înțelegerea moleculelor HLA și funcția lor imunologică.

În epoca medicinei moderne, potrivirea HLA în transplantul de organe aduce numeroase beneficii, inclusiv îmbunătățirea funcției grefei, reducerea episoadelor de respingere, supraviețuirea prelungită a grefei și posibilitatea terapiei imunosupresoare personalizate.

R18. UPDATES IN HLA GENOTYPING: AN ANALYSIS OF THE IMPACT ON RENAL TRANSPLANT COMPATIBILITY AND SURVIVAL

Adriana Tălăngescu^{1,2}, Corina Rotarescu^{1,2}, Ion Mărunțelu^{1,2}, Ileana Constantinescu^{1,2,3,4}

- 1 Carol Davila University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania
- 2 Center for Immunogenetics and Virology Center, Fundeni Clinical Institute, Bucharest, Romania
- 3 Academy of Romanian Scientists (AOSR), Bucharest, Romania
- 4 “Emil Palade” Center of Excellence for Initiating Young People in Scientific Research, AOSR, Bucharest, Romania

The Human Leukocyte Antigen (HLA) molecules are the most polymorphic in the human genome and play a crucial role in the immune system by presenting peptides to immune cells. The HLA region is unique in its extraordinary polymorphism, extensive linkage disequilibrium and critical function for immunorecognition and the development of the immune response. HLA compatibility is very important in solid organ transplantation and plays key roles in management of transplant immunology. Optimal graft success occurs when donor and recipient exhibit full compatibility, minimizing HLA allele mismatches. The level of typing resolution significantly influences allele matching probability during donor selection. Over time, HLA typing techniques have advanced, offering increasingly precise methods. Initially, phenotyping relied on detecting HLA proteins on cell surfaces using specific antibodies, gradually replaced by DNA-based typing methods. Today, HLA typing by Next-Generation Sequencing (NGS) provides information as specific as the amino acid level differences, the identification of new alleles, alleles with an aberrant expression profile, null alleles and low expressed allele and contribute greatly to the understanding of HLA molecules and their immunological function.

In the era of modern medicine, HLA matching in organ transplantation yields numerous benefits, including improved graft function, reduced rejection episodes, prolonged graft survival, and the possibility of the personalized immunosuppressive therapy.

R19. ROLUL SCREENING-ULUI ȘI IDENTIFICĂRII ANTICORPILOR ANTI HLA ÎN MANAGEMENTUL IMUNOSUPRESIEI ÎN TRANSPLANTUL RENAL

Ion Mărunțelu^{1,2}, Corina Rotărescu^{1,2}, Maria Tizu^{1,2}, Daniela Filofteia Nedelcu², Maria Adela Toader², Ileana Constantinescu^{1,2,3,4}

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

² Centrul de Imunogenetică și Virusologie, Institutul Clinic Fundeni, București, România

³ Academia Oamenilor de Știință din Romania (AOSR), București, România

⁴ Centrul de Excelență "Emil Palade" Pentru Inițierea Tinerilor În Cercetarea Științifică, AOSR, București, România

Introducere: Prezența anticorpilor anti-HLA crește riscul de respingere a grefei și pierderea ulterioară a funcției renale la beneficiari. Monitorizarea acestor anticorpi este esențială pentru evaluarea riscului și ghidarea strategiilor de imunoterapie. Anticorpilor anti-HLA pot apărea ca urmare a evenimentelor de sensibilizare anterioare, cum ar fi transfuziile de sânge sau transplanturile anterioare. Obiectivul acestui studiu a constat în evaluarea impactului anticorpilor anti-HLA asupra funcționării grefelor renale la pacienții cu transplant renal.

Metode: Tehnologiile avansate, cum ar fi platformele multiplex, au îmbunătățit sensibilitatea și specificitatea detectării anticorpilor anti-HLA. Aceste tehnologii permit detectarea timpurie și facilitează strategiile de tratament personalizate.

Rezultate: Nivelele ridicate de anticorpi anti-HLA sunt asociate cu un risc crescut de respingere acută și cronică. Monitorizarea anticorpilor anti-HLA permite detectarea timpurie a potențialelor complicații și intervenție. De asemenea, ajută la adaptarea terapiei imunosupresoare pentru a viza anticorpilor specifici și a minimiza riscul de respingere. Mai multe medicamente pot suprima sistemul imunitar, inclusiv inhibitorii de calcineurină, globulinele și anticorpilor monoclonali. Cu toate acestea, individualizarea este cheia pentru optimizarea rezultatelor.

Concluzii: Monitorizarea anticorpilor anti-HLA este o parte integrală a managementului transplantului renal. Prin identificarea pacienților cu risc crescut, ajustarea schemelor imunosupresoare și ghidarea selecției donatorilor, se îmbunătățesc rezultatele și se sporește supraviețuirea generală a pacienților.

R19. THE ROLE OF ANTI-HLA SCREENING AND IDENTIFICATION IN THE MANAGEMENT OF IMMUNOSUPPRESSION IN RENAL TRANSPLANTATION

Ion Mărunțelu^{1,2}, Corina Rotărescu^{1,2}, Maria Tizu^{1,2}, Daniela Filofteia Nedelcu², Maria Adela Toader², Ileana Constantinescu^{1,2,3,4}

¹ Carol Davila University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania

² Center for Immunogenetics and Virology Center, Fundeni Clinical Institute, Bucharest, Romania

³ Academy of Romanian Scientists (AOSR), Bucharest, Romania

⁴ "Emil Palade" Center of Excellence for Initiating Young People in Scientific Research, AOSR, Bucharest, Romania

Introduction: The presence of anti-HLA antibodies increases the risk of graft rejection and subsequent loss of renal function in recipients. Monitoring these antibodies is essential for risk assessment and guiding immunotherapy strategies. Anti-HLA antibodies can occur as a result of previous sensitization events, such as previous blood transfusions or transplants. The objective of this study was to evaluate the impact of anti-HLA antibodies on the functioning of kidney grafts in kidney transplant patients.

Methods: Advanced technologies such as multiplex platforms have improved the sensitivity and specificity of anti-HLA antibody detection. These technologies enable early detection and facilitate personalized treatment strategies.

Results: High levels of anti-HLA antibodies are associated with an increased risk of acute and chronic rejection. Anti-HLA antibody monitoring allows early detection of potential complications and intervention. It also helps tailor immunosuppressive therapies to target specific antibodies and minimize the risk of rejection. Several drugs can suppress the immune system, including calcineurin inhibitors, globulins, and monoclonal antibodies. However, individualization is the key to optimizing results.

Conclusions: Anti-HLA antibody monitoring is an integral part of renal transplant management. By identifying high-risk patients, adjusting immunosuppressive regimens, and guiding donor selection, outcomes are improved and overall patient survival is increased.

R20. EXPLORAREA miRNA CA BIOMARKERI ÎN TRANSPLANTUL RENAL: IMPLICAȚII PENTRU PROGNOSTIC ȘI TERAPIE PERSONALIZATĂ

Ileana Constantinescu^{1,2,3,4}, Ion Mărunțelu^{1,2}, Corina Rotărescu^{1,2}, Maria Tizu^{1,2}, Alexandra-Elena Constantinescu¹

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

² Centrul de Imunogenetică și Virusologie, Institutul Clinic Fundeni, București, România

³ Academia Oamenilor de Știință din Romania (AOSR), București, România

⁴ Centrul de Excelență "Emil Palade" Pentru Inițierea Tinerilor În Cercetarea Științifică, AOSR, București, România

Introducere: miRNA-urile sunt specifice țesutului și stabile în diverse materiale biologice, ceea ce le fac candidați ideali pentru îndeplinirea rolului de biomarkeri epigenetici moleculari în transplantul renal.

Metode: În cadrul studiului, am selectat două miARN-uri specifice, miR-10a și miR-223, pentru a investiga dinamica expresiei lor în grupurile de funcție renală stabilă și instabilă. Grupul stabil a inclus 20 de pacienți cu o mediană a creatininei de $1 \pm 0,3$ mg/dL, în timp ce grupul instabil a avut 18 pacienți cu o valoare mediană a creatininei de $5,6 \pm 3,5$ mg/dL. Timpul până la biopsie a fost semnificativ mai lung în grupul cu funcție renală instabilă, la $19,1 \pm 7,0$ luni post-transplant, comparativ cu $6,3 \pm 0,9$ luni în grupul cu funcție renală stabilă.

Rezultate: Rezultatele noastre preliminare au indicat că expresia miRNA-urilor sunt în corcondanță cu nivelurile crescute ale unor citokine urinare (precum IL-6 și TNF-alpha) în imunizarea pre-transplant a receptorilor și rețetul greșii renale.

Concluzii: Noi biomarkeri, inclusiv miR-10a, miR-223, profiluri serice și ddcfADN, ar trebui să fie incluși în monitorizarea post-transplant a funcției renale. Aplicațiile terapeutice potențiale ar putea include suprimarea țintită a expresiei miARN-urilor în țesutul renal.

R20. EXPLORING miRNA AS BIOMARKERS IN RENAL TRANSPLANTATION: IMPLICATIONS FOR PROGNOSIS AND PERSONALIZED THERAPY

Ileana Constantinescu^{1,2,3,4}, Ion Mărunțelu^{1,2}, Corina Rotărescu^{1,2}, Maria Tizu^{1,2}, Alexandra-Elena Constantinescu¹

¹ Carol Davila University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania

² Center for Immunogenetics and Virology Center, Fundeni Clinical Institute, Bucharest, Romania

³ Academy of Romanian Scientists (AOSR), Bucharest, Romania

⁴ "Emil Palade" Center of Excellence for Initiating Young People in Scientific Research, AOSR, Bucharest, Romania

Introduction: miRNAs are tissue-specific and stable in various biological materials, which makes them ideal candidates for fulfilling the role of molecular epigenetic biomarkers in renal transplantation.

Methods: In the study, we selected two specific miRNAs, miR-10a and miR-223, to investigate their expression dynamics in stable and unstable renal function groups. The stable group included 20 patients with a median creatinine level of 1 ± 0.3 mg/dL, while the unstable group comprised 18 patients with a median creatinine level of 5.6 ± 3.5 mg/dL. The time to biopsy was significantly longer in the unstable renal function group, at 19.1 ± 7.0 months post-transplant, compared to 6.3 ± 0.9 months in the stable renal function group.

Results: Our preliminary results indicate that miRNA expression correlates with elevated levels of urinary cytokines (such as IL-6 and TNF-alpha) during the pre-transplant immunization of recipients and renal graft rejection.

Conclusions: New biomarkers, including miR-10a, miR-223, serum profiles, and ddcfDNA, should be included in the post-transplant monitoring of renal function. Potential therapeutic applications could involve targeted suppression of miRNA expression in renal tissue.

R21. IMPACTUL VIREMIILOR ÎN TRANSPLANTUL RENAL: ABORDĂRI ACTUALE ȘI PERSPECTIVE VIITOARE

Corina Rotărescu^{1,2}, Ion Mărunțelu^{1,2}, Maria Tizu^{1,2}, Ileana Constantinescu^{1,2,3,4}

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

² Centrul de Imunogenetică și Virusologie, Institutul Clinic Fundeni, București, România

³ Academia Oamenilor de Știință din România (AOSR), București, România

⁴ Centrul de Excelență "Emil Palade" Pentru Inițierea Tinerilor În Cercetarea Științifică, AOSR, București, România

Introducere: Transplantul renal (KT) este adesea considerat tratamentul de elecție pentru multe persoane cu boală cronică renală în stadiul terminal, deoarece îmbunătățește semnificativ calitatea vieții. Cu toate acestea, succesul KT este adesea compromis de complicațiile virale, care sunt o consecință a terapiei imunosupresoare asociate procedurii de transplant. Obiectivul studiului este de a analiza episoadele de reactivare virală post-transplant renal, precum și impactul infecțiilor virale asupra terapiei imunosupresoare.

Metode: Acest studiu retrospectiv a cuprins 78 adulți care au beneficiat de KT (60,7% bărbați, 39,3% femei, 40,9±10,4 ani), toți fiind urmăriți timp de cel puțin un an. Nivelurile de medicație imunosupresoare post-transplant au fost monitorizate prin chemiluminescență. Încărcăturile virale pentru Polyoma-BKV, CMV, EBV, VHB și VHC au fost cuantificate cu ajutorul RT-PCR.

Rezultate: În centrul nostru, reactivările virale au fost identificate la 23% dintre primitori, reprezentând cea mai frecventă complicație asociată cu procedura de KT. Cea mai frecventă reactivare virală este Polyoma BKV (46%), urmat de HBV (20%), CMV (17%), HCV (14%) și EBV (3%). Am observat o scădere continuă a frecvenței reactivărilor virale începând cu a treia lună după transplant la fiecare interval de trei luni ulterior (16, 12, 5 și 2 reactivări), care corespunde cu o reducere a nivelului mediu de tacrolimus din sânge de la 12 ng/ml la trei luni la 8,1 ng/ml, 7,6 ng/ml și 7,1 ng/ml la șase, nouă și douăsprezece luni.

Concluzii: Datele noastre arată că reactivările virale au un impact clinic semnificativ asupra rezultatului pacienților transplantați renal.

R21. THE IMPACT OF VIREMIAS IN KIDNEY TRANSPLANTATION: CURRENT AND FUTURE APPROACHES

Corina Rotărescu^{1,2}, Ion Mărunțelu^{1,2}, Maria Tizu^{1,2}, Ileana Constantinescu^{1,2,3,4}

¹ Carol Davila University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania

² Center for Immunogenetics and Virology Center, Fundeni Clinical Institute, Bucharest, Romania

³ Academy of Romanian Scientists (AOSR), Bucharest, Romania

⁴ "Emil Palade" Center of Excellence for Initiating Young People in Scientific Research, AOSR, Bucharest, Romania

Introduction: Kidney transplantation (KT) is often the preferred treatment for many people with severe chronic kidney disease, as it significantly improves both quality of life and life expectancy. However, viral reactivations, a consequence of the immunosuppressive therapy associated with the procedure, can threaten the success of KT. The study aims to identify episodes of viral reactivation post-renal transplantation and assess the impact of viral infections on the efficacy of immunosuppressive therapy.

Methods: Our study included 78 Caucasian KT recipients (60.7% male, 39.3% female, 40.9±10.4 years), all followed for at least one year. Immunosuppressive medication levels post-transplantation were monitored using chemiluminescence. Polyoma-BKV, CMV, EBV, HBV, and HCV viral loads were quantified using quantitative polymerase chain reaction.

Results: In our centre, viral reactivations were identified in 23% of recipients, representing the most frequent complication associated with the KT procedure. The Polyoma-BKV was the most commonly reactivated virus, accounting for 46% of all reactivations, followed by HBV (20%), CMV (17%), HCV (14%), and EBV (3%). We observed a continuous decrease in the frequency of viral reactivations from the third-month post-transplant at each subsequent three-month interval (16, 12, 5, and 2 reactivations), corresponding with a reduction in the average blood tacrolimus levels from 12 ng/ml at the three-month mark to 8.1 ng/ml, 7.6 ng/ml and 7.1 ng/ml at six, nine and twelve months.

Conclusions: Our data show that viral reactivations have a significant clinical impact on KT recipients.

C15. SCREENING GENETIC NEONATAL PENTRU ATROFIA MUSCULARĂ SPINALĂ LA CENTRUL ROBĂNESCU

Ecaterina Bercu¹, Oana Bălănescu¹, Alina Mirela Nicuț¹, Elena Neagu¹, Elena-Silvia Shelby¹, Cristian Bercu¹, Mădălina Cristina Leanca¹, Daniela Vasile¹, Florin Petru Grigoraș¹, Mihaela Bădină¹, Liliana Pădure^{1,2}, Andrada Mirea^{1,2}

¹ Centrul Național Clinic de Recuperare Neuropsihomotorie pentru Copii "Dr. Nicolae Robănescu", București, România

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

Introducere: Atrofia musculară spinală (AMS), una dintre cele mai severe boli neurodegenerative ale copilăriei, beneficiază de trei tratamente aprobate, toate trei fiind disponibile pentru pacienții din România. Copiii cu diagnostic de AMS, considerată în prezent o urgență neurogenetică, necesită să fie tratați cât mai urgent, preferabil în stadiu presimptomatic, pentru a avea cele mai bune rezultate. Acest obiectiv poate fi atins prin screening neonatal, care este deja disponibil pentru mai mult de jumătate din populația de nou-născuți din Uniunea Europeană.

Metode: Proiectul nostru pilot, primul screening neonatal genetic în țara noastră, testează copiii care se nasc în maternitățile din București și din 5 județe limitrofe. Peste 25 000 de probe au fost screenate din august 2022 pentru depistare deleției homozigote a genei SMN1 cu o metodă validate, bazată pe analiza curbei de topire, kitul CE-IVD SALSA MC002 SMA Newborn Screen (MRC Holland).

Rezultate: Patru cazuri pozitive la screening au fost confirmate prin MLPA, testul de certitudine. Consilierea genetică a permis identificarea a încă două cazuri, rude ale unuia dintre cazurile pozitive.

Concluzii: Întrucât 2025 a fost stabilit de UE ca fiind anul în care screeningul neonatal pentru AMS va deveni disponibil pentru toți nou-născuții, milităm pentru includerea AMS în Programul Național de Screening Neonatal.

Cuvinte cheie: atrofie musculară spinală, screening neonatal, proiect pilot

C15. GENETIC NEONATAL SCREENING FOR SPINAL MUSCULAR ATROPHY AT ROBĂNESCU CENTER

Ecaterina Bercu¹, Oana Bălănescu¹, Alina Mirela Nicuț¹, Elena Neagu¹, Elena-Silvia Shelby¹, Cristian Bercu¹, Mădălina Cristina Leanca¹, Daniela Vasile¹, Florin Petru Grigoraș¹, Mihaela Bădină¹, Liliana Pădure^{1,2}, Andrada Mirea^{1,2}

¹ "Dr. Nicolae Robănescu" National Clinical Center for Neuropsychomotor Recovery for Children, Bucharest, Romania

² Carol Davila University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania

Introduction: The presence of anti-HLA antibodies increases the risk of graft rejection and subsequent loss of renal function in recipients. Monitoring these antibodies is essential for risk assessment and guiding immunotherapy strategies. Anti-HLA antibodies can occur as a result of previous sensitization events, such as previous blood transfusions or transplants. The objective of this study was to evaluate the impact of anti-HLA antibodies on the functioning of kidney grafts in kidney transplant patients.

Methods: Advanced technologies such as multiplex platforms have improved the sensitivity and specificity of anti-HLA antibody detection. These technologies enable early detection and facilitate personalized treatment strategies.

Results: High levels of anti-HLA antibodies are associated with an increased risk of acute and chronic rejection. Anti-HLA antibody monitoring allows early detection of potential complications and intervention. It also helps tailor immunosuppressive therapies to target specific antibodies and minimize the risk of rejection. Several drugs can suppress the immune system, including calcineurin inhibitors, globulins, and monoclonal antibodies. However, individualization is the key to optimizing results.

Conclusions: Anti-HLA antibody monitoring is an integral part of renal transplant management. By identifying high-risk patients, adjusting immunosuppressive regimens, and guiding donor selection, outcomes are improved and overall patient survival is increased.

Keywords: spinal muscular atrophy, neonatal screening, pilot project

R22. PROVOCĂRI PENTRU LABORATORUL DE MICROBIOLOGIE ÎN COMUNICAREA REZULTATELOR EXAMINĂRILOR

Gabriel Ionescu

Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare Medico-Militară "Cantacuzino", Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București

Introducere: Pentru un diagnostic microbiologic util, rezultatele examinărilor trebuie să fie corect interpretate și comunicate imediat ce devin disponibile, iar semnificația clinică și epidemiologică a acestora trebuie înțeleasă de cei care le-au solicitat.

Metode: Analiza adecvării comunicării ia în calcul procesul de examinare de la formularea solicitărilor și până la luarea deciziei finale pe baza rezultatelor: indicarea examinărilor, calitatea probelor, alegerea metodelor, conținutul buletinului, interpretarea rezultatelor, eventuale comentarii.

Rezultate și discuții: În laboratorul de microbiologie, fie că este vorba de diagnosticul direct sau cel indirect, de rezultate calitative sau cantitative, trebuie ținut cont de o serie de elemente care și-au dovedit validitatea în timp:

- Informația trebuie să fie formulată precis, clar, fără ambiguități;
- Trebuie stabilit cui se transmit rezultatele (numai către clinician, și către pacient sau autoritățile de sănătate publică în situații care necesită acest lucru), în ce formă și prin ce modalități (oral, rapoarte simplificate, parțiale);
- Se transmit numai informațiile semnificative clinic eventual epidemiologic;
- În anumite boli infecțioase, ex. infecția HIV, trebuie acordată consiliere specială pre și posttestare.
- Se verifică exactitatea comunicării și se analizează dificultățile întâmpinate
- Personalul care comunică rezultatele/acordă consiliere trebuie instruit în detaliu.

Concluzii: În esență, atât solicitarea de examinare cât și rezultatul sunt mesaje transmise între utilizatori și cei care efectuează examinările microbiologice. Dacă nu se folosesc aceiași termeni, nu se înțelege semnificația acestora sau se ignoră contextul clinic, atunci mesajul va fi criptic/ambiguu, iar scopul pentru care au fost solicitate examinările nu va fi atins.

Cuvinte cheie: adecvarea comunicării, examinări microbiologice

R22. CHALLENGES FOR THE MICROBIOLOGY LABORATORY IN COMMUNICATING EXAMINATION RESULTS

Gabriel Ionescu

Cantacuzino National Military Medical Institute for Research and Development, University of Medicine and Pharmacy "Carol Davila", Bucharest

Introduction: For a useful microbiological diagnosis, examination results must be correctly interpreted and communicated when they become available, and their clinical and epidemiological significance must be understood by those who requested them.

Methods: The analysis of communication adequacy takes into account the examination process from the formulation of requests to the final decision based on the results: the examinations requested, quality of samples, method choices, bulletin content, result interpretation, any comments.

Results and discussions: In the microbiology laboratory, whether it is direct or indirect diagnosis, qualitative or quantitative results, a series of elements have proven their validity over time:

- Information must be formulated precisely, clearly, without ambiguities;
- It must be established to whom the results are transmitted (only to the clinician, to the patient or public health authorities in situations requiring it), in what form, and through what means (oral, simplified reports, partial);
- Only clinically significant and potentially epidemiological information is transmitted;
- In certain infectious diseases, e.g. HIV infection, special pre- and post-testing counseling must be provided.
- The accuracy of communication is verified, and encountered difficulties are analyzed.
- Personnel who communicate results/provide counseling must be thoroughly trained.

Conclusions: Essentially, both the request and the result are messages transmitted between users and those performing examinations. If the same terms are not used, or their significance is not understood, or the clinical context is ignored, then the message will be cryptic/ambiguous, and the purpose for which the examinations were requested will not be achieved.

Keywords: communication adequacy, microbiological examinations

R23. GUT-MICROBIOME INDUCED INFLAMMATION IN INFLAMMATORY BOWEL DISEASE

Stephen Malnick^{1,2}, Manuela G. Neuman³

¹ Department of Internal Medicine C, Kaplan Medical Center, Rehovot, Israel (Affiliated with The Hebrew University, Hadassah, Jerusalem, Israel)

² Institute of Gastroenterology, Kaplan Medical Center, Rehovot, Israel

³ In Vitro Drug Safety and Biotechnology and Department of Pharmacology and Toxicology, University of Toronto, Toronto, Ontario, Canada

Introduction: The inflammatory bowel diseases (IBD), which include Crohn's disease (CD) and ulcerative colitis (UC), are multifactorial, chronic conditions of the gastrointestinal tract. IBD has been associated with dramatic changes in the gut microbiota and serum cytokines. There are changes in the gut metabolome at the molecular interface between host and microbiota.

Methods: We performed LC-MS metabolomic and cytokine profiling (ELISA) of cross-sectional stool samples from CD (n=15) and UC (n=15) and 10 non-IBD control subjects. Metabolomic profiles correlated with fecal calprotectin levels. In sera we identified chemokines and cytokines in IBD, including tumor necrosis alpha, interleukin 1 beta, and interleukins 6, 8, 17, 23, and 27.

Results: We identified 122 robust associations between severity of the disease and these biomarkers, indicating possible mechanistic relationships that are perturbed in IBD. Finally, we found that metabolome- and inflammasome-based classifiers of IBD status are accurate.

Conclusions: Our findings thus provide an improved understanding of perturbations of the microbiome-metabolome interface in IBD, including identification of many potential diagnostic and therapeutic targets.

C16. DOI ANI DE SUPRAVEGHERE A IZOLATELOR UMANE DE *SALMONELLA ENTERICA* PRIN SECVENȚIEREA ÎNTREGULUI GENOM BACTERIAN

Mihaela Oprea¹, Daniela Cristea², Sorin Dinu¹, Laura-Ioana Popa³, Andreea Ghiță², Ramona-Ionela Iordache¹, Maria Condei¹, Mădălina Militaru¹, Lavinia-Cipriana Rusu⁴, Codruța-Romanița Usein¹

- 1 Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare Medico-Militară Cantacuzino; Laboratorul Epidemiologie Moleculară pentru Boli Transmisibile, București
- 2 Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare Medico-Militară Cantacuzino; Laboratorul Infecții Enterice Bacteriene, București
- 3 Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare Medico-Militară Cantacuzino; Platforma de Genomică, Transcriptomică și Bioinformatică
- 4 Institutul Național de Sănătate Publică, București

Introducere: Secvențierea întregului genom (WGS) este deja curent utilizată pentru supravegherea patogenilor umani. În ultimii doi ani, laboratorul desemnat referință națională pentru *Salmonella* (Institutul Cantacuzino) a aplicat metoda pentru caracterizarea izolatelor primite prin sistemul național de supraveghere, aliniindu-se recomandărilor autorităților de sănătate publică europene.

Metode: În perioada 2022-2023, au fost secvențiate genomurile a 163 de izolate primite din 24 județe. S-a utilizat platforma Illumina (MiSeq sau NovaSeq 6000). Bibliotecile ADN au fost obținute utilizând Nextera XT DNA Library Preparation Kit și IDT for Illumina DNA/RNA UD Indexes. Platforma comercială informatică SeqSphere+ (Ridom) a fost utilizată pentru procesarea datelor (filtrare, asamblare, identificare factori de rezistență și virulență, tipizare, identificare cluster).

Rezultate: Au fost identificate 16 serovaruri, dintre care 14 non-Typhi și două Typhi/Paratyphi. Serovarul predominant a fost Enteritidis, urmat de Typhimurium și varianta monofazică a acestuia. Au fost confirmate zece focare de salmoneloze cauzate de *S. Enteritidis*, din care două au fost extinse cu izolate din alte județe. În plus, au fost detectate trei cluster de izolate strâns înrudite genetic. Aproape jumătate dintre izolate au prezentat mutații responsabile de rezistența la fluorochinolone. În ceea ce privește izolatele de *S. Typhimurium*, acestea au prezentat rezistență la 0-7 clase de antibiotice. Pentru acest serovar a fost detectat un cluster de șase izolate pe parcursul a 13 luni, din cinci județe diferite.

Concluzii: Continuarea supravegherii bazate pe WGS oferă avantajul sesizării unor cluster de izolate fără legături epidemiologice evidente, dar care necesită o reacție potrivită din partea autorităților de sănătate publică.

Cuvinte cheie: *Salmonella*, supraveghere, WGS

C16. TWO YEARS OF SURVEILLANCE OF HUMAN ISOLATES OF *SALMONELLA ENTERICA* BY SEQUENCING THE WHOLE BACTERIAL GENOME

Mihaela Oprea¹, Daniela Cristea², Sorin Dinu¹, Laura-Ioana Popa³, Andreea Ghiță², Ramona-Ionela Iordache¹, Maria Condei¹, Mădălina Militaru¹, Lavinia-Cipriana Rusu⁴, Codruța-Romanița Usein¹

- 1 Cantacuzino National Institute for Medical-Military Research and Development, Laboratory of Molecular Epidemiology for Communicable Diseases, Bucharest
- 2 Cantacuzino National Institute for Medical-Military Research and Development, Bacterial Enteric Infections Laboratory, Bucharest
- 3 Cantacuzino National Institute for Medical-Military Research and Development, Genomics, Transcriptomics and Bioinformatics Platform
- 4 National Institute of Public Health, Bucharest

Introduction: Whole genome sequencing (WGS) is already commonly used for surveillance of human pathogens. In the last two years, the designated national reference laboratory for *Salmonella* (Cantacuzino Institute) has applied the method for the characterization of isolates received through the national surveillance system, in line with the recommendations of the European public health authorities.

Methods: During 2022-2023, the genomes of 163 isolates received from 24 counties were sequenced with Illumina platform (MiSeq or NovaSeq 6000). DNA libraries were obtained using the Nextera XT DNA Library Preparation Kit and IDT for Illumina DNA/RNA UD Indexes. The commercial informatics platform SeqSphere+ (Ridom) was used for data processing (filtering, assembly, identification of resistance and virulence factors, typing, cluster identification).

Results: Sixteen serovars were identified, of which 14 were non-Typhi and two were Typhi/Paratyphi. The predominant serovar was Enteritidis, followed by Typhimurium and its monophasic variant. Ten outbreaks of salmonellosis caused by *S. Enteritidis* were confirmed, two of which were expanded with isolates from other counties. In addition, three clusters of genetically closely related isolates were detected. Almost half of the isolates showed mutations responsible for resistance to fluoroquinolones. Regarding the *S. Typhimurium* isolates, they showed resistance to 0-7 classes of antibiotics. For this serovar, a cluster of six isolates collected from five different counties over 13 months was identified.

Conclusions: Continued WGS-based surveillance offers the advantage of detecting clusters of isolates without obvious epidemiological links, but requiring an appropriate response from the public health authorities.

Keywords: *Salmonella*, surveillance, WGS

R24. EXSUDATUL FARINGIAN: TESTĂM SAU NU TESTĂM EXTENSIV?

Irina Codiță

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

Introducere: Exsudatul faringian constituie unul dintre principalele prelevate examinate bacteriologic în laboratoarele care deservesc pacienți de diferite vârste în ambulator. Există laboratoare care au introdus în oferta de servicii testarea extinsă a exsudatului faringian, incluzând *Haemophilus spp.*, pneumococul și *Neisseria*.

Metode: Am cercetat literatura și ghidurile existente în specialitățile microbiologie și otorinolaringologie pentru a evalua valoarea și consecințele testării extinse a exsudatului faringian în cazuri de faringite acute și cronice, la pacienți din diferite grupuri de vârstă.

Rezultate: În prezent nu există consens unanim cu privire la indicația terapeutică în faringita acută, în cazul unui rezultat pozitiv pentru streptococul beta-hemolitic de grup A. Investigațiile bacteriologice efectuate pe țesut amigdalian excizat de la pacienți cu faringite cronice au indicat o compoziție a microbiotei complet diferită de lista speciilor introduse în investigația extinsă. Compoziția microbiotei nu a variat semnificativ în cazurile tratate cu diferite antibiotice sau netratate înainte de amigdalectomie. Există date care susțin importanța biofilmului bacterian în faringita și adenoidita cronică, care sugerează necesitatea unor abordări terapeutice diferite de terapia cu antibiotice.

Concluzii: Datele cunoscute cu privire la etiologia faringitelor și mecanismele fiziopatologice în aceste cazuri nu susțin introducerea în practica laboratoarelor din ambulator a investigației extinse pentru *Haemophilus spp.*, pneumococ și *Neisseria*. În plus, eliberarea rezultatelor antibiogrammei în caz de portaj poate contribui la selectarea de tulpini rezistente la antibiotice.

Cuvinte cheie: exsudat faringian, investigație extinsă, rezistență la antibiotic

R24. PHARYNGEAL SWAB: TO TEST OR NOT TO TEST EXTENSIVELY?

Irina Codiță

“Carol Davila” University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania

Introduction: Pharyngeal exudate is one of the main samples examined bacteriologically in laboratories serving patients of different ages in ambulatory care. There are laboratories that have introduced extensive pharyngeal exudate testing, including *Haemophilus spp.*, pneumococcus and *Neisseria*, into their service offer.

Methods: We searched the literature and existing guidelines in microbiology and otolaryngology to assess the value and consequences of extensive testing of pharyngeal exudate in cases of acute and chronic pharyngitis in patients of different age groups.

Results: Currently there is no unanimous consensus regarding the therapeutic indication in active pharyngitis, in case of a positive result for group A beta-hemolytic streptococcus. Bacteriological investigations performed on tonsillar tissue excised from patients with chronic pharyngitis indicated a microbiota composition completely different from the list of species introduced in the extensive investigation. The microbiota composition did not vary significantly in cases treated with different antibiotics or untreated before tonsillectomy. There are data supporting the importance of bacterial biofilm in chronic pharyngitis and adenoiditis, suggesting the need for therapeutic approaches other than antibiotic therapy.

Conclusions: The known data regarding the etiology of pharyngitis and the pathophysiological mechanisms in these cases do not support the introduction of extensive investigation for *Haemophilus spp.*, pneumococcus and *Neisseria* into the practice of outpatient laboratories. In addition, the release of antibiogram results and antibiotic therapy in carriers may contribute to the selection of antibiotic-resistant strains.

Keywords: pharyngeal exudate, extensive investigation, antibiotic resistance

C17. DETECȚIA RAPIDĂ A STREPTOCOCCULUI DE GRUP B LA FEMEILE GRAVIDE PRINTR-O NOUĂ METODĂ DE BIOLOGIE MOLECULARĂ ÎN CONTEXT CLINIC

Alina Voicu¹, Maria Istrate¹, Monica Dugăeșescu^{2,3}, Diana F. Becheru^{2,4},
Lorena-Andreea Bocancia-Mateescu², Dana Stan²

¹ Maternitatea Polizu, Institutul Național pentru Sănătatea Mamei și a Copilului "Alessandrescu-Rusescu", București

² DDS Diagnostic, București

³ Institutul Clinic Fundeni, București

⁴ Facultatea de Inginerie Chimică și Biotehnologii, Universitatea Națională de Știință și Tehnologie Politehnica București

Introducere: *Streptococcus agalactiae*, clasificat drept streptococ de grup B (GBS), colonizează tractul vaginal și poate fi transmis vertical descendenților, determinând infecții invazive potențial fatale. Ghidurile clinice actuale recomandă screening-ul GBS la gravide și, în cazul testului pozitiv, administrarea antibioterapiei specifice. Însă, există cazuri clinice urgente care necesită rezultate rapide, iar procedurile standard de testare disponibile pot necesita până la câteva zile.

Metode: Au fost recoltate probe de tampon vaginal de la pacientele din cadrul maternității, după aprobarea studiului de către comisia de etică. Probele au fost în continuare testate utilizând atât metode tradiționale, cât și un nou kit de biologie moleculară disponibil comercial pentru detecția streptococului de grup B. Rezultatele testării clasice au fost obținute după 24 de ore, în timp ce rezultatele prin metoda rapidă moleculară au fost disponibile la 40 de minute după recoltarea probei.

Rezultate: Rezultatele obținute prin metode moleculare au fost comparate cu diagnosticul clasic de laborator și a fost analizat impactul clinic al rezultatului rapid. Pe baza rezultatelor, metodele au avut performanțe similare în detecția GBS. Însă, diagnosticul rapid a avut un impact mai ridicat asupra managementului pacientului în anumite situații particulare, precum: gravide neinvestigate la momentul travaliului, avorturi spontane, deteriorarea clinică rapidă fără etiologie cunoscută a unui nou-născut.

Concluzii: Testarea pentru GBS prin metode moleculare poate fi utilizată în context clinic pentru detecția rapidă a *Streptococcus agalactiae*, permițând un management mai eficient al pacientului și intervenții terapeutice prompte, cu prognostic îmbunătățit.

Cuvinte cheie: Streptococcus agalactiae, biologie moleculară, gravide

C17. RAPID GROUP B STREPTOCOCCUS DETECTION IN PREGNANT WOMEN WITH A NOVEL MOLECULAR BIOLOGY METHOD IN A CLINICAL SETTING

Alina Voicu¹, Maria Istrate¹, Monica Dugăeșescu^{2,3}, Diana F. Becheru^{2,4},
Lorena-Andreea Bocancia-Mateescu², Dana Stan²

¹ Polizu Maternity, National Institute for Mother and Child Health "Alessandrescu-Rusescu", Bucharest

² DDS Diagnostic, Bucharest

³ Fundeni Clinical Institute, Bucharest

⁴ Faculty of Chemical Engineering and Biotechnologies, National University of Science and Technology Politehnica, Bucharest, Bucharest

Introduction: *Streptococcus agalactiae*, classified as group B *Streptococcus* (GBS), colonises the vaginal tract and can be vertically transmitted to offsprings, causing potentially fatal invasive infections. Current clinical guidelines recommend GBS screening of pregnant women, and, if tested positive, specific antibiotherapy administration. However, there are clinical emergencies which require rapid results and available standard testing procedures can take up to several days.

Methods: Vaginal swab samples were collected from the patients of a maternity hospital, after ethics committee approval of the study. The samples were further tested using both traditional methods and a novel rapid molecular biology commercially available kit for group B Streptococcus detection. Classical testing results were obtained after 24 hours, while rapid molecular results were available in 40 minutes after sample collection.

Results: The results obtained using molecular methods were compared with classical laboratory diagnosis, and the clinical impact of a rapid result was analysed. Based on the results, the methods had similar GBS detection performances. However, rapid diagnosis had a higher impact on patient management in various particular situations, such as: pregnant uninvestigated women at the moment of labour, spontaneous abortions, rapid clinical deterioration of a newborn with unknown aetiology.

Conclusions: Testing for GBS with molecular techniques can be used in clinical settings for rapid detection of *Streptococcus agalactiae*, enabling a more effective patient management and prompt therapeutic interventions, with improved prognosis.

Keywords: Streptococcus agalactiae, molecular biology, pregnancy

C18. SUPRAVEGHEREA TULPINILOR MDR LA SPITALUL DE OBSTETRICĂ ȘI GINECOLOGIE CUZA VODĂ, IAȘI

Ramona Gabriela Ursu^{1,2}, Mirela Brașov², Daniela Cristina Dimitriu^{2,3}

- 1 Departamentul și Medicină Preventivă și Interdisciplinaritate (IX)-Microbiologie, Facultatea de Medicină, Universitatea de Medicină și Farmacie "Grigore, T. Popa", Iași, România
- 2 Spitalul de Ginecologie și Obstetrică-Cuza Vodă, Iași, România
- 3 Departamentul de Biochimie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Grigore T. Popa", Iași, România

Introducere: Rezistența antimicrobiană (AMR) este o problemă mondială. ECDC (Centrul European de Prevenire și Control al Bolilor) urmărește îndeaproape fenomenul AMR, monitorizând bacteriile multirezistente la medicamente. Obiectivul nostru a fost realizarea unei supravegheri active a tulpinilor bacteriene multi-drog rezistente (MDR) în spitalul nostru, în scopul prevenirii izbucnirilor epidemice.

Metode: În perioada 22.06.2023- 13.02.2024 am analizat toate probele din spitalul nostru prin izolare clasică pe agar sânge și pe medii de cultură diferențiale cu lactoză. Probele au provenit din secțiile de neonatologie, terapie intensivă neonatală, obstetrică și ginecologie. S-au analizat exsudate faringiene, probe de tegument, secreții conjunctivale, hemoculturi, secreții vaginale, secreții plăgi, exudate nazale. S-au interpretat agenții etiologici în funcție de tipul de probe, s-au identificat speciile bacteriene și testele cantitative de sensibilitate la antibiotice corespunzătoare, cu ajutorul sistemului VITEK 2 System.

Rezultate: S-au identificat un total de 131 de tulpini bacteriene MDR: 79 de tulpini de *Escherichia coli* ESBL+, 46 de tulpini de *Klebsiella pneumoniae* ESBL+, 4 tulpini de MRSA și 2 de *Serratia marcescens*. Tulpinile ESBL au fost detectate de sistemul automat, prin compararea valorilor CMI ale cefalosporinelor singure și ale cefalosporinelor plus acid clavulanic (reducerea de 8 ori a CMI în cel de-al doilea caz). Pentru MRSA, o valoare MIC pentru cefoxitină de > 4 mg/L este utilizată pentru a raporta o tulpină de *S. aureus* ca fiind MRSA.

Concluzii: Contaminarea nou-născuților de la mamele lor este posibilă, astfel că supravegherea activă a tulpinilor ESBL din secrețiile vaginale este cheia pentru evitarea oricărui focar în aceste departamente spitalicești.

Cuvinte cheie: rezistența antimicrobiană, tulpini bacteriene multi-drog rezistente, supraveghere

C18. THE MDR STRAINS SURVEILLANCE AT CUZA VODA OBSTETRICS AND GYNECOLOGY HOSPITAL, IASI

Ramona Gabriela Ursu^{1,2}, Mirela Brașov², Daniela Cristina Dimitriu^{2,3}

- 1 Department of Preventive Medicine and Interdisciplinarity (IX) - Microbiology, Faculty of Medicine, "Grigore, T. Popa" University of Medicine and Pharmacy, Iasi, Romania
- 2 Gynecology and Obstetrics Hospital-Cuza Voda, Iasi, Romania
- 3 Department of Biochemistry, "Grigore T. Popa" University of Medicine and Pharmacy, Iasi, Romania

Introduction: Antimicrobial resistance (AMR) is a global problem. The ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control) is closely monitoring the AMR phenomenon by monitoring multi-drug resistant bacteria. Our aim was to conduct active surveillance of multi-drug resistant (MDR) bacterial strains in our hospital to prevent outbreaks.

Methods: From 22.06.2023 to 13.02.2024 we analysed all samples in our hospital by classical isolation on blood agar and differential culture media with lactose. The samples came from the neonatology, neonatal intensive care, obstetrics, and gynaecology wards. Pharyngeal exudates, tegument samples, conjunctival secretions, blood cultures, vaginal secretions, wound secretions, nasal exudates were analysed. Etiological agents were interpreted according to the type of samples, bacterial species were identified, and appropriate quantitative antibiotic susceptibility tests were performed using the VITEK 2 System.

Results: A total of 131 MDR bacterial strains were identified: 79 strains of ESBL+ *Escherichia coli*, 46 strains of ESBL+ *Klebsiella pneumoniae*, 4 strains of MRSA and 2 of *Serratia marcescens*. ESBL strains were detected by the automated system by comparing MIC values of cephalosporins alone and cephalosporins plus clavulanic acid (8-fold reduction in MIC in the latter case). For MRSA, a MIC value for cefoxitin of > 4 mg/L is used to report a strain of *S. aureus* as MRSA.

Conclusions: Contamination of newborns from their mothers is possible, so active surveillance of ESBL strains in vaginal secretions is key to avoid any outbreak in these hospital departments.

Keywords: antimicrobial resistance, multi-drug resistant bacterial strains, active surveillance

C19. TESTAREA HPV, PCR VERSUS HC2 - EXPERIENȚA IRO IAȘI

Cristina Mădălina Ștefan, Loredana Mihaiela Dragoș, Iuliu C. Ivanov, Daniela Jitaru, Elena Nisioi

Institutul Regional de Oncologie, Iași, România

Introducere: Infecția cu virusul uman Papilloma (HPV) este cea mai frecventă boală cu transmitere sexuală la nivel mondial. Mai mult, studii epidemiologice ample efectuate în ultimele două decenii au identificat infecția cu HPV ca o cauză majoră a cancerului de col uterin. Prin urmare, testarea HPV este o parte importantă a screening-ului carcinomului de col uterin. HPV poate fi detectat fie prin amplificarea unui fragment de ADN viral, fie prin detectarea ARNm.

Metode: Institutul Regional de Oncologie Iasi, a fost implicat in perioada 2021-2023 intr-un program de screening la care au fost testati 35.442 de pacienti. Au fost utilizate două metode pentru detectarea HPV: metoda real time PCR (RT-PCR, ce identifică 19 tulpini de HPV cu risc înalt și 9 tulpini de HPV cu risc scăzut) și Hybrid Capture 2 (HC2, ce identifică 13 tulpini de HPV cu risc crescut). Au fost analizate comparativ probele a 30 de pacienți folosind ambele metode.

Rezultate: Dintre probele comparate, 20 au avut un rezultat pozitiv prin metoda RT-PCR, în timp ce doar 12 pacienți pozitivi au fost identificați prin metoda HC2. Mai mult, din totalul de 35.442 de probe analizate, prin metoda RT-PCR au fost identificați mai multi pacienți pozitivi HPV (11,54%) decât prin metoda HC2 (7,26%). Acest lucru nu a fost neașteptat, deoarece numărul de tulpini cuprinse în panelul fiecărui kit utilizat era diferit.

Concluzii: Acest studiu a concluzionat că RT-PCR este o metodă sigură pentru detecția infecției cu virusul HPV.

Cuvinte cheie: HPV, RT-PCR, HC2

C19. HPV TESTING, PCR VERSUS HC2 - IRO IASI EXPERIENCE

Cristina Mădălina Ștefan, Loredana Mihaiela Dragoș, Iuliu C. Ivanov, Daniela Jitaru, Elena Nisioi

Regional Institute of Oncology, Iasi, Romania

Introduction: Infection with human papillomaviruses (HPV) is the most common sexually transmitted disease worldwide. Moreover, large epidemiological studies performed over the last two decades have identified infection with HPV as a major cause for cervical cancer. Therefore, HPV testing is an important part of cervical carcinoma screening. HPV can be detected either by amplification of a viral DNA fragment or through mRNA detection.

Methods: The Regional Institute of Oncology Iasi was involved between 2021-2023 in a screening program where 35,442 patients were tested. Two methods were employed for HPV detection: real time PCR (RT-PCR, identifying 19 high risk HPV types and 9 low risk HPV types) and Hybrid Capture 2 (HC2, identifying 13 high risk HPV types). Samples of 30 patients were comparatively analyzed using both methods.

Results: From the compared samples, 20 patients were found positive by RT-PCR while only 12 positive patients were identified by the HC2 method. Moreover, from the total of 35,442 analyzed samples, RT-PCR detected more HPV-positive samples (11.54%) than the HC2 assay (7.26%). This is not unexpected, since in our setting the HPV type panel covered by these two tests was different.

Conclusions: This study concluded that RT PCR could be a reliable method for detecting HPV infection.

Keywords: HPV, RT-PCR, HC2

C22. PROPUNERE DE GHID PROFESIONAL PENTRU FROTIUL SANGVIN: NOMENCLATURA ȘI INTERPRETAREA MODIFICĂRILOR MORFOLOGICE ALE SERIEI ERITROCITARE

Elena-Cristina Selicean (din partea colectivului Laboratorului de Analize Medicale IOCN)

Institutul Oncologic Prof. Dr. Ion Chiricuță Cluj-Napoca, România

Obiectivul prezentării este să ofere un punct de pornire pentru elaborarea unui ghid profesional național pentru frotiul sangvin.

Metodele și etapele propuse sunt:

- redactarea propunerii
- consultarea în mai multe runde a specialiștilor în domeniu, din laboratoare care deservește secții de hematologie și laboratoare care efectuează minimum 10 examene citologice ale frotiului sangvin /zi (fiecare laborator va desemna un reprezentant)
- colectarea de informații de la cât mai multe laboratoare privind practicile de efectuare și raportare a rezultatelor frotiului sangvin
- elaborarea unui document final consensual care să fie publicat pe site-ul AMLR și în RRML

Rezultatele așteptate sunt:

1. Elaborarea unui ghid concis și ușor de utilizat care să cuprindă

-recomandări privind eșantionul de probă primară, etalarea, colorarea, verificarea calității etapei tehnice și recomandări de efectuarea a frotiului sangvin la inițiativa laboratorului în urma sau pentru validarea rezultatelor hemogramei

-recomandări privind nomenclatura, modul de descriere și raportare semicantitativă a modificărilor morfologice, descrierea modificărilor morfologice izolate și grupate care permit orientarea diagnosticului și recomandarea de investigații suplimentare, redactarea de comentarii interpretative și consultative, controlul și asigurarea calității

2. Susținerea laboratoarelor de analize medicale în elaborarea procedurilor proprii, dar care să permit compararea și urmărirea în evoluție a rezultatelor aceluși pacient în laboratoare diferite.

Prezentarea va oferi un punct de pornire a acestui demers cu exemplificări pentru seria eritrocitară.

Cuvinte cheie: ghid profesional, frotiu sangvin, seria eritrocitară

C22. PROPOSAL FOR A BLOOD SMEAR GUIDELINE: NOMENCLATURE AND INTERPRETATION OF THE MORPHOLOGICAL CHANGES OF THE RED BLOOD CELLS

Elena-Cristina Selicean (on behalf of the IOCN Medical Analysis Laboratory)

Oncology Institute Prof. Dr. Ion Chiricuță Cluj-Napoca, Romania

Objective: to provide a starting point for the development of a national guideline for the blood smear.

Methods and steps to follow would be:

- drafting the proposal
- consultation in several rounds of professionals from laboratories which receive samples mainly from hematology departments and other laboratories that perform a minimum of 10 blood smears / day (each of the laboratories interested to participate will be asked to appoint a representative)
- data collection from as many laboratories as possible regarding the practices of performing and reporting blood smear results
- elaboration of a consensual document to be published on the AMLR website and in the RRML

Expected results are

1. Elaboration of a concise and easy-to-use guide that includes

-recommendations regarding the primary test sample, staining, quality control of the technical stage and recommendations for carrying out blood smears at the initiative of the laboratory to review and complete the complete blood count results

-recommendations regarding nomenclature, how to describe and semi-quantitatively report morphological changes, describing isolated and grouped morphological changes that point to a diagnosis and recommends further testing, interpretive and consultative comments, quality control and assurance

2. Supporting medical analysis laboratories in the development of their own procedures, but which allow the comparison and follow-up of the results of the same patient in different laboratories.

The presentation will provide a starting point for this approach with examples for the red blood cells.

Keywords: guideline, blood smear, red blood cells

C23. SCREENING LIMFOCITAR PRIN FLOW-CITOMETRIE: ÎNDRUMAR DECIZIONAL, DE LA SUSPICIUNEA CLINICĂ LA REZULTATUL TESTULUI

Mihaela Zlei, Mihaela Mențel, Claudia Grigoras, Raluca-Elena Oană, Mirela Alina Veringu, Daniela Jitaru

Laboratorul de Analize Medicale, Institutul Regional de Oncologie, Iasi, Romania

Introducere: În laboratoarele medicale citometria în flux a devenit un instrument critic în diagnosticul hemopatiilor maligne și în evaluarea bolii reziduale măsurabile. Este necesar ca fiecare pas decizional, de la suspiciunea clinică și până la livrarea rezultatului să fie clar definit, pentru a răspunde tuturor întrebărilor clinice relevante, prin identificarea, enumerarea și caracterizarea populațiilor de celule relevante dintr-un eșantion. Studiul actual își propune să demonstreze necesitatea elaborării unor ghiduri clare, de consens, europene/ naționale prin parcurgerea unui astfel de îndrumar decizional, alegând ca exemplu testul de evaluare a subseturilor limfocitare prin citometrie în flux (LST) [1].

Metode: Au fost evaluate retrospectiv testele LST efectuate în Departamentul de Imunofenotipare, IRO-Iasi în anul 2023 (n=213) din punctul de vedere al beneficiului clinic.

Rezultate: Suspiciunea clinică s-a bazat pe cel puțin una din următoarele: limfocitoză/ limfadenopatii/ hepato-splenomegalie/ tumoră mediastinală/ anemie hemolitică/ infecții recurente/ autoimunitate/ pleurezie/ ascită/ eozinofilie/ citopenii inexplicabile/ component monoclonal/ limfocite morfologic atipice. În cazul solicitărilor confirmate (n=150/ 213, 70%), prelucrarea probei a continuat cu utilizarea unui panel adițional adecvat: 91% (n=136/ 150) SLPB – sindrom limfoproliferativ cronic B (84-leucemie limfocitară cronică, 20-limfom zonă marginală, 11-limfom cu celula din manta, 6-leucemie cu tricholeucocite, 5-limfo-plasmocitic, 4-limfom Burkitt, 3-limfom difuz cu celulă mare B, 1-folicular), 8% (n=12/ 150) SLPT și 2% (n=4/ 150) alte hematopatologii.

Concluzii: Pentru optimizarea beneficiului clinic al unor astfel de teste complexe este necesară o strategie diferită în fiecare situație clinică, iar elaborarea unor ghiduri clare naționale devine mandatorie.

Cuvinte cheie: citometrie în flux, beneficiu clinic, sindrom limfoproliferativ cronic

C23. LYMPHOCYTE SCREENING BY FLOW CYTOMETRY - DECISION FLOWCHART FROM CLINICAL SUSPICION TO LABORATORY TEST REPORT

Mihaela Zlei, Mihaela Mențel, Claudia Grigoras, Raluca-Elena Oană, Mirela Alina Veringu, Daniela Jitaru

Medical Laboratory, Regional Institute of Oncology, Iasi, Romania

Introduction: In medical laboratories, flow cytometry has become a critical tool in the diagnosis of malignant hemopathies and the assessment of measurable residual disease. It is necessary that each decision-making step, from the clinical suspicion to the delivery of the result, be clearly defined, in order to answer all relevant clinical questions, by identifying, enumerating and characterizing those relevant cell subsets from a sample. The current study aims to show the need of clear European/ national consensus guidelines; using the Lymphocyte Screening Test (LST) by flow cytometry as a prototype example of decision-making algorithm (with explanations and tips) [1].

Methods: All LST tests performed as hemato-oncologic diagnostic tools in the Department of Immunophenotyping, IRO-Iasi during 2023 (n=213) were retrospectively evaluated from the point of view of clinical benefit.

Results: Clinical suspicion was based on at least one of the following: lymphocytosis/ lymphadenopathy/ hepato-splenomegaly/ mediastinal tumor/ hemolytic anemia/ recurrent infections/ autoimmunity/ pleurisy/ ascites/ eosinophilia/ unexplained cytopenias/ monoclonal component/ morphologically atypical lymphocytes. In the case of confirmed requests (n=150/ 213, 70%), sample processing continued with the use of an appropriate additional panel: 91% (n=136/ 150) SLPB – chronic lymphoproliferative syndrome B (84-chronic lymphocytic leukemia, 20-marginal zone lymphoma, 11-mantle cell lymphoma, 6-tricholeukocyte leukemia, 5-lympho-plasmacytic, 4-Burkitt lymphoma, 3-diffuse large B cell lymphoma, 1-follicular lymphoma), 8% (n=12/ 150) SLPT and 2% (n=4/ 150) other hematopathologies.

Conclusions: To optimize the clinical benefit of such complex tests, distinct strategies are needed in each particular clinical situation, therefore the development of clear guidelines becomes mandatory.

Keywords: flow cytometry, clinical benefit, chronic lymphoproliferative disorders.

Referințe / References:

1. van Dongen JJ et al (2012). EuroFlow Consortium (EU-FP6, LSHB-CT-2006-018708). EuroFlow antibody panels for standardized n-dimensional flow cytometric immunophenotyping of normal, reactive and malignant leukocytes. *Leukemia*. 2012 Sep;26(9):1908-75.

R25. DIAGNOSTIC STEWARDSHIP ÎN BIOLOGIA MOLECULARĂ

Roxana Filip^{1,2}

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

² Facultatea de Medicină și Științe Biologice, Universitatea "Ștefan cel Mare" Suceava, Suceava, România

Introducere: Conceptul de "Diagnostic stewardship" înseamnă testul potrivit în momentul adecvat pentru pacientul potrivit. A fost introdus de către un anatomic patologic vizionar, Raymond Bartlett în 1974. De atunci s-a extins la diferite arii de diagnostic și produse patologice. Domeniul biologiei moleculare este extrem de provocator, mai ales în contextul diminuării bugetelor și a relației cost-eficiență.

Metode: Am studiat peste 100 de review-uri din diferite zone ale lumii și din diferite perioade. Prezentarea noului concept se alătură celui de antibiotic stewardship program în fiecare spital. Dacă testele de microbiologie clasică sunt mai bine înțelese de clinicieni, tehnicile de biologie moleculară sunt extrem de tentante prin timpul scurt de răspuns și adagio-ul: "Testele moleculare arată ce cauți". Acest fapt s-a demonstrat prin genotiparea virusului imunodeficienței umane (HIV), virusului hepatitei C (VHC) sau virusul SARS CoV 2, fapt ce a ajutat la monitorizarea terapiei.

Rezultate: Principiile de diagnostic stewardship în diagnosticul molecular sunt aplicabile în faza preanalitică, analitică și postanalitică a testării. Tehnicile de biologie moleculară permit laboratorului de microbiologie să elimine intervalul de timp între prelevarea probei, identificarea agentului etiologic și rezultatul antibiogrammei. Responsabilitatea solicitării testului adecvat revine clinicianului. Faza postanalitică a diagnostic stewardship este importantă și pentru antibiotic stewardship, în vederea alegerii antibioticului specific.

Concluzii: În prezent, echipa câștigătoare este reprezentată de posibilitatea tehnică împreună cu importanța clinică. Acest concept va revoluționa îngrijirea pacientului și va scădea costurile pe sistemul de sănătate.

Cuvinte cheie: diagnostic stewardship, biologie moleculară

R25. DIAGNOSTIC STEWARDSHIP IN MOLECULAR BIOLOGY

Roxana Filip^{1,2}

¹ "Sf. Ioan cel Nou" Suceava Emergency County Hospital, Suceava, Romania

² Faculty of Medicine and Biological Sciences, "Ștefan cel Mare" Suceava University, Suceava, Romania

Introduction: Diagnostic stewardship means the right test for the right patient in the right time. The concept was first used by a visionary clinical pathologist, Raymond Bartlett in 1974. Since then, this has been extended to different areas of diagnosis or on different pathological products. The molecular biology arena is very challenging, especially in the context of money shortages and cost-effectiveness relation.

Methods: More than 100 reviews were studied from different parts of the world and different periods on the above-mentioned topic. The presentation of this new concept goes together with the antibiotic stewardship program in each hospital. If the classical microbiology tests are better understood by the clinicians, the molecular biology techniques are provocative by the short turnaround time, and the concept: "Molecular tests show what you are looking for". This has been proved by genotyping of human immunodeficiency virus (HIV), hepatitis C virus (HCV) and SARS CoV 2 by whole genome sequencing that helped in guiding therapy.

Results: Diagnostic stewardship principles in molecular biology are applicable in the preanalytical, analytical and postanalytical phases of testing. Molecular biology techniques enable the microbiology laboratory to eliminate the window between sample collection, organism identification and antimicrobial susceptibility result. The responsibility for appropriate ordering traditionally rests on the clinician. The postanalytical phase of diagnostic stewardship is extremely important for antimicrobial stewardship by targeting specific antimicrobials.

Conclusions: In the present time, the winning team is represented by the technical feasibility along with the clinical importance. This concept will revolutionize the patient care and will decrease the costs on health care systems.

Keywords: diagnostic stewardship, molecular biology

C27. PRIMERI RPA PENTRU AMPLIFICARE IZOTERMĂ ÎN DETECȚIA PATOGENILOR CU IMPORTANȚĂ CLINICĂ

Cosmin-Florentin Niculae¹, Melania Popescu², Mădălina Cîrnu¹, Monica Simion², Eugen Radu^{1,3}

¹ Laboratorul de Patologie Moleculară, Spitalul Universitar de Urgență București, România

² Institutul Național De Cercetare-Dezvoltare pentru Microtehnologie – IMT București, România

³ Disciplina de Microbiologie, Universitatea de Medicină și Farmacie “Carol Davila” București, România

Introducere: Studiul nostru este focalizat pe designul de primeri pentru RPA (*Recombinase Polymerase Amplification*) specifici unor regiuni genomice a *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa* și *Aspergillus fumigatus*. Acești agenți patogeni au fost selectați pe baza importanței lor în patogenia unor boli infecțioase. Alegerea noastră de amplificare izotermă prin RPA este bazată pe nevoia de detecție a microorganismelor prezente în leziuni tegumentare cronice sau infecții oculare (ex: endoftalmite), utilizând un dispozitiv de tip point-of-care (POC). Amplificarea a avut loc pe un substrat din nanofire de siliciu (silicon nanowire-SiNW) și vizualizată folosind primeri marcați fluorescent cu Cy3.

Metode: În etapa de design a primerilor s-a acordat o atenție deosebită specificității țintelor genomice, a condițiilor de desfășurare a reacției cât și a încorporării Cy3 pentru detecție fluorescentă. Reacția RPA a fost inițial testată în fază lichidă, ampliconii fiind evaluați prin electroforeză în sistem microfluidic. Aceasta a fost urmată de amplificarea izotermă pe suport solid utilizând primeri modificați cu grupări NH₂, atașati de SiNW funcționalizat, în godeuri delimitate de PDMS (polidimetilsiloxan). Vizualizarea rezultatelor a fost realizată prin microscopie confocală.

Rezultate: Microscopia confocală a oferit o imagine detaliată a distribuției spațiale și a intensității fluorocromului Cy3 în godeurile delimitate, confirmând succesul procesului de amplificare pe suport solid.

Concluzii: Acest studiu subliniază fezabilitatea detecției fluorescente a unor ampliconi formați printr-o reacție RPA pe suprafețe nanostructurate, designul de primeri fiind un factor important pentru specificitatea și sensibilitatea reacției. Această metodologie este promițătoare în detecția rapidă și precisă a patogenilor cu importanță clinică, sugerând potențiale viitoare aplicații în diagnosticul de tip point-of-care.

Mulțumiri: Finanțarea a fost oferită de Ministerul Român al Cercetării, Inovării și Digitalizării, CNCS/CCCDI—UEFISCDI, pentru proiectul Bio-Iso-Pat (2022-2024) 617PED și proiectul SPIONNANODET (2022-2024) PD 81.

Cuvinte cheie: RPA pe suport solid, design de primeri, amplificare izotermă

C27. RPA PRIMERS FOR ISOTHERMAL AMPLIFICATION IN CLINICAL PATHOGEN DETECTION

Cosmin-Florentin Niculae¹, Melania Popescu², Mădălina Cîrnu¹, Monica Simion², Eugen Radu^{1,3}

¹ Molecular Pathology Laboratory, Bucharest Emergency University Hospital, Romania

² National Institute for Research and Development in Microtechnologies – IMT Bucharest, Romania

³ Microbiology Department, University of Medicine “Carol Davila” and Pharmacy Bucharest, Romania

Introduction: Our study is focused on designing Recombinase Polymerase Amplification (RPA) primers tailored for specific genomic regions of *Haemophilus influenzae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Aspergillus fumigatus*. These pathogens were selected based on their clinical importance in various infectious diseases. Our choice of RPA isothermal amplification is dictated by the requirement for detection of pathogens found in chronic skin lesions or ocular infections (i.e. endophthalmitis) using a point-of-care device (POC). The amplification is carried out on a silicon nanowire (SiNW) substrate, and visualised using Cy3-labelled primers.

Methods: For primer design, careful consideration was given to the specificity of genomic targets, reaction conditions and the incorporation of Cy3 for fluorescence detection. The RPA reaction was first tested in liquid-phase, with resulting amplicons being assessed using microfluidic chip electrophoresis. This was followed by solid-phase isothermal amplification using NH₂-modified primers attached to the functionalised SiNWs delimited by PDMS (polydimethylsiloxane). The results were visualised by confocal microscopy.

Results: Confocal microscopy provided a detailed examination of the spatial distribution of intensity of Cy3 fluorescence within the designated wells, confirming the success of the solid-phase amplification process.

Conclusions: This study underscores the feasibility of fluorescent detection of amplicons produced by an RPA reaction on nanostructured surfaces, with primer design being one important factor for the assay specificity and sensitivity. This methodology exhibits potential for rapid and accurate detection of clinically significant pathogens, suggesting potential future applications in point-of-care diagnostic contexts.

Acknowledgements: Funding was offered by the Romanian Ministry of Research, Innovation and Digitization, CNCS/CCCDI—UEFISCDI, for the Bio-Iso-Pat project (2022-2024) 617PED, and the SPIONNANODET project (2022-2024) PD 81.

Keywords: solid-phase RPA, primer design, isothermal amplification

R26. CARACTERIZAREA MOLECULARĂ A PORTAJULUI NAZAL DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* ÎN RÂNDUL PERSONALULUI MEDICAL: PERSPECTIVE PENTRU CONTROLUL INFECȚIILOR

Adrian Man¹, Emanuela Patricia Vântu², Anastasia Simion¹

- 1 Disciplina de microbiologie, Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie „George Emil Palade” din Târgu Mureș, România
- 2 Student masterand, Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie „George Emil Palade” din Târgu Mureș, România

Introducere: *Staphylococcus aureus* este unul dintre cei mai importanți patogeni care contribuie la infecțiile intraspitalicești, iar purtătorii reprezintă o sursă potențială importantă de transmitere. Studiul își propune să investigheze portajul nazal de *S. aureus* la personalul medical din secțiile clinice ale Spitalului Clinic Județean de Urgență Târgu Mureș și să caracterizeze caracteristicile fenotipice și genotipice ale izolatelor bacteriene.

Metode: *S. aureus* a fost izolat din tampoane nazale după îmbogățire în bulion cu 7% NaCl, urmată de cultivare ulterioară pe medii Chapman și geloză sânge. Identificarea coloniilor suspecte s-a bazat pe proprietățile biochimice și testul coagulazei, urmat de testarea susceptibilității la antibiotice. ADN-ul bacterian a fost purificat folosind coloane de silica; metoda multiplex PCR a fost utilizată pentru identificarea speciei, identificarea rezistenței la meticilină și pentru detectarea factorilor de virulență (*pvl*, *eta*, *etb* și *tst*). Similaritatea genetică a izolatelor bacteriene a fost evaluată prin ERIC-PCR.

Rezultate: Dintre cei 64 de angajați medicali testați, s-au identificat 17 izolate de *S. aureus* (26,56%). Dintre aceștia, două tulpini (11,76%) au fost meticilino-rezistente, iar 9 (52,94%) au prezentat fenotip de rezistență inductibilă la clindamicină. Aproape jumătate dintre izolate (47%) au provenit de la personal ATI. Rezultatele PCR au confirmat specia și prezența genei *mecA* la izolatele MRSA. Cu excepția a 4 tulpini care au prezentat gena pentru exfoliatina A, nu s-au detectat alte gene pentru factori de virulență. ERIC-PCR a identificat două tulpini strâns înrudite (>90% similaritate) de la personalul ATI, în timp ce restul tulpinilor au prezentat mai puțin de 80% similaritate genetică.

Concluzii: Un sfert din personalul medical testat a fost găsit purtător de *S. aureus*, însă tulpinile nu s-au răspândit în mod clonal, nici nu au purtat factori de virulență importanți. Cu toate acestea, în secția de ATI a fost identificată cea mai mare prevalență a portajului nazal de *S. aureus*, urmată de secțiile de nefrologie și diabet. Supravegherea epidemiologică a personalului medical este crucială pentru prevenirea infecțiilor legate de spital.

Cuvinte cheie: *Staphylococcus aureus*, portaj nazal, diagnostic molecular

R26. MOLECULAR CHARACTERIZATION OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* NASAL CARRIAGE AMONG MEDICAL PERSONNEL: INSIGHTS FOR INFECTION CONTROL

Adrian Man¹, Emanuela Patricia Vântu², Anastasia Simion¹

- 1 Department of Microbiology, George Emil Palade University of Medicine, Pharmacy, Science, and Technology of Targu Mures, Romania
- 2 Master student, George Emil Palade University of Medicine, Pharmacy, Science, and Technology of Targu Mures, Romania

Introduction: *Staphylococcus aureus* is one of the most significant pathogens contributing to hospital-acquired infections, with human carriers posing a challenging potential source of transmission. This study aimed to prospectively investigate nasal carriage of *S. aureus* among medical personnel in the clinical wards of Emergency County Hospital Targu Mures and to characterize the phenotypic and genotypic features of the bacterial isolates.

Methods: Nasal swabs were obtained, and *S. aureus* was isolated following enrichment in 7% NaCl-containing broth and subsequent culture on Chapman and Blood agar media. Identification of suspected colonies relied on biochemical properties and the coagulase test, followed by antibiotic susceptibility testing. Bacterial DNA was purified using silica columns, and multiplex PCR was performed targeting *femA* for species identification, *mecA* for methicillin resistance, and *pvl*, *eta*, *etb*, and *tst* for virulence factors. Genetic similarity was assessed via ERIC-PCR.

Results: Among 64 medical staff tested, 17 *S. aureus* isolates (26.56%) were identified. Of these, 2 (11.76%) were methicillin-resistant, and 9 (52.94%) presented inducible clindamycin resistance phenotype. Almost half of the isolates (47%) originated from ICU personnel. PCR results confirmed species identification and the presence of *mecA* in MRSA isolates. Except for 4 strains exhibiting the exfoliatin A genotype, no other virulence factor genes were detected. ERIC-PCR revealed two closely related strains (>90% similarity) among ICU personnel, while the rest exhibited less than 80% genetic similarity.

Conclusions: A quarter of the tested medical personnel were found to be carriers of *S. aureus*, but the strains were not clonally spread / closely related, nor harboring important virulence factors. Nevertheless, the ICU ward showed the highest prevalence of *S. aureus* nasal carriage, followed by nephrology and diabetes wards. Epidemiologic surveillance of medical personnel is crucial for preventing hospital-related infections.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, nasal carriage, molecular diagnostic

C28. CARACTERIZAREA IZOLATELOR CLINICE DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* UTILIZÂND SECVENȚIEREA ÎNTREGULUI GENOM BACTERIAN

Elena-Carmina Drăgulescu¹, Mihaela Oprea¹, Laura-Ioana Popa¹, Sorin Dinu¹, Ani-Ioana Cotar¹, Mariana Buzea², Cristiana Cașotă², Marilena Filipov², Irina Codiță¹

¹ Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare Medico-Militară Cantacuzino București, România

² Spitalul Universitar de Urgență Elias București, România

Introducere: Secvențierea întregului genom (WGS) a devenit instrumentul recomandat de ECDC pentru caracterizarea și supravegherea izolatelor bacteriene. Prin aplicarea acestei metode, Laboratorul Infecții Nosocomiale și Rezistente la Antibiotice își mărește expertiza în diagnostic și supraveghere, conform recomandărilor internaționale.

Metode: În acest studiu retrospectiv, s-au investigat caracteristicile a 119 izolate umane de *Staphylococcus aureus*, dintr-un spital din România în 2020. Testarea fenotipică a sensibilității la antibiotice s-a efectuat conform standardului EUCAST. Pentru tipizarea *spa* s-a utilizat protocolul SeqNet, iar pentru WGS s-au folosit tehnologiile Ion Torrent sau Illumina. Analiza datelor obținute s-a realizat cu programul comercial Ridom SeqSphere+ și instrumentele disponibile pe platforma Center of Genomic Epidemiology. Stabilirea relațiilor de înrudire între izolate s-a realizat prin metoda cgMLST (1861 loci).

Rezultate: Cincizeci de tulpini (42,01%) au prezentat rezistență la metilina (SARM). Toate izolatele SARM au fost rezistente la cel puțin trei clase de antibiotice (MDR), prezentând rezistență la beta-lactami, macrolide, aminoglicozide, tetraciline, fosfomicină, sulfonamide, fenicoli, chinolone. Niciun izolat nu a prezentat rezistență la vancomicină sau la linezolid. A fost determinată o gamă largă de factori de virulență, inclusiv adevine și toxine. Cinci tulpini au fost pozitive pentru gena sindromului de șoc toxic (*tst1*). Nu s-au detectat izolate producătoare de leucocidină Panton Valentine. Au fost identificate 45 de tipuri *spa*, cel mai frecvent fiind t127. Analiza cgMLST a evidențiat cluster de izolate strâns înrudite genetic.

Concluzii: Secvențierea întregului genom al tulpinilor de *Staphylococcus aureus* permite caracterizarea la nivel de referință a izolatelor bacteriene și compararea cu metodele folosite de rutină în laborator.

Mulțumiri: Studiul a fost realizat cu fonduri din proiectele de cercetare: Nucleu contract nr. 47N/2019; PSCD EMERGENT și PSCD SeqGen.

Cuvinte cheie: *Staphylococcus aureus*, WGS

C28. CHARACTERIZATION OF CLINICAL ISOLATES OF *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* USING BACTERIAL WHOLE GENOME SEQUENCING

Elena-Carmina Drăgulescu¹, Mihaela Oprea¹, Laura-Ioana Popa¹, Sorin Dinu¹, Ani-Ioana Cotar¹, Mariana Buzea², Cristiana Cașotă², Marilena Filipov², Irina Codiță¹

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

² Elias University Emergency Hospital, Bucharest, Romania

Introduction: Whole genome sequencing (WGS) has become the ECDC recommended tool for the characterization and surveillance of bacterial isolates. By applying this method, the Nosocomial and Antibiotics Resistant Infections Laboratory is increasing its expertise in diagnosis and surveillance, according to international recommendations.

Methods: In this retrospective study, the characteristics of 119 human *Staphylococcus aureus* strains, isolated in 2020 from a Romanian hospital, were investigated. Phenotypic antibiotic susceptibility testing was performed according to the EUCAST standard. The SeqNet protocol was used for *spa* typing, and the Ion Torrent or Illumina technologies were used for WGS. The analysis of the obtained data was carried out with the Ridom SeqSphere+ commercial program and the tools available on the Center of Genomic Epidemiology platform. Establishing the phylogenetic relationships between the isolates was done by the cgMLST method (1861 targets).

Results: Fifty strains (42.01%) showed methicillin resistance (MRSA). All MRSA isolates were resistant to at least three classes of antibiotics (MDR), showing resistance to beta-lactams, macrolides, aminoglycosides, tetracyclines, fosfomycin, sulfonamides, phenicols, quinolones. No isolate showed resistance to vancomycin or linezolid. A wide range of virulence factors was determined, including adhesins and toxins. Five strains were positive for the toxic shock syndrome gene (*tst1*). No Pantone Valentine leukocidin-producing isolates were detected. Forty-five *spa* types were identified, the most frequent being t127. cgMLST analysis revealed clusters of genetically closely related isolates.

Conclusions: Sequencing the whole genome of *Staphylococcus aureus* strains allows the characterization of bacterial isolates at reference level and comparison with the methods routinely used in the laboratory.

Acknowledgements: The study was funded by the research projects: Nucleu contract no. 47N/2019; PSCD EMERGENT and PSCD SeqGen.

Keywords: *Staphylococcus aureus*, WGS

C29. IDENTIFICAREA PRIN SECVENȚIEREA ÎNTREGULUI GENOM A GENEI *BLADHA-1* ÎNTR-UN IZOLAT DE *K. PNEUMONIAE*

Cosmin-Florentin Niculae¹, Andrei-Alexandru Muntean^{2,3}, Alina-Mihaela Stoica¹, Eugen Radu^{1,3}

- ¹ Laboratorul de patologie moleculară, Spitalul Universitar de Urgență București, România
- ² Institutul Național de Cercetare și Dezvoltare pentru Microbiologie și Imunologie "Cantacuzino" București, România
- ³ Disciplina de Microbiologie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila" București, România

Introducere: Creșterea numărului genelor de rezistență la antibiotice (GRA) reprezintă o amenințare semnificativă pentru sănătatea publică la nivel global. Secvențierea întregului genom (WGS) de generație a treia (folosind citiri lungi) a devenit recent o metodă care permite secvențierea rapidă și rentabilă a izolatelor bacteriene, precum și asamblarea corectă a plasmidelor.

Metode: Secvențierea fără PCR cu citiri lungi, prin intermediul dispozitivului MinION, al Oxford Nanopore Technologies (ONT), a fost utilizată pentru a obține întreaga secvență genomică a unui izolat clinic de *K. pneumoniae*. Asamblarea *de novo* a fost realizată prin utilizarea Trycycler, folosind algoritmi Flye, Miniasm/Minipolish și Raven pentru a forma o secvență consens. Medaka a fost folosit pentru corectarea inițială a erorilor de asamblare, ulterior utilizându-se Polypolish pentru îmbunătățirea calității asamblării cu ajutorul fragmentelor scurte Illumina ale aceluiași izolat. Detecția GRA s-a efectuat folosind StarAMR (o interfață pentru ResFinder).

Rezultate: Folosirea de fragmente atât lungi, cât și scurte, a îmbunătățit acuratețea și integritatea asamblării, facilitând identificarea GRA. Asamblarea genomului a evidențiat un cromozom de 5.3 Mb precum și două plasmide de ~153 kb și ~56 kb lungime. StarAMR a pus în evidență gena *bla_{DHA-1}* la nivelul plasmidei mai mici. Pe lângă *bla_{DHA-1}*, analiza de date a arătat și alte GRA, precum *aac(6')-Ib-cr*, *aph(3')-Ia*, *bla_{OXA-1}*, *bla_{TEM-1B}* și *qnrB4*.

Concluzii: Acest studiu demonstrează prima identificare cu succes a unei plasmide purtătoare a genei *bla_{DHA-1}* într-un izolat de *Klebsiella pneumoniae* din România. Utilizarea secvențierii prin citiri lungi și corectarea ulterioară cu citiri scurte a permis asamblarea precisă a întregului genom, facilitând detecția GRA. WGS este o metodă utilă pentru investigarea răspândirii GRA, contribuind la o mai bună înțelegere a bazelor genetice ale rezistenței la antimicrobiene.

Cuvinte cheie: *bla_{DHA-1}*, rezistența la antibiotice, secvențierea întregului genom

C29. WHOLE GENOME SEQUENCING IDENTIFICATION OF *BLADHA-1* GENE IN *K. PNEUMONIAE* ISOLATE

Cosmin-Florentin Niculae¹, Andrei-Alexandru Muntean^{2,3}, Alina-Mihaela Stoica¹, Eugen Radu^{1,3}

- ¹ Molecular Pathology Laboratory, Bucharest Emergency University Hospital, Romania
- ² National Institute of Research & Development for Microbiology & Immunology "Cantacuzino", Bucharest, Romania
- ³ Microbiology Department, University of Medicine "Carol Davila" and Pharmacy Bucharest, Romania

Introduction: The rise in antibiotic resistance genes poses a significant threat to public health worldwide. Long-read (third generation) whole genome sequencing (WGS) has recently emerged as a method that allows for rapid and cost-effective sequencing of bacterial isolates, as well as correct plasmid assembly.

Methods: Long-read, PCR-free sequencing using Oxford Nanopore Technologies' (ONT) MinION was used to obtain the whole genome sequence of a clinical *K. pneumoniae* isolate. The *de novo* assembly was done using Flye, Miniasm/Minipolish and Raven algorithms to form a consensus assembly through the usage of Trycycler. Medaka was employed for initial polishing and error correction, after which Illumina short-reads from the same isolate were used to further refine the assembly through Polypolish. StarAMR (a wrapper for resFinder) was used to detect known ARGs.

Results: Polishing with both long and short-read sequencing data enhanced the accuracy and completeness of the assembly, facilitating precise ARG identification. The assembled genome revealed one 5.3 Mb chromosome, as well as two plasmids measuring ~153 kb and ~56 kb in length. StarAMR revealed the *bla_{DHA-1}* gene within the smaller plasmid. Besides *bla_{DHA-1}*, the analysis also showed other ARGs, such as *aac(6')-Ib-cr*, *aph(3')-Ia*, *bla_{OXA-1}*, *bla_{TEM-1B}* and *qnrB4*.

Conclusions: This study demonstrates the first successful identification of a plasmid encoding *bla_{DHA-1}* within a *Klebsiella pneumoniae* isolate in Romania. Long-read sequencing and subsequent polishing with short-reads enabled accurate whole-genome assembly, facilitating the detection of resistance genes. WGS is a very useful approach for ARG identification, allowing for a better understanding of the genetic underpinnings of antimicrobial resistance.

Keywords: *bla_{DHA-1}*, antimicrobial resistance, whole genome sequencing

C30. CLONE DE MARE RISC DE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* REZISTENTE LA ANTIBIOTICE ÎN ROMÂNIA ÎN CADRUL SONDAJULUI EURGEN-NET CCRE 2020-2021

Brîndușa-Elena Lixandru¹, Daniela Cristea¹, Codruța-Romanița Usein¹, Otilia Banu², Elvira Ianculescu³, Mariana Buzea⁴, Maria Nica⁵, Irina Nistor⁶, Daniela Talapan⁷, Marina Indreas⁸, Cristina Tuchiluş⁹, Edith Szekely¹⁰, Roxana Şerban¹¹, Irina Codiță¹²

¹ I.N.C.D.M.M. „Cantacuzino”, Bucureşti

² Institutul de Boli Cardiovasculare „C.C. Iliescu”, Bucureşti

³ Institutul Clinic Fundeni, Bucureşti

⁴ Spitalul Universitar de Urgență „Elias”, Bucureşti

⁵ Spitalul Clinic de Boli Infecţioase și Tropicale „Victor Babeş”, Bucureşti

⁶ Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii „Grigore Alexandrescu”, Bucureşti

⁷ Institutul Național de Boli Infecţioase și Tropicale „Prof. Dr. Matei Balș”, Bucureşti

⁸ Spitalul Clinic Judeţean de Urgență Bacău

⁹ Spitalul Clinic Judeţean de Urgență „Sf. Spiridon” Iași

¹⁰ Spitalul Clinic Judeţean de Urgență Târgu-Mureș

¹¹ Institutul Național de Sănătate Publică, Centrul Național pentru Controlul și Supravegherea Bolilor Transmisibile, Bucureşti

¹² Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila, Bucureşti

Introducere: Asistăm la emergența a două patotipuri diferite de *K. pneumoniae*: multirezistent (MDR-Kp) și hipervirulent (hv-Kp). Sondajul ECDC CCRE (carbapenem/ colistin resistant *Enterobacterales*) a vizat evaluarea clonelor de *K. pneumoniae* multirezistente cu risc crescut corelate cu genele de rezistență la carbapeneme.

Metode: 74 tulpini de *Klebsiella pneumoniae* neduplicate, non-susceptibile la carbapeneme colectate din nouă spitale din România. Identificarea speciilor, confirmarea rezistenței la carbapeneme cu metode microbiologice standard. Genele de rezistență la carbapeneme/colistin (KPC, NDM, OXA-48-like, VIM, mcr1-5) detectate prin PCR convențional. 66 tulpini supuse secvențierii centralizate a întregului genom (WGS) (Illumina® Technology) la Institutul Sanger. Analiza *in silico* a profilurilor MLST efectuată în 2023.

Rezultate: 93,9% (n=62) dintre tulpini au produs una sau mai multe carbapenemaze: OXA-48-like (51,6%), KPC (37,09%), NDM (19,35%); 5 izolate (8,06%) au arborat simultan două gene pentru carbapenemază: 2 *bla*NDM-1 și *bla*OXA-48 și 3 *bla*KPC-2 și *bla*OXA-48; Dintre tulpinile OXA-48-like (32) una a prezentat varianta *bla*OXA-162. Clona dominantă pentru izolatele OXA-48-like a fost ST101. Dintre cele 23 de izolate KPC, 20 au fost ST258, 2 ST307 și 1 ST11.

Concluzii: În spitalele din România au fost identificate două linii clonale majore cu risc ridicat, cu rol semnificativ în răspândirea globală a *Klebsiella pneumoniae* producătoare de carbapenemază: ST 101 pentru tulpinile OXA-48 și ST 258 pentru tulpinile KPC. Adicional, clonele ST307, ST147, ST11, ST15 cu risc ridicat au fost asociate tulpinilor de *K. pneumoniae* OXA-48, KPC-2 și NDM-1. Monitorizarea caracteristicilor genetice ale tulpinilor multidrog rezistente de *Klebsiella* este crucială pentru măsurile de control al infecțiilor.

Cuvinte cheie: *Klebsiella pneumoniae*, clone cu risc înalt, ST101, ST258

C30. HIGH-RISK ANTIMICROBIAL RESISTANT *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* CLONES IN ROMANIA WITHIN EURGEN-NET CCRE SURVEY 2020-2021

Brîndușa-Elena Lixandru¹, Daniela Cristea¹, Codruța-Romanița Usein¹, Otilia Banu², Elvira Ianculescu³, Mariana Buzea⁴, Maria Nica⁵, Irina Nistor⁶, Daniela Talapan⁷, Marina Indreas⁸, Cristina Tuchiluş⁹, Edith Szekely¹⁰, Roxana Şerban¹¹, Irina Codiță¹²

¹ "Cantacuzino" National Military Medical Institute for Research and Development, Bucharest, Romania

² "C.C. Iliescu" Cardiovascular Diseases Institute, Bucharest, Romania

³ Fundeni Clinical Institute, Bucharest, Romania

⁴ "Elias" Emergency University Hospital, Bucharest

⁵ "Victor Babeş" Clinical Hospital for Infectious and Tropical Diseases, Bucharest, Romania

⁶ "Grigore Alexandrescu" Emergency Clinical Hospital for Children, Bucharest, Romania

⁷ "Prof. Dr. Matei Balş" National Institute of Infectious and Tropical Diseases, Bucharest, Romania

⁸ County Emergency Clinical Hospital, Bacău, Romania

⁹ Emergency County Clinical Hospital "St. Spiridon", Iasi, Romania

¹⁰ County Emergency Clinical Hospital Târgu-Mureş, Romania

¹¹ National Institute of Public Health, National Center for Communicable Disease Control and Surveillance, Romania

¹² "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania

Introduction: *K. pneumoniae* is currently emerging *via* two different pathotypes: multidrug-resistant *K. pneumoniae* (MDR-Kp) and hypervirulent *K. pneumoniae* (hv-Kp). ECDC CCRE (carbapenem/colistin resistant *Enterobacterales*) survey aimed to assess high-risk multidrug resistant *K. pneumoniae* clones correlated with carbapenem resistance genes.

Methods: 74 *Klebsiella pneumoniae* non-duplicate, carbapenem non-susceptible strains were collected from nine Romanian hospitals. Species identification, carbapenem resistance confirmation was carried out using standard microbiological methods. Carbapenems and colistin resistance genes (KPC, NDM, OXA-48-like, VIM, mcr1-5) were detected by conventional PCRs. 66 strains were submitted to centralized whole genome sequencing (WGS) (Illumina® Technology) at Sanger Institute. *In silico* analysis of the MLST profiles was performed in 2023.

Results: Among *K. pneumoniae* strains, 93,9% (n=62) produced one or more carbapenemases: OXA-48-like (51,6%), KPC (37,09%), NDM (19,35%); 5 isolates (8,06%) co-harboured two carbapenemase genes: 2 with *bla*NDM-1 and *bla*OXA-48 and 3 with *bla*KPC-2 and *bla*OXA-48; Only one of the OXA-48-like strains (32) harboured the *bla*OXA-162 variant. Dominant clone for OXA-48-like isolates was ST101. Among 23 KPC-producing isolates, 20 were ST258, 2 ST307 and 1 ST11.

Conclusions: Two major high risk clonal lineages with a significant role in the global spread of carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae* have been observed in Romanian hospitals: ST 101 for OXA-48 like carbapenemase strains and ST 258 for KPC carbapenemase strains. Additionally, high risk ST307, ST147, ST11, ST15 clones had been linked to OXA-48, KPC-2 and NDM-1 producing *K. pneumoniae* strains. Monitoring the genetic characteristics of multidrug *Klebsiella* strains is crucial for infection control measures.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*, high risk clones, ST101, ST258

C31. TULPINILE DE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* MULTI-DROG REZISTENTE CIRCULANTE ÎN IRO IAȘI: OPȚIUNI TERAPEUTICE ȘI IMPORTANȚA DETECȚIEI RAPIDE ÎN MANAGEMENTUL INFECȚIEI

Brîndușa Copăcianu, Florina Fotache, Magdalena Apetrii, Raluca-Ioana Toma, Daniela Jitaru

Institutul Regional de Oncologie, Iași, România

Introducere: Izolarea din ce în ce mai des a tulpinilor de *Klebsiella pneumoniae* multidrog-rezistente (MDR) pune probleme legate de terapia acestor infecții. Cunoașterea fenotipurilor de rezistență circulante și detecția rapidă a mecanismelor de rezistență este necesară pentru instituirea antibioticoterapiei țintite.

Metode: Au fost analizate tulpinile de *Klebsiella pneumoniae* MDR izolate în 2023, în cadrul spitalului IRO. Identificarea bacteriană a fost efectuată prin MALDI-TOF, antibiografele au fost efectuate în sistem automat MICRONAUT (concentrație minimă inhibitoare). Izolatele au fost testate pentru producerea de carbapenemaze cu test imunocromatografic și difuzimetric pentru sensibilitatea la cefiderocol, respectiv sinergism aztreonam-ceftazidim/avibactam.

Rezultate: În perioada analizată s-au izolat 337 tulpini de *Klebsiella pneumoniae*, din care 33% au fost MDR. Nu s-au analizat izolatele identice repetate la același pacient, și doar 64 au fost incluse în studiu. Au fost producătoare de OXA-48 31,2%, producătoare de KPC 21,8%, producătoare de NDM 29,6%, producătoare de OXA-48+NDM 7,8%, producătoare de KPC+NDM 4,6%, iar 4,6% neproducătoare de carbapenemaze. Opțiunile terapeutice au fost ceftazidim/avibactam, amikacină, gentamicina și colistin pentru tulpinile OXA48 și KPC, respectiv colistin pentru tulpinile producătoare de NDM. Izolatele producătoare de OXA au fost majoritatea sensibile la cefiderocol, pe când cele producătoare de KPC și NDM au fost preponderent rezistente. În cazul tulpinilor producătoare de NDM, combinația aztreonam cu ceftazidim/avibactam a indicat o rată a sinergiei de peste 66%.

Concluzii: Cefiderocolul este o bună opțiune terapeutică doar pentru tulpinile OXA-48; pentru tulpinile KPC ceftazidim/ avibactam și colistin sunt utile pentru terapie, iar pentru NDM asociația aztreonam-ceftazidim/ avibactam și uneori colistin.

Cuvinte cheie: carbapenemaze, cefiderocol, sinergism aztreonam-ceftazidim/ avibactam

C31. MULTI-DROG-RESISTANT *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* STRAINS ISOLATED IN IRO IAȘI: THERAPEUTIC OPTIONS AND THE IMPORTANCE OF RAPID DETECTION IN THE MANAGEMENT OF INFECTION

Brîndușa Copăcianu, Florina Fotache, Magdalena Apetrii, Raluca-Ioana Toma, Daniela Jitaru

Iasi Regional Institute of Oncology, Romania

Introduction: The increasingly frequent isolation of multidrug-resistant (MDR) *Klebsiella pneumoniae* strains creates problems related to the therapy of these infections. Knowledge of circulating resistance phenotypes and rapid detection of resistance mechanisms is necessary for the establishment of best available therapy.

Methods: *Klebsiella pneumoniae* MDR strains isolated in 2023, within the IRO hospital, were analyzed. Bacterial identification was performed by MALDI-TOF, antibiograms were performed in the MICRONAUT automatic system (minimum inhibitory concentration). The isolates were tested for the production of carbapenemases with an immunochromatographic test and diffusimetric antibiograms for sensitivity testing to cefiderocol, respectively aztreonam-ceftazidime/avibactam synergism.

Results: During the analyzed period, 337 strains of *Klebsiella pneumoniae* were isolated, of which 33% were MDR. Repeated identical isolates from the same patient were not analyzed, and only 64 were included in the study. They were OXA-48 producers 31.2%, KPC producers 21.8%, NDM producers 29.6%, OXA-48+NDM producers 7.8%, KPC+NDM producers 4.6%, and 4.6% non-producing carbapenemases. The therapeutic options were ceftazidime/avibactam, amikacin, gentamicin and colistin for OXA48 and KPC strains, respectively colistin for NDM-producing strains. The isolates producing OXA were mostly sensitive to cefiderocol, while those producing KPC and NDM were mainly resistant. In the case of NDM-producing strains, the combination of aztreonam with ceftazidime/avibactam indicated a synergy rate of over 66%.

Conclusions: Cefiderocol is a good therapeutic option only for OXA-48 strains; for KPC strains ceftazidime/ avibactam and colistin are useful for therapy, and for NDM the association aztreonam-ceftazidime/ avibactam and sometimes colistin.

Keywords: carbapenemase, cefiderocol, aztreonam-ceftazidime/ avibactam synergy

P22. DISFUNCTIE HEPATICĂ LA PACIENȚII CU TUBERCULOZĂ PULMONARĂ ȘI DIABET ZAHARAT

Marina Reabîșeva, Valeriana Pantea, Anatolie Vișnevschi

Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu” din Republica Moldova

Introducere: Ficatul are un rol esențial pentru metabolismul uman, având în vedere că îndeplinește, în combinație cu alte organe, peste 500 de funcții – stocarea glicogenului, producție de hormoni și eliminarea toxinelor din organism. Tuberculoza (TBC) este o afecțiune contagioasă, potențial fatală dacă este netratată, care afectează de obicei plămâni. Estimativ o treime din populația lumii sunt infectați, anual fiind înregistrate aproximativ 9,4 milioane de cazuri noi. În ultimele două decenii, la nivel mondial, a fost observată o creștere explozivă a numărului de persoane diagnosticate cu DZ.

Metode: Studiul a fost realizat în cadrul IMSP Institutului de Fiziopneumologie “Chiril Draganiuc”, secția FP1. În studiu au fost înrolați 60 pacienți cu TBC: (38 bărbați (63,3%) și 22 femei (36,6%)). A fost cercetată activitatea enzimelor nespecifice ALAT și ASAT înainte și după tratament antituberculos, în timpul fazei intensive de tratament, la pacienții cu TBC, precum și la pacienții cu TBC/DZ. Datele au fost analizate folosind Statistical Package for the Social Sciences (SPSS).

Rezultate: La pacienții cu TBC a fost înregistrată o creștere de 39,5% a enzimelor hepatice ALAT și o creștere de 7,7% a enzimelor hepatice ASAT în comparație cu valorile de până la tratamentul antituberculos. Valoare ALAT înainte de tratament: 19 U/L; Valoare ASAT înainte de tratament: 19,50 U/L. Valoare ALAT după tratament: 26,50 U/L; Valoare ASAT după tratament: 21 U/L. La pacienții cu TBC/DZ a fost înregistrată o scădere de 2,6% a enzimelor hepatice ALAT și o scădere de 18% a enzimelor hepatice ASAT în comparație cu valorile de până la tratamentul antituberculos. Valoare ALAT înainte de tratament: 19 U/L; valoare ASAT înainte de tratament: 19,50 U/L. Valoare ALAT după tratament: 18,50 U/L; valoare ASAT după tratament: 16 U/L.

Concluzii: Studiul constată creșterea valorilor enzimelor hepatice ALAT și ASAT după tratament, în cazul pacienților cu TBC. Cauza probabilă: hepatotoxicitatea tratamentului antituberculos. De asemenea, se constată scăderea valorilor enzimelor hepatice ALAT și ASAT după tratament, în cazul pacienților cu TBC/DZ. Cauza probabilă: administrarea tratamentului antituberculos și antidiabet. Atât TBC, precum și DZ necesită supraveghere strictă în timpul fazei intensive a tratamentului antituberculos.

Cuvinte cheie: tuberculoză, diabet zaharat, enzime hepatice

P22. LIVER FUNCTION DISORDERS IN PATIENTS WITH PULMONARY TUBERCULOSIS AND DIABETES MELLITUS

Marina Reabiseva, Valeriana Pantea, Anatolie Visnevschi

Nicolae Testemițanu State University of Medicine and Pharmacy of the Republic of Moldova

Introduction: The liver plays an essential role in the metabolic control of the body, as it performs, in combination with other organs, more than 500 functions – the storage of glycogen, production of hormones and elimination of toxins from the body. Tuberculosis (TB) is a contagious, potentially fatal condition, if untreated, that usually affects the lungs. An estimated one-third of the world's population is infected, with approximately 9.4 million new cases being registered annually. In the last two decades, worldwide, a significant increase of the number of people diagnosed with DM has been observed.

Methods: The study was carried out within the Physiopneumology Institute “Chiril Draganiuc”, FP1 section. 60 TB patients were enrolled in the study (38 men (63.3%) and 22 women (36.6%)). The activity of the non-specific enzymes ALT and AST before and after antituberculosis treatment, during the intensive treatment phase, in TB patients as well as in TB/DM patients was investigated. Data was analyzed using the Statistical Package for the Social Sciences (SPSS).

Results: There was a 39.5% increase in ALT liver enzymes and a 7.7% increase in AST liver enzymes compared to the level before tuberculosis treatment in TB patients. ALT level before treatment: 19 U/L; AST level before treatment: 19,50 U/L. ALT level after treatment: 26,50 U/L; AST level after treatment: 21 U/L. There was a 2.6% decrease in ALT liver enzymes and an 18% decrease in AST liver enzymes compared to the level before tuberculosis treatment in patients with TB/DM. ALT level before treatment: 19 U/L; AST level before treatment: 19,50 U/L. ALT level after treatment: 18,50 U/L; AST level after treatment: 16 U/L.

Conclusions: The study found an increase in the level of the ALT and AST liver enzymes after tuberculosis treatment, in the case of TB patients. Possible cause: hepatotoxicity of tuberculosis treatment. Therefore, the decrease in the level of the ALT and AST liver enzymes observed after tuberculosis treatment in the case of patients with TB/DM. Possible cause: administration of tuberculosis and diabetes treatment. Both TB and DM require close surveillance during the intensive phase of TB treatment.

Keywords: tuberculosis, diabetes, liver enzymes

P23. EVALUAREA RISCULUI VALORILOR DE ALERTĂ ALE INR-ULUI

Corina-Maria Rus¹, Oana Oprea^{1,2}

¹ Laborator analize medicale, Spitalul Clinic Județean de Urgență Târgu Mureș, România

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

Introducere: Valorile crescute ale INR (Rata Internațională Normalizată) pot cauza sângerări masive și reprezintă un factor de risc semnificativ pentru pacienții cu terapie anticoagulantă de tip anticumarinice. Scopul studiului îl reprezintă identificarea, analiza și gestionarea valorilor de alertă ale INR-ului, precum și implementarea unor strategii pentru gestionarea nivelului de risc asociat testării în laborator.

Metode: S-a efectuat un studiu retrospectiv, pe o perioadă de trei luni: august- octombrie 2023, în care au fost analizate valorile de alertă ale INR-ului. Datele au fost extrase din sistemul informatic și analizate în Microsoft Office Excel. S-a calculat nivelul Six Sigma precum și probabilitatea de apariție zilnică a probelor cu valori peste 7. A fost înregistrată recoltarea unor probe suplimentare și timpul mediu până la repetarea recoltării.

Rezultate: Au fost analizate un total de 14.777 probe, din care 20 au prezentat valori ale INR-ului peste 7. Dintre acestea, 8 au fost repetate iar timpul mediu până la primirea unei noi probe a fost de 6 ore (min 02:36 h, max 14:29 h). A fost obținut un scor $\sigma = 1.8$ ($<3\sigma$). Nivelul de risc obținut a fost inacceptabil. Probabilitatea de apariție zilnică a unui test cu valoare de alertă este de aproximativ 0.1358% în urgență, respectiv 0.1341% în rutină.

Concluzii: În concluzie, gestionarea valorilor de alertă necesită o atenție sporită iar colaborarea interdisciplinară între personalul medical și echipa medicală este esențială. Monitorizarea regulată a INR-ului și intervenția rapidă în cazul valorilor crescute sunt necesare pentru a minimiza riscurile asociate cu sângerarea excesivă și a complicațiilor potențiale.

Cuvinte cheie: managementul riscului, INR, valori de alertă

P23. RISK ASSESSMENT OF INR ALERT VALUES

Corina-Maria Rus¹, Oana Oprea^{1,2}

¹ Emergency Clinical County Hospital Târgu Mureș

² George Emil Palade University of Medicine, Pharmacy, Science, and Technology of Targu Mures, Romania

Introduction: Elevated INR (International Normalized Ratio) values can cause massive bleeding and represent a significant risk factor for patients on anticoagulant therapy with anticoumarins. The aim of the study is to identify, analyze, and manage INR alert values, as well as to implement strategies for managing the associated risk level of laboratory testing.

Methods: A retrospective study was conducted over a three-month period: August to October 2023, analyzing INR alert values. Data were extracted from the computer system and analyzed in Microsoft Office Excel. The Six Sigma level was calculated, as well as the daily probability of samples with values above 7. Additional sample collection and the average time until repeat collection were recorded.

Results: A total of 14,777 samples were analyzed, of which 20 had INR values above 7. Among these, 8 were repeated, and the average time until receiving a new sample was 6 hours (min 02:36 h, max 14:29 h). A σ score of 1.8 was obtained ($<3\sigma$). The risk level obtained was unacceptable. The daily probability of a test with an alert value occurring is approximately 0.1358% in emergencies, and 0.1341% in routine.

Conclusions: In conclusion, managing alert values requires increased attention, and interdisciplinary collaboration between medical personnel and the medical team is essential. Regular monitoring of INR and rapid intervention in case of elevated values are necessary to minimize the risks associated with excessive bleeding and potential complications.

Keywords: risk management, INR, alert values

P24. TIMPUL DE TROMBOPLASTINĂ PARȚIAL ACTIVAT “NEDETECTABIL” ÎN CORELAȚIE CU CODURILE DE SEMNALIZARE

Carmen Delianu^{1,2}, Daniel Vasile Timofte^{1,2}, Loredana Liliana Hurjui^{1,2}, Ion Hurjui¹, Larisa Dănăilă^{1,2}, Georgeta Liliana Foia^{1,2}

¹ Universitatea de Medicină și Farmacie “Grigore T. Popa”, Iași, România

² Spitalul Clinic Județean de Urgență “Sf. Spiridon”, Iași, România

Introducere: Testele de hemostază joacă un rol important în vederea diagnosticării unei boli trombotice sau a unei posibile sângeri. Un impact semnificativ asupra îngrijirii pacienților poate decurge în urma neinterpretării corecte a codurilor semnalizate de analizorul ACL TOP. Scopul studiului este stabilirea unei conduite privind criteriile corecte de interpretare a semnalizării „FAILED” (nedetectabil) în funcție de codul ce însoțește această semnalizare.

Metode: Studiul a fost realizat în departamentul de Hematologie al Spitalului „Sf. Spiridon” din Iași, și a urmărit corelarea acestei semnalizări cu codul emis.

Rezultate: Au fost identificate 267 teste APTT (timp de tromboplastină parțială activat) cu rezultat „nedetectabil”; dintre acestea, pentru 156 teste (58,42%) codul „5508” specifică un rezultat mai mare decât valoarea maxim calibrată, la 70 teste (26,1%) cu codul „5509” rezultatul a fost mai mic decât valoarea permisă pentru un rezultat calibrat, pentru 34 teste (12,73%) codul „5056” semnaliza prea multe puncte de date invalide, eroare de hard „5079” pentru 6 teste (2,24%), iar codul „5700” volum insuficient ca urmare a posibilei aspirări de fibrină, a fost înregistrat în cazul unui test (0,37%). La o reverificare postanalitică prin transvazare, s-a evidențiat prezența accidentală a cheagului la 67 eșantioane, adică un procent de 25,09% din numărul total de probe identificate, la care rezultatele au fost anulate.

Concluzii: Nu este suficientă o apreciere cantitativă și calitativă a eșantioanelor pentru a preveni eliberarea unor rezultate false. Validarea unui rezultat cu statut „nedetectabil” fără o explicație care să ofere suport clinicianului în vederea monitorizării și dozării anticoagulantelor, poate conduce în mod eronat la hemoragie prin supradozare, sau sindrom trombotic prin diminuarea dozei de anticoagulant.

Cuvinte cheie: failed, teste de coagulare, nedetectabil, cod de semnalizare

P24. “UNDETECTABLE” ACTIVATED PARTIAL THROMBOPLASTIN TIME IN CORRELATION WITH SIGNALING CODES

Carmen Delianu^{1,2}, Daniel Vasile Timofte^{1,2}, Loredana Liliana Hurjui^{1,2}, Ion Hurjui¹, Larisa Dănăilă^{1,2}, Georgeta Liliana Foia^{1,2}

¹ University of Medicine and Pharmacy “Grigore T. Popa”, Iasi, Romania

² Emergency County Clinical Hospital “Sf. Spiridon”, Iasi, Romania

Introduction: Homeostasis tests play a critical role in the diagnosis of thrombotic disease or possible bleeding. A significant impact on patient care can result from the erroneous interpretation of the codes signaled by the ACL TOP analyzer. In this study, we aimed at establishing a guideline regarding the appropriate criteria for interpreting the “FAILED” signal (undetectable) according to the code that accompanies this signal.

Methods: The study was carried out in the Hematology department of the “Sf. Spiridon” Hospital in Iași, and pursued the correlation of this signaling with the issued code.

Results: 267 APTT (activated partial thromboplastin time) tests with an “undetectable” result were identified; of these, for 156 tests (58.42%) the code “5508” specifies a result higher than the maximum calibrated value, in 70 tests (26.1%) with the code “5509” the result was lower than the allowed value for a calibrated result, for 34 tests (12.73%) the code “5056” highlighted too many invalid data points, hard error “5079” has been detected for 6 tests (2.24%), and the code “5700” insufficient volume as a result of possible fibrin aspiration was recorded in one test (0.37%). In a post-analytical recheck by transvasation, the accidental presence of a clot was revealed in 67 samples, therefore a significant 25.09% of total number of samples identified, where results were voided.

Conclusions: A quantitative and qualitative assessment of samples is not satisfactory to prevent false reports. Validation of a result as “undetectable” without an explanation to support the clinician in order to monitor and dose anticoagulants can erroneously lead to hemorrhage due to overdose, or thrombotic syndrome by decreasing the dose of anticoagulant.

Keywords: failed, coagulation tests, undetectable, signaling code

P25. IDENTIFICAREA TIMPURIE A PACIENȚILOR CU BRC: O ANALIZĂ COMPARATIVĂ A FORMULELOR ERFG

Elena-Cristina Preda^{1,2}, Oana Oprea^{1,2}, Albert Zsolt Barabas¹, Ioana Paula Simion¹, Minodora Dobreanu^{1,2}

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

² Spitalul Clinic Județean de Urgență Târgu Mureș

Introducere: Boala renală cronică (BRC) progresează tacit către stadiile avansate, transformând diagnosticul precoce al acesteia o problemă mondială de sănătate. Obiectivul studiului a fost evaluarea eficienței formulelor de estimare a ratei de filtrare glomerulară (eRFG) bazate pe creatinină în detectarea timpurie a potențialilor pacienți cu BRC.

Metode: ERFG a fost calculată folosind ecuațiile „Modification of Diet in Renal Disease” (MDRD), „Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration 2021” (CKD-EPI2021) și „European Kidney Function Consortium” (EKFC), valorile fiind comparate cu cele obținute cu ecuația CKD-EPI2009. Datorită diferitelor puncte critice referitoare la sex și vârstă din structura ecuațiilor, studiul a cuprins patru grupuri: 18-25, 26-40, 41-65 și >65 ani, pentru fiecare sex. Stadiile de interes au fost G2 și G3a.

Rezultate: Utilizând formula CKD-EPI2009, s-au clasificat un total de 135.629 valori de eRFG conform stadiilor BRC, obținând 19.896 valori în G2 și 3.489 în G3a pentru bărbați, respectiv 20.970 și 6.186 pentru femei. Ecuația MDRD a reclasificat din G2 în G3 6-12% bărbați și 9-13% femei ≤65 de ani, iar pentru grupul >65, 22% bărbați și 10% femei au fost mutați din G2 în G1. CKD-EPI2021 a reclasificat 11-29% pacienți într-un stadiu de boală mai ușor. EKFC a subclasificat în G3a 1-10% pacienți ≤65 ani și a supra-clasificat 0,3-12% dintre bărbații peste 26 ani în G1. Rezultate similare au fost observate pentru stadiul G3a.

Concluzii: Pentru identificarea mai rapidă a potențialilor pacienți cu BRC, formula MDRD este mai potrivită pentru persoanele ≤65 ani, în timp ce formula EKFC este mai potrivită pentru cei >65 ani.

Cuvinte cheie: eRFG, BRC, creatinină

P25. EARLY IDENTIFICATION OF CKD PATIENTS: A COMPARATIVE ANALYSIS OF EGFR FORMULAS

Elena-Cristina Preda^{1,2}, Oana Oprea^{1,2}, Albert Zsolt Barabas¹, Ioana Paula Simion¹, Minodora Dobreanu^{1,2}

¹ George Emil Palade University of Medicine, Pharmacy, Science, and Technology of Targu Mures, Romania

² Emergency Clinical County Hospital Targu Mures, Romania

Introduction: Chronic kidney disease (CKD) progresses silently towards late stages, making early diagnosis a global health concern. The aim of the study was to assess which creatinine-based formula for estimating glomerular filtration rate (eGFR) can detect earlier potential CKD patients.

Methods: The eGFR was computed using the Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) equation, the Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration 2021 (CKD-EPI) equation, and the European Kidney Function Consortium (EKFC) equation and compared with the CKD-EPI 2009 equation. Due to different breakpoints of the equations regarding sex and age, the study defined four groups: 18-25, 26-40, 41-65, and over 65 years old, for each sex. The stages of interest in our study were G2 and G3a.

Results: Using the CKD-EPI2009 formula, a total of 135,629 creatinine values were sorted into CKD stages resulting in 19896 values in G2, 3489 in G3a for males, and 20970 and 6186, respectively, for females. The MDRD equation reclassified 6-12% male and 9-13% female patients ≤65 years from G2 to G3, while for >65 group 22% males and 10% females were moved from G2 to G1. The CKD-Epi2021 over-classified 11-29% patients. The EKFC formula under-classified between 1-10% patients ≤65 years into lower CKD stages and over-classified 0.3-12% of male patients over 26 years. Similar results were observed for the G3a stage.

Conclusions: To identify potential CKD patients earlier the MDRD formula is more appropriate for individuals under 65 years old, whereas the EKFC formula is more suitable for those above 65 years.

Keywords: eGFR, CKD, creatinine

P26. ACTIVITATEA ARS A ȘI B, B-GLUCORONIDAZEI, B- GALACTOZIDAZEI, N-ACETIL-B-GLUCOZAMINIDAZEI, ELASTAZEI, ÎN PIELONEFRITELE CRONICE OBSTRUCTIVE ȘI NEOBSTRUCTIVE

Vera Sali^{1,2}, A. Burlă³

¹ Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemișanu" din Republica Moldova

² Spitalul Clinic Republican „Timofei Moșneaga”, Chișinău, Republica Moldova

³ Spitalul de boli cronice Siret, Siret, România

Introducere: Spre deosebire de alte organe, rinichiul are un echipament enzimatic divers și bogat, situat preponderent la nivelul nefrocitelor. În condiții fiziologice se elimină o cantitate redusă de enzime în urină. Orice alterare a funcției tubulare sau glomerulare antrenează o perturbare a reabsorbției tubulare sau scăderea filtrației glomerulare, manifestată prin enzimurie exagerată. În urină în prezent se poate determina activitatea a peste 70 enzime și izoenzime. Conform datelor din literatura de specialitate, măsurarea activității enzimelor urinare prin tehnici tradiționale de laborator și analiza indicilor biochimici complecși, permit aprecierea caracterului leziunilor celulare, gradului de acutizare a procesului inflamator cronic în rinichi, localizarea lui la nivel tubular, glomerular sau interstițial.

Metode: Studiul a inclus analiza activității următoarelor enzime în urină: arilsulfataza (ARS) A și ARS B, β-glucuronidazei, β-galactozidaza, N-acetil-β-glucosaminidaza, elastaza, în pielonefritele cronice neobstructive (PNCN) precum și în pielonefritele cronice obstructive (PNCO), în faza acută, faza latentă, la internare și la externare.

Rezultate: Arilsulfatazele au demonstrat tendință comună cu β-galactozidaza în evoluția valorilor sale, maximele fiind în grupele PNCO în acutizare, PNCO latente. Toate grupele la internare au prezentat valori statistic semnificativ crescute versus valorile la externare, iar ultimele rămân accelerate versus lotul martor. În toate cazurile ($p < 0,001$). Astfel, valorile ARS A și B au reflectat următorii indici: PNCN faza latentă la internare- $4,42 \pm 1,72$ ($p < 0,001$); PNCN în acutizare la internare- $5,51 \pm 2,12$ ($p < 0,001$); PNCOA în acutizare la internare- $7,28 \pm 1,19$ ($p < 0,001$); PNCO, faza latentă, la internare- $7,82 \pm 1,99$ ($p < 0,001$).

Concluzii: În pofida recunoașterii importanței clinice a acestor teste de laborator, determinarea enzimuriei în scopul aprecierii leziunilor renale până la ora actuală nu a căpătat o răspândire largă, ceea ce se explică prin lipsa elaborării unui algoritm de diagnostic enzimatic diferențiat în maladiile renale.

Cuvinte cheie: enzimurie, pielonefrită cronică

P26. ACTIVITY OF ARS A AND B, B-GLUCORONIDASE, B-GALACTOSIDASE, N-ACETYL-B-GLUCOSAMINIDASE, ELASTASE, IN CHRONIC OBSTRUCTIVE AND NONOBSTRUCTIVE PYELONEPHRITIS

Vera Sali^{1,2}, A. Burlă³

¹ Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy of the Republic of Moldova

² Republican Clinical Hospital „Timofei Moșneaga”, Chișinău, Republic of Moldova

³ Siret Hospital for Chronic Diseases, Siret, Romania

Introduction: Unlike other organs, the kidney has a diverse and rich enzymatic equipment, mainly located at the nephrocyte level. Under physiological conditions, a small amount of enzymes is eliminated in the urine. Any alteration of the tubular or glomerular function leads to a disruption of tubular reabsorption or a decrease in glomerular filtration, manifested by exaggerated enzymuria. The activity of more than 70 enzymes and isoenzymes can currently be determined in urine. According to data from the literature, measuring the activity of urinary enzymes through traditional laboratory techniques and the analysis of complex biochemical indices, allow the assessment of the nature of cellular lesions, the degree of exacerbation of the chronic inflammatory process in the kidneys, its localization at the tubular, glomerular or interstitial level.

Methods: The study included the analysis of the activity of the following enzymes in urine: arylsulfatase (ARS) A and ARS B, β-glucuronidase, β-galactosidase, N-acetyl-β-glucosaminidase, elastase, in chronic non-obstructive pyelonephritis (PNCN) as well as in chronic obstructive pyelonephritis (PNCO), in the acute phase, the latent phase, at hospitalization and at discharge.

Results: Arylsulfatases demonstrated a common trend with β-galactosidase in the evolution of its values, the maxima being in the acute PNCO, latent PNCO groups. All groups at admission showed statistically significantly increased values compared to the values at discharge, and the latter remain accelerated compared to the control group, in all cases ($p < 0.001$). Thus, the values of ARS A and B reflected the following indices: PNCN latent phase at admission- 4.42 ± 1.72 ($p < 0.001$); PNCN in exacerbation at admission- 5.51 ± 2.12 ($p < 0.001$); PNCOA in exacerbation at admission- 7.28 ± 1.19 ($p < 0.001$); PNCOA, latent phase, at admission- 7.82 ± 1.99 ($p < 0.001$).

Conclusions: Despite the well-recognised clinical importance of these laboratory tests, the measurement of enzymuria for the assessment of kidney damage has not yet become widespread, which is explained by the lack of development of a differentiated enzyme diagnosis algorithm in kidney diseases.

Keywords: enzymuria, pyelonephritis

P27. ACTIVITATEA FOSFATAZEI ALCALINE ÎN URINĂ ÎN PIELONEFRITA CRONICĂ

Vera Sali^{1,2}, A. Burlă³

¹ Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemișanu" din Republica Moldova

² Spitalul Clinic Republican „Timofei Moșneaga”, Chișinău, Republica Moldova

³ Spitalul de boli cronice Siret, Siret, România

Introducere: Localizată preponderent la nivelul marginii în perie a celulei epiteliale a canalelor proximale renale, fosfataza alcalină (FA) este o enzimă membranară, activitatea ei urinară poate reflecta gradul tulburării funcției acestora.

Metode: Studiile efectuate de noi au pus în evidență valori majorate ale activității fosfatazei alcaline în perioada manifestărilor clinice în toate loturile de studiu.

Rezultate: Grupul de pacienți cu pielonefrită cronică neobstructivă, (PNCN), faza latentă a avut nivele de FA la internare de $12,51 \pm 3,29$, $t=1654,771$, respectiv la externare $8,01 \pm 2,58$, $t=806,881$, ce a demonstrat o îmbunătățire statistic semnificativă în comparație cu valorile la internare versus externare ($p < 0,001$), dar comparativ cu lotul martor rămân statistic semnificativ accelerate (media martor = $7,83 \pm 2,02$ versus media externare = $8,01 \pm 2,58$; $t=453,611$, $p < 0,001$). Lotul PNCN în acutizare a prezentat nivelul FA la internare $22,76 \pm 5,61$ în comparație cu nivelul la externare $10,31 \pm 2,96$, ce a constituit o îmbunătățire statistic semnificativă $t=2026,431$, $p < 0,001$, iar nivelul la externare comparativ cu lotul martor rămâne mai avansat, ce este statistic semnificativ $t=1232,761$, $p < 0,001$. Astfel, putem concluziona despre afectarea membranelor citoplasmice ale canaliculelor renale în această fază de inflamație a PNC. Pentru grupurile de pielonefrită cronică neobstructivă, (PNCN) în acutizare și PNCN faza latentă, valorile înregistrate la internare au constituit $10,18 \pm 1,39$ și $11,83 \pm 1,94$ corespunzător, iar la externare $8,18 \pm 3,13$ și $9,60 \pm 1,39$ corespunzător, ce la fel a determinat o îmbunătățire statistic semnificativă a valorilor FA pentru ambele grupe: pentru grupul PNCN $t=104,221$, $p < 0,001$ și pentru grupul PNCOL $t=411,651$, $p < 0,001$. Dar în comparație cu lotul martor la externare valorile FA s-au prezentat în ambele grupe statistic semnificativ mai accelerate: pentru grupul PNCN externare vs martor $t=381,361$, $p < 0,001$ și pentru grupul PNCOL vs martor $t=55,821$, $p < 0,001$.

Concluzii: Corelarea valorilor FA la externare dintre grupurile date a demonstrat că FA în grupul PNCN acutizare rămâne statistic semnificativ crescută în comparație cu restul grupelor ($p < 0,001$), fiind urmată de valorile în grupul PNCN faza latentă. Este de menționat că la internare valorile FA în grupul PNCN în acutizare sunt statistic semnificativ accelerate ($p < 0,001$) comparativ cu restul grupelor.

Cuvinte cheie: fosfataza alcalină, pielonefrită cronică

P27. URINE ALKALINE PHOSPHATASE ACTIVITY IN CHRONIC PYELONEPHRITIS

Vera Sali^{1,2}, A. Burlă³

¹ Nicolae Testemitanu State University of Medicine and Pharmacy of the Republic of Moldova

² Republican Clinical Hospital „Timofei Moșneaga”, Chișinău, Republic of Moldova

³ Siret Hospital for Chronic Diseases, Siret, Romania

Introduction: Located predominantly at the level of the brush border of the epithelial cell of the renal proximal channels, alkaline phosphatase (AP) is a membrane enzyme, its urinary activity can reflect the degree of their function disorder.

Methods: The studies carried out by us showed increased values of AP activity during clinical manifestations in all study groups.

Results: The group of patients with chronic non-obstructive pyelonephritis, (PNCN), latent phase had AP levels at admission of 12.51 ± 3.29 , $t=1654.771$, respectively at discharge 8.01 ± 2.58 , $t=806.881$, which demonstrated a statistically significant improvement compared to the values at admission versus discharge ($p < 0.001$), but compared to the control group they remain statistically significantly accelerated (control average = 7.83 ± 2.02 versus discharge average = 8.01 ± 2.58 ; $t=453.611$, $p < 0.001$). The PNCN group in exacerbation presented the level of AP at admission 22.76 ± 5.61 compared to the level at discharge 10.31 ± 2.96 , which constituted a statistically significant improvement $t=2026.431$, $p < 0.001$, and the discharge level compared to the control group remains more advanced, which is statistically significant $t=1232.761$, $p < 0.001$. Thus, we can conclude about the damage to the cytoplasmic membranes of the renal tubules in this phase of PNC inflammation. For the groups of chronic non-obstructive pyelonephritis (PNCN in exacerbation) and PNCN in the latent phase, the values recorded at admission were 10.18 ± 1.39 and 11.83 ± 1.94 respectively, and at discharge 8.18 ± 3.13 and the corresponding 9.60 ± 1.39 , which also determined a statistically significant improvement in AP values for both groups: for the PNCN group $t=104.221$, $p < 0.001$ and for the PNCOL group $t=411.651$, $p < 0.001$. However compared to the control group at discharge, the AP values were presented in both groups statistically significantly faster: for the PNCN group discharge vs control $t=381.361$, $p < 0.001$ and for the PNCOL group vs control $t=55,821$, $p < 0.001$.

Conclusions: The correlation of the AP values at discharge between the given groups demonstrated that the AP in the acute PNCN group remains statistically significantly increased compared to the rest of the groups ($p < 0.001$), being followed by the values in the latent phase PNCN group. It should be mentioned that at admission the values of AP in the acute PNCN group are statistically significantly accelerated ($p < 0.001$) compared to the rest of the groups.

Keywords: alkaline phosphatase, chronic pyelonephritis

P28. ABCES PERIANAL CU CVADRUPLĂ ETIOLOGIE BACTERIANĂ

Florin Filip^{1,2}, Ramona Avramia¹, Roxana Filip^{1,2}

¹ Spitalul Clinic Județean de Urgență "Sf. Ioan cel Nou", Suceava, România

² Facultatea de Medicină și Științe Biologice, Universitatea "Stefan cel Mare", Suceava, România

Introducere: Laboratorul de microbiologie clinică este responsabil de modul de prelevare, transport și procesare a produselor patologice în vederea diagnosticului. Clinicienii trebuie să utilizeze în mod adecvat serviciile oferite de laborator prin testele specifice în vederea creșterii calității diagnosticului și bunăstării pacientului. Obiectiv: de a prezenta un caz de abces perianal determinat de patru agenți etiologici. Am obținut Avizul Comisiei de Etică nr 22/26.10.2022 și consimțământul informat conform procedurilor în vigoare.

Prezentarea cazului: Cazul unui pacient, C.D., 17 ani prezentat la Unitatea primire Urgențe cu febră, edem și evacuarea spontană a puroiului dintr-un abces perianal. Prelevarea probei după incizie și drenaj chirurgical s-a realizat conform protocoalelor în vigoare. Izolarea, identificarea și testarea sensibilității la antibiotic s-a realizat prin metode de microbiologie clasică. Interpretarea rezultatelor antibiogramei s-a realizat conform standardului Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) 2021. Din proba de puroi s-au izolat patru specii bacteriene cu semnificație clinică: *Escherichia coli*, *Streptococcus* grup B, *Staphylococcus aureus* rezistent la metilicilină (MRSA) și *Morganella* spp. Particularitatea cazului a constat în quadrupla etiologie, fiecare specie având semnificație clinică. Tratamentul cu antibiotic s-a realizat conform antibiogramei cu ceftriaxonă, Clindamicină și Metronidazol.

Concluzii: Acest caz clinic rezolvat relevă buna colaborare între chirurgul pediatru, microbiologia clinică și echipa de antibiotic stewardship în vederea unei evoluții favorabile. Trebuie considerată posibilitatea unei etiologii multiple.

Cuvinte cheie: cvadruplă etiologie, abces

P28. PERIANAL ABSCESS: QUADRUPLE BACTERIAL ETIOLOGY

Florin Filip^{1,2}, Ramona Avramia¹, Roxana Filip^{1,2}

¹ "Sf. Ioan cel Nou" Suceava Emergency Clinical County Hospital, Suceava, Romania

² Faculty of Medicine and Biological Sciences, "Stefan cel Mare Suceava" University, Suceava, Romania

Introduction: The clinical microbiology laboratory is responsible for providing guidance of how to collect, label and transport specimens for processing. Clinicians must ensure proper usage of laboratory tests that are clinically significant and lead to improved patient outcome. Objective: to present a clinical case of perianal abscess caused by four bacterial species as etiological agents. Ethical Committee approval, nr 22/26.10.2022 and informed consent were obtained accordingly.

Case presentation: Case of a patient, C.D. 17 years old, admitted in the emergency ward with fever, oedema and spontaneous evacuation of pus from perianal abscess. Sample collection from the abscess was done according to protocols. Isolation, identification and sensitivity testing was done by classical microbiological methods. Interpretation of disk diffusion testing results was done according to CLSI 2021. Four bacterial species were isolated from pus: *Escherichia coli*, group B *Streptococcus*, Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) and *Morganella* spp. This case was challenging for us, because etiology was quadruple, and each species had clinical significance. Antibiotic treatment was done accordingly, at the intersection between sensitivities for each species with Ceftriaxone, Clindamycin and Metronidazol accordingly.

Conclusions: This case shows the good cooperation between the microbiologist, pediatric surgeon and hospital antibiotic stewardship team, as to have a favourable outcome. Also, the possibility for multiple etiologies in the same case must be considered.

Keywords: quadruple etiology, abscess

P29. AGENȚI PATOGENI RARI ÎN SEPSIS ȘI BACTERIEMIE ÎNTR-UN SPITAL TERȚIAR PE O PERIOADĂ DE 7 ANI

Elena Liliana Costea¹, Georgiana Radu¹, Mădălina Simoiu^{1,2}, Mona Popoiu², Alina Maria Borcan^{1,2}

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

² Institutul Național de Boli Infecțioase "Prof. Dr. Matei Balș", București, România

Introducere: Epidemiologia infecțiilor invazive acoperă o paletă largă de agenți patogeni. Cunoscând bacteriile frecvent incriminate, precum *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter* spp., *Salmonella* spp. și *Neisseria meningitidis*, acest studiu și-a propus să analizeze distribuția și profilul de rezistență la antibiotice pentru bacteriile mai puțin frecvent izolate de la pacienții cu infecții invazive pe o perioadă de 7 ani.

Metode: Un total de 36,134 seturi de hemocultură au fost prelucrate conform protocoalelor de laborator din 2017 până în 2023. Testarea sensibilității la antibiotice a fost efectuată folosind sistemele Vitek2 Compact și Micronaut, precum și E-teste. Rezultatele au fost interpretate conform standardului EUCAST.

Rezultate: Un total de 558 (21,68%) bacterii din 2,574 (7,12%) rezultate pozitive totale au fost identificate drept cauze mai puțin frecvente de infecții invazive. Majoritatea acestora au fost bacili Gram negativi (BGN) (250 tulpini, 44,80%) și cocii Gram-pozitivi (CGP) (241 tulpini, 43,19%), urmați de bacili Gram-pozitivi (BGP) (64 tulpini, 11,47%) și coci Gram negativi (CGN) (0,54%). 64 de agenți patogeni au fost strict anaerobi (11,74%). Cea mai ridicată incidență a avut-o *Enterobacter cloacae* (6,99%), urmat de *Streptococcus gallolyticus* (6,63%) și *Proteus mirabilis* (6,45%). 28,40% din BGN și 4,15% din CGP au fost bacterii multirezistente (MDR), prevalența totală de bacterii MDR fiind de 15,23%.

Concluzii: Bacteriile mai puțin frecvente sunt o cauză importantă de infecții invazive, fiind identificate în mai mult de o cincime din hemoculturile pozitive. BGN și CGP reprezintă majoritatea agenților patogeni responsabili de infecțiile invazive în acest grup. În timp ce o treime din toți BGN au fost MDR, proporția de bacterii producătoare de enzime de rezistență la antibiotice este scăzută.

Cuvinte cheie: sepsis și bacteriemie, infecții invazive, hemocultură

P29. LESS FREQUENT BACTERIA CAUSING SEPSIS AND BACTEREMIA FROM A TERTIARY CARE HOSPITAL OVER A 7-YEAR PERIOD

Elena Liliana Costea¹, Georgiana Radu¹, Mădălina Simoiu^{1,2}, Mona Popoiu², Alina Maria Borcan^{1,2}

¹ "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania

² "Prof. Dr. Matei Balș" National Institute of Infectious Diseases, Bucharest, Romania

Introduction: Bloodstream infections (BSI) epidemiology covers a vast array of pathogens. Besides frequent agents such as *Staphylococcus* spp., *Enterococcus* spp., *Streptococcus pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter* spp., *Salmonella* spp. and *Neisseria meningitidis*, this study aimed to analyze the distribution and antibiotic susceptibility profiles of less frequent bacteria isolated from patients with invasive infections over a 7-year period.

Methods: A total of 36,134 hemoculture sets were processed according to laboratory protocols from 2017 until 2023. Antibiotic susceptibility testing was performed using the Vitek2 Compact and Micronaut systems, as well as the E-test strip technique. Results were interpreted according to EUCAST guidelines.

Results: A total of 558 (21,68%) pathogens out of 2,574 (7,12%) total positive results were identified as less frequent causes of BSI. The majority of pathogens were Gram-negative bacilli (GNB) (250 strains, 44,80%) and Gram-positive cocci (GPC) (241 strains, 43,19%), followed by Gram-positive bacilli (GPB) (64 strains, 11,47%) and Gram-negative cocci (GNC) (0,54%). 64 pathogens were strictly anaerobic (11,74%). The most prevalent species of bacteria in this group was *Enterobacter cloacae* (6,99%), followed by *Streptococcus gallolyticus* (6,63%) and *Proteus mirabilis* (6,45%). 28,40% of GNB and 4,15% of GPC were multidrug-resistant (MDR), with an overall proportion of MDR bacteria of 15,23%.

Conclusions: Less frequent bacteria are an important cause of sepsis and bacteremia, accounting for more than one-fifth of positive hemocultures. GNB and GPC represent the majority of pathogens responsible for invasive infections. While one-third of all GNB were MDR, the proportion of ESBL and carbapenemase-producing bacteria remained low.

Keywords: sepsis and bacteremia, bloodstream infections, hemoculture

P30. PROFILURI DE REZISTENȚĂ LA ANTIBIOTICE ALE SPECIILOR DE *PROVIDENCIA* IZOLATE DE LA PACIENȚI SPITALIZAȚI

Stanca-Lucia Pandrea^{1,2}, Monica Ioana Ciontea², Manuela Tompa², Lia Sorina Pepelea¹, Stanca-Maria Pandrea³, Andrei Moise⁴, Maria Teodora Muntean⁵, Andreea Monica Benea², Alina Gabriela Duțu^{2,6}

¹ Disciplina de Microbiologie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu", Cluj-Napoca, România

² Institutul Regional de Gastroenterologie și Hepatologie (I.R.G.H.), Cluj-Napoca, România

³ Spitalul Clinic de Recuperare, Cluj-Napoca, România

⁴ Institutul Clinic de Urologie și Transplant Renal, Cluj-Napoca, România

⁵ Spitalul Clinic Județean de Urgență, Cluj-Napoca, România

⁶ Disciplina de Biochimie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu", Cluj-Napoca, România

Introducere: Rezistența tulpinilor de *Proteae* la antibioticele de primă linie reprezintă o provocare în opțiunile de tratament, provocare datorată și rezistențelor intrinseci cunoscute. Scopul studiului a inclus distribuția pe secții, tipul infecțiilor și rezistența antimicrobiană a tulpinilor de *Providencia* izolate între 1 ianuarie 2020 și 31 decembrie 2022, din produse patologice de la pacienți spitalizați în Institutul Regional de Gastroenterologie și Hepatologie (I.R.G.H.), Cluj-Napoca.

Metode: Studiul a fost de tip retrospectiv-descriptiv. Pentru identificarea bacteriană, s-au utilizat sistemul automatizat VITEK 2 COMPACT și Vitek MS. Antibiograma s-a realizat folosind sistemul VITEK 2 COMPACT, conform ghidurilor EUCAST.

Rezultate: Au fost identificate 34 de tulpini de *Providencia* la 23 de pacienți, în special în secția de terapie intensivă (ATI) (64,71%), gastroenterologie (14,71%) și chirurgie generală (20,58%). În marea majoritate a probelor (26) s-au identificat tulpini de *P. stuartii*. *Providencia* spp. a fost cea mai frecvent izolată din secrețiile traheobronșice (32,35%), puroi (23,53%) și urină (23,53%). 85% dintre tulpinile de *P. stuartii* și 50% dintre cele de *P. rettgeri* au fost rezistente la cefepim. Procente crescute de rezistență s-au întâlnit la meropenem (62,96%), urmată de ertapenem (61,54%), și 55,56% la imipenem, dar și fluoroquinolone: între 72,73% (ciprofloxacina) și 87,50% (moxifloxacina). Rate de sensibilitate pentru *Providencia* spp. au fost observate pentru amikacina (23,33%) și trimetoprim-sulfametoxazol (25%).

Concluzii: S-au întâlnit procente ridicate de rezistență, inclusiv la agenți antimicrobieni considerați de rezervă. Împreună cu rezistențele intrinseci cunoscute la colistin și tigeciclină, aceste rezultate reprezintă o provocare semnificativă în strategia de tratament și managementul acestor infecții.

Cuvinte cheie: *Providencia* spp., multidrug rezistență, rezistență intrinsecă

P30. ANTIBIOTIC RESISTANCE PROFILES OF *PROVIDENCIA* SPECIES ISOLATED FROM HOSPITALIZED PATIENTS

Stanca-Lucia Pandrea^{1,2}, Monica Ioana Ciontea², Manuela Tompa², Lia Sorina Pepelea¹, Stanca-Maria Pandrea³, Andrei Moise⁴, Maria Teodora Muntean⁵, Andreea Monica Benea², Alina Gabriela Duțu^{2,6}

¹ Department of Microbiology, "Iuliu Hațieganu" University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca, Romania

² Regional Institute of Gastroenterology and Hepatology (I.R.G.H.), Cluj-Napoca, Romania

³ Clinical Recovery Hospital, Cluj-Napoca, Romania

⁴ Clinical Institute of Urology and Renal Transplantation, Cluj-Napoca, Romania

⁵ Cluj County Emergency Clinical Hospital, Cluj-Napoca, Romania

⁶ Department of Biochemistry, "Iuliu Hațieganu" University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca, Romania

Introduction: Resistance of *Proteae* strains to first-line antibiotics poses a challenge in treatment options, also due to known intrinsic resistances. The study aimed to assess the distribution across hospital wards, the spectrum of infections, and the antimicrobial resistance patterns of *Providencia* strains identified between January 1, 2020, and December 31, 2022, in samples collected from patients hospitalized at the Regional Institute of Gastroenterology and Hepatology (R.I.G.H.), Cluj-Napoca.

Methods: The study was retrospective-descriptive. For identification, the automated systems VITEK 2 COMPACT and Vitek MS were used. Antibiogram testing was conducted using the VITEK 2 COMPACT system, following EUCAST guidelines.

Results: 34 strains of *Providencia* species from 23 patients were identified in the medical and surgical wards, particularly in the ICU (intensive care unit) (64.71%), Gastroenterology ward (14.71%), and General surgery (20.58%). In the majority of samples (26), strains of *P. stuartii* were identified. *Providencia* spp. were most commonly isolated from tracheobronchial secretions (32.35%), pus (23.53%), and urine (23.53%). 85% of *P. stuartii* strains and 50% of *P. rettgeri* strains were resistant to cefepime. Elevated percentages of resistance were encountered for meropenem (62.96%), followed by ertapenem (61.54%), and 55.56% for imipenem, as well as fluoroquinolones: ranging between 72.73% (ciprofloxacin) and 87.50% (moxifloxacin). The rates of sensitivity among *Providencia* spp. were observed for amikacin (23.33%) and trimethoprim-sulfamethoxazole (25%).

Conclusions: High resistance rates were encountered, including to reserve antimicrobial agents. Alongside intrinsic resistances to colistin and tigecycline, these results pose significant challenges to treating and managing these infections.

Keywords: *Providencia* spp., multiple drug resistance, intrinsic resistance

P31. INCIDENȚA BACTERIILOR CU REZISTENȚĂ MULTIPLĂ LA ANTIBIOTICE ÎN PERIOADA 2019-2023

Claudia Daniela Goleanu, Mirela Grosu

Spitalul "Prof. Dr. Const. Angelescu", București, România

Introducere: Având în vedere tendința continuă de creștere a rezistenței bacteriilor la antibiotice, am efectuat un studiu privind numărul de microorganisme multi-drog rezistente, izolate și identificate, de la pacienții internați în Spitalul prof. Dr. Const. Angelescu din București, în perioada 2019-2023.

Metode: Identificarea microorganismelor și testarea sensibilității la antibiotice s-a efectuat cu ajutorul analizorului automat Vitek 2 Compact. Au fost utilizate cardurile de identificare pentru Gram pozitivi și Gram negativi, cât și cardurile de antibiogramă AST-N204, AST-N222 și AST-P592.

Rezultate: În anul 2019, anterior pandemiei Covid-19, în Laboratorul de Analize Medicale al acestui spital, au fost identificate 72 bacterii multirezistente, reprezentând 11,4% din totalul bacteriilor izolate și identificate. În anul 2020, anul declarării pandemiei Covid-19, s-a observat o scădere semnificativă a procentului de bacterii multirezistente, acesta fiind de 6,2%. În anul 2021, acest procent a scăzut și mai mult, ajungând la 2,75%. În anii 2022 și 2023, procentele au fost de 5,4% și 5,25%.

Concluzii: Rezultatele obținute în urma analizei efectuate pe parcursul a 5 ani, în spitalul analizat, arată o scădere a numărului de bacterii multirezistente izolate și identificate, în perioada pandemiei și post-pandemie. Acest lucru se poate datora măsurilor de distanțare socială, precum și îmbunătățirii igienei mâinilor și a suprafețelor, schimbării comportamentului social și a consolidării măsurilor de control al infecțiilor.

Cuvinte cheie: rezistența multiplă la antibiotice

P31. THE INCIDENCE OF BACTERIA WITH MULTIPLE RESISTANCE TO ANTIBIOTICS IN THE PERIOD 2019-2023

Claudia Daniela Goleanu, Mirela Grosu

"Prof. Dr. Const. Angelescu" Hospital, Bucharest, Romania

Introduction: Considering the continuous trend of increasing resistance of bacteria to antibiotics, we conducted a study on the number of multi-drug resistant microorganisms, isolated and identified, from patients admitted to Prof. Dr. Const. Angelescu Hospital in Bucharest, during the period 2019-2023.

Methods: Microorganism identification and antibiotic sensitivity testing was performed using the Vitek 2 Compact automatic analyzer. Identification cards for Gram positive and Gram negative were used, as well as antibiogram cards AST-N204, AST-N222 and AST-P592.

Results: In 2019, before the Covid-19 pandemic, in the Medical Analysis Laboratory of this hospital, 72 multiresistant bacteria were identified, representing 11.4% of the total bacteria isolated and identified. In 2020, the year of the declaration of the Covid-19 pandemic, a significant decrease in the percentage of multiresistant bacteria was observed, this being 6.2%. In 2021, this percentage decreased even more, reaching 2.75%. In the years 2022 and 2023 the percentages were 5.4% and 5.25%.

Conclusions: The results obtained following the analysis carried out for 5 years, in the analyzed hospital, show a decrease in the number of isolated and identified multiresistant bacteria, during the pandemic and post-pandemic period. This may be due to social distancing measures, as well as improving hand and surface hygiene, changing social behavior and strengthening infection control measures.

Keywords: multiple antibiotic resistance

P32. IMPORTANȚA METODEI QRT-PCR ȘI A TESTELOR MULTIPLEX ÎN DIAGNOSTICUL RAPID AL MENINGITEI PEDIATRICE

Lucian-Daniel Peptine, Andreea-Eliza Zaharia, Gabriela Gurău, Alina-Viorica Iancu, Cosmin-Răducu Răileanu, Elena-Roxana Matache, Nicoleta-Maricica Maftei

Facultatea de Medicină și Farmacie, Universitatea "Dunărea De Jos" din Galați, România

Introducere: Meningita este o afecțiune contagioasă severă, care poate avea consecințe fatale. Studiul se concentrează pe evaluarea diagnosticului rapid în meningita la copiii internați în Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii „Sfântul Ioan” din Galați.

Metode: Studiul retrospectiv a implicat 98 de pacienți (54 fete, 44 băieți) cu vârsta între 0-17 ani, internați în perioada 11.2021-02.2024. Informațiile clinice și paraclinice au fost obținute din sistemul informatic al spitalului. Diagnosticul de meningită s-a realizat prin puncția lombară și analiza biochimică și celulară a lichidului cefalorahidian (LCR). Identificarea microorganismelor s-a efectuat prin metode bacteriologice clasice, cât și prin tehnica de polimerizare în lanț în timp real (qRT-PCR) cu teste multiplex.

Rezultate: Au fost identificați 22 de pacienți cu meningită, 19 virale și 3 bacteriene (*Neisseria meningitidis*). Cele mai multe cazuri pozitive au fost din mediul rural (16/22) și de sex masculin (14/22). Cauzele principale ale meningitelor virale au fost herpesvirusurile și enterovirusurile (10, respectiv 6). În meningitele virale LCR-ul a prezentat un aspect clar, cu număr de elemente între 0-176/mm³, exceptând infecțiile cu virusul *Epstein-Barr* (430-1600mm³), în care aspectul LCR a fost ușor turbure. În cazurile de infecții bacteriene (170-9000/mm³), aspectul LCR-ului a fost turbure, iar germeii au putut fi identificați doar prin qRT-PCR.

Concluzii: Studiul subliniază importanța diagnosticului rapid în meningita pediatrică. Utilizarea qRT-PCR-ului multiplex permite identificarea rapidă a agentului patogen în 4-6 ore, comparativ cu 18-48 de ore în cazul testelor clasice. Acest aspect facilitează inițierea unui tratament prompt și eficient, cu impact semnificativ asupra rezultatelor clinice.

Cuvinte cheie: meningită, copii, PCR

P32. THE IMPORTANCE OF THE QRT-PCR METHOD AND MULTIPLEX TESTING IN THE RAPID DIAGNOSIS OF PEDIATRIC MENINGITIS

Lucian-Daniel Peptine, Andreea-Eliza Zaharia, Gabriela Gurău, Alina-Viorica Iancu, Cosmin-Răducu Răileanu, Elena-Roxana Matache, Nicoleta-Maricica Maftei

Faculty of Medicine and Pharmacy, "Dunărea De Jos" University of Galati, Romania

Introduction: Meningitis is a severe contagious condition that can have fatal consequences. The study focuses on evaluating rapid diagnosis in meningitis among children hospitalized at the Emergency Clinical Hospital for Children 'Sfântul Ioan' in Galați.

Methods: The retrospective study involved 98 patients (54 girls, 44 boys) aged between 0-17 years, hospitalized between November 2021 and February 2024. Clinical and paraclinical information was obtained from the hospital's computer system. The diagnosis of meningitis was established through lumbar puncture and biochemical and cellular analysis of cerebrospinal fluid (CSF). Microorganism identification was performed through classical bacteriological methods as well as real-time polymerase chain reaction (qRT-PCR) with multiplex testing.

Results: Twenty-two patients with meningitis were identified, 19 viral and 3 bacterial (*Neisseria meningitidis*). The majority of positive cases were from rural areas (16/22) and were male (14/22). The main causes of viral meningitis were herpesviruses and enteroviruses (10 and 6 cases, respectively). In viral meningitis, the cerebrospinal fluid (CSF) presented a clear aspect, with cell counts ranging from 0-176/mm³, except for infections with Epstein-Barr virus (430-1600mm³), where the CSF appeared slightly turbid. In cases of bacterial infections (170-9000/mm³), the CSF appeared turbid, and the pathogens could only be identified through qRT-PCR.

Conclusions: The study emphasizes the importance of rapid diagnosis in pediatric meningitis. Utilizing multiplex qRT-PCR enables the rapid identification of the pathogen within 4-6 hours, compared to 18-48 hours with traditional tests. This facilitates the initiation of prompt and effective treatment, with a significant impact on clinical outcomes.

Keywords: meningitis, children, PCR

P33. MANAGEMENTUL PACIENTULUI CU SEPSIS – IMPORTANȚA UTILIZĂRII SPECTROMETRIEI DE MASĂ (MALDI-TOF)

Bogdan-Florentin Nițu^{1,2}, Licdan Curtali¹, Nicoleta Chipăilă¹, Nicola-Maria Militaru³, Iulia Dulgheru³, Petronela-Anca Dumitrescu¹, Elena Dumea^{1,2}, Simona-Claudia Cambrea^{1,2}

¹ Spitalul Clinic de Boli Infecțioase Constanța, România

² Universitatea "Ovidius" Constanța, România

³ Spitalul Clinic Județean de Urgență "Sf. Apostol Andrei" Constanța, România

Introducere: Spectrometria de masă MALDI-TOF este o tehnică capabilă să identifice rapid și precis microorganisme precum bacterii, ciuperci filamentoase, micobacterii etc. *Listeria monocytogenes* este un bacil gram-pozitiv, facultativ anaerob, nesporulat, care poate crește într-o gamă variată de temperaturi, inclusiv la temperaturi scăzute, produce o β -hemoliză slabă pe sânge-agar, β -lizina acestuia fiind un determinant esențial al patogenității sale. Grupele de risc major le reprezintă gravidele, nou născuții, pacienții imunocompromiși și vârstnicii, deși 30% din pacienții cu listerioză pot fi imunocompetenți.

Prezentarea cazului: Prezentăm cazul unei paciente în vârstă de 64 de ani, cunoscută în antecedente cu multiple comorbidități, care se internează pentru febră, scaune diareice apoase multiple post antibioticoterapie, simptomatologie cu debut de aproximativ 3 zile. La internare, s-au recoltat hemoculturi aerobe și anaerobe în puseu febril, ulterior identificarea agentului patogen fiind realizată prin tehnica spectrometriei de masă MALDI-TOF (Autof MS 1000). ADN *Clostridium Difficile*- pozitiv. Hemocultura anaerobă- pozitivă (după 15h de la momentul recoltării probelor). Identificare Autof MS 1000 (~60min)- pozitivă *Listeria monocytogenes* (identificare direct din flaconul de hemocultură), antibiograma prezumtivă s-a efectuat conform EUCAST RAST direct din flaconul pozitiv, disponibilă după 18h. MALDI-TOF va deveni o metodă principală de diagnostic în sepsis, în ceea ce privește timpul de rezultat, acuratețea și costul per test. Cheltuielile aferente spitalizării unui pacient cu sepsis, pe perioada internării, sunt aproximativ 2000.00 lei per zi de spitalizare.

Concluzii: Având în vedere timpul scurt (aprox. 36h) până la obținerea rezultatelor prezumtive, comparativ cu metodele clasice (aprox.72h), costurile spitalizării unui pacient, scad cu cel puțin 25%, acestea fiind mai mari în primele zile de spitalizare. De asemenea, diagnosticul rapid permite o utilizare judicioasă a antibioticelor.

P33. MANAGING PATIENTS WITH SEPSIS – THE IMPORTANCE OF MASS SPECTROMETRY (MALDI-TOF)

Bogdan-Florentin Nițu^{1,2}, Licdan Curtali¹, Nicoleta Chipăilă¹, Nicola-Maria Militaru³, Iulia Dulgheru³, Petronela-Anca Dumitrescu¹, Elena Dumea^{1,2}, Simona-Claudia Cambrea^{1,2}

¹ Clinical Hospital of Infectious Diseases Constanța, Romania

² "Ovidius" University Constanța, Romania

³ "Sf. Apostol Andrei" County Clinical Emergency Hospital Constanța, Romania

Introduction: Mass spectrometry (MALDI-TOF) technique enables fast and accurate identification of a large number of microorganisms such as bacteria, filamentous fungi, mycobacteria etc. *Listeria monocytogenes* is a Gram-positive facultative anaerobe non-spore forming rod bacteria that is able to grow at a wide range of temperatures, including low temperatures. It is β -haemolytic on blood agar medium thanks to a haemolysin (Listeriolysin O) that is essential to its virulence. Patients at a greater risk of developing listeriosis are pregnant women, new-borns, immunocompromised and old age patients, although 30% of the total number of infected patients are immunocompetent.

Case presentation: A 64-year-old female patient, known with multiple comorbidities, is admitted for 3 days of pyrexia and diarrhoea with watery stools after a course of antibiotics. Blood was collected for culture of aerobic and anaerobic microorganisms during febrile episode, followed by mass spectrometry identification of the causal agent using MALDI-TOF (Autof MS 1000). DNA *Clostridium difficile* test result was positive on admission. After approximately 15 hours of having the blood samples collected for cultures, the anaerobic bottle was flagged as positive for bacterial growth. The identification of the pathogen on Autof MS 1000 resulted positive for *Listeria monocytogenes* (taking approximately 60 minutes). Subsequently, a presumptive antibiotic testing was done in line with EUCAST RAST guidelines highlighting the appropriate antibiotics after 18 hours. For this identification and antibiotic testing a blood sample from the positive blood culture bottle was used. MALDI-TOF will become one of the most important methods of diagnosis in sepsis due to its time effectiveness, accuracy and the cost per test. Expenses for hospitalisation of septic patients rise up to approximately 2000.00 RON per day.

Conclusions: Using mass spectrometry (MALDI-TOF) we were able to reach a presumptive result in about 36 hours compared to classical methods of identification (approximately 72 hours), allowing for a cut of over 25% of hospital expenses associated with sepsis patients. These expenses are usually higher during the initial days of admission. Moreover, reaching a diagnosis in due time will allow for better use of antibiotics in line with antibiotic stewardship.

P34. *CANDIDA AURIS*, UN NOU PATOGEN IDENTIFICAT PRIN SPECTROMETRIE DE MASĂ

Roxana Ioana Dinică¹, Bogdan-Florentin Nițu^{1,2}, Nicoleta Chipăilă¹, Elena Dumea^{1,2}, Nicola-Maria Militaru¹, Petronela-Anca Dumitrescu¹, Nicoleta Lungu¹, Maria-Angela Tomozei¹, Sergiu Dan Buzdugan¹, Carmen Ilie Șerban¹, Simona-Claudia Cambrea^{1,2}, Irina Magdalena Dumitru^{1,2}

¹ Spitalul Clinic de Boli Infecțioase Constanța, România

² Universitatea "Ovidius" Constanța, România

Introducere: Descrisă pentru prima dată în 2009, în Japonia, infecția fungică emergentă *Candida auris* a fost deseori asociată cu focare nosocomiale și a ridicat probleme semnificative pentru unitățile spitalicești prin caracteristici precum persistența la nivelul pielii și a mucoaselor pacienților, în mediul spitalicesc, nivel ridicat de transmitere, o capacitate ridicată de a produce infecții sistemice severe la pacienții vulnerabili și mai ales, rezistența crescută la medicamentele antifungice utilizate.

Prezentarea cazului: Pacientă în vârstă de 63 ani, cu internări multiple în mediul spitalicesc, cunoscută în APP cu adenocarcinom de rect radio și chimioterat cu rezecție recto-sigmoidiană cu colo-recto anastomoză termino-terminală mecanică cu ileostomă de protecție în februarie 2024, se prezintă pentru greață și vărsături, cu test *Clostridium difficile* pozitiv în altă unitate medicală. S-au recoltat eșantioane din materiile fecale pentru coprocultură și examen micologic. Însămânțarea pentru fungi s-a efectuat pe mediul Sabouraud cu Cloramfenicol pozitiv. Incubarea s-a efectuat la 35°C pentru 48 ore, dezvoltându-se colonii de tip "S" albe, cremoase, cu aspect sugestiv de *Candida spp*. Identificarea levurilor a fost efectuată prin spectrometrie de masă MALDI-TOF (AUTO MS 1000) urmată de identificarea VITEK 2, card YST. S-a identificat *Candida auris* prin intermediul MALDI-TOF cu un scor de 9.247 în aproximativ 30 de minute, fiind realizată și o confirmare ulterioară prin a doua metodă, VITEK 2, cu probabilitate de 98%. Comparativ cu metodele clasice de identificare, costul per test este semnificativ mai mic.

Concluzii: Cu acuratețe mare și o relație cost-beneficiu superioară, spectrometria de masă devine o metodă din ce în ce mai utilizată în Laboratoarele de Microbiologie. Rapiditatea diagnosticului impune implementarea imediată a măsurilor specifice în unitățile medicale pentru limitarea transmiterii infecției, conform reglementărilor în vigoare.

P34. *CANDIDA AURIS*, A NEW PATHOGEN IDENTIFIED USING MASS SPECTROMETRY

Roxana Ioana Dinică¹, Bogdan-Florentin Nițu^{1,2}, Nicoleta Chipăilă¹, Elena Dumea^{1,2}, Nicola-Maria Militaru¹, Petronela-Anca Dumitrescu¹, Nicoleta Lungu¹, Maria-Angela Tomozei¹, Sergiu Dan Buzdugan¹, Carmen Ilie Șerban¹, Simona Claudia Cambrea^{1,2}, Irina Magdalena Dumitru^{1,2}

¹ Clinical Hospital of Infectious Diseases Constanța, Romania

² "Ovidius" University Constanța, Romania

Introduction: Emerging *Candida auris* infection was first described in 2009 in Japan and has since been associated with nosocomial outbreaks. This represents a challenging issue in a hospital setting due to the pathogen's ability to populate skin and mucosal flora of admitted patients, with high transmission rates, causing invasive infections in immunocompromised patients and demonstrating multi-drug resistance.

Case presentation: A 63-year-old female patient with multiple previous admissions, with a background of recent surgery, chemotherapy and radiotherapy done for rectal adenocarcinoma in February 2024, presents with nausea, vomiting and a positive *Clostridium difficile* test done in another hospital unit. Cultures from stool samples were done to test for pathogens, including yeast isolates. Fungal culture was grown on Sabouraud Chloramphenicol medium at 35°C for 48 hours, revealing white, creamy, type S (smooth) colonies suggestive for *Candida sp*. Fungal identification was done using MALDI-TOF mass spectrometry technique followed by automatic identification on VITEK 2 using YST card. *Candida auris* was identified with a score of 9.247 using MALDI-TOF in about 30 minutes. Further confirmation of the strand was obtained at 98% probability using VITEK 2. The cost per test is significantly lower compared to classical methods of identification.

Conclusions: Due to its high precision and superior benefit- cost ratio, mass spectrometry becomes an increasingly used method throughout microbiology laboratories. Swift diagnosis is paramount to limiting transmission of infections, therefore strict measures of preventing the spread of pathogens must be implemented according to current laws.

P35. O ABORDARE FOARTE PRECISĂ UTILIZÂND PCR MULTIPLEX ÎN TIMP REAL PENTRU DETECTAREA VIRUSURILOR GRIPALE A ȘI B ȘI A VIRUSULUI SINCIȚIAL RESPIRATOR

Ioana Dinut¹, Mihaela Botnarcuic^{1,2}, Lavinia Carmen Daba^{1,2}, Elena Șapte², Iulia Andreea Badea-(Costea)²

¹ Spitalul Clinic Județean de Urgență "Sfântul Apostol Andrei", Constanța, România

² Facultatea de Medicină, Universitatea "Ovidius, Constanța", România

Introducere: Diagnosticul de laborator al infecțiilor respiratorii virale se baza tradițional pe izolarea virusului în culturi celulare și pe teste imunofluorescente. Cu toate acestea, PCR cu transcriptază inversă a apărut ca o alternativă foarte sensibilă și specifică pentru detectarea virusurilor RNA respiratorii. În acest studiu, a fost dezvoltat un test rapid multiplex PCR în timp real pentru detectarea virusurilor gripale A, gripale B, umane respiratorii sincițiale (RSV). Acest test a folosit o reacție multiplex în două tuburi, utilizând beconi moleculari pentru a diferenția agenții patogeni.

Metode: În februarie, martie 2024, 380 de pacienți din diferite departamente ale Spitalului Clinic Județean de Urgență Sfântul Apostol Andrei, Constanța, au solicitat să fie testați pentru virusuri RNA respiratorii. În laboratorul nostru utilizăm kitul STAT-NAT Pluri CoV-2-FLU-RSV, care se bazează pe testarea RT-PCR în timp real și tehnologia Sentinel STAT-NAT (Tehnologie de Amplificare Stabilizată - Testare Acid Nucleic). Kitul constă într-un amestec de reacție liofilizat optimizat (288 de reacții total) care ținteste simultan regiunile specifice ale SARS-CoV-2 (gena N, marcată cu fluoroforul FAM), Influenza A/B (genele M2-M1 și NEP-NS1, marcate cu fluoroforul HEX/VIC) și RSV (gena L, marcată cu fluoroforul Texas Red), permițând evaluarea rapidă și simplă a rezultatelor.

Rezultate: Din totalul de 380 de pacienți, 160 au fost bărbați și 220 femei, ceea ce înseamnă un procent de 42% bărbați și 58% femei, respectiv. Majoritatea pacienților, care au fost testați, proveneau din departamentul de pediatrie al Spitalului Clinic de Urgență, ceea ce poate însemna că copiii au fost mult mai afectați de virusurile gripale A și B, precum și de virusul sincițial respirator. Un total de 380 de probe respiratorii colectate pe o perioadă de 2 luni au fost analizate folosind testul multiplex. Incidența virusurilor respiratorii detectate în aceste probe a fost de 158 din 380 (41%) prin PCR în timp real.

Concluzii: Aplicarea PCR în timp real la probele clinice îmbunătățește semnificativ sensibilitatea pentru diagnosticarea infecțiilor virale respiratorii și va contribui la îngrijirea mai bună a pacienților și la strategiile de prevenire a infecțiilor.

Cuvinte cheie: PCR multiplex în timp real, virusurile gripale, virusul sincițial respirator

P35. A HIGHLY ACCURATE APPROACH USING MULTIPLEX REAL-TIME PCR FOR DETECTING INFLUENZA A AND B VIRUSES AND RESPIRATORY SYNCYTIAL VIRUS

Ioana Dinut¹, Mihaela Botnarcuic^{1,2}, Lavinia Carmen Daba^{1,2}, Elena Șapte², Iulia Andreea Badea-(Costea)²

¹ "Sf. Apostol Andrei" County Clinical Emergency Hospital Constanța, Romania

² Faculty of Medicine, "Ovidius" University Constanța, Romania

Introduction: Laboratory diagnosis of viral respiratory infections traditionally relied on virus isolation in cell culture and immunofluorescent assays. However, reverse transcriptase PCR has emerged as a highly sensitive and specific alternative for detecting respiratory RNA viruses. In this study, a rapid real-time multiplex PCR assay was developed to detect influenza A, influenza B, human respiratory syncytial virus (RSV). This assay utilized a two-tube multiplex reaction employing molecular beacons to differentiate between the pathogens.

Methods: In February, March of 2024, 380 patients from different departments at Emergency County Clinical Hospital Saint Apostle Andrei, Constanța, asked to be tested for respiratory RNA viruses. In our laboratory we use STAT-NAT Pluri CoV-2-FLU-RSV kit, which is based on Real-Time RT-PCR testing and Sentinel STAT-NAT (Stabilized Amplification Technology – Nucleic Acid Testing) technology. The kit consists of one optimized freeze-dried reaction mixture (288 reactions total) simultaneously targeting the specific regions of SARS-CoV-2 (N gene, labelled with FAM fluorophore), Influenza A/B (M2-M1 genes and NEP-NS1 genes, labelled with HEX/VIC fluorophore) and RSV (L gene, labelled with Texas Red fluorophore), allowing fast and simple results evaluation.

Results: Out of the total of 380 patients, 160 were male and 220 female, meaning a percentage of 42% male and 58% female respectively. Most of the patients who were tested came from the pediatric department of the Emergency Clinical Hospital, which may mean that children were much more affected by the Influenza A and Influenza B Viruses, as well as Respiratory Syncytial Virus. A total of 380 respiratory samples collected over a 2 months period were analyzed using the multiplex assay. The incidence of respiratory viruses detected in these samples was 158 out of 380 (41%) by real-time PCR.

Conclusions: The application of real-time PCR to clinical samples significantly enhances the sensitivity for diagnosing respiratory viral infections and will contribute to better patient care and infection prevention strategies.

Keywords: multiplex real-time PCR, influenza viruses, respiratory syncytial virus

INDEX DE AUTORI

- A**
- Andrei-Bitere, Iulia 41
Antoci, Lucian-Mihai 42
Antohe, I. 43, 44, 47, 48
Apetrii, Magdalena 80
Avramia, Ramona 87
- B**
- Badea-(Costea), Iulia Andreea 94
Badea, Florin Ciprian 32
Bădină, Mihaela 63
Badoiu, Silviu Constantin 35
Bălănescu, Oana 63
Bănescu, Claudia 22
Banu, Otilia 78, 79
Barabas, Albert Zsolt 84
Barbu, Andreea 28
Becheru, Diana F. 68
Benea, Andreea Monica 23, 24, 89
Benedek, Erzsebet 22
Bercu, Cristian 63
Bercu, Ecaterina 63
Bernaz, Olga 57
Bizanti, Alexandra 32
Bocancia-Mateescu, Lorena-Andreea 17, 68
Borcan, Alina Maria 88
Botnarciuc, Mihaela 94
Braşov, Mirela 69
Bumbea, Horia 21
Burlă, A. 85, 86
Buştiuc, Steliana Gabriela 32
Buzdugan, Sergiu Dan 26, 93
Buzea, Mariana 76, 78, 79
- C**
- Cambrea, Simona-Claudia 26, 92, 93
Caraiane, Aureliana 32
Caşotă, Cristiana 76
Ceafalan, Laura C. 36
Chipăilă, Nicoleta 26, 92, 93
Chiriac, Ionuţ Adrian 12
Ciobanu, Andreea 29
Ciobanu, Corina 58
Ciontea, Monica Ioana 23, 24, 89
Cîrnu, Mădălina 19, 21, 74
Codiţă, Irina 67, 76, 78, 79
Cojocaru, Cristian 34
Cojocaru, Elena 34
Cojocaru, Karina-Alexandra 42
Condei, Maria 66
Constantinescu, Alexandra-Elena 61
Constantinescu, Ileana 59, 60, 61, 62
Copăcianu, Brînduşa 80
Cosma, Cătălin 33
Costea, Elena Liliana 88
Cotar, Ani-Ioana 76
Cotoi, Ionela 30
Cozmei, Carmen 43, 44, 47, 48
Crauciuc, George Andrei 22
Cristea, Daniela 66, 78, 79
Cristea, Ştefan 28
Curici, Antoanela 53
Curtali, Licdan 92
- D**
- Daba, Lavinia Carmen 94
Dabija, Marius Gabriel 34
Danaila, C. 43, 44, 47, 48
Dănăilă, Larisa 83
Dănău, Adela 36
Danciu, Sabrina 56
Dăscălescu, Angela 39, 43, 44, 46, 47, 48
Delianu, Carmen 83
Didilescu, Andreea Cristiana 31
Dimitriu, Daniela Cristina 34, 58, 69
Dinică, Roxana Ioana 26, 93
Dinu, Sorin 66, 76
Dinut, Ioana 94
Dobreanu, Minodora 11, 13, 14, 29, 33, 84

Dorobantu, R. 37

Dorohoi, Gabriela 43, 44, 47, 48

Dragoș, Loredana Mihaiela 18, 43, 44, 46, 47, 48, 49, 70

Drăgulescu, Elena-Carmina 76

Dugășescu, Monica 41, 68

Dulgheru, Iulia 26, 92

Dumache, Raluca 56

Dumea, Elena 26, 92, 93

Dumitrescu, Laura 36

Dumitrescu, Petronela-Anca 26, 92, 93

Dumitru, Irina Magdalena 93

Duțu, Alina Gabriela 89

E

Enache, Alexandra 56

Enache, Cristina Tatiana 38

Enescu, Dan Mircea 35

F

Filip, Cristiana 18

Filip, Florin 87

Filipov, Marilena 76

Filip, Roxana 73, 87

Fodor, Marta Andrea 30

Foia, Georgeta Liliana 42, 83

Fotache, Florina 80

G

Ganea, Ionela 12

Garces, Carlos 9

Gherghiceanu, Mihaela 36

Ghiță, Andreea 66

Goleanu, Claudia Daniela 90

Gorovei, Claudia 43, 44, 46, 47, 48

Greabu, Maria 35

Greco, Daniela Stefania 56

Grib, Livi 57

Grigoras, Claudia 15, 72

Grigoraș, Florin Petru 63

Grigoraș, Grigoras E. 49

Grigore, Camelia 28

Grigore, Nicolae 28

Grigoria, Mircea 32

Grosu, Mirela 90

Gurău, Gabriela 91

H

Hagiu, Claudia 23

Handolescu, Diana 13, 14

Hurjui, Ion 83

Hurjui, Loredana Liliana 83

Huțanu, Adina 8, 29, 30, 33

I

Iancu, Alina-Viorica 91

Ianculescu, Elvira 78, 79

Ilinca, Radu 12, 31

Indreas, Marina 78, 79

Ionescu, Ana Corina 53

Ionescu, Gabriel 64

Iordache, Ramona-Ionela 66

Istrate, Maria 68

Ivanov, Iuliu C. 18, 43, 44, 46, 47, 48, 49, 70

J

Jinga, Viorel 35

Jitaru, Daniela 15, 18, 39, 43, 44, 46, 47, 48, 49, 70, 72, 80

K

Kaina, Bernd 40

L

Leanca, Mădălina Cristina 63

Lele, L. 37

Lixandru, Brîndușa-Elena 78, 79

Luncan, B. 37

Lungu, Nicoleta 26, 93

M

Maței, Nicoleta-Maricica 91

Malnick, Stephen 65

Mambet, Cristina 38

Man, Adrian 75

Manole, Emilia 36

Marinescu, Dan-Cristian 20

Marinescu, Gabriela-Irina 53

Marta, Daciana S. 36

Mărunțelu, Ion 59, 60, 61, 62

Matache, Elena-Roxana 91

Matroș, Luminița 23, 24

Mențel, Mihaela 15, 18, 39, 43, 44, 46, 47, 48, 49, 72

Mercioni, Marina Adriana 56

Mihai, Raluca Vasilica 26
Mihai, Stejara-Nicoleta 38
Militaru, Mădălina 66
Militaru, Nicola-Maria 26, 92, 93
Mirea, Andrada 63
Mirică, Andreea-Cristina 17
Miricescu, Daniela 31, 35
Misailidou, Marialena 54
Mitu, Ivona 58
Mocanu, Sorin 17
Moise, Andrei 89
Molnar-(Lilea), Anca Alexandra 33
Muntean, Andrei-Alexandru 77
Muntean, Maria Teodora 89

N

Neagu, Elena 63
Nedelcu, Daniela Filofteia 60
Negru, Ștefania-Andreea 45, 55
Neuman, Manuela G. 65
Nica, Maria 78, 79
Niculae, Cosmin-Florentin 19, 21, 74, 77
Nicuț, Alina Mirela 63
Nisioi, Elena 18, 43, 44, 46, 47, 48, 49, 70
Nistor, Irina 78, 79
Nițu, Bogdan-Florentin 26, 92, 93

O

Oană, Raluca-Elena 39, 49, 72
Oprea, Mihaela 66, 76
Oprea, Oana 13, 14, 16, 25, 82, 84
Otheitis 54
Ozben, Tomris 7

P

Pădure, Liliana 63
Pandrea, Stanca-Lucia 23, 24, 89
Pandrea, Stanca-Maria 89
Pantea, Valeriana 81
Păun, Andra-Maria 41
Pavelea, Oana 29
Pepelea, Lia Sorina 23, 24, 89
Peptine, Lucian-Daniel 91
Petcu, Dana Margareta 26

Pîrvan, Patricia 38
Popa, Laura-Ioana 66, 76
Popescu, Bogdan O. 36
Popescu, Melania 74
Popescu, Roxana 42
Popoiu, Mona 88
Preda, Elena-Cristina 84

R

Radu, Eugen 19, 20, 21, 45, 55, 74, 77
Radu, Georgiana 88
Raftu, Gheorghe 32
Răileanu, Cosmin-Răducu 91
Reabîșeva, Marina 81
Revenco, Ninel 27
Rotarescu, Corina 59
Rotărescu, Corina 60, 61, 62
Rus, Corina-Maria 82
Rusu, Lavinia-Cipriana 66

S

Sali, Vera 85, 86
Șapte, Elena 94
Selicean, Elena-Cristina 71
Șerban, Carmen Ilie 93
Șerban, Roxana 78, 79
Shelby, Elena-Silvia 63
Simion, Anastasia 75
Simion, Ioana Paula 84
Simion, Monica 74
Simoiu, Mădălina 88
Sireteanu, Adriana 18, 43, 44, 47, 48
Soare, Dan-Sebastian 21
Spînu, Tudor-Claudiu 31
Stan, Dana 17, 68
Stan, Diana 17
Stănescu-Spînu, Iulia-Ioana 31, 35
Stanislav, Alexandra Alina 52
Stankovic, Sanja 50
Ștefan, Cristina Mădălina 46, 70
Stoica, Alina-Mihaela 77
Strugariu, Iuliana 43, 44, 47, 48
Szekely, Edith 78, 79

- T**
- Tălăngescu, Adriana 59
Talapan, Daniela 78, 79
Tatar, Raluca 35
Tătaru, Mirela Victoria 54
Timofte, Daniel Vasile 83
Titianu, Amalia 46
Tizu, Maria 60, 61, 62
Toader, Maria Adela 60
Toma, Raluca-Ioana 80
Tomozei, Maria-Angela 26, 93
Tomba, Manuela 23, 24, 89
Totan, Maria 28
Trenti, Tommaso 10, 51
Tripon, Florin 22
Tuchiluş, Cristina 78, 79
Tudoran, Cristina 56
Tulbă, Delia 36
- U**
- Ureche-Fotea, Andreea-Alexandra 45, 55
Ursu, Ramona Gabriela 69
Usein, Codruța-Romanița 66, 78, 79
- V**
- Văcărașu, Georgiana-Gabriela 25
Vacarean-Trandafir, Irina C. 18
Vântu, Emanuela Patricia 75
Vasile, Daniela 63
Veringu, Mirela Alina 39, 49, 72
Vişnevschi, Anatolie 27, 57, 81
Vlădăreanu, Ana Maria 38
Voicu, Alina 68
- Z**
- Zăgan, Amalia 25
Zaharia, Andreea-Eliza 91
Zlei, Mihaela 15, 39, 43, 44, 46, 47, 48, 49, 72

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**: http://www.rrml.ro/instr_autori/license_to_publish.pdf) 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

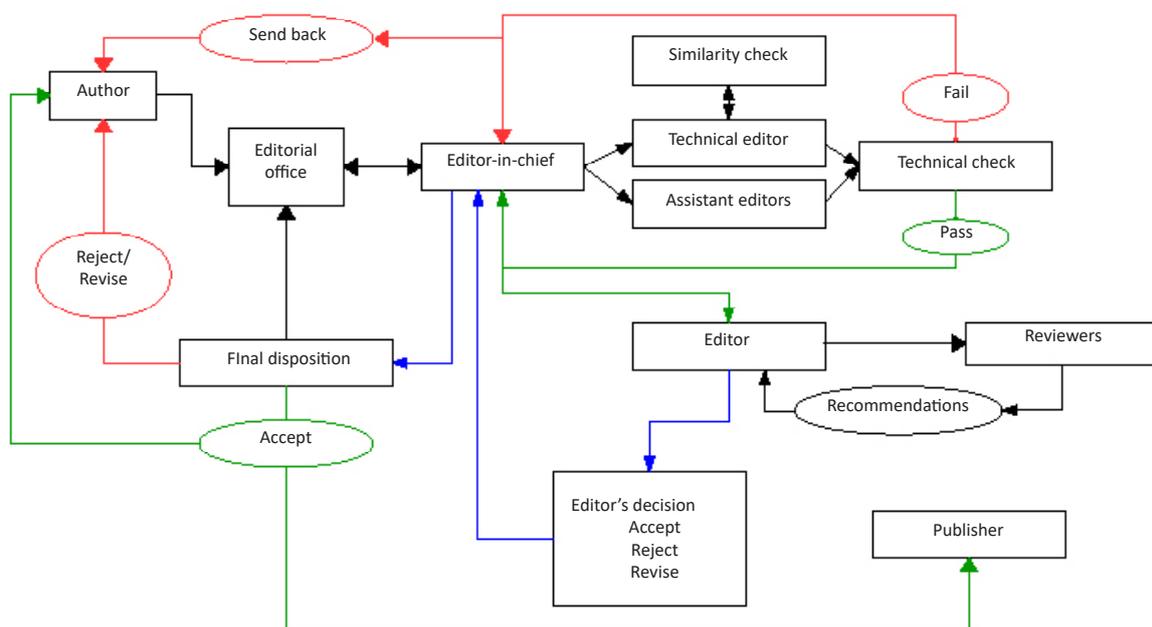
Acknowledgement section have agreed to their inclusion. Authors are responsible for obtaining permission to reproduce copyrighted material from other sources and send an authenticated copy of the permission to the Editorial Board.

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. [...]*



Workflow of the editorial process

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**" (http://www.rrml.ro/instr_autori/cover_letter.pdf) that will be signed, and launched on the editorial platform when manuscript is submitted together with the "**License to publish**" form.

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:

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](http://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 directly in this template file.

Please do not import tables or figures into the text document, but only specify their insertion in text (e.g. *Table 3*). 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-revealing 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.editorialsystem.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 parentheses. 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 resubmitted as soon as possible, but not later than 6 weeks. Although unusual, a resubmission may be rejected after revision if the response to suggestions and requests is considered inadequate.

Authors will receive a PDF file with the edited version of their manuscript for final proofreading. This is the last opportunity to view an article before its publication. The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness and accuracy of the text, tables and figures. Substantial changes in content are not allowed without the approval of the Editor. The authors are requested to return the corrected proofs within 7 days after their delivery or notify the Editors that no corrections are required. After online publication, further changes can only be made in the form of an Erratum, which will be hyperlinked to the article. The corresponding author will receive a printed issue of the Journal free of charge.

Scientific misconduct / Corrections / Retraction Policy

Scientific fraud are rare events; however, they have a very serious impact on the integrity of the scientific community. Scientific misconduct is defined by the Office of Research Integrity as “fabrication, falsification, plagiarism, or other practices that seriously deviate from those that are commonly accepted within the academic community for proposing, conducting, or reporting research”. In cases where there is a suspicion or allegation of scientific misconduct or fraudulent research in manuscripts submitted or published, the Editors reserve the right to impose sanctions on the authors, such as: immediate rejection of the manuscript, banning author(s) from submitting manuscripts to the journal for a certain period of time, retracting the manuscript, bringing the concerns to the authors’ sponsoring or funding institution or other appropriate authority for investigation.

If the Editorial Board uncovers possible evidence of such problems it will first contact the corresponding author in complete confidence, to allow adequate clarification of the situation. If the results of such interactions are not satisfactory, the Board will contact the appropriate official(s) in the institution(s) from which the manuscript originated. It is then left to the institution(s) in question to pursue the matter appropriately. Depending on the circumstances, the *Romanian Journal of Laboratory Medicine* may also opt to publish errata, corrigenda, or retractions.

Serious errors in a published manuscript and infringements of professional ethical codes will result in an article being retracted. This will occur where the article is clearly defamatory, or infringes others’ legal rights, or where the article is, or there is good reason to expect it will be, the subject of a court order, or where the ar-

ticle, 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 (or 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 (or equivalent in RON), which have to be paid when publication announcement 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 total charge for color figures will be communicated by the Editorial Secretariat upon acceptance of the manuscript for publication.

All payments will be operated in RO65BTRLRON CRT0406871001 - for payment in RON, RO15BTRLEUR CRT0406871001 - 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 BTRLRO22). Please e-mail (minodora.dobreanu@rrml.ro) or fax a copy of the bank draft at the Editorial Secretariat Phone/Fax +40 265 217425.