



UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ  
ȘI FARMACIE „NICOLAE TESTEMIȚANU”  
DIN REPUBLICA MOLDOVA



Instituția Medico-Sanitară Publică  
Institutul Mamei și Copilului



Societatea de Pediatrie  
din Republica Moldova



Societatea imunologilor  
și alergologilor din RM

IP UNIVERISTATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI  
FARMACIE “NICOLAE TESTEMIȚANU”

## IMUNODEFICIENȚELE PRIMARE ÎN ERA SCREENING-ULUI NEONATAL



Materialele conferinței naționale cu  
participare internațională

Chișinău 2023

**UNIVERSITATEA DE STAT DE MEDICINĂ ȘI FARMACIE  
“NICOLAE TESTEMIȚANU”**

**IMUNODEFICIENȚELE PRIMARE ÎN ERA  
SCREENING-ULUI NEONATAL**

**Materialele conferinței naționale cu participare  
internațională  
06-07 octombrie 2023**

Chișinău

2023

2

Conferința științifică Națională cu participare internațională - ”Imunodeficiențele primare în era screening-ului neonatal” și-a propus să prezinte panoramic rezultatele obținute în cadrul proiectului ”Elaborarea metodelor inedite de diagnostic precoce al maladiilor imunodeficitare în baza studiului clinico-imunologic și molecular-genetic al pacienților suspecți de imunodeficiențe primare” cu titlul unui Program de Stat derulat în intervalul 2020-2023. Pe parcursul acestui amplu ciclu de cercetări au fost specificate cele mai incidente maladii deficitare cu alterarea verigei celulare și umorale, cu descrierea cazurilor clinice respective și argumentarea metodelor de diagnostic și tratament utilizate. Au fost trasate clar perspectivele diagnosticului prin metode de screening neonatal (aprecierea populațiilor limfocitare T și B naive prin utilizarea reacției qPCR), s-a reiterat și valoarea testării molecular-genetice cu aprecierea a 575 de gene posibil implicate în geneza diferitor forme maladive de imunodeficiență primară.

Materialele conferinței vor servi cu siguranță instruirii în domeniu, dar și muncii practice a medicilor pediatri, neo-natologi, imunologi, interniști, geneticieni și altor specialități medicinale.

**Machetare computerizată:** .....

## **DESCRIEREA CIP A CAMEREI NAȚIONALE A CĂRȚII**

**Andrieș Lucia, Revenco Ninel**

Erorile congenitale ale sistemului imunitar: diagnostic și tratament

Monografie/ Andrieș Lucia, Revenco Ninel și alții

Univ. de Stat de Medicină și Farmacie Nicolae Testemițanu.

- Ch.: S.n., 2023. Tipografia Centrală.....

Medicina - ..... p.

ISBN .....

ISBN .....

**Sponsorii Conferinței Nationale cu participarea Internațională cu  
genericul**

***“Imunodeficiența primară în era screening-ului  
neonatal”***

- **SRL IMUNOTEHNOMED – *Directorul General dr.st.med.  
Sergiu Rata***
- **SRL SANMEDICO – *Director General Vitalie Goreacii***
- **SRL TETIS INTERNATIONAL CO – *Director General Igor  
Perepelita***
- **SRL BOSNALIJEK – *Director General Stela Grama***
- **SRL BIONORICA – *Manager Denis Iațco***

## CUPRINS:

<b>1.EXPANSIUNEA GLOBALĂ DIN PERSPECTIVA LUI JEFFREY: PROGRAMUL DE SECVENȚIERE GENETICĂ AL FUNDAȚIEI JEFFREY MODELL PENTRU IMUNODEFICIENȚA PRIMARĂ .....</b>	<b>9</b>
<b>GLOBAL EXPANSION OF JEFFREY’S INSIGHTS: JEFFREY MODELL FOUNDATION’S GENETIC SEQUENCING PROGRAM FOR PRIMARY IMMUNODEFICIENCY.....</b>	<b>9</b>
<b>    Jessica Quinn<sup>1</sup>, Vicki Modell<sup>1</sup>, Britt Johnson<sup>2</sup>, Sarah Poll<sup>2</sup>, Swaroop Aradhya<sup>2</sup>, Jordan S. Orange<sup>1</sup> and Fred Modell<sup>1*</sup></b>	
<b>2. STUDIU DE CAZ: MUTAȚIE FAS (LEU242PRO) CU PREZENTA LIMFOCITELOR T DUBLU NEGATIVE LA UN PACIENT CARE PREZINTA ALPS (SINDROM LIMFOPROLIFERATIV AUTOIMUN).....</b>	<b>32</b>
<b>CASE REPORT: FAS MUTATION (LEU242PRO) WITH ELEVATED DNT (DOUBLE NEGATIVE T LYMPHOCYTES) IN A PATIENT PRESENTING WITH ALPS (AUTOIMMUNE LYMPHOPROLIFERATIVE SYNDROME).....</b>	<b>32</b>
<b>    Sergiu Padure<sup>1</sup>, Cali Maia Pastor<sup>2</sup>, Angela Ibañez Garcia<sup>3</sup>, Eduardo Lopez Granados<sup>4</sup>, María Bravo García-Morato<sup>4</sup>, Elisabet Matas Pérez<sup>4</sup>, Eduardo Fernández-Cruz Pérez<sup>5</sup></b>	
<b>3. SUSCEPTIBILITATEA MENDELIANĂ LA BOLILE MICOBACTERIENE (MSMD): PROVOCĂRI ACTUALE ÎN DIAGNOSTIC ȘI MANAGEMENT.....</b>	<b>48</b>
<b>MENDELIAN SUSCEPTIBILITY TO MYCOBACTERIAL DISEASES (MSMD): CURRENT CHALLENGES IN DIAGNOSIS AND MANAGEMENT .....</b>	<b>48</b>
<b>    Mahnaz Jamee<sup>1</sup>, Armin Khavandegar<sup>2</sup>, Majid Zaki-Dizaji<sup>3</sup>, Seyed Alireza Mahdavian<sup>4</sup></b>	
<b>4. STAREA REALĂ ȘI PERSPECTIVELE DE DIAGNOSTIC ȘI TRATAMENT AL IMUNODEFICIENȚILOR PRIMARE ÎN REPUBLICA MOLDOVA .....</b>	<b>50</b>
<b>REAL STATUS AND PROSPECTS OF DIAGNOSIS AND TREATMENT OF PRIMARY IMMUNODEFICIENCY IN THE REPUBLIC OF MOLDOVA .....</b>	<b>50</b>
<b>    Lucia Andrieș</b>	
<b>5. BOLI AUTOINFLAMATORII.....</b>	<b>60</b>
<b>AUTOINFLAMMATORY DISEASES.....</b>	<b>60</b>
<b>    Ninel Revenco</b>	
<b>6. DEFICIENȚA DE ADEZIUNE LEUCOCITARĂ (LAD) .....</b>	<b>76</b>
<b>LEUCOCYTE ADHESION DEFICIENCY (LAD).....</b>	<b>76</b>
<b>    Lucia Andries, Doina Barba, Valentina Surdu, Maria Pleșca</b>	
<b>7. SINDROMUL DIGEORGE.....</b>	<b>86</b>
<b>DIGEORGE SYNDROME.....</b>	<b>86</b>
<b>    Turcu Oxana<sup>1,2</sup>, Andries Lucia<sup>1</sup>, Revenco Ninel<sup>1</sup>, Filipenco Maxim<sup>3</sup>, Eremciuc Rodica</b>	
<b>8. BOALĂ GRANULOMATOASĂ CRONICĂ CU DEBUT ÎN PERIOADA NEONATALĂ .....</b>	<b>96</b>
<b>CHRONIC GRANULOMATOUS DISEASE WITH NEONATAL MANIFESTATIONS .....</b>	<b>96</b>
<b>    Dolapciu Elena<sup>1,2</sup>, Andries Lucia<sup>1</sup>, Revenco Ninel<sup>1,2</sup>, Privalova Elena<sup>1</sup>, Stasii Ecaterina<sup>2</sup></b>	

9. DIAGNOSTICUL TARDIV AL IMUNODEFICIENȚEI PRIMARE.....	107
LATE DIAGNOSIS OF PRIMARY IMMUNODEFICIENCY.....	107
Turcu Oxana <sup>1,2</sup> , Andries Lucia <sup>1</sup> , Revenco Ninel <sup>1,2</sup> , Elena Dolapciu <sup>1,2</sup>	
10. AGAMAGLOBULIEMIA X-LINCATĂ ASOCIATĂ CU ARTRITA JUVENILĂ IDIOPATICA X-LINKED AGAMMAGLOBULINEMIA ASSOCIATED WITH JUVENILE IDIOPATHIC ARTHRITIS .....	117
Dolapciu Elena <sup>1,2</sup> , Revenco Ninel <sup>1,2</sup> , Andries Lucia <sup>1</sup> , Foca Silvia <sup>3</sup>	
11. IMUNIZAREA LA PACIENȚII CU ERORI ÎNNĂSCUTE DE IMUNITATE .....	127
IMMUNISATION IN PATIENTS WITH INBORN ERRORS OF IMMUNITY .....	127
Gaidarji Olga <sup>1</sup> , Revenco Ninel <sup>1,2</sup> , Andrieș Lucia <sup>1</sup>	
12. INSTRUMENT ÎN APRECIEREA CUNOȘTINȚELOR ASUPRA IMUNODEFICIENȚELOR PRIMARE A REZIDENȚILOR ȘI MEDICILOR INSTITUȚIILOR MEDICO-SANITARE PUBLICE .....	136
TOOL FOR ASSESSING THE KNOWLEDGE OF PRIMARY IMMUNE DEFICIENCIES OF RESIDENTS AND DOCTORS OF PUBLIC MEDICAL AND SANITARY INSTITUTIONS.....	136
Iacomi Vladimir <sup>1,2</sup> , Vișnevschi Anatolie <sup>1,2</sup> , Dumitraș Tatiana, Rotaru Liliana, Veselovschi Anna, Țurcanu Adela, Bacalîm Liliana, Biniuc D., Revenco Ninel <sup>2</sup> , Andrieș Lucia <sup>1,2</sup>	
13. ABORDĂRI DE PRINCIPIU ÎN DIAGNOSTICUL DE LABORATOR AL MALADIEI GRANULOMATOASE CRONICE .....	147
PRINCIPLE APPROACHES IN THE LABORATORY DIAGNOSIS OF CHRONIC GRANULOMATOUS DISEASE.....	147
Elena Privalova, Veronica Leurda, Ludmila Calistru, Svetlana Capcea, Valentina Surdu, Ana Scripcari, Olga Iarmaliuc, Ana Crijevițchi, Nicolae Calistru	
14. ALERGIA IN IMUNODEFICIENȚELE PRIMARE – CONSECINȚA SAU COMORBIDITATE .....	158
ALLERGY IN PRIMARY IMMUNODEFICIENCY - CONSEQUENCE OR COMORBIDITY .	158
Alina Murgu	
15. INVOLUȚIA TIMICĂ ȘI FENOMENUL DE REBOUND AL GLANDEI TIMUS .....	160
MENDELIAN SUSCEPTIBILITY TO MYCOBACTERIAL DISEASES (MSMD): CURRENT CHALLENGES IN DIAGNOSIS AND MANAGEMENT .....	160
Turcanu Tamara	
16. TESTAREA MOLECULAR-GENETICĂ ÎN SUSȚINEREA DIAGNOSTICULUI CLINIC DE IMUNODEFICIENȚĂ PRIMARĂ .....	Ошибка! Залка не определена.
MOLECULAR-GENETIC TESTING IN SUPPORT OF THE CLINICAL DIAGNOSIS OF PRIMARY IMMUNODEFICIENCY .....	Ошибка! Залка не определена.
Andrieș Lucia, Revenco Ninel, Dolapciu Elena, Tănase Daniel, Barba Doina, Leurda Veronica	
17. COPILUL FRECVENT BOLNAV VERSUS COPILUL CU IMUNODEFICIENȚE PRIMARE – COMORBIDITĂȚI SAU CONSECINȚE .....	166
THE FREQUENTLY SICK CHILD versus THE CHILD WITH PRIMARY IMMUNODEFICIENCY – COMORBIDITIES OR CONSEQUENCES .....	166
Iliev Albina- Mihaela <sup>1</sup> , Donos Ala <sup>2</sup>	



## **ARTICOLE ȘI REZUMATE**

**Responsabilitatea privitor la conținutul  
publicațiilor aparține autorilor**



**EXPANSIUNEA GLOBALĂ DIN  
PERSPECTIVA LUI JEFFREY:  
PROGRAMUL DE SECVENȚIERE  
GENETICĂ AL FUNDAȚIEI  
JEFFREY MODELL PENTRU  
IMUNODEFICIENȚA PRIMARĂ**

**GLOBAL EXPANSION OF  
JEFFREY'S INSIGHTS: JEFFREY  
MODELL FOUNDATION'S  
GENETIC SEQUENCING  
PROGRAM FOR PRIMARY  
IMMUNODEFICIENCY**

**Jessica Quinn<sup>1</sup>, Vicki Modell<sup>1</sup>, Britt Johnson<sup>2</sup>, Sarah Poll<sup>2</sup>, Swaroop Aradhya<sup>2</sup>, Jordan S. Orange<sup>1</sup> and Fred Modell<sup>1\*</sup>**

**<sup>1</sup> Jeffrey Modell Foundation, New York, NY, United States, <sup>2</sup> Invitae, San Francisco, CA, United States**

**Jessica Quinn<sup>1</sup>, Vicki Modell<sup>1</sup>, Britt Johnson<sup>2</sup>, Sarah Poll<sup>2</sup>, Swaroop Aradhya<sup>2</sup>, Jordan S. Orange<sup>1</sup> and Fred Modell<sup>1\*</sup>**

**<sup>1</sup> Jeffrey Modell Foundation, New York, NY, United States, <sup>2</sup> Invitae, San Francisco, CA, United States**

**REZUMAT**

Dereglările genetice care afectează sistemul imunitar, cunoscute și sub numele de imunodeficiențe primare (IDP), includ peste 450 de erori genice înnăscute ale imunității.

Diagnosticul precoce și tratamentul adecvat sunt vitale pentru calitatea vieții (QOL) și deseori pentru supraviețuire, deoarece acești pacienți sunt susceptibili față de infecții frecvente, persistente, severe care pot pune viața în pericol sau determina evoluția spre autoimunitate.

Pacienții suspectați de IDP care nu au un diagnostic genetic sunt sortiți adesea să treacă o lungă experiență de testări împovărătoare, ineficiente și costisitoare, cunoscute sub numele de "diagnostic odyssey" (călătoria diagnostică). Diagnosticul tardiv rezultă în imposibilitatea unei gestionări adecvate a bolii și un răspuns deficitar la tratament, din care rezultă complicații precoce și scăderea QOL. Secvențierea de nouă generație (NGS) reduce timpul de confirmare a diagnosticului, dar costurile înalte și alte diferite bariere determină accesibilitatea redusă a acestei tehnici. Fundația Jeffrey Modell (JMF) a introdus în ianuarie 2019 un program pilot de secvențiere genetică fără taxă "Jeffrey's Insights" pentru pacienții suspecti de IDP din cadrul rețelei de centre Jeffrey Modell (JMCN), dar fără un diagnostic genetic. Succesul programului pilot a impulsionat determinat JMF să se extindă la nivel global în

**ABSTRACT**

Genetic disorders that impair the immune system, known as Primary Immunodeficiencies (PI), include over 450 single-gene inborn errors of immunity. Timely and appropriate diagnosis and treatment is vital to quality of life (QOL) and sometimes survival, as patients are susceptible to frequent, persistent, severe, and sometimes life-threatening infections or autoimmunity. Suspected PI patients that do not have a genetic diagnosis often endure a prolonged, onerous, inefficient, and expensive experience, known as a diagnostic odyssey. The resulting diagnostic delay prohibits proper disease management and treatment, causing unnecessary distress and diminished QOL. Next-generation sequencing (NGS) offers relief from the distress of the diagnostic odyssey, but because of cost and barriers to access, it is regularly unobtainable. The Jeffrey Modell Foundation (JMF) introduced "Jeffrey's Insights", a no-charge genetic sequencing pilot program, in January 2019 for patients within the Jeffrey Modell Centers Network (JMCN) with an underlying PI, but no genetic diagnosis. Building on the success of the pilot program, JMF expanded it globally to more than 400 Centers in the JMCN in early 2020. The most current version of Invitae's PI Panel available was used for this program. All participating clinicians were invited to complete a brief questionnaire assessing prior

peste 400 de centre din JMCN la începutul anului 2020. Pentru acest program a fost folosită versiunea actuală a panoului pentru IDP al Invitae. Toți clinicienii participanți au fost invitați să completeze un scurt chestionar de evaluare a impedimentelor vizând managementul și tratamentul bolii la etapa de post-secvențiere. A fost testat un număr total de 1.398 de pacienți, 20,3% dintre care au beneficiat de un diagnostic molecular, iar pentru mulți alții s-au oferit indicatori utili de diagnostic. Rezultatele furnizate de secvențierea genetică au modificat favorabil formula de diagnostic clinic, management, tratament și consiliere genetică pentru 39%, 38%, 35% și 53% dintre pacienții vizati. Extinderea globală a acestui program subliniază importanța esențială a NGS pentru IDP, dar și cost-eficiența acestuia. Rezultatele de până acum ale acestui program definesc rațiunea NGS pentru diagnosticul pacienților cu IDP la momentul când ajung să fie evaluați de specialistul imunolog.

## INTRODUCERE

Deficiențele genetice care afectează sistemul imunitar, cunoscute ca imunodeficiențe primare (IDP), includ peste 450 erori genice înăscute ale imunității (EÎI) (1-4). Diagnosticul lor extemporaneu și tratamentul adecvat sunt vitale pentru calitatea vieții (QOL) și deseori pentru supraviețuire, acești pacienți fiind susceptibili de infecții frecvente, persistente, severe care pot pune viața în pericol sau instigă fenomenul de autoimunitate (1, 5-8). Se anunță că IDP ar putea viza până la 1% din populație, cifră mult peste estimările anterioare (2, 9, 10). Cunoașterea sistemului imunitar s-a amplificat de-a lungul anilor, au crescut și indicii de calitate a vieții pacienților cu IDP, desigur în acord cu progresele atinse în secvențierea de nouă generație (NGS), inclusiv panourile multi-gene și secvențierea deplină a exonului (SE), diagnosticul molecular și metodele de tratament reformulate în consonanță cu aceste realizări (4, 11-15). În prezent se resimte necesitatea urgență a gestionării oportune și standardizate a acestor condiții (16, 17), deoarece pacienții

impediments to access and post-sequencing alterations in disease management and treatment. A total of 1,398 patients were tested, with 20.3% receiving a molecular diagnosis and many more receiving helpful diagnostic leads. Results obtained from genetic sequencing led to an alteration of clinical diagnosis, disease management, treatment, and genetic counseling in 39%, 38%, 35%, and 53% of patients, respectively. The global expansion of this program further underscores the crucial need for NGS for PI, along with its efficiency and potential cost savings. The results of this program to date further define rationale for the availability of comprehensive diagnostic NGS for patients with PI when requisitioned by an expert immunologist.

## INTRODUCTION

Genetic disorders that impair the immune system, known as Primary Immunodeficiencies (PI), include over 450 single-gene inborn errors of immunity (IEI) (1-4). Timely and appropriate diagnosis and treatment is vital to a patient's quality of life (QOL) and sometimes their survival, as they are susceptible to frequent, persistent, severe, and sometimes life-threatening infections or autoimmunity (1, 5-8). Up to 1% of the population may have a PI; more than previous estimates (2, 9, 10).

Understanding of the immune system has improved markedly over the years, as has QOL for PI patients, in concert with advancement in next-generation sequencing (NGS) including multi-gene panels and whole-exome sequencing (ES), molecular diagnosis, and novel treatments (4, 11-15). Still, there is an urgent need for timely and enhanced management of these conditions (16, 17). Suspected PI patients that do not have a genetic diagnosis often endure frequent, costly, and unhelpful specialist visits and testing, known as a diagnostic odyssey (18). The resulting diagnostic delay has the

suspecți de IDP și care încă nu au un diagnostic genetic confirmativ, au de trecut calvarul vizitelor frecvente soldate cu teste specializate, costisitoare și inutile denumit disea diagnostică (18). Diagnosticul tardiv are potențialul de a interfera cu gestionarea adecvată și tratamentul a bolii, provocând suferință inutilă, scăderea QOL și uneori decesul. Perioada îndelungată de confirmare a diagnosticului înseamnă nu doar cheltuieli substanțiale pentru pacienți, ci și pentru tot sistemul de sănătate.

În multe cazuri, NGS poate finaliza această odisee de diagnosticare, prin secvențierea cost-eficientă a ADN-ului. Panourile NGS disponibile la moment acoperă majoritatea genelor care generează IDP și astfel este facilitată precizia diagnostică, deoarece diferite forme nozologice de IDP prezintă suprapuneri de semne clinice. S-a demonstrat astfel că NGS poate accelera și eficientiza diagnosticul pacientului și managementul bolii.

O revizuire sistemică a studiilor care utilizează NGS pentru IDP a constatat că mediana ratei de diagnostic molecular ar fi de 25%, cu variații între 15 și 46% (19). De exemplu într-un studiu, diagnosticul bolii și managementul clinic au fost modificate la 55-25% dintre pacienții după obținerea rezultatelor de secvențiere (11). În temeiul acestor evidențe, rapoartele recente plasează NGS ca fiind o componentă esențială a managementului adoptat pentru majoritatea persoanelor cu suspiciunea de IDP și îngrijirile clinice următoare. De consemnat că aplicarea timpurie a metodei maximizează beneficiile pentru pacient, finalizând efectiv pelerinajul lor de diagnostic, dar oferă și beneficii semnificative pentru sistemele de sănătate. Bariere împovărătoare, cum ar fi costul, asigurarea, accesul și interpretarea, totuși, interferează cu obținerea acestora resurse benefice în multe cazuri (20). A fost sugerat că companiile de asigurareătorii neagă testarea genetică mai frecvent decât oricare altul test clinic, multe dintre ele necesitând trimiterea unui genetician, indiferent de calificarea imunologului care solicită testarea (20).

potential to interfere with proper disease management and treatment, causing unnecessary distress, diminished QOL, and sometimes death. The diagnostic odyssey also can result in a substantial expense not only to the patients, but also to the health care system. In many cases, NGS can offer the end of a diagnostic odyssey, through cost-efficient DNA sequencing. Available NGS panels cover a majority of genes causing PI and facilitate precision diagnosis, as various PIs present with overlapping clinical presentations. Furthermore, NGS has been demonstrated to influence or change patient diagnosis and disease management. A systematic review of studies utilizing NGS for PI found the median molecular diagnostic rate to be 25%, with a range of 15-46% (19). In one study, clinical diagnosis and clinical management were altered in 55% and 25% of patients with sequencing findings (11). Based upon this and other recent data for many individuals with a suspected PI, NGS is a crucial component of their clinical care. Importantly, early application not only maximizes benefits to the patient through potentially ending their diagnostic odyssey, but also provides increased value to health care systems.

Burdensome barriers such as cost, insurance, access, and interpretation, however, interfere with obtaining these beneficial resources in many cases (20). It has been suggested that insurers deny genetic testing more frequently than any other clinical test, with many requiring a geneticist referral, regardless of the expertise or qualifications of the ordering immunologist to determine the need for testing (20). These barriers result in suspected PI patients that have not been evaluated for genetic etiologies and remain within a diagnostic odyssey and risk excessive expense and anguish in pursuit of a diagnosis.

## **METHODS**

### **Jeffrey Modell Centers Network**

For more than two decades, the Jeffrey Modell Centers Network (JMCN), a global network of specialized centers founded and established by the Jeffrey Modell Foundation (JMF), has

Aceste bariere au ca rezultat pacienți suspecți cu IDP care nu au fost evaluați pentru cauză genetică și rămân în odisea diagnostică și riscă cheltuieli excesive și frustrări în căutarea unui diagnostic.

## **METODE**

### **Rețeaua de centre Jeffrey Modell**

De mai bine de două decenii, Jeffrey Modell Centers Network (JMCN), o rețea globală de centre specializate fondată și dezvoltată de Jeffrey Modell Foundation (JMF), a oferit o platformă necesară pentru a optimiza progresele cercetării, diagnosticului, terapiei și conectivității. Rețeaua se extinde în mod constant și include în prezent 915 medici experți din 402 instituții, în 318 orașe și 87 de țări de pe șase continente. Aproximativ o treime sau 120 dintre centrele din rețea sunt în SUA, iar 282 – în afara SUA. Lista de medici experți din JMCN este partajată, cu permisiunea acestora, pe site-ul JMF prin intermediul instrumentului “Find an Expert” („Găsiți un expert”), care poate fi accesat pe link-ul la <http://info4pi.org/information-booth/find-an-expert>. Peste 258.000 de pacienți sunt monitorizați în rețea, 50% dintre care nu au emis un diagnostic genetic (21). Prin valorificarea expertizei JMCN poate fi atins avantajul unic de mare probabilitate pentru diagnosticul genetic de IDP pentru un anumit pacient. JMCN oferă accesul direct și coordonat al clinicienilor experți care monitorizează un număr mare de indivizi cu un diagnostic clinic, dar care nu au o confirmare genetică, permițându-ne să conectăm acei pacienți la testări genetice diagnostice valoroase. Demonstrăm, prin utilizarea JMCN, indicele clinic de suspiciune al unui expert imunolog care ar trebui să justifice aplicarea NGS pentru diagnosticul IDP.

### **Studiul Pilot**

JMF a inițiat în ianuarie 2019 un program pilot pentru a oferi imunologilor clinici secvențiere genetică aplicată gratuit persoanelor cu IDP diagnosticată clinic (22).

provided a platform needed to optimize research advances, diagnosis, treatments, and connectivity. The network is constantly expanding, but currently includes 915 expert physicians, at 402 institutions, in 318 cities, and 87 countries across six continents. About a third, or 120, of the centers in the network are in the US, with 282 OUS. A list of expert physicians in the JMCN is shared, with permission, on JMF’s website through the “Find an Expert” tool, which can be accessed at <http://info4pi.org/information-booth/find-an-expert>. More than 258,000 patients are followed in the network, over 50% of which do not have a genetic diagnosis (21).

By leveraging the expertise of the JMCN, the unique advantage of high pre-test probability for a genetic diagnosis of PI for a given patient can be achieved. The JMCN offers direct coordinated access to expert clinicians who support a large number of individuals with a clinical diagnosis, but not yet having genetic confirmation, allowing us to connect those patients to valuable genetic diagnostics. We demonstrate, through the utilization of the JMCN, that an expert immunologist’s clinical index of suspicion alone should warrant application of NGS for PI diagnosis.

### **The Pilot**

JMF initiated a pilot program to provide clinical immunologists no-charge genetic sequencing to apply to individuals with a clinically diagnosed underlying PI in January 2019 (22). The program aimed to detect a genetic cause of disease, providing a molecular diagnosis to optimize management and treatment. Utilizing the unique JMCN, we hypothesized that immunologists having a high pre-test probability would thereby identify those patients who most needed tests, and through this, aimed to establish the value and utility of NGS for PI, essentially by putting the right tools in the right hands.

We invited 21 JMCN sites in 10 countries to participate. One hundred fifty-eight patients were tested, and 28 (21%) received a molecular diagnosis. It was reported by those in the pilot that cost was a major barrier in seeking genetic testing for these patients.

Programul urmărește detectarea cauzei genetice a bolii, oferind formula unui diagnostic molecular pentru a optimiza managementul și tratamentul acesteia. Am emis ipoteza că imunologii care apelează la JMCN au toate șansele să identifice pacienții care au cea mai mare nevoie de testare și, prin aceasta, valoarea și utilitatea NGS pentru IDP fiind în esență instrumentul potrivit în mâinile potrivite. Am invitat să participe 21 de centre JMCN din 10 țări. O sută cincizeci și opt de pacienți au fost testați, iar 28 (21%) au primit a diagnostic molecular. Participanții la programul pilot au raportat costul ca fiind o barieră majoră în realizarea testării genetice pentru acești pacienți. În urma rezultatelor de secvențiere genetică diagnosticul clinic, managementul bolii, tratamentul și consilierea genetică au fost revăzute într-un număr substanțial, în multe cazuri chiar și în absența unui diagnostic molecular disponibil. Important este că pentru aproape jumătate s-a modificat maniera de abordare și la aproape toți pacienții astfel diagnosticați s-a reconsiderat terapia aplicată (22).

### **Programul Global**

La începutul anului 2020, datorită succesului programului pilot, JMF a extins programul de secvențiere genetică, „Jeffrey’s Insights” la nivel global, aplicat acum în toate centrele din rețeaua JMCN. Programul este o opțiune gratuită pentru pacienți, medici, spitale, companii de asigurări sau agenții guvernamentale. Prin extinderea acestui program, care este încă în proces de derulare, încercăm să evaluăm în continuare valoarea și eficiența clinică a NGS pentru PID, inclusiv ca examen de pretestare asociată. Obiectivele suplimentare includ revederea formulei de diagnostic clinic și de management curativ după secvențierea genetică, prin intermediul JMCN fiind stabilite și colaborări între experții și imunologi. Având în vedere rezultatele programului pilot și avantajul capacității experților JMCN în identificarea superioară a

Clinical diagnosis, disease management, treatment, and genetic counseling were altered in a substantial number of patients due to the genetic sequencing results obtained, in many cases even in the absence of receiving a molecular diagnosis. Importantly, there was a change in outcomes and an applicable therapy for nearly half and nearly all of the diagnosed patients, respectively (22).

### **The Global Program**

In early 2020, building on the success of the pilot program, JMF expanded access to the genetic sequencing program, “Jeffrey’s Insights”, globally to all centers in the JMCN. The program is still being offered with no charge to patients, physicians, hospitals, insurance companies, or government agencies. Through the expansion of this program, which is still ongoing, we seek to further establish the value and clinical efficiency of NGS for PI, utilizing the distinctive JMCN and the associated high pre-test probability. Additional goals include establishing the clinical diagnosis alteration rate and change in disease management due to the genetic sequencing results, outcomes facilitated via the JMCN and established connections with its expert immunologists.

Considering the outcomes of the pilot and the advantage of harnessing the JMCN’s experts’ ability to determine the most suitable patients, we anticipated that the molecular diagnostic rate from the global expansion of this program would remain in the range of 15-46%, as previously reported (19). We posit that the high clinical index of suspicion from an expert immunologist translates to high pre-test probability and will result in high diagnosis rates without additional tests, requirements, or justifications. Based upon the pilot, we predicted the rate of disease management alteration would be 25% and that revision of diagnosis would also continue to occur at a meaningful rate.

Modification of diagnosis and management has not only potential for improved patient

pacienților eligibili, am anticipat că prin extinderea globală a acestui program, rata diagnosticului molecular s-ar încadra în intervalul de 15-46%, așa precum s-a raportat anterior (19). Noi postulăm că indicele înalt de suspiciune clinică emisă de un expert imunolog anunță o probabilitate ridicată înainte de testare și va duce la rate elevate de diagnosticare fără teste, cerințe sau justificări suplimentare. În baza programului pilot am anticipat cum că rata de ameliorare a managementului clinic ar fi de 25%, ar crește în ritm semnificativ și calitatea diagnosticului.

Remanierea aduse diagnosticului și managementului determină nu doar o evoluție favorabilă pentru pacient, dar pot oferi și economii de cost pe termen scurt și lung. Ne-am propus să valorificăm eficacitatea NGS pentru IDP din punctul de vedere al serviciilor de sănătate, să furnizăm raționamentul unui diagnostic NGS extins pentru IDP și să oferim suport real pentru accesul la NGS când aceasta este justificată. Am pornit de la ipoteza că acest program va ajuta la clasificarea NGS ca și intervenție primară atunci când specialistul imunolog are o suspiciune clinică vagă de IDP de cauză genetică. În ianuarie 2020, întreaga rețea JMCN, aproximativ 400 de centre, a fost invitată să participe la extinderea globală a programului care să includă pacienții cu cele mai multe șanse de pretestare. Ne-am bazat pe judecata specialiștilor imunologi cu privire la pacienții eligibili, fără a cere criterii specifice sau argumentări suplimentare. Pentru a solicita testarea un clinician participant al programului JMCN se va porni de la prezența uneia sau mai multora dintre următoarele indicații clinice: (i) diagnostic clinic de IDP confirmat, fără diagnostic genetic, (ii) screening neonatal sugestiv pentru IDP, dar fără un diagnostic stabilit genetic, (iii) diagnostic clinic IDP suspectă, conform celor 10 semne sugestive pentru IDP ale JMF (<http://www.info4pi.org/library/educational-materials/10-warning-signs>). Criteriile de eligibilitate a pacientului au fost în concordanță cu cele anterior descrise pentru programul pilot (22).

outcomes but can provide considerable short- and long-term cost savings.

We sought to also estimate the value and efficiency of NGS for PI from a health services standpoint, provide reasoning behind the need for extensive NGS diagnostics for PI, and provide support for increased access to NGS when warranted. We hypothesized that this program will help classify NGS as the primary intervention when a high clinical index of suspicion of a genetic PI by an expert immunologist exists.

In January 2020, the entire JMCN, approximately 400 sites, were invited to participate in the program's global expansion and include their highest pre-test probability patients. We relied on the judgment of the expert immunologists as to which patients to include, with no specific criteria or additional justification applied or needed. For tests ordered by a participating clinician in the JMCN, one or more of the following clinical indications was suggested: (i) confirmed clinical diagnosis of PI without established genetic diagnosis, (ii) newborn screen suggestive of PI without established genetic diagnosis, (iii) suspected clinical diagnosis of PI, as per JMF's 10 Warning Signs of PI (<http://www.info4pi.org/library/educational-materials/10-warning-signs>).

Patient eligibility criteria were consistent with that previously described for the pilot program (22).

JMF partnered with Invitae to perform clinical NGS testing.

Invitae is a fully certified clinical diagnostic laboratory which performs full-gene sequencing and intragenic deletion-duplication analysis using NGS technology. Invitae's Primary Immunodeficiency Panel was used for this program, which included 207 genes until September 2020, when it was expanded to include 407 genes. A list of the genes included on each of these panels can be found in Supplementary Tables 2, 3. A detailed description of testing services has been previously described (22, 23). Variant interpretation was conducted in adherence with an expansion of the American College of

JMF a colaborat cu Invitae pentru a efectua testarea NGS. Invitae este un laborator de diagnostic clinic complet certificat, care efectuează secvențierea completă a genelor și duplicarea deleției intragenice utilizând tehnologia NGS. Pentru acest program a fost utilizat panoul de imunodeficiență primară al Invitae, care a inclus 207 gene până în septembrie 2020, când a fost extins pentru a include 407 gene. Lista genelor incluse în fiecare dintre aceste panouri poate fi găsit în tabelele suplimentare 2, 3. O descriere detaliată a serviciilor de testare a fost descrisă anterior (22, 23). Interpretarea variantelor s-a efectuat în conformitate cu o variantă extinsă a Ghidului Colegiului American de genetică medicală (24). Rezultatele au fost prezentate în conformitatea următoarelor clasamente de variante: variante patogene sau probabil patogene (P/LP), incerte (variante cu semnificație incertă –VSI) și negative (nu au fost identificate variante raportabile). Alelele cu risc crescut (variante comune asociate cu un risc crescut de apariție a unei tulburări, dar nu și a unui diagnostic) sunt larg răspândite în populația generală și, prin urmare, au fost excluse din analiză. Rezultatele cu variante patogene și probabil patogene au fost clasificate în continuare conform relevanței lor clinice (stare de purtător, diagnostic molecular, Tabelul 1). Variantele de diagnostic molecular confirmat și probabil au fost grupate împreună și sunt denumite „diagnostic molecular”.

Protocolul programului, inclusiv detaliile colectării probelor, consimțământul, testarea NGS, timpul de realizare, raportarea și testarea variantelor de familie, a fost unul concordant cu cel anterior descris pentru programul pilot (22). Un chestionar actualizat a fost distribuit tuturor clinicienilor participanți instrument prin care s-au solicitat informații de identificare a provocărilor de acces și despre modificările operate în managementul bolii și tratamentul oricărui individ testat (Figura suplimentară 1). Aceasta informație a fost acumulată pentru a înțelege mai bine valoarea și impactul final al testării NGS pentru pacienții suspecți de IDP.

Medical Genetics guidelines (24). Results were presented by the following variant classifications: pathogenic or likely pathogenic (P/LP) variants identified, uncertain (variants of uncertain significance - VUS- identified), and negative (no reportable variants identified). Increased risk alleles (common variants associated with an elevated risk of a disorder, but not a diagnosis) are widespread in the general population and so were excluded from the analysis. Results with pathogenic and likely pathogenic variants were further classified by their clinical relevance (i.e. carrier status, molecular diagnosis, Table 1). Confirmed and likely molecular diagnoses were grouped together and are referred to as a “molecular diagnosis”. Program protocol, including details related to specimen collection, consent, NGS testing, turn-around time, reporting, and Family Variant Testing, was consistent with that previously described for the pilot program (22). An updated questionnaire was distributed to all participating clinicians requesting de-identified information to assess access challenges and alterations in disease management and treatment for any individual tested (Supplementary Figure 1). This information was sought to better understand the value and ultimate impact of NGS testing for suspected PI patients.

## RESULTS

### Geographic Reach

From January 2019 to August 2021, a total of 173 unique ordering clinicians have participated in this program, from 121 institutions in 98 cities within 45 countries. The global distribution can be seen in Figure 1A, and the distribution in the US can be seen in Figure 1B.

### Genetic Testing

A total of 1,398 unrelated patients and 27 family members have been tested through this program. Of these patients, 561 were tested using the 207 gene panel, while 838 were tested using the 407 gene panel after it was implemented in September 2020. There were 6,343 unique reportable variants (pathogenic,



## REZULTATE

### Aria geografică

Din ianuarie 2019 până în august 2021, un total de 173 clinicieni unici ordonatori au participat la acest program, din 121 instituții din 98 de orașe din 45 de țări. Distribuția globală poate fi vizualizată în Figura 1A, iar distribuția în SUA – în Figura 1B.

### Testare genetică

Un total de 1 398 pacienți neînrușiți și 27 de membri ai familiilor au fost testați în cadrul acestui program. Dintre acești pacienți, 561 au fost testați folosind panoul de 207 gene, în timp ce 838 au fost testați folosind panoul de 407 gene după ce acesta a fost implementat în septembrie 2020.

Au existat 6 343 de variante unice raportabile (patogene, probabil patogene sau VSI) identificate și 7 524 variante identificate raportabile ne-unice, întrucât unele variante au fost identificate la pacienți multipli. Cel puțin o variantă genetică raportabilă a fost găsită în la 1 373 de pacienți (98,2%). Un total de 455 de variante unice P/LP și 667 de variante non-unice P/LP au fost identificate la 493 pacienți. Din cele 667 de variante non-unice P/LP identificate, 68 (10,2%) au fost numărul de copii a variantelor P/LP (CNV). De remarcat, 49 (72%) dintre acestea 68 P/LP CNV-uri erau subgenice și ar fi ratate de testările tradiționale. Tabelul 2 prezintă toate variantele identificate de către Uniunea Internațională a Societăților Imunologice (IUIS) (2, 3). În ciuda indicațiilor largi pentru testarea genetică, 65 de pacienți au fost suspectați că au sau au fost diagnosticați cu imunodeficiența variabilă comună (CVID), care este de obicei multifactorială și mai rar are o cauză monogenică (25). Au fost doar patru pacienți cu CVID suspect care au primit un diagnostic molecular (CTLA4, SH2D1A, NFKB1, LRBA) și un pacient a fost identificat ca fiind purtător heterozigot al unei mutații patogene TACI, care nu este un diagnostic în sine, dar este considerat un factor de risc pentru CVID. Un total de 1.333 de pacienți au

likely pathogenic, or VUS) identified, and 7,524 non-unique reportable variants identified, as some variants were identified in multiple patients. At least one reportable genetic variant was found in 1,373 patients (98.2%). A total of 455 unique P/LP variants and 667 non-unique P/LP variants were identified in 493 patients. Of the 667 non-unique P/LP variants identified, 68 (10.2%) were P/LP copy number variants (CNV). To note, 49 (72%) of these 68 P/LP CNVs were sub-genic and would be missed by traditional microarrays. Table 2 shows all identified variants by the International Union of Immunological Societies (IUIS) category (2, 3).

Despite broad indications for genetic testing, 65 patients were suspected to have or were diagnosed with common variable immunodeficiency (CVID), which is usually multifactorial and less frequently due to a monogenic cause (25). Only four patients suspected to have CVID received a molecular diagnosis (CTLA4, SH2D1A, NFKB1, LRBA), and one patient was identified as a heterozygous carrier of a TACI pathogenic mutation, which is not diagnostic alone, but is considered a risk factor for CVID. A total of 1,333 patients received genetic testing for suspected monogenic disorders, excluding the CVID patients, and 271 (20.3%) received a molecular diagnosis (Figure 2). Additionally, 204 patients (15.3%) were found to be carriers of AR or XL conditions. Importantly, four patients had dual diagnoses with glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) deficiency: X-linked SCID (IL2RG), C6 deficiency (C6), IPEX syndrome (FOXP3), DiGeorge syndrome (TBX1). The diagnostic yield was not significantly different between individuals tested on the 207 gene panel (19.6%) and individuals tested on the 407 gene panel (20.8%;  $c2$  p-value = 0.3085). Geographically, diagnostic yield varied by region, with 35.8%, 29.6%, and 26.1% of patients receiving a molecular diagnosis in Asia, the Middle East or Africa, and Latin America, respectively (Figure 3). Europe had a diagnostic yield of 13.9% and the US and Canada had a combined



beneficiat de teste genetice pentru tulburări monogenice suspectate, cu excepția pacienților cu CVID, iar 271 (20,3%) au primit un diagnostic molecular (figura 2). În plus, s-a constatat că 204 pacienți (15,3%) erau purtători de AR sau de afecțiuni XL. Este important de menționat că patru pacienți au avut un diagnostic dublu cu deficit de glucoză-6-fosfat dehidrogenază (G6PD): SCID legat de X (IL2RG), deficiență C6 (C6), sindrom IPEX (FOXP3), sindrom DiGeorge (TBX1). Randamentul de diagnosticare nu a fost semnificativ diferit între indivizii testați cu ajutorul panoului de 207 gene (19,6 %) și indivizii testați cu ajutorul panoului de 407 gene (20,8 %;  $p = 0,3085$ ).

Geografic, rata diagnosticului a variat în funcție de regiune - în Orientul Mijlociu, Africa și America Latină 35,8%, 29,6% și, respectiv, 26,1% din pacienți au beneficiat de diagnostic molecular (Figura 3). Europa a prezentat o rată de diagnostic de 13,9%, iar SUA și Canada a avut o rată diagnostică sumară - 11%. Din cei 27 membri ai familiilor cercetate doi au primit un diagnostic molecular, iar șase aveau statut de purtător. Tabelul 1 prezintă diagnosticile moleculare atribuite conform variantelor patogene cunoscute și în funcție de gena inculpată conform Clasificării IUIS a comitetului de experți IEI.

Vârsta persoanelor testate a variat între 0-87 de ani cu o medie de 12,2 ani. 81% dintre cei care au primit diagnosticul molecular erau de vârstă pediatrică (mediana de vârstă - 8,7 ani). Copiii cu vârsta între 0-5 ani au avut cea mai înaltă rată de diagnostic molecular - de 25%. În grupul 6-17 ani s-a emis diagnostic molecular la 17% comparativ cu 13% la pacienții de 18 ani și peste. Aceste date sunt afișate în Tabelul 3.

### **Chestionarul JMF**

Clinicienii participanți au fost invitați să completeze un chestionar pentru a obține o perspectivă suplimentară asupra managementului și accesului pacientului înainte de NGS și modificarea acestor

diagnostic yield of 11%. Of the 27 family members that were tested, two received a molecular diagnosis and six received carrier results. Supplementary Table 1 displays the molecular diagnoses attributed to known pathogenic variants categorized by gene per the IUIS Expert Committee classification of IEI.

The age of all individuals tested ranged from 0-87 years with an average of 12.2 years. Of those receiving a molecular diagnosis, 81% were tested during the pediatric period, with an average age of 8.7 years. Children aged 0-5 years had the highest diagnostic yield, with a 25% molecular diagnostic rate. In those 6-17 years old, 17% received a molecular diagnosis compared to 13% in patients 18 and older. This data is displayed in Table 3.

### **The JMF Questionnaire**

Participating clinicians were invited to complete a questionnaire to acquire additional insight into patient care and access before NGS and alterations to disease management and treatment after NGS (Supplementary Figure 1). Questionnaires were received for a total of 708 (50.6%) of the 1,398 participating patients.

Participating physicians reported that prior to NGS testing, patients visited a health care provider 7.68 times on average in the previous 12 months. It was also reported that in the previous 12 months, 59%, 47%, and 18% of patients had been admitted to the hospital, visited the emergency room, and been admitted to the ICU at least once, respectively. Notably, there were some patients with multiple admissions. Of the participating patients, 14% reportedly did not seek care and 73% did not seek NGS testing due to cost. Access to NGS testing was reported as an obstacle for 67% of the patients. Before genetic sequencing, the average annual estimated cost of care was \$115,138. Only approximately 15% of patients were reported to have insurance coverage for genetic testing. Clinicians reported having a suspicion of a specific diagnosis 75% of the time, but ended

parametri după diagnosticul operat prin NGS (Figura suplimentară 1). Au fost distribuite chestionare pentru 708 (50,6%) din totalul celor 1 398 de pacienți participanți.

Medicii participanți au raportat că înainte de testarea NGS, pacienții ar fi vizitat servicii de asistență medicală în mediu de 7,68 ori în ultimele 12 luni. S-a mai raportat că în 12 luni precedente anchetei au fost internați cel puțin o dată la spital, s-au adresat la un departament de urgență sau au fost internați în secția terapie intensivă 59%, 47% și, respectiv, 18% dintre aceștia. Au fost și câțiva pacienți cu internări repetate. 14% dintre pacienții participanți nu au solicitat îngrijiri medicale, iar 73% nu au decis testarea NGS din cauza costului. Accesul la testarea NGS a fost raportat ca fiind un obstacol pentru 67% dintre pacienți. Înainte de testul de secvențiere genetică, costul mediu anual estimat al îngrijirilor necesare era de 115 138 USD. Doar aproximativ 15% dintre pacienți au raportat că au acoperire din asigurare pentru testarea genetică. Clinicienii au raportat că au suspiciunea unui diagnostic specific în 75% din cazuri, dar au ajuns să-și modifice diagnosticul suspectat în 39% cazuri, în baza rezultatelor testării NGS. Per total, după testarea NGS, indiferent dacă diagnosticul molecular a fost sau nu definitiv, diagnosticul clinic, managementul bolii, tratamentul și consilierea genetică au fost modificate pentru 39%, 38%, 35% și, respectiv, 53% dintre pacienți (Figura 4). În cazul a 21% din pacienții participanți s-au identificat membri ai familiei cu risc sau cu afecțiuni prezente. S-a raportat că a existat o terapie relevantă pentru 53% pacienți. În mod remarcabil, 32% dintre pacienți au urmat o evoluție diferită după emiterea rezultatelor testării NGS.

### **Costurile de îngrijire**

Compararea competențelor economice anterioare ale JMF în domeniul asistenței medicale pentru IDP (21, 26), costurile fiind estimate în dolari americani, s-a axat pe condiții care afectează frecvent pacienții cu IDP (Tabelul 4) (27-31). Din cele notate în Chestionarul JMF deducem că diagnosticul

up altering their suspected diagnosis 39% of the time, based on the results of NGS testing. Overall, after NGS testing, whether or not a definitive molecular diagnosis was received, clinical diagnosis, disease management, treatment, and genetic counseling were altered in 39%, 38%, 35%, and 53% of patients, respectively (Figure 4). For 21% of participating patients, at-risk or affected family members were found. It was reported that there was a relevant therapy for 53% of the patients. Remarkably, 32% of patients reportedly had a change in outcomes based on the results of NGS testing.

### **Costs of Care**

Leveraging JMF's previous economic proficiency in health care for PI (21, 26), estimated US dollar values were assigned to conditions that frequently affect patients with PI (Table 4) (27-31). As the JMF Questionnaire demonstrates, timely and accurate diagnosis, disease management, and treatment, made possible through NGS testing, could result in improved outcomes and a substantial reduction in the number of episodes of these conditions, as well as the associated costs.

### **DISCUSSION**

It is known that patients with a presumed PI, but no genetic diagnosis, often endure a long, onerous, inefficient, and expensive diagnostic odyssey that can delay or prevent accurate diagnosis, disease management, and treatment, leading to unnecessary distress and a diminished QOL. NGS offers a path to hope, understanding, and ultimately relief for these patients, but it is frequently inaccessible for a myriad of reasons, including insurance coverage and cost.

The JMCN is uniquely positioned to facilitate targeted access to expert immunologists who care for a larger number of suspected PI patients that have no genetic diagnosis, and has allowed us to demonstrate, through the global expansion of this program, the importance, efficiency, and crucial need of NGS testing for PI, which we argue, should be

emis în timp util și precis, inclusiv prin testarea NGS, managementul și tratamentul adecvat al bolii ar putea duce la ameliorarea rezultatelor curative și la o diminuare substanțială a numărului de recurențe (episoade) ale acestor afecțiuni, cât și a costurilor asociate.

## DISCUȚII

Se cunoaște faptul că pacienții cu suspecție de IDP dar fără un verdict genetic parcurg o lungă odisee diagnostică, care este nu doar costisitoare, dar poate întârzia sau erona acuratețea diagnostică, managementul bolii și tratamentul acesteia fiind deficiente și alterând calitatea vieții bolnavului. NGS oferă o cale de speranță, înțelegere și, în cele din urmă, de alinare pentru acești pacienți, chiar dacă este adesea inaccesibil dintr-o multitudine de motive, inclusiv acoperirea și costul asigurării.

JMCN are o poziție unică pentru că ar facilita accesul direcționat al specialiștilor imunologi care asistă un număr mai mare de pacienți cu suspiciune de IDP dar care nu au diagnostic genetic, de aceea pledăm pentru extinderea globală a acestui program, pentru importanța, eficiența și necesitatea crucială a testării NGS pentru IDP, examen despre care susținem că ar trebui să fie considerat un test de prim nivel în abordarea inițială a oricărui pacient suspect de IDP. Acest program insistă de asemenea asupra faptului că medicii experți sunt suficient de competenți pentru a determina care dintre pacienți are nevoie de NGS. În mod intenționat nu am aplicat criteriile de eligibilitate restrictive, deoarece am crezut în valoarea expertizei unui imunolog expert și în probabilitatea ridicată a acesteia înainte de testare și la identificarea pacienților potriviți pentru testare.

Până în prezent, extinderea globală a acestui program a reușit un randament diagnostic de 20,3%, cifră care se încadrează în intervalul de 15-46% estimat într-o revizuire sistematică recentă (19). Revista citată a

considered a first tier test used early in any patient that is suspected to have a PI. This program also highlights that expert clinicians are highly qualified to determine which patients need NGS. Restrictive eligibility criteria were intentionally not applied, as we believed in the value of an expert immunologist's expertise and their likely high pretest probability in identifying the right patients for testing.

To date, the global expansion of this program has resulted in a diagnostic yield of 20.3%, which falls in the predicted 15-46% range described in a recent systematic review (19). The systematic review observed a 25% median diagnostic rate across all eight studies included, with four ranging from 15-25% and four ranging from 40-46%. Notably, of the four studies reporting diagnostic rates in the 40-46% range, one used ES (11), one used a test panel with a greater number of genes (32), one tested a highly consanguineous population (33), and one tested patients with at least one known causal mutation (34). Additionally, Invitae previously shared a 7% internal diagnostic rate for their 207 gene PI panel at the 2018 American Society of Human Genetics meeting (35). We posit that high pretest probability attained by utilizing expert immunologists resulted in the higher diagnostic rate of 20.3%, illustrating the strength of their judgment and capability in recognizing those patients most in need of NGS testing.

When looking at diagnostic yield by region, we saw the highest diagnostic yield for patients from Asia (35.8%), the Middle East or Africa (29.6%), and LATAM (26.1%), highlighting that NGS testing for PI is an important diagnostic tool for diverse populations of different ethnic backgrounds and should be considered as a first tier test early in patients with a suspicion for PI worldwide.

A positive molecular diagnosis in a patient can often trigger cascade testing in relatives who may be at risk for the condition, who want to know their carrier status for future family planning, or who need to know their genetic

identificat o rată medie de diagnostic de 25% în toate cele opt studii incluse, patru incluzând variații între 15-25% și patru – între 40-46%. Printre cele patru studii care raportează rate de diagnostic în intervalul de 40-46%, unul a folosit ES (11), un altul a folosit un panou de testare cu un număr mai mare de gene (32), încă unul a testat o populație cu indice de consanguinitate foarte mare (33) și unul a testat pacienți cu cel puțin o mutație cauzală cunoscută (34). Invitae raportase anterior o rată internă de diagnostic de 7% pentru panoul lor de 207 gene IDP la Reuniunea Societății Americane de Genetică Umană din 2018 (35). Postulăm că probabilitatea ridicată de pretestare obținută prin implicarea imunologilor experți a dus la o rată de diagnosticare ce a depășit cifra de 20,3 %, ilustrând puterea de judecată și capacitatea lor de a recunoaște acei pacienți care au cea mai mare nevoie de testare NGS.

Când analizăm randamentul diagnosticului în funcție de regiune, observăm un maxim randament al diagnosticului printre pacienții din Asia (35,8%), Orientul Mijlociu sau Africa (29,6%) și LATAM (26,1%), ceea ce anunță că testarea NGS pentru IDP este un instrument de diagnostic valoros pentru diverse populații și etnii diferite și ar trebui să fie considerată ca prim nivel de testare precoce a pacienților cu suspiciune de IDP. Un diagnostic molecular pozitiv la un pacient poate deseori declanșa testarea în cascadă a rudelor care pot avea riscul de apariție a afecțiunii și care doresc să își cunoască statutul de purtător pentru planificarea familială viitoare, sau care trebuie să-și cunoască statutul genetic în timp ce sunt examinați ca și potențial donator pentru membrul lor de familie afectat. Deși acest program nu a fost utilizat pe scară largă pentru testarea în cascadă (n=27), două rude au primit un diagnostic molecular și șase au primit statut de purtător conform rezultatelor. Fiind în posesia acestor probe, cei din urmă pot avea acces la tratamente sau management clinic proactiv sau pot dispune de informații pentru planificarea familială și deciziile de selecție a donatorilor.

status while being screened as a potential donor for their affected family member. Although this program was not broadly utilized for cascade testing (n=27), two relatives received a molecular diagnosis and six received carrier status results. This information may allow them to have access to treatments or proactive clinical management, or inform family planning and donor selection decisions.

In the global expansion of this program, 20.3% of patients received a molecular diagnosis. Clinical diagnosis, disease management, treatment, and genetic counseling were altered in 39%, 38%, 35%, and 53% of patients, respectively, as reported for 50.6% of participating patients. This suggests that non-diagnostic results can still be used by clinicians in decisions related to patient medical management and emphasizes the value of NGS testing, even without the identification of a definitive genetic diagnosis. Additionally, the findings highlight the need for unrestricted NGS testing for PI early in the diagnostic journey when there is a high suspicion of disease by an expert immunologist.

Further investigation into the rates of alteration of clinical diagnosis, disease management, treatment, and genetic counseling in patients receiving a molecular diagnosis compared to those receiving non-diagnostic results could be very informative and beneficial as this program progresses. Moving forward, it would also be useful to include further analysis regarding gender and age by gene. Additionally, further investigation into the implications of misdiagnosis and inappropriate treatment specifically in patients participating in this program could be beneficial in the future.

The JMF Questionnaire revealed patients across the globe face obstacles when seeking NGS testing including inaccessibility, high costs, and insurance denials. Consequentially, the exorbitant costs, both monetary and personal, of numerous hospital, emergency room, and ICU admissions are a significant burden for these patients. Alteration of

În extinderea globală a acestui program, 20,3% dintre pacienți au primit un diagnostic molecular. Diagnosticul clinic, managementul bolii, tratamentul și consilierea genetică au fost modificate pentru 39%, 38%, 35% și, respectiv, 53% dintre pacienți, așa cum a fost raportat pentru 50,6% dintre pacienții participanți. Acest lucru sugerează că rezultatele non-diagnostice pot fi utilizate de către clinicieni în deciziile legate de managementul medical al pacientului și subliniază valoarea testării NGS, chiar fără identificarea unui diagnostic genetic definitiv. În plus, constatările evidențiază necesitatea unui NGS nerestricționat pentru testarea IDP la începutul odiseii diagnostice când există un nivel ridicat de suspiciune a bolii de către un imunolog.

Investigații suplimentare privind ratele de modificări operate în diagnosticul clinic, gestionarea bolii, în tratament și consilierea genetică a pacienților care beneficiază de un diagnostic molecular în comparație cu cei care au acces doar la teste non-diagnostice ar putea fi foarte informative și benefice pe măsură ce acest program progresa. Mergând mai departe, ar fi, de asemenea, utilă includerea unor analize suplimentare privind sexul și vârsta în funcție de genă. În viitor ar putea fi benefică o investigație cu referire la impactul diagnosticului greșit și al tratamentului nepotrivit, în special la pacienții care participă la acest program.

Chestionarul JMF a relevat faptul că pacienții din întreaga lume se confruntă cu obstacole atunci când solicită teste NGS, printre care se numără inaccesibilitatea, costurile ridicate și refuzul asigurărilor. În consecință, costurile exorbitante, atât monetare, cât și personale, al multiplelor internări în spital, la urgențe și la terapie intensivă reprezintă o povară semnificativă pentru acești pacienți. Ameliorarea diagnosticului și managementului bolii prin relevanța testării NGS rezultă cu o evoluție mai bună pentru pacient, dar se estimează că va duce la economii considerabile de costuri. Acest postulat este ilustrat în tabelul 4, unde previziunile economice estimate în

diagnosis and disease management based on results of NGS testing not only has the potential to result in better patient outcomes but is also estimated to lead to considerable cost-savings. This point is illustrated in Table 4, where we leveraged our economic insight into PI to assign estimated US dollar values to conditions that often affect patients with PI (21, 26–31). The potential expenses for a patient that is not properly diagnosed are exorbitant. Importantly, NGS testing has the potential to substantially lower these costs by providing an accurate diagnosis, leading to proper disease management and treatment. We recognize that these costs are US based and will vary depending on the diagnosis and location of the patient, but assert that the potential cost-savings extrapolated from this information remains substantial regardless of diagnosis or geographic location. This cost reduction does not even account for high-priced immunologic and phenotypic tests that are frequently utilized repeatedly in the absence of a conclusive genetic diagnosis. Notably, most of these additional high-priced tests are not subjected to the same access or insurance barriers as NGS testing and represent an actual economic burden to payors and health systems. Considering only the potential cost-savings of NGS testing for PI, there is sufficient rationale for comprehensive NGS diagnostics for PI when applied by expert immunologists, as well as justification for their increased access to NGS testing in most circumstances.

## CONCLUSION

Through the global expansion of this program and by taking advantage of the uniquely positioned JMCN, we were able to show the efficiency, impact, and value of NGS testing for PI by expert immunologists. There is a crucial need for this service, as most expert clinicians in the JMCN have suspected PI patients with restricted or no access to NGS testing, despite their adeptness at determining when it is warranted. Overall, we justify the need for extensive NGS testing for suspected PI patients when requested by an expert

dolari americani au fost raportate la condițiile care afectează adesea pacienții cu IDP (21, 26–31). Cheltuielile potențiale pentru pacienții care nu sunt diagnosticați corect sunt, însă, peste aceste previziuni. Important faptul că testarea NGS are potențialul de a scădea substanțial aceste costuri prin furnizarea unui diagnostic precis, care să conducă la managementul și tratamentul bolii corecte. Recunoaștem că aceste costuri sunt bazate pe experiența SUA și vor varia în funcție de diagnostic și locația pacientului, dar rămâne valabilă afirmația că potențialele economii de costuri extrapolate din aceste informații este substanțială indiferent de diagnostic sau localizare geografică. Această reducere a costurilor nu ia în calcul testele imunologice și fenotipice cu prețuri ridicate care sunt frecvent utilizate în mod repetat în absența unui diagnostic genetic concludent. Cele mai multe dintre aceste teste suplimentare cu preț ridicat nu sunt supuse aceleiași acces sau bariere de asigurare ca testarea NGS și reprezintă o povară economică reală plătitorilor și sistemelor de sănătate. Luând în considerare doar potențialele economii de costuri de testare NGS pentru IDP, există o justificare suficientă pentru implementarea extinsă a diagnosticului IDP prin NGS atunci când este aceasta aplicată de specialiști imunologi, precum și justificarea accesului lor sporit la testarea NGS în majoritatea circumstanțelor.

## CONCLUZIE

Prin extinderea globală a acestui program și dat fiind avantajul unic al programului JMCN, am putut demonstra eficiența, impactul și valoarea testării NGS pentru IDP de către specialiștii imunologi. Este o necesitate crucială pentru acest serviciu și pentru majoritatea clinicienilor experți din JMCN cu pacienți suspecți de IDP dar cu acces restricționat sau fără acces la testarea NGS. În general, noi justificăm necesitatea testării NGS extinse pentru pacienții suspecți de IDP atunci când testul este solicitat de un imunolog expert, deoarece acesta anunță inerentă necesitate de testare și care ar trebui să aibă

immunologist, as they offer an inherent high pre-test probability and should have unencumbered access in most circumstances. We show that NGS testing has a significant diagnostic yield for patients with suspected PI globally and can lead to changes in clinical diagnosis, disease management, treatment, and genetic counseling, even in the absence of a definitive diagnosis, and has the potential to save healthcare dollars when implemented early. Accordingly, we advocate for health agencies, third party payers, and governments to recognize NGS testing for PI as a first step in intervention when an expert immunologist has a high suspicion of a genetic etiology for a clinically diagnosed patient.

acces nelimitat în majoritatea circumstanțelor. Demonstrăm că testarea NGS are un efect semnificativ asupra randamentului de diagnosticare a pacienților cu suspecție de IDP la nivel global și poate duce la schimbări în diagnosticul clinic, managementul bolii, în tratament și consilierea genetică, chiar și în absența unui diagnostic definitiv, și are potențialul de a economisi bani în domeniul sănătății atunci când este implementat în timp util. În consecință, susținem agențiile de sănătate, plătitorii terți și guvernele să recunoască testarea NGS pentru IDP ca prim pas de intervenție atunci când un expert imunolog are o mare suspiciune de boală cu etiologie genetică la un pacient diagnosticat clinic.

**TABLE 1 |** Clinical relevance of genetic test results.

Confirmed or Likely molecular diagnosis	Carrier status
1 heterozygous P/LP allele in AD gene	1 heterozygous allele in AR gene
1 hemizygous P/LP allele in XL gene in male	1 heterozygous allele in XL gene in female
2 heterozygous or 1 homozygous P/LP alleles in AR genes	
1 heterozygous P/LP allele and 1 VUS in AR genes	

*Each column shows the possible genotypes identified in individuals with either a confirmed or likely molecular diagnosis or carrier result. For patients with heterozygous P/LP variants in genes that are associated with both AD and AR conditions, available information on the variant was used to determine if the P/LP variant was consistent with a molecular diagnosis of the AD condition or carrier status for the AR condition. AD, autosomal dominant inheritance; AR, autosomal recessive inheritance; P/LP, pathogenic or likely pathogenic variant; VUS, variant of uncertain significance; XL, X-linked inheritance.*

Tabel 1. Rezultate cu patogen și probabil variantele patogene au fost clasificate în continuare după clinica lor relevanță

Results with pathogenic and likely pathogenic variants were further classified by their clinical relevance

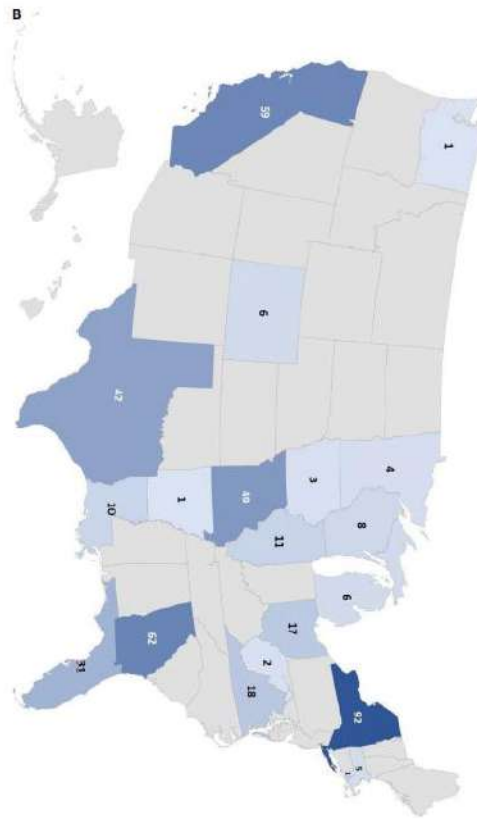


FIGURA 1 | Numărul de persoane testate în programul Jeffrey's Insights în funcție de regiunea geografică. (A) Numărul de persoane testate la nivel global în funcție de țară în program. Cifrele indică numărul de indivizi testați din fiecare țară. Țările sunt colorate de la deschis la întuneric pentru a corespunde numărului relativ de indivizi testați, respectiv, de la scăzut la cel mai mare. (B) Numărul de persoane testate în S.U.A. de către stat. Cifrele indică numărul de indivizi testați din fiecare stat. Scala de culori reprezintă numărul relativ de indivizi testați în fiecare stare, albastrul deschis corespunzător câtorva indivizitestat la albastru închis indicând statele cu cel mai mare număr de indivizi testați.

From January 2019 to August 2021, a total of 173 unique ordering clinicians have participated in this program, from 121 institutions in 98 cities within 45 countries. The global distribution can be seen in Figure 1A, and the distribution in the US can be seen in Figure 1B.

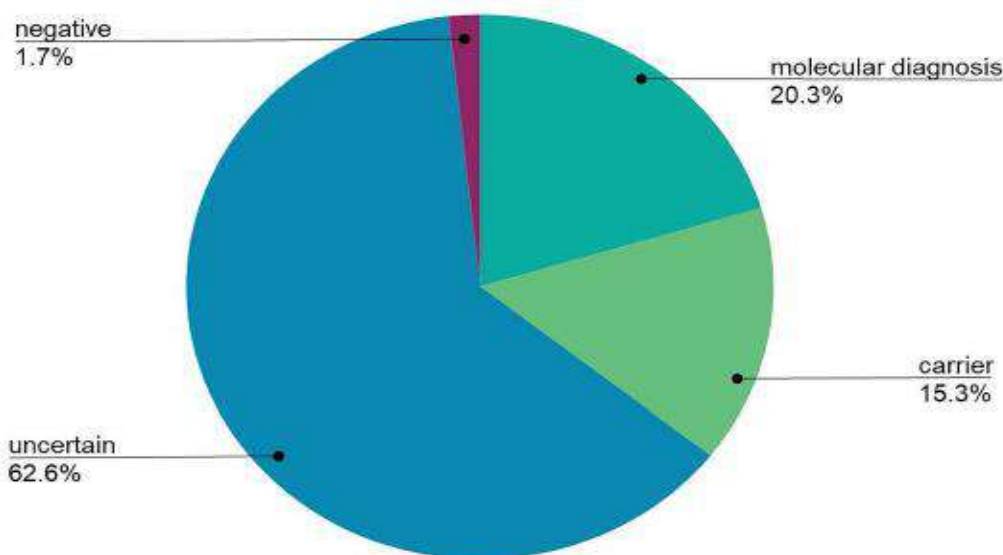


**TABLE 2** | Number of non-unique variants identified by IUIS category.

IUIS category	P/LP positive	P/LP carrier	VUS	Total
Immunodeficiencies affecting cellular or humoral immunity (IUIS Table 1)	93	29	805	927
Combined immunodeficiencies associated with syndromic features (IUIS Table 2)	65	28	1231	1324
Antibody deficiencies (IUIS Table 3)	34	37	360	431
Disorders of immune dysregulation (IUIS Table 4)	66	26	787	879
Congenital defects of phagocyte number or function (IUIS Table 5)	45	28	598	671
Defects in Intrinsic and Innate Immunity (IUIS Table 6)	16	16	759	791
Autoinflammatory disorders (IUIS Table 7)	19	40	651	710
Complement deficiencies (IUIS Table 8)	12	21	266	299
Bone marrow failure (IUIS Table 9)	2	13	413	428
Multiple IUIS tables	23	0	124	147
Not in IUIS, but has overlapping symptoms	10	44	863	917
Total	385	282	6857	7524

Tabel 2. Numărul de variante non-unice P/LP și VUS care au fost identificate la pacienții testați în programul Jeffrey’s Insights. Variantele au fost atribuite diferitelor tabele IUIS 2019 pe baza gena în care au fost localizate variantele. Variantele P/LP au fost numărate în coloana P/LP pozitivă dacă varianta a fost suficientă pentru un diagnostic (observată într-o genă cu autosomal dominantă moștenire sau moștenire legată de X la un bărbat) sau dacă a fost observată cu o a doua variantă P/LP/VUS într-o genă cu moștenire autosomal recesivă. Variantele P/LP au fost numărate în purtătorul P/LP coloană când o singură variantă P/LP și nicio altă variantă nu a fost identificată într-o genă autosomal recesivă. IUIS, Uniunea Internațională a Societăților Imunologice; P/LP, patogen sau probabil patogen; VUS, variantă de semnificație incertă.

Table 2 shows all identified variants by the International Union of Immunological Societies (IUIS) category (2, 3).



**FIGURA 2** | Randamentul global de diagnosticare al programului Jeffrey’s Insights. Pentru a determina randamentul general de diagnostic, indivizii care au primit o moleculară confirmată diagnosticul sau diagnosticul molecular probabil au fost grupați împreună (diagnostic molecular etichetat în figură). Indivizi cu 1 P/LP și 1 VUS într-un mod autozomal

gene recesive au fost considerate a avea un diagnostic probabil. Rezultatele incerte au fost pacienții care au primit doar variante de semnificație incertă. Persoanele care au făcut-o nu au fost identificate nicio variantă patogenă, probabil patogenă sau cu semnificație incertă au fost grupate în rezultatele negative. Persoanele care au fost testate pentru an indicațiile imunodeficienței variabile comune (CVID) au fost excluse din acest calcul datorită naturii în primul rând multifactoriale a acestei afecțiuni.

A total of 1,333 patients received genetic testing for suspected monogenic disorders, excluding the CVID patients, and 271 (20.3%) received a molecular diagnosis

**TABLE 3** | Cohort demographics of the Jeffrey's Insights Program.

	Number of patients (%)	Positive patients (diagnostic rate, %)
<b>Gender</b>		
Male	816 (58)	168 (21)
Female	582 (42)	107 (18)
Total	1398	275
<b>Age (years)</b>		
≤5	596 (43)	151 (25)
6-17	533 (38)	90 (17)
18+	269 (19)	34 (13)
Total	1398	275

Tabel 3. Datele demografice de sex și vârstă ale cohorței totale sunt prezentate în a doua coloană atât în număr absolut de indivizi, cât și procentul din cohorta totală între paranteze.

Datele demografice de sex și vârstă ale subgrupului de indivizi cu diagnostice moleculare confirmate sau probabile sunt afișate în a treia coloană. Parantezele indică randamentul diagnosticului pentru fiecare dintre categoriile demografice.

The age of all individuals tested ranged from 0-87 years with an average of 12.2 years. Of those receiving a molecular diagnosis, 81% were tested during the pediatric period, with an average age of 8.7 years. Children aged 0-5 years had the highest diagnostic yield, with a 25% molecular diagnostic rate. In those 6-17 years old, 17% received a molecular diagnosis compared to 13% in patients 18 and older.

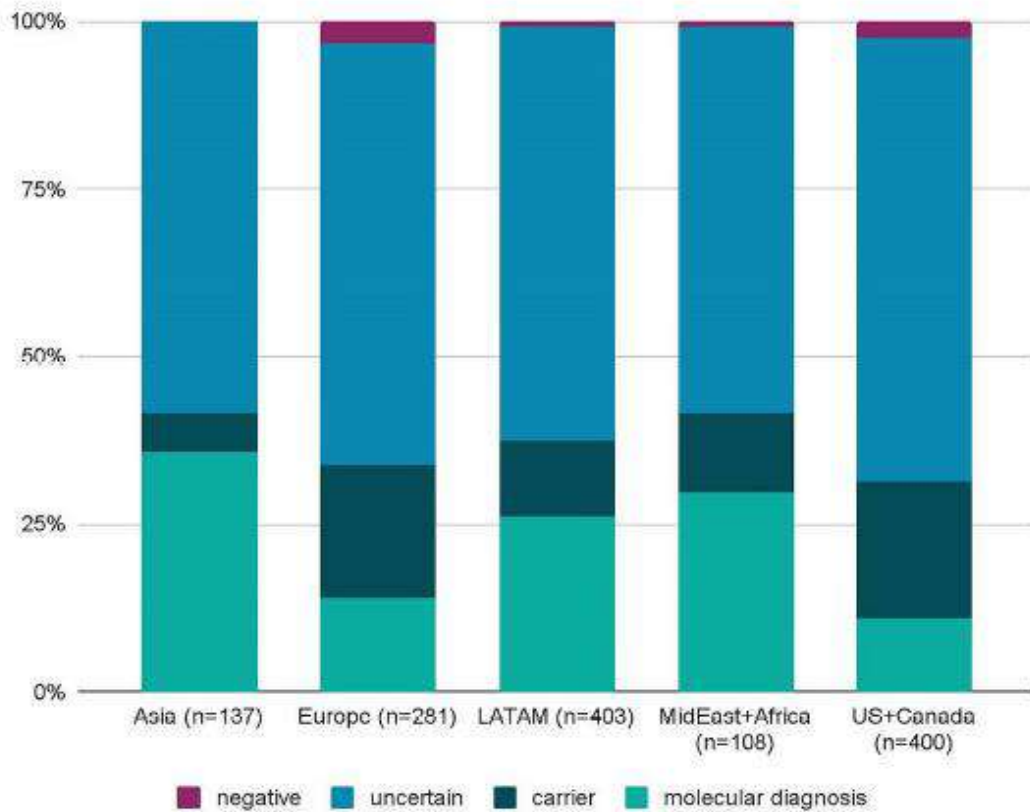


FIGURA 3 | Randamentul de diagnostic al programului Jeffrey's Insights pe regiune geografică. Randamentul diagnosticului a fost calculat pentru pacienții din Asia, Europa, Latină America (LATAM), Orientul Mijlociu (MidEast) plus Africa și Statele Unite (SUA) și Canada. Randamentele de diagnostic regional au fost calculate în același mod ca și randamentul diagnostic global. Doi din 4 pacienți din Australia și Noua Zeelandă au primit un diagnostic molecular. Cu toate acestea, acestea au fost excluse din grafic din cauza numărului redus de probe. n=numar de mostre.

The diagnostic yield was not significantly different between individuals tested on the 207 gene panel (19.6%) and individuals tested on the 407 gene panel (20.8%;  $c^2$  p-value = 0.3085). Geographically, diagnostic yield varied by region, with 35.8%, 29.6%, and 26.1% of patients receiving a molecular diagnosis in Asia, the Middle East or Africa, and Latin America, respectively

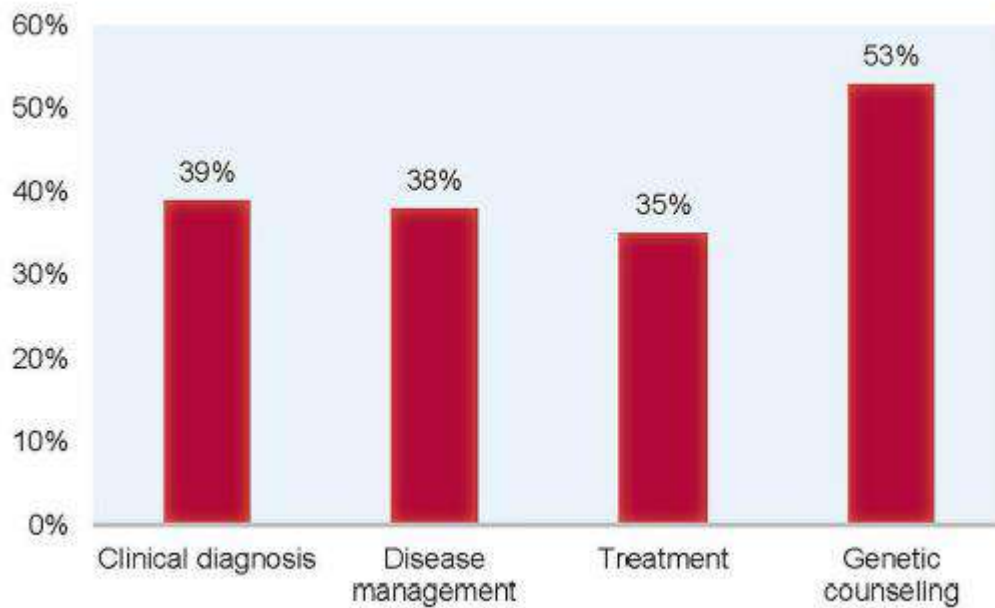


FIGURA 4 | Rate de modificare a diagnosticului clinic, managementului bolii, tratamentului și consilierii genetice la pacienți după testarea NGS. Prin chestionar,

clinicienii participanți au raportat că, pe baza rezultatelor testării NGS, diagnosticul clinic a fost modificat la 39% dintre pacienți, gestionarea bolii a fost modificată la 38%

dintre pacienți, tratamentul a fost modificat la 35% dintre pacienți, iar consilierea genetică a fost modificată la 53% dintre pacienți.

Clinicians reported having a suspicion of a specific diagnosis 75% of the time, but ended up altering their suspected diagnosis 39% of the time, based on the results of NGS testing. Overall, after NGS testing, whether or not a definitive molecular diagnosis was received, clinical diagnosis, disease management, treatment, and genetic counseling were altered in 39%, 38%, 35%, and 53% of patients, respectively

**TABLE 4** | Costs of the most frequent conditions affecting patients with PI.

Condition	Average no. of episodes	Cost per episode	Annual cost
Persistent otitis media	4.2	\$807	\$2,549
Serious sinus & upper respiratory infections	4.6	\$1,125	\$5,175
Viral infections	3.7	\$2,038	\$7,540
Acute bronchitis	3.1	\$468	\$1,450
Bacterial pneumonias	2.8	\$4,748	\$13,294
Bronchiectasis	4.3	\$2,136	\$9,184
Hospitalization days	19.8	\$2,607	\$51,618
Physician/ER visits	70.8	\$367	\$25,983
Days on antibiotics	166.2	\$5	\$831
School/workdays missed	33.9	\$200	\$6,780
Total per patient			\$124,404

Tabel 4. Numărul mediu de episoade ale fiecărei afecțiuni este listat în a doua coloană. Costul estimat pe episod și costul anual total asociat sunt enumerate în al treilea și al patrulea coloane. Costul anual total per pacient este afișat în rândul de jos al celei de-a patra coloane. Toate costurile sunt bazate pe SUA.

Leveraging JMF's previous economic proficiency in health care for PI (21, 26), estimated US dollar values were assigned to conditions that frequently affect patients with PI

**Cuvinte cheie:** secvențiere genetică, secvențiere, secvențiere de generație nouă (NGS), imunodeficiență primară (IDP), Jeffrey Modell Foundation (JMF), Jeffrey Modell Centers Network (JMCN), erori innăscute ale imunității (IEI)

**Keywords:** genetic sequencing, sequencing, Next Generation Sequencing (NGS), Primary Immunodeficiency (PI), Jeffrey Modell Foundation (JMF), Jeffrey Modell Centers Network (JMCN), Inborn Errors of Immunity (IEI)

## REFERENCES

1. National Institute of Allergy and Infectious Diseases. Primary Immune Deficiency Diseases. Available at: <https://www.niaid.nih.gov/diseases-conditions/primary-immune-deficiency-diseases-pidds> (Accessed May 3, 2021).
2. BOUSFIHA, A., JEDDANE, L., PICARD, C., et al. Human Inborn Errors of Immunity: 2019 Update of the IUIS Phenotypical Classification. In: *J Clin Immunol.* 2020; 40: 66-81. doi: 10.1007/s10875-020-00758-x
3. TANGYE, S.G., AL-HERZ, W., BOUSFIHA, A., et al. The Ever-Increasing Array of Novel Inborn Errors of Immunity: An Interim Update by the IUIS Committee. In: *J Clin Immunol.* 2021; 41: 666-79. doi: 10.1007/s10875-021-00980-1

4. DEMIRDAG, Y., FULEIHAN, R., ORANGE J.S., YU, J.E. New Primary Immunodeficiencies 2021 Context and Future. In: *Curr Opin Pediatr.* 2021; 33(6): 657-75. doi: 10.1097/MOP.0000000000001075
5. CUNNINGHAM-RUNDLES, C., PONDA, P.P. Molecular Defects in T- and Bcell Primary Immunodeficiency Diseases. In: *Nat Rev Immunol.* 2005; 5: 880-92. doi: 10.1038/nri1713
6. Cooper, M.A., POMMERING, T.L., KORANYI, K. Primary Immunodeficiencies. In: *Am Fam Physician.* 2003; 68: 2001-8.
7. CARNEIRO-SAMPAIO, M., COUTINHO, A. Early-Onset Autoimmune Disease as a Manifestation of Primary Immunodeficiency. In: *Front Immunol.* 2015; 6: 185. doi: 10.3389/fimmu.2015.00185
8. REUST, C.E. Evaluation of Primary Immunodeficiency Disease in Children. In: *Am Fam Physician.* 2013; 87(11): 773-8. doi: 10.3928/00904481-20110316-08
9. BOYLE, J.M, BUCKLEY, R.H. Population Prevalence of Diagnosed Primary Immunodeficiency Diseases in the United States. *J Clin Immunol.* 2007; 27(5): 497-502. doi: 10.1007/s10875-007-9103-1
10. BOUSFIHA, A.A, JEDDANE. L., AILAL, F., et al. Primary Immunodeficiency Diseases Worldwide: More Common Than Generally Thought. In: *J Clin Immunol.* 2013; 33(1):1-7. doi: 10.1007/s10875-012-9751-7
11. STRAY-PEDERSEN, A., SORTE, H.S., SAMARAKOON, P., et al. Primary Immunodeficiency Diseases: Genomic Approaches Delineate Heterogeneous Mendelian Disorders. In: *J Allergy Clin Immunol.* 2017; 139(1): 232-45. doi: 10.1016/j.jaci.2016.05.042
12. RIDER, N.L., KUTAC, C., HAJJAR, J., et al. Health-Related Quality of Life in Adult Patients With Common Variable Immunodeficiency Disorders and Impact of Treatment. In: *J Clin Immunol.* 2017; 37(5): 461-75. doi: 10.1007/s10875-017-0404-8
13. QUINTI, I., DIPIETRO, C., MARTINI, H., et al. Health Related Quality of Life in Common Variable Immunodeficiency. In: *Yonsei Med J.* 2012; 53(3): 603-10. doi: 10.3349/ymj.2012.53.3.603
14. CASANOVA, J.L., ABEL, L., QUINTANA-MURCI, L. Immunology Taught by Human Genetics. In: *Cold Spring Harb Symp Quant Biol.* 2013; 78: 157-72. doi: 10.1101/sqb.2013.78.019968
15. MEYTS, I., BOSCH, B., BOLZE, A., et al. Exome and Genome Sequencing for Inborn Errors of Immunity. In: *J Allergy Clin Immunol.* 2016; 138(4): 957-69. doi: 10.1016/j.jaci.2016.08.003
16. MODELL, V., GEE, B., LEWIS, D.B., et al. Global Study of Primary Immunodeficiency Diseases (PI) – Diagnosis, Treatment, and Economic Impact: An Updated Report From the Jeffrey Modell Foundation. In: *Immunol Res.* 2011; 51: 61-70. doi: 10.1007/s12026-011-8241-y
17. MODELL, F., PUENTE, D., MODELL, V. From Genotype to Phenotype. Further Studies Measuring the Impact of a Physician Education and Public Awareness Campaign on Early Diagnosis and Management of Primary Immunodeficiencies. In: *Immunol Res.* 2009; 44(1-3): 132-49. doi: 10.1007/ s12026-008-8092-3
18. SAWYER, S.L., HARTLEY, T., DYMENT, D.A., et al. Utility of Whole-Exome Sequencing for Those Near the End of the Diagnostic Odyssey: Time to Address Gaps in Care. In: *Clin Genet.* 2016; 89(3): 275-84. doi: 10.1111/cge.12654
19. YSKA, H.A.F., ELSINK, K., KUIJPERS, T.W., et al. Diagnostic Yield of Next Generation Sequencing in Genetically Undiagnosed Patients With Primary Immunodeficiencies: A Systematic Review. In: *J Clin Immunol.* 2019; 39:577-91. doi: 10.1007/s10875-019-00656-x

20. HEIMALL, J.R., HAGIN, D., HAJJAR, J., et al. Use of Genetic Testing for Primary Immunodeficiency Patients. In: *J Clin Immunol*. 2018; 38: 320-9. doi: 10.1007/s10875-018-0489-8
21. MODELL, V., ORANGE, J.S., QUINN, J., MODELL, F. Global Report on Primary Immunodeficiencies: 2018 Update From the Jeffrey Modell Centers Network on Disease Classification, Regional Trends, Treatment Modalities, and Physician Reported Outcomes. In: *Immunol Res*. 2018; 66: 367-80. doi: 10.1007/s12026-018-8996-5
22. QUINN, J., MODELL, V., HOLLE J., et al. Jeffrey's Insights: Jeffrey Modell Foundation's Global Genetic Sequencing Pilot Program to Identify Specific Primary Immunodeficiency Defects to Optimize Disease Management and Treatment. In: *Immunol Res*. 2020; 68:126-34. doi: 10.1007/s12026-020-09131-x
23. LINCOLN, S.E., KOBAYASHI, Y., ANDERSON, M.J., et al. A Systematic Comparison of Traditional and Multigene Panel Testing for Hereditary Breast and Ovarian Cancer Genes in More Than 1000 Patients. In: *J Mol Diagn*. 2015; 17(5): 533-44. doi: 10.1016/j.jmoldx.2015.04.009
24. NYKAMP, K., ANDERSON, M., POWERS, M., et al. Correction: Sherlock: A Comprehensive Refinement of the ACMG-AMP Variant Classification Criteria. In: *Genet Med*. 2020; 22(1): 240. doi: 10.1038/s41436-019-0624-9
25. BOGAERT, D.J.A., DULLAERS, M., LAMBRECHT, B.N., et al. Genes Associated With Common Variable Immunodeficiency: One Diagnosis to Rule Them All? In: *J Med Genet*. 2016; 53: 575-90. doi: 10.1136/jmedgenet-2015-103690
26. MODELL, V., QUINN, J., GINSBERG, G., et al. Modeling Strategy to Identify Patients With Primary Immunodeficiency Utilizing Risk Management and Outcome Measurement. In: *Immunol Res*. 2017; 65: 713-20. doi: 10.1007/s12026-017-8907-1
27. Agency for Healthcare Research and Quality. Number of People With Care in Thousands by Condition. United States: 2016-2018. Medical Expenditure Panel Survey (2021). Available at: [https://meps.ahrq.gov/mepstrends/hc\\_cond\\_icd10](https://meps.ahrq.gov/mepstrends/hc_cond_icd10).
28. Kaiser Family Foundation. Hospital Adjusted Expenses Per Inpatient Day. Available at: <https://www.kff.org/health-costs/state-indicator/expenses-per-inpatient-day/?currentTimeframe=0&sortModel=%7B%22colId%22:%22Location%22,%22sort%22:%22asc%22%7D> (Accessed May 5, 2021).
29. Health Care Cost Institute (HCCI) 2018. Health Care Cost and Utilization Report (2018). Available at: [https://healthcostinstitute.org/images/pdfs/HCCI\\_2018\\_Health\\_Care\\_Cost\\_and\\_Utilization\\_Report.pdf](https://healthcostinstitute.org/images/pdfs/HCCI_2018_Health_Care_Cost_and_Utilization_Report.pdf).
30. United States Social Security Administration. Average and Median Amounts of Net Compensation. Available at: <https://www.ssa.gov/oact/cola/central.html> (Accessed May 3, 2021).
31. Agency for Healthcare Research and Quality (AHRQ). Healthcare Cost and Utilization Project (HCUP). Available at: <https://hcupnet.ahrq.gov/#setup> (Accessed May 3, 2021).
32. RAE, W., WARD, D., MATTOCKS, C., et al. Clinical Efficacy of a Next-Generation Sequencing Gene Panel for Primary Immunodeficiency Diagnostics. In: *Clin Genet*. 2018; 93: 647-55. doi: 10.1111/cge.13163.
33. BISGIN, A., BOGA, I., YILMAZ, M., et al. The Utility of Next- Generation Sequencing for Primary Immunodeficiency Disorders: Experience From a Clinical Diagnostic Laboratory. In: *BioMed Res Int*. 2018; 2018: 9647253. doi: 10.1155/2018/9647253
34. MOENS, L.N., FALK-SORQVIST, E., ASPLUND, A.C., et al. Diagnostics of Primary Immunodeficiency Diseases: A Sequencing Capture Approach. In: *PloS One*. 2014; 9(12): e114901. doi: 10.1371/journal.pone.0114901



35. NICOLOSI, P., HOLLE, J., TRUTY, R., et al. Expanded Genetic Testing for Primary Immunodeficiencies: Findings From a 207-Gene Next-Generation Sequencing Panel. In: *San Diego, CA: Poster Presented at American Society of Human Genetics meeting. 2018.*

**STUDIUL DE CAZ: MUTAȚIE FAS  
(LEU242PRO) CU PREZENTA  
LIMFOCITELOR T DUBLU  
NEGATIVE LA UN PACIENT  
CARE PREZINTA ALPS  
(SINDROM  
LIMFOPROLIFERATIV  
AUTOIMUN)**

Sergiu Padure<sup>1</sup>, Cali Maia Pastor<sup>2</sup>, Angela Ibañez Garcia<sup>3</sup>, Eduardo Lopez Granados<sup>4</sup>, María Bravo García-Morato<sup>4</sup>, Elisabet Matas Pérez<sup>4</sup>, Eduardo Fernández-Cruz Pérez<sup>5</sup>

<sup>1</sup>HM Hospitales Montepíncipe, Madrid, Spain

<sup>2</sup>Universidad CEU San Pablo, Madrid, Spain

<sup>3</sup>Complejo Hospitalario Universitario de Albacete, Albacete, Spain

<sup>4</sup>Hospital Universitario La Paz, Madrid, Spain

<sup>5</sup>Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain

**INTRODUCERE**

Sindromul limfoproliferativ autoimun (ALPS) este o eroare înăscută a imunității, rezultatul unui grup eterogen de modificări ale genelor care reglează fenomenul de apoptoză. Se manifestă de obicei în primii ani de viață. Cele mai frecvente manifestări clinice sunt expansiunea limfoidă cu limfadenopatie, splenomegalie și hepatomegalie, boala autoimună cu citopenii, inclusiv trombocitopenie și anemie hemolitică, precum și limfomul. Anomaliile de laborator care facilitează diagnosticul ALPS includ prezența celulelor T alfa-beta dublu negative, niveluri sanguine crescute de interleukină 10, vitamina B12 și apoptoză defectuoasă mediată de FAS în testul *in vitro*. Tratamentul ALPS se concentrează pe trei aspecte: tratamentul

**CASE REPORT: FAS MUTATION  
(LEU242PRO) WITH ELEVATED  
DNT (DOUBLE NEGATIVE T  
LYMPHOCYTES) IN A PATIENT  
PRESENTING WITH ALPS  
(AUTOIMMUNE  
LYMPHOPROLIFERATIVE  
SYNDROME)**

Sergiu Padure<sup>1</sup>, Cali Maia Pastor<sup>2</sup>, Angela Ibañez Garcia<sup>3</sup>, Eduardo Lopez Granados<sup>4</sup>, María Bravo García-Morato<sup>4</sup>, Elisabet Matas Pérez<sup>4</sup>, Eduardo Fernández-Cruz Pérez<sup>5</sup>

<sup>1</sup>HM Hospitales Montepíncipe, Madrid, Spain

<sup>2</sup>Universidad CEU San Pablo, Madrid, Spain

<sup>3</sup>Complejo Hospitalario Universitario de Albacete, Albacete, Spain

<sup>4</sup>Hospital Universitario La Paz, Madrid, Spain

<sup>5</sup>Hospital General Universitario Gregorio Marañón, Madrid, Spain

**BACKGROUND**

The autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS) is an inborn immunity error, which is the result of a heterogeneous group of mutations in the genes that regulate the apoptosis phenomenon. It typically appears in the first years of life. The most common clinical signs are lymphoid expansion with lymphadenopathy, splenomegaly, and hepatomegaly; immune disease with different types of cytopenia, including thrombocytopenia, hemolytic anemia, and lymphoma. The lab abnormalities that facilitate the diagnosis of ALPS include the presence of double negative alpha/beta T cells, high interleukin levels, vitamin B12 in the blood, and FAS-mediated defective apoptosis in the *in vitro* assay. The treatment of ALPS is focused on three aspects: The treatment of the



manifestărilor bolii, prevenirea și tratamentul complicațiilor și tratamentul curativ (transplant de celule stem hematopoietice [HSCT]). Utilizarea tratamentului imunosupresor este sugerată numai pentru complicațiile severe ale limfoproliferării sau manifestările autoimune concomitente. Splenectomia nu este recomandată pentru manifestările autoimune la pacienții cu ALPS. Transplantul de maduva este rezervată pacienților selectați. Rata de supraviețuire la 50 de ani este estimată la 85% pentru pacienții cu deficiență de SAF.

Sindromul limfoproliferativ autoimun (ALP, sindromul limfoproliferativ autoimun) sau sindromul Canale-Smith, este produs de un grup eterogen de alterări ale genelor care reglează fenomenul de apoptoză; se caracterizează prin triada clinică a bolii limfoproliferative, citopenii autoimune și predispoziție la malignitate. ALPS este o imunodeficiență primară clasificată în grupul tulburărilor genetice ale reglării imune.

Descrierea inițială a bolii a fost făcută în 1967 de Canale și Smith, când au raportat cinci pacienți cu limfadenopatie, splenomegalie și citopenii autoimune, o afecțiune care simula un limfom malign.

### **Epidemiologie**

Incidența și prevalența ALPS este necunoscută. Cazurile estimate la nivel mondial depășesc câteva sute, dar numărul nu a fost definit în mod fiabil. Multe cazuri de ALPS au rămas probabil nediate diagnosticate din cauza expresiei fenotipice variabile și a unei constelații de simptome care se suprapun cu multe alte afecțiuni, în special cu sindromul Evans și alte tulburări limfoproliferative.

ALPS este raportat în diferite grupuri rasiale și etnice. Predominanța masculină a fost sugerată și confirmată anterior atât într-o cohortă ALPS franceză, cât și într-o cohortă ALPS a National Institutes of Health (NIH). În cohorta franceză, în familiile cu mutații FAS, probabilitatea ca un bărbat cu mutația FAS să aibă ALPS simptomatic a fost de aproximativ 75%, comparativ cu 51% pentru femei. În mod similar, în cohorta NIH, 69% dintre bărbați,

manifestations of the disease, the prevention/treatment of complications, and the curative treatment (hematopoietic progenitor cell transplantation [HPCT]). The use of immunosuppressive therapy is suggested only for severe complications of lymphoproliferation or concomitant autoimmune manifestations. Splenectomy is not recommended for autoimmune manifestations in patients with ALPS. HPCT is reserved for selected patients. The survival rate to 50 years is estimated at 85% for patients with FAS deficiency.

The autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALP) or Canale-Smith syndrome, is produced by a heterogeneous group of alterations in the genes that regulate the phenomenon of apoptosis; it is characterized by the clinical triad of lymphoproliferative disease, autoimmune cytopenias, and predisposition to malignancy. ALPS is a primary immunodeficiency classified in the group of genetic disorders of immune regulation. The initial description of the disease was made in 1967 by Canale and Smith when they reported five patients with lymphadenopathy, splenomegaly, and autoimmune cytopenias, a condition that simulated malignant lymphoma.

### **Epidemiology**

The incidence and prevalence of ALPS is unknown. Estimated cases worldwide exceed several hundred, but the number has not been reliably defined. Many cases of ALPS have probably gone undiagnosed due to variable phenotypic expression and a constellation of symptoms that overlap with many other conditions, particularly Evans syndrome and other lymphoproliferative disorders.

ALPS is reported in various racial and ethnic groups. Male predominance was previously suggested and confirmed in both a French ALPS cohort and a National Institutes of Health (NIH) ALPS cohort. In the French cohort, in families with FAS mutations the probability that a man with the FAS mutation would have symptomatic ALPS was approximately 75% compared with 51% for women. Similarly, in the NIH cohort, 69% of men compared with 46% of women with FAS mutations developed overt features of ALPS. In addition, the ratio of male to female patients

comparativ cu 46% dintre femeile cu mutații FAS, au dezvoltat caracteristici evidente ale ALPS. În plus, raportul dintre bărbați și femei cu ALPS a fost de 2,2 în cohorta franceză și 1,6 în cohorta NIH.

### Manifestari clinice

Deși fenotipurile sunt variabile, manifestările clinice se prezintă în general în copilăria timpurie, cu o vârstă medie de 24 de luni și un interval de la 0 la 15 ani; totuși, la pacienții cu ALPS cu debut al manifestărilor clinice dincolo de vârsta de 17 ani; au fost raportate chiar manifestări din stadiul *in utero*.

Principalele manifestări clinice sunt triada limfadenopatiei, splenomegalia și citopeniile autoimune. Limfadenopatia poate varia de la limite normale de vârstă până la limfadenopatii masive, inclusiv mase toracice și abdominale, situație care asociată cu citopenii autoimune determină ca acești pacienți să fie îndreptați în primul rând către serviciile de hematologie și oncologie (tabel 5).

with ALPS was 2.2 in the French cohort and 1.6 in the NIH cohort.

### Clinical manifestations

Although the phenotypes are variable, clinical manifestations generally present in early childhood, with a mean age of 24 months and a range of 0 to 15 years; however, patients with ALPS with onset of clinical manifestations beyond from the age of 17; manifestations have even been reported from the stage *in utero*.

The main clinical manifestations are the triad lymphadenopathy, splenomegaly, and autoimmune cytopenias. Lymphadenopathy can range from normal limits for age to massive lymphadenopathy, including thoracic and abdominal masses, a situation that associated with autoimmune cytopenias causes these patients to be referred primarily to hematology and oncology services (table 5).

### Tab. 5. Frequency of clinical findings in patients with ALPS

**Tab. 5. Frecvența constatărilor clinice la pacienții cu ALPS**

Constatare clinică Clinical finding	Frecvența, % Frequency, %
Acumulare limfoidă / Lymphoid accumulation	100
Splenomegalie / Splenomegaly	90
Limfadenopatie / Lymphadenopathy	87
Hepatomegalie / Hepatomegaly	45
Limfom / Lymphoma	3
Anemia hemolitică autoimună / Autoimmune hemolytic anemia	53
Purpură trombocitopenică autoimună / Thrombocytopenic purpura autoimmune	44
Neutropenie autoimună / Autoimmune neutropenia	31
Urticarie / Hives	13
Glomerulonefrită / Glomerulonephritis	8

**Diagnostic**

În conformitate cu clasificarea grupului NIH ALPS, au fost propuse inițial următoarele criterii de diagnostic obligatorii:

- limfoproliferare cronică nemalignă,
- DNT crescut (în sânge periferic și probe de țesut),
- dovezi *in vitro* ale modificărilor apoptozei mediate de FAS.

**Diagnostic diferențial**

Alte patologii care pot avea unele manifestări clinice similare cu ALPS sunt boala Castleman, boala Rosai-Dorfman, sindromul limfoproliferativ legat de cromozoma X, boala limfoproliferativă și autoimună Diansani și boala Kikuchi-Fujimoto; Datorită celor de mai sus, acestea ar trebui incluse în diagnosticul diferențial.

Imunodeficiențele primare datorate câștigului funcției (GOF) ale STAT1 și STAT3, și deficiența STAT5B sunt, de asemenea, prezente cu limfoproliferare, cu toate acestea, în STAT5B și STAT3- GOF există o întârziere considerabilă în creștere; în STAT1-GOF există de obicei infecții virale, fungice și micobacteriene. De asemenea, ar trebui luată în considerare orice altă imunodeficiență datorată dereglării imune care apare odată cu limfoproliferarea sau autoimunitatea, inclusiv APDS-PASLI.

Au fost descrise mai multe imunodeficiențe asemănătoare ALPS, inclusiv deficit de ADA2, deficiență de LRBA, deficiență de

**Diagnosis**

In accordance with the NIH ALPS group classification, the following mandatory diagnostic criteria were initially proposed:

- chronic non-malignant lymphoproliferation,
- elevated DNT (in peripheral blood and tissue samples),
- in vitro evidence of alterations in FAS-mediated apoptosis.

**Differential diagnosis**

Other pathologies that may have some clinical manifestations similar to ALPS are Castleman disease, Rosai-Dorfman disease, X-linked lymphoproliferative syndrome, Diansani lymphoproliferative and autoimmune disease, and Kikuchi-Fujimoto disease; Due to the above, they should be included in the differential diagnosis.

Primary immunodeficiencies due to gain of function (GOF) of STAT1 and STAT3, and STAT5B deficiency also present with lymphoproliferation, however, in STAT5B and STAT3-GOF there is considerable delay in growth; in STAT1-GOF there are usually viral, fungal, and mycobacterial infections. Likewise, any other immunodeficiency due to immune dysregulation that occurs with lymphoproliferation or autoimmunity should be considered, including APDS-PASLI.

Several ALPS-like immunodeficiencies have been described, including ADA2 deficiency, LRBA deficiency, MST1 deficiency due to

MST1 din cauza variantelor patogene în STK4 și haploinsuficiență TNFAIP3.

### **Tratament**

Determinarea etiologiei genetice este de o importanță deosebită pentru tratamentul pacienților cu ALPS. Medicamentele citotoxice sau citostatice, inclusiv metotrexatul, mercaptopurina și derivații acestora, sau micofenolatul de mofetil, au demonstrat o mare eficacitate la pacienții cu ALPS-FAS, cu toate acestea, pot avea o toxicitate semnificativă pe termen lung. Pe baza experimentelor la șoareci și a demonstrației de hiperactivare a căii mTOR (ținta mecanicistă a rapamicinei) în celulele T ALPS-FAS, inhibitorii mTOR s-au dovedit a avea o eficacitate ridicată cu efecte secundare minime în cohortele de pacienți ALPS.

### **Obiectivele tratamentului**

Tratamentul ALPS se concentrează pe trei aspecte: tratamentul manifestărilor bolii, tratamentul și prevenirea complicațiilor care decurg din boală și tratamentul curativ. Cea mai mare parte a experienței este limitată la pacienții cu ALPS-FAS, la care boala limfoproliferativă debutează devreme în viață și tinde să devină mai puțin frecvente la adolescență și la vârsta adultă. Dezvoltarea bolii autoimune modifică tratamentul și prognosticul.

### **Tratament curativ**

Transplantul de celule stem hematopoietice (HSCT) este singurul tratament curativ pentru ALPS. Regimurile de amorsare cu intensitate redusă cauzează mai puțină morbiditate și mortalitate decât regimurile de amorsare mieloablative; au fost utilizate cu succes în imunodeficiențe primare. Protocolul de condiționare propus de Bleesing și colab. include alemtuzumab, fludarabină și melfalan ca un regim de intensitate redusă, bine tolerat. Starea activității ALPS trebuie evaluată cu atenție, iar potențialele consecințe ale tratamentelor pe termen lung, inclusiv funcția organelor, trebuie cântărite în raport cu riscurile transplantului.

### **Prognostic de evoluție clinică**

Mulți pacienți cu ALPS au un prognostic favorabil, limfadenopatia diminuându-se în timp, iar caracteristicile autoimune rămânând absente sau gestionabile cu o nevoie limitată de terapie imunosupresoare. Unii pacienți cu mutații particulare care afectează domeniul de

pathogenic variants in STK4, and TNFAIP3 haploinsufficiency.

### **Treatment**

Determining the genetic etiology is of particular importance for the treatment of patients with ALPS. Cytotoxic or cytostatic drugs, including methotrexate, mercaptopurine and their derivatives, or mycophenolate mofetil, have shown great efficacy in patients with ALPS-FAS, however, they can have significant long-term toxicity. Based on experiments in mice and the demonstration of hyperactivation of the mTOR (mechanistic target of rapamycin) pathway in ALPS-FAS T cells, mTOR inhibitors have been shown to have high efficacy with minimal side effects in cohorts of ALPS patients-FAS.

### **Treatment goals**

ALPS treatment focuses on three aspects: treatment of disease manifestations, treatment and prevention of complications arising from the disease, and curative treatment. Most of the experience is limited to patients with ALPS-FAS, in whom lymphoproliferative disease begins early in life and tends to become less common in adolescence and adulthood. The development of autoimmune disease changes the treatment and prognosis.

### **Curative treatment**

Hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is the only curative treatment for ALPS. Reduced-intensity priming regimens cause less morbidity and mortality than myeloablative priming regimens; have been used successfully in primary immunodeficiencies. The conditioning protocol proposed by Bleesing et al. includes alemtuzumab, fludarabine, and melphalan as a well-tolerated, reduced-intensity regimen. The status of ALPS activity must be carefully evaluated and the potential consequences of long-term treatments, including organ function, weighed against the risks of transplantation.

### **Prognosis**

Many patients with ALPS have a favorable prognosis, with lymphadenopathy diminishing over time, and autoimmune features remaining absent or manageable with limited need for immunosuppressive therapy. Some patients with particular mutations that affect the intracellular death domain of the FAS protein

moarte intracelular al proteinei FAS pot avea un prognostic mai prost, în timp ce cei cu defecte în domeniul extracelular pot avea o boală mai ușoară. Cu toate acestea, este imposibil de prezis ce cale va urma fiecare pacient, indiferent de genotip. Prin urmare, este indicată urmărirea pe termen lung; fiecare pacient trebuie atent monitorizat pe parcursul bolii.

Componentele importante ale urmăririi sunt educația și abilitarea pacienților și a familiilor acestora. În plus, monitorizarea poate fi necesară pentru a detecta evenimentele patologice ulterioare care afectează apoptoza mediată de FAS, homeostazia limfocitelor în general sau alte evenimente (încă necunoscute). Rata de supraviețuire la 50 de ani a fost estimată la 85% pentru pacienții cu deficit de SAF. Principalele cauze de deces în ALPS sunt sepsisul după splenectomie și dezvoltarea limfomului. Supravegherea pentru detectarea limfomului ar trebui să includă monitorizarea periodică a virusului seric Epstein-Barr, deoarece viremia progresivă a fost raportată ca un predictor.

## CAZ CLINIC

Prezentăm cazul unui pacient, bărbat în vârstă de 46 de ani, cu antecedente de: alergii la beta-lactamice, herpes labial frecvent, de la 3 luni, febră frecventă, atribuită amigdalitei; tratament cu antibacterian și uneori corticosteroizi, născut la termen prin cezariană cu greutatea la naștere 3300g, neuropatie cronică în copilărie.

În 1979 (3 ani) a fost internat pentru febră, purpură în MMII, edem genunchi, hepatosplenomegalie, anemie feriprivă, cu biopsie ganglionilor mezenterici, splinei, ficatului și măduvei osoase, FĂRĂ constatări în anatomia patologică, cu diagnostic de „reumatism poliarticular acut”, cu un nou episod de purpură și edem la genunchiul stâng, cu rezoluție spontană după 2-3 zile. 4 episoade de amigdalită pe tot parcursul anului.

1980 (4 ani) a fost internat din cauza artralgiilor, vomă și edemului articular, MEG, hepatosplenomegalie (2 și 5 cm). Criza tonico-

may have a poorer prognosis, whereas those with defects in the extracellular domain may have milder disease. However, it is impossible to predict which path each patient will follow, regardless of genotype. Therefore, long-term follow-up is indicated; each patient must be carefully monitored during the course of the disease.

Important components of follow-up are education and empowerment of patients and their families. In addition, monitoring may be necessary to detect subsequent pathogenic events affecting FAS-mediated apoptosis, lymphocyte homeostasis in general, or other (as yet unknown) events. The 50-year survival rate has been estimated at 85% for patients with FAS deficiency. The main causes of death in ALPS are sepsis after splenectomy and the development of lymphoma. Surveillance for detection of lymphoma should include periodic monitoring of serum Epstein-Barr virus, since progressive viremia has been reported as a predictor.

## CLINICAL CASE

We present the case of a 46-year-old male patient with a history of: beta-lactam allergy, frequent cold sores, from 3 months, frequent fevers, attributed to tonsillitis; treatment with antibiotics and sometimes corticosteroids, born at term by cesarean section (birth weight 3300g), chronic neuropathy in childhood.

1979 (3 years) was admitted due to fever, purpura in the legs, knee edema, hepatosplenomegaly, iron deficiency anemia, with biopsy of mesenteric lymph nodes, spleen, liver, and bone marrow, without specific findings in the results, with a diagnosis of "acute polyarticular rheumatism". with a new episode of purpura and edema of the left knee, with spontaneous resolution after 2-3 days. 4 episodes of tonsillitis throughout the year.

1980 (4 years old) was admitted due to arthralgia, vomiting, and joint edema, hepatosplenomegaly (2 and 5 cm). Generalized tonic-clonic seizure lasting 3 minutes during admission.

In March 1981 (5 years old) he was referred to Hospital La Fe; consultation to ophthalmology

clonica generalizata cu durata de 3 minute în timpul internării.

În martie 1981 (5 ani) a fost îndrumat la Spitalul La Fe; Interconsultatie la oftalmologie FĂRĂ constatări, Radiografie și CT FĂRĂ constatări cu excepția hepatosplenomegaliei. Creștere moderată a IgA și IgG. Anticorpilor antinucleari NEGATIVI. Studiu de măduvă osoasă coincident cu neutropenia - deprimarea seriei roșii, resturile megaloblastice și modelul anemiei inflamatorii, stoparea maturării discrete a seriei granulocitare la nivelul mielocitelor, cu resturi megaloblastice. Două episoade de convulsii tonico-clonice în timpul internării cu comă timp de 2 zile. Sepsis cauzat de Pseudomonas Aeruginosa, când este detectată leucopenie, anemie feriprivă, Coombs direct negativ, coagulare normală, C3 și C4 normale, PCR negativ, VSH crescut la toate marcorii. Mantoux negativ, titruri reziduale de Parainfluenza III și herpes simplex, aglutinații negative Typhicas și Paratyphicas și Brucella. Diagnosticul diferențial în această internare a lupusului eritematos sistemic în crize și implicare neurologică vs purpura Scholein- Henoch cu evoluție atipică.

O altă internare în același an la Spitalul La Fe, din cauza vomei, durerilor abdominale și febrei, prezentând și amigdalita și erupții cutanate, cu diagnosticul de Scarlatina.

În 1982 (6 ani) a fost internat pentru biopsie hepatică și i s-a depistat pneumonie subsegmentară.

În 1984 (8 ani), a fost internat cu purpură Scholein-Henoch, prezentând voma, umflături și impotență funcțională atât a gleznelor, cât și a coatelor, erupție cutanată predominant la nivelul membrelor inferioare, cu dureri abdominale sporadice, splenomegalie marcată la ecocardiografia abdominală, efectuate în timpul internării. În plus, a prezentat un hematom duodenal intramural care s-a ameliorat după corticosteroizi și nutriție parenterală, în analiza de sânge evidențiind limfopenie marcată, hiper IgG și IgA cu niveluri normale de IgM. C3 și C4 normale cu ANA și anti ADN negativ.

În 1986 (10 ani) a prezentat în 3 ocazii hematurie macroscopică cu aspect parenchimos, care coincide cu infecții

without specific findings, Radiography and CT without specific findings except for hepatosplenomegaly. Moderate increase in IgA and IgG. ANA NEGATIVE. Bone marrow study coincident with neutropenia - depression of red series, megaloblastic remains and inflammatory anemia pattern, discrete maturational arrest of granulocytic series at the myelocyte level, with megaloblastic remains. Two episodes of tonic-clonic seizures during admission with coma for 2 days. Sepsis due to Pseudomonas Aeruginosa, when leukopenia is detected, iron deficiency anemia, negative direct Coombs, normal coagulation, normal C3 and C4, negative PCR, elevated ESR in all controls. Negative Mantoux, residual titers of Parainfluenza III and herpes simplex, Negative Typhicas and Paratyphicas and Brucella agglutinations.

Differential diagnosis during this admission of systemic lupus erythematosus in flares and neurological involvement vs Scholein-Henoch purpura of atypical course.

Another admission the same year to Hospital La Fe, due to vomiting, abdominal pain and fever, also presenting tonsillitis and rash, with the diagnosis of Scarlet Fever.

In 1982 (6 years old) he was admitted for liver biopsy and subsegmental pneumonia was detected.

In 1984 (8 years old), he was admitted due to Scholein-Henoch purpura, presenting with vomiting, swelling, and functional impotence of both ankles and elbows, rash predominantly on the lower limbs, with sporadic abdominal pain, marked splenomegaly on abdominal echocardiography performed during entry. In addition, he presented an intramural duodenal hematoma that improved after corticosteroids and parenteral nutrition, in the blood analysis he highlighted marked lymphopenia, hyper IgG and IgA with normal IgM levels. C3 and C4 normal with ANA and anti DNA antibodies negative.

In 1986 (10 years old) he presented macroscopic hematuria with a parenchymal cause on 3 occasions, coinciding with acute respiratory infections, intercrisis microhematuria without proteinuria, with normal blood pressure and glomerular filtration rate. Prednisone 2mg/kg was started after an episode of fever and arthralgia with great clinical improvement, decreased

respiratorii acute, microhematurie intercriză fără proteinurie, cu tensiune arterială normală și filtrare glomerulară normală. Prednisona 2mg/kg a fost inițiat după un episod de febră și artralgie cu o ameliorare clinică importantă, scăderea splenomegaliei și tendința de normalizare a anemiei, leucopeniei și trombocitopeniei. Scăderea VSG și ASLO. Durata totală a tratamentului cu corticosteroizi a fost 1 an.

În 1991 (15 ani) a fost internat din cauza unui caz de slăbiciune musculară la membrele inferioare și diplopie. A prezentat diaree cu 5 zile înainte, depistând în analize hiper IgG cu hiper IgA și niveluri normale de IgM, VSH crescut, splenomegalie. Exotropia care condiționează diplopie. EMG: radiculopatie lombosacrală bilaterală de posibilă etiologie disimună, cu ameliorare în următorii 2 ani.

Martie 2010 diagnosticat cu limfom Hodgkin limfocitar nodular CD20+ stadiul IIA (Ann Arbor, Bulky). După trei cicluri de ABVD-RTX și radioterapie, a fost obținută remisiunea completă.

Ianuarie 2012 arată o creștere a activității metabolice la nivel cervical, axilar și iliac intern stâng. Nu sunt adenopatii palpabile.

Ianuarie 2013 este palpabil un nodul submandibular drept de 2 cm. PAAF fără rezultate concludente.

Mai 2013 Anemia hemolitică autoimună cu răspuns bun la glucocorticoizi.

În ianuarie 2014 a fost internat din cauza trombocitopeniei de origine imună probabilă, răspuns bun la tratament cu corticosteroizi, coincizând cu o infecție respiratorie acută.

Decembrie 2014 Herpes zoster pe coapsa stanga tratat cu Famciclovir.

Februarie 2015 PETAC și biopsie ulterioară adenopatie laterocervicală (foliculi transformați progresiv fără semne de malignitate) și amigdalectomie (fără constatări patologice).

Iunie 2019 trombocitopenie de origine periferică probabilă (vaccinat împotriva febrei galbene cu o săptămână înainte), tratat cu Dexametazonă 40 mg/zi x 4 zile.

Octombrie 2020 Trombocitopenie ușoară (58.000 de trombocite) probabil legată de vaccinarea antigripală.

Februarie 2021. Trombocitopenie (30.000 trombocite) tratată cu Dexametazonă 40mg x

splenomegalie și o tendință spre normalizare a anemiei, leucopeniei și trombocitopeniei. Scăderea ESR și ASLO. Durata totală a tratamentului cu corticosteroizi a fost 1 an.

În 1991 (15 ani) a fost internat din cauza unui caz de slăbiciune musculară la membrele inferioare și diplopie. A prezentat diaree cu 5 zile înainte, depistând în analize hiper IgG cu hiper IgA și niveluri normale de IgM, VSH crescut, splenomegalie. Exotropia care condiționează diplopie. EMG: radiculopatie lombosacrală bilaterală de posibilă etiologie disimună, cu ameliorare în următorii 2 ani.

March 2010 diagnosticat cu stage IIA CD20+ nodular lymphocytic Hodgkin lymphoma Ann Arbor classification, Bulky. După trei cicluri de ABVD-RTX și radioterapie, a fost obținută remisiunea completă.

January 2012 shows an increase in metabolic activity at the cervical, axillary, and left internal iliac level. No adenopathies are palpable.

January 2013 a 2cm right submandibular nodule is palpable. PAAF without conclusive results.

May 2013 Autoimmune Hemolytic Anemia with good response to glucocorticoids.

In January 2014, he was admitted due to thrombocytopenia of probable immune origin, good response to steroids, coinciding with an IVRA (with epistaxis).

December 2014 Herpes Zoster on the LEFT thigh treated with Famciclovir.

February 2015 PETAC and subsequent biopsy laterocervical adenopathy (progressively transformed follicles with no evidence of malignancy) and tonsillectomy (no pathological findings).

June 2019 thrombocytopenia of probable peripheral origin (vaccinated against yellow fever a week before), treated with Dexamethasone 40 mg/day x 4 days.

October 2020 Mild thrombocytopenia (58,000 platelets) probably related to influenza vaccination.

February 2021. Thrombocytopenia (30,000 platelets) treated with Dexamethasone 40mg x 4 days. Bone marrow biopsy without evidence of malignancy.

**03/04/2021 PETAC**

4 zile. Biopsie de măduvă osoasă fără dovezi de malignitate.

### **03.04.2021 PETAC**

Normalizarea metabolismului în majoritatea adenopatiilor cunoscute.

Activitatea metabolică persistă în axila dreaptă, pelvis și regiunea inghinală stanga (intensitate mai mică decât studiul anterior).

### **22.03.2021 Aspirat de măduvă osoasă:**

Seria rosie prezintă maldistributie a Hb, corpi Howell-Jolly >10%, unele cu caracteristici ale limfoblastelor. Corpurile Redd-Stenberg NU sunt observate.

Colorația PERLS arată scăderea fierului eritroblastic și a fierului macrofag

Concluzie: normocelulare fără semne de morfologie de infiltrare din cauza bolii Hodgkin sau a sindromului mielodisplazic.

**Citometrie în flux:** 1% din părinții B în diferite stadii de maturare. 0,7% din celulele B exprimă CD45+/CD10+/CD20+/CD38+, cu posibilă restricție a lanțului ușor lambda.

Concluzie: Studiu neconcludent pentru Diagnosticul Sindrom limfoproliferativ-B

**Diagnostic patologic:** Măduva osoasă ușor hipocelulară cu prezența celor trei serii (agregate de forme macrocitare din seria eritroidă).

### **04.08.2021 Citometrie în flux de sânge periferic**

Populația policlonală limfoid B

În mai 2021 se prezintă la consultația de Imunologie (cu Dr. Padure) de la Spitalul HM Montepincipe (Madrid), unde după o anamneză exhaustivă se ajunge la un diagnostic de posibil sindrom al ALPS, în așteptarea unui studiu specific pentru confirmare.

Iulie 2021 studiat de către serviciul de imunologie de la Spitalul la Paz Madrid unde se efectuează studiul genetic.

### **Rezultatul genetic (27.10.2021)**

Varianta mutatie în gena FAS: NM-000043.6: c.725T>C p.(Leu242Pro) în heterozigoza, considerată probabil patogenică, mostenire autozomal dominantă.

Prin urmare, este diagnosticat cu ALPS (sindrom limfoproliferativ autoimun) imunodeficiență primară care apare odată cu

Normalizarea de metabolism în cele mai cunoscute adenopatii.

Metabolic activity persists in the right armpit, pelvis, and LEFT inguinal region (lower intensity than previous study)

### **03/22/2021 Bone Marrow Aspirate:**

The red series shows maldistribution of Hb, Howell-Jolly bodies 10%+, some with characteristics of lymphoblasts. Redd-Stenberg bodies are NOT observed.

PERLS staining shows decreased erythroblastic iron and macrophage iron

Conclusion: normocellular with no evidence of infiltration morphology due to Hodgkin's disease or myelodysplastic syndrome.

**Flow cytometry:** 1% of B parents in different stages of maturation. 0.7% of B cells express CD45+/CD10+/CD20+/CD38+, with possible lambda light chain restriction.

Conclusion: Inconclusive study for SLP-B

**Pathological Diagnosis:** Bone marrow slightly hypocellular with the presence of the three series (aggregates of macrocytic forms in the erythroid series).

### **04/08/2021 Peripheral Blood Flow Cytometry**

Polyclonal B Lymphoid Population  
May 2021: The patient comes to the Immunology consultation (with Dr. Padure) at the HM Montepincipe Hospital (Madrid), where after an exhaustive anamnesis, a diagnosis of possible ALPS is reached, pending specific study for confirmation.

July 2021 enters into follow-up by the immunology service at Hospital la Paz Madrid where the genetic study is carried out.

### **Genetics (10/27/2021)**

Variant mutation in the FAS gene: NM-000043.6: c.725T>C p.(Leu242Pro) in heterozygosis, considered probably pathogenic, autosomal dominant inheritance.

Therefore, he is diagnosed with ALPS (Autoimmune Lymphoproliferative Syndrome) Primary immunodeficiency that occurs with elevation of alpha beta CD4-/CD8-T lymphocytes.

### **10/21/21 PETAC**

Slight increase in size and activity in supra and infradiaphragmatic adenopathies, already present in previous exploration, metabolic stability in splenic parenchyma.



creșterea limfocitelor alfa beta CD4-/CD8-T (dublu negative).

21.10.21 PETAC

Creșterea usoară a dimensiunii și activității în adenopatiile supra și infradiaphragmatice, deja prezente în explorarea anterioară, stabilitate metabolică în parenchimul splenic.

2022 -> Prezent Se efectuează mai multe PETAC unde adenopatiile metabolice supra și infradiaphragmatice persistă cu creștere difuză a activității splenice, fără criterii de progresie.

04/07/22 PETAC

Studiu care arată la nivel global stabilitatea ganglionului limfatic cunoscut și a implicării splenice, fără alte constatări.

27/10/22 Studiu de anticorpi antiplachetari  
NEGATIV

(dectia și diferențierea antiplachetare CA și Anti-HLA clasa IgG CA. Anti-HPA 5 b(MFI1430-1878) CA fără alte specificități anti-HPA nu sunt detectați.

19.01.23 PETAC

Îmbunătățirea adenopatiilor axilare cunoscute și rezoluția hipermetabolismului splenic.  
sau 05/04/23 Urologie cu ultrasunete - Îngroșarea veziculei seminale stângă, deja vizibilă pe CT ianuarie 2015.

**Anamneza de familie:** în 2009 fratele de 28 de ani a murit din cauza unui infarct de miocard.

### Explorări complementare

**Studiul trombofiliei:** homozigot cu mutație pentru gena MTHFR, niveluri de homocisteină 8.3 (normal).

Parvovirus, CMV, Toxoplasma, EBV – NEGATIV.

VHB, VHC, HIV – NEGATIV.

### CONCLUZII

- ALPS este o patologie de reglare imună cauzată de modificări genetice care afectează fenomenul de apoptoză limfocitară și se caracterizează prin dereglarea sistemului imunitar.
- Genele afectate în ALPS sunt FAS sau TNFRSF6, FASLG sau TNFSF6, CASP10, PRCKD.

2022 -> Present Several PETACs are performed where supra and infradiaphragmatic metabolic adenopathies persist with diffuse increase in splenic activity, without progression criteria.

04/07/22 PETAC

Study that globally shows stability of the known lymph node and splenic involvement, with no other findings.

10/27/22 Antiplatelet Antibodies Study  
NEGATIVE

(detection and differentiation of antiplatelet CA and Anti-HLA class I IgG CA. Anti-HPA 5 b(MFI1430-1878) CA without other anti-HPA specificities are not detected.

01/19/23 PETAC

Improvement of known axillary adenopathies and resolution of splenic hypermetabolism.

05/04/23 Ultrasound Urology

Thickening of the LEFT seminal vesicle, already visible on CT January 2015

### **Family background:**

2009 Brother passed away from Myocardial Infarction

### **Complementary explorations**

**Thrombophilia Study** - Homozygous mutated for the MTHFR gene, homocysteine levels 8.3 (normal)

Parvovirus, CMV, Toxoplasma, EBV – NEGATIVE.

HBV, HCV, HIV – NEGATIVE.

### CONCLUSIONS

- ALPS is an immune regulation disorder caused by genetic alterations that affect the phenomenon of lymphocyte apoptosis and is characterized by dysregulation of the immune system.
- Genes affected in ALPS are FAS or TNFRSF6, FASLG or TNFSF6, CASP10, PRCKD.
- There are conditions with similar manifestations with mutations in the CASP8, KRAS and NRAS genes.
- ALPS is a rare disease, underdiagnosed and whose incidence is unknown, but due to its clinical manifestations it can be confused with other pathologies, especially

- Există afecțiuni cu manifestări similare cu mutații ale genelor CASP8, KRAS și NRAS.
- ALPS este o boală rară, subdiagnosticată și a cărei incidență este necunoscută, dar datorită manifestărilor sale clinice poate fi confundată cu alte patologii, în special hemato-oncologice.
- ALPS-sFAS și ALPS-FAS sunt cele mai frecvente tipuri de ALPS și sunt cauzate de mutații somatice și, respectiv, germinale ale genei FAS. În cazuri rare, ALPS este cauzată de mutații ale genelor care codifică ligandul FAS (ALPS-FASLG) sau CASP10 (ALPS-CASP10).
- Fenotipul ALPS rezultă din incapacitatea de a regla homeostazia limfocitelor din cauza apoptozei defectuoase mediate de calea ligandului FAS (FASLG). Defectele acestei căi conduc la extinderea populațiilor de limfocite specifice antigenului. De asemenea, FAS pare să joace un rol în suprimarea transformării maligne a limfocitelor.
- Caracteristicile clinice ale ALPS sunt boala limfoproliferativă cronică nemalignă, citopeniile autoimune și predispoziția la malignitate.
- Tratamentul ALPS are ca scop inducerea remisiunii procesului autoimun și a limfadenopatiei
- prin utilizarea de steroizi și imunosupresoare.
- Tratamentul curativ este transplantul de celule progenitoare hematopoietice, mai ales în cazurile severe. Prognosticul pe termen lung este în general bun, cu risc latent de apariție a limfoamelor, însă se deteriorează atunci când splina este înlăturată.
- Câteva întrebări la care se va răspunde în următorul deceniu sunt utilitatea diagnostică a nivelurilor de vitamina B12 și DNT, precum și semnificația creșterii acestuia din urmă.
- hemato- oncology.
- ALPS-sFAS and ALPS-FAS are the most common types of ALPS and are caused by somatic and germline mutations, respectively, in the FAS gene. In rare cases, ALPS is caused by mutations in the genes encoding FAS ligand (ALPS-FASLG) or CASP10 (ALPS- CASP10).
- The ALPS phenotype results from the inability to regulate lymphocyte homeostasis due to defective apoptosis mediated by the FAS ligand (FASLG) pathway. Defects in this pathway lead to expansion of antigen-specific lymphocyte populations. FAS also appears to play a role in suppressing malignant transformation of lymphocytes.
- The clinical features of ALPS are nonmalignant chronic lymphoproliferative disease, autoimmune cytopenias, and predisposition to malignancy.
- ALPS treatment is aimed at inducing remission of the autoimmune process and
- lymphadenopathy through the use of steroids and immunosuppressants.
- The curative treatment is hematopoietic progenitor cell transplantation, especially in severe cases. The long-term prognosis is generally good, with the latent risk of developing lymphomas, however, it deteriorates when the spleen is removed.
- Some questions to be answered in the next decade are the diagnostic utility of vitamin B12 and DNT levels, as well as the meaning of the elevation of these parameters.

**Cuvinte cheie:** sindrom limfoproliferativ autoimun, gena FAS, celule T dublu negative

**Keywords:** autoimmune lymphoproliferative syndrome, FAS gene, double negative T cells

#### Abrevieri și acronime

#### Abbreviations and acronyms

ALP, sindrom limfoproliferativ autoimun	ALP, autoimmune lymphoproliferative syndrome
ALPS-FAS, ALPS din cauza mutațiilor liniei germinale ale genei FAS	ALPS-FAS, ALPS due to germline mutations in the FAS gene
ALPS-sFAS, ALPS datorită mutațiilor somatice ale genei FAS	ALPS-sFAS, ALPS due to somatic mutations in the FAS gene
ALPS-U, ALPS cu cauza genetica nedeterminată	ALPS-U, ALPS with undetermined genetic cause
CASP, caspaza	CASP, caspase
DNT, celule T dublu negative	DNT, double negative T cells
FADD, domeniul decesului asociat FAS	FADD, FAS-associated death domain
FASLG, ligand FAS	FASLG, FAS ligand
GOF, gain of function	GOF, gain of function
IgIV, imunoglobulină intravenoasă	IVIG, intravenous immunoglobulin
mTOR, ținta mecanicistă a rapamicinei	mTOR, mechanistic target of rapamycin
NIH, National Institutes of Health	NIH, National Institutes of Health
HSCT, transplant de celule stem hematopoietice	HSCT, hematopoietic stem cell transplantation

## REFERENCES

1. WORTH, A., THRASHER, A.J., GASPAR, H.B. Autoimmune lymphoproliferative syndrome: molecular basis of disease and clinical phenotype. In: *Br J Hematol.* 2006; 133(2): 124-140. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2006.05993.x
2. International Union of Immunological Societies Expert Committee on Primary Immunodeficiencies, NOTARANGELO, L.D., FISCHER, A., GEHA, R.S. et al. Primary immunodeficiencies: 2009 update. In: *J Allergy Clin Immunol.* 2009; 124(6): 1161-1178. DOI: 10.1016/j.jaci.2009.10.013
3. CANALE, V.C., SMITH, C.H. Chronic lymphadenopathy simulating malignant lymphoma. In: *J Pediatrics.* 1967; 70(6): 891-899. DOI: 10.1016/s0022-3476(67)80262-2
4. SEIF, A.E., MANNO, C.S., SHEEN, C., GRUPP, S.A., TEACHEY, D. Identifying autoimmune lymphoproliferative syndrome in children with Evans syndrome: a multi-institutional study. In: *Blood.* 2010; 115(11): 2142-2145. DOI: 10.1182/blood-2009-08-239525
5. STEPENSKY, P., RENSING-EHL, A., GATHER, R. et al. Early-onset Evans syndrome, immunodeficiency, and premature immunosenescence associated with tripeptidyl-peptidase II deficiency. In: *Blood.* 2015; 125(5): 753-761. DOI: 10.1182/blood-2014-08-593202
6. BLEESING, J.J. Autoimmune lymphoproliferative syndrome: a genetic disorder of abnormal lymphocyte apoptosis. In: *Immunol Allergy Clin North Am.* 2002; 22: 339-355.
7. BLEESING, J.J., FLEISHER, T.A., PUCK, J.M. et al. Autoimmune lymphoproliferative syndrome. In: Stiehm RE, Ochs HD, Winkelstein JA, Rich E (editores). *Immunologic disorders of infant and children. EE. UU.: Elsevier;* 2004.
8. RIEUX-LAUCAT, F., BLACHERE, S., DANIELAN, S. et al. Lymphoproliferative syndrome with autoimmunity: a possible genetic basis for dominant expression of the clinical manifestations. In: *Blood.* 1999; 94(8): 2575-2582.
9. RIEUX-LAUCAT, F., LE DIEST, F., HIVROZ, C., et al. Mutations in Fas associated with human lymphoproliferative syndrome and autoimmunity. In: *Science.* 1995; 268(5215): 1347-1349. DOI: 10.1126/science.7539157
10. RIEUX-LAUCAT, F. Le syndrome lymphoprolifératif avec auto-immunité. Un défaut hérité ou acquis d'apoptose lymphocytaire. In: *Med Sci.* 2006; 22(6-7): 645-649. DOI: 10.1051/medsci/20062267645
11. LE DEIST, F., EMILE, J.F., RIEUX-LAUCAT, F. et al. Clinical, immunological, and pathological consequences of Fas-deficient conditions. In: *Lancet.* 1996; 348(9029): 719-723. DOI: 10.1016/S0140-6736(96)02293-3

12. SNELLER, M.C, WANG, J., DALE, J.K., et al. Clinical, Immunologic and genetic features of an autoimmune lymphoproliferative syndrome associated with abnormal lymphocyte apoptosis. In: *Blood*. 1997; 89(4): 1341-1347.
13. OLIVEIRA, J.B., BIDERRE, N., NIEMELA, J.E., et al. NRAS mutation causes a human autoimmune lymphoproliferative syndrome. In: *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007; 204(21): 8953-8958. DOI: 10.1073/pnas.0702975104
14. HOLZELOVA, E., VONARBOURG, C., STOLZENBERG, M.C., et al. Autoimmune lymphoproliferative syndrome with somatic Fas mutations. In: *N Engl J Med*. 2004; 351(14): 1409-1418. DOI: 10.1056/NEJMoa040036
15. RAO, V.K., OLIVEIRA, J.B. How I treat autoimmune lymphoproliferative syndrome. In: *Blood*. 2011; 118(22): 5741-5751. DOI: 10.1182/blood-2011-07-325217
16. WANG, J., ZHENG, L., LOBITO, A., et al. Inherited HUMAN Caspase 10 mutations underlie defective lymphocyte and dendritic cell apoptosis in autoimmune lymphoproliferative syndrome type II. In: *Cell*. 1999; 98(1): 47-58. DOI: 10.1016/S0092-8674(00)80605-4
17. RIEUX-LAUCAT, F, MAGÉRUS-CHATINET, A., NEVEN, B. The autoimmune lymphoproliferative syndrome with defective FAS or FAS-ligand functions. In: *J Clin Immunol*. 2018; 38(5): 558-568. DOI:10.1007/s10875-018-0523-x
18. WU, J., WILSON, J., HE, J., Fas ligand mutation in a patient with systemic lupus erythematosus and lymphoproliferative disease. In: *J Clin Invest*. 1996; 98(5): 1107-1113. DOI: 10.1172/JCI118892
19. KASAHARA, Y., WADA, T., NIIDA, Y., et al. Novel Fas (CD95/APO-1) mutations in infants with a lymphoproliferative disorder. In: *Int Immunol*. 1998; 10(2): 195-202. DOI: 10.1093/intimm/10.2.195
20. VAN DER BURG, M., DE GROOT, R., COMANS-BITTER, W.M., et al. Autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS) in a child from consanguineous parents: a dominant recessive disease? In: *Pediatr Res*. 2000; 47(3): 336-343. DOI: 10.1203/00006450-200003000-00009
21. GROMBAEK, K., DALBY, T., ZEUTHEN, J., et al. The V4101 (G1228A) variant of caspase-10 gene is a common polymorphism of the Danish populations. In: *Blood*. 2000; 95: 2184-2185.
22. CHUN, H.J., ZHENG, L., AHMAD, M., et al. Pleiotropic defects in human lymphocyte activation caused by caspase-8 mutations lead to human immunodeficiency. In: *Nature*. 2002; 419(6905): 395-399. DOI: 10.1038/nature01063
23. LAMBOTTE, O., NEVEN, B., GALICIER, L., et al. Diagnosis of autoimmune lymphoproliferative syndrome caused by FAS deficiency in adults. In: *Haematologica*. 2012; 98(3): 389-392. DOI: 10.3324/haematol.2012.067488
24. HANSFORD, J.R., PAL, M., POPLAWSKI, N., et al. In utero and early postnatal presentation of autoimmune lymphoproliferative syndrome in a family with a novel FAS mutation. In: *Haematologica*. 2013; 98(4): e-38-e-39. DOI:10.3324/haematol.2012.070524
25. JACKSON, C.E., PUCK, J.M. Autoimmune lymphoproliferative syndrome, a disorder of apoptosis. In: *Curr Opin Pediatr*. 1999; 11(6): 521-527. DOI: 10.1097/00008480-199912000-00009
26. SPECKMAN, C., ROHR, J., EHL, S. Genetic disorders of immune regulation in primary immunodeficiency diseases. In: *Monatsschr Kinderheilkd*. 2009; 157: 878. DOI: 10.1007/s00112-009-1988-8
27. RUDMAN-SPERGEL, A., WALKOVICH, K., PRICE, S., et al. Autoimmune lymphoproliferative syndrome misdiagnosed as hemophagocytic lymphohistiocytosis. In: *Pediatrics*. 2013; 132(5): e1440-e1444. DOI: 10.1542/peds.2012-2748
28. TEACHEY, D.T., MANNO, C.S., AXSOM, K.M., et al. Unmasking Evans syndrome: T cell phenotype and apoptotic response reveal autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS). In: *Blood*. 2005; 105(6): 2443- 2448. DOI: 10.1182/blood-2004-09-3542
29. SEIF, A., MANNO, C., GRUPP, S., et al. Testing Patients with Evans syndrome for the

- autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS): results of a large multi- institutional clinical trial (ASPHO supplement). In: *Pediatr Blood Cancer*. 2008; 50: S22- S23.
30. STRAUS, S.E., JAFFE, E.S., PUCK, J.M., et al. The development of lymphomas in families with autoimmune lymphoproliferative syndrome with germline Fas mutations and defective lymphocyte apoptosis. In: *Blood*. 2001; 98(1): 194-200. DOI: 10.1182/blood.v98.1.194
  31. RUSSELL, T.B., KURRE, P. Double negative T cells are non-ALPS-specific markers of immune dysregulation found in patients with aplastic anemia. In: *Blood*. 2010; 116(23): 5072-5073. DOI: 10.1182/blood-2010-09-306910
  32. OLIVEIRA, J.B., BLEESING, J.J., DIANZANI, U., et al. Revised diagnostic criteria and classification for the autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS): report from 2009 NIH International Workshop. In: *Blood*. 2010; 116(14): e35-e40. DOI: 10.1182/blood-2010-04-280347
  33. BOWEN, A.R., DOWDELL, K.C., DALE, J.K., et al. Elevated vitamin B12 levels in autoimmune lymphoproliferative syndrome attributable to elevated haptocorrin in lymphocytes. In: *Clin Biochem*. 2012; 45(6): 490-492. DOI: 10.1016/j.clinbiochem.2012.01.016
  34. MINEMURA, H., IKEDA, K., TANINO, Y., et al. Multicentric Castleman's disease with impaired lymphocytic apoptosis. In: *Allergology Int*. 2015; 64(1): 112-114. DOI: 10.1016/j.alit.2014.08.009
  35. TEACHEY, D.T. Targeting cytokines in ALPS: it's FASHionable. In: *Blood*. 2014; 123(8): 1116-1118. DOI: 10.1182/blood-2014-01-546713
  36. BARZAGHI, F., MINNITI, F., MAURO, M, et al. ALPS-like phenotype caused by ADA2 deficiency rescued by allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. In: *Front Immunol*. 2019; 9:2767. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02767
  37. FERNÁNDEZ, K.S., ANTONY, R., KUMAR A. Patients with "ALPS-like phenotype" diagnosed with immune dysregulation due to LRBA deficiency. *Pediatr Blood Cancer*. 2019;66(3):e27558. DOI: 10.1002/pbc.27558
  38. SCHIPP, C., SCHLÜTERMANN, D., HÖNSCHEID, A., et al. EBV negative lymphoma and autoimmune lymphoproliferative syndrome like phenotype extend the clinical spectrum of primary immunodeficiency caused by STK4 deficiency. *Front Immunol*. 2018;9:2400. DOI: 10.3389/fimmu.2018.02400
  39. TAKAGI, M., OGATA, S., UENO, H., et al. Haploinsufficiency of TNFAIP3 (A20) by germline mutation is involved in autoimmune lymphoproliferative syndrome. In: *J Allergy Clin Immunol*. 2017; 139(6): 1914-1922. DOI: 10.1016/j.jaci.2016.09.038
  40. TEACHEY, D.T., OBZUT, U.A., AXSOM, K., et al. Rapamycin improves lymphoproliferative disease in murine autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS). In: *Blood*. 2006; 108(6): 1965-1971. DOI: 10.1182/blood-2006-01-010124
  41. RIEUX-LAUCAT, F., MAGÉRUS-CHATINET, A., NEVEN, B. The autoimmune lymphoproliferative syndrome with defective FAS or FAS-ligand functions. In: *J Clin Immunol*. 2018;38(5):558-568. DOI: 10.1007/s10875-018-0523-x
  42. VÖLKL, S., RENSING-EHL, A., ALLGÄUER, A., et al. Hyperactive mTOR pathway promotes lymphoproliferation and abnormal differentiation in autoimmune lymphoproliferative syndrome. In: *Blood*. 2016; 128(2): 227-238. DOI: 10.1182/blood-2015-11-685024
  43. KLEMANN, C., ESQUIVEL, M., MEGENS-OHETINET, A., et al. Evolution of disease activity and biomarkers on and off rapamycin in 28 patients with autoimmune lymphoproliferative syndrome. In: *Haematologica*. 2017; 102(2): e52- e56. DOI: 10.3324/haematol.2016.153411
  44. SHAH, S., WU, E., RAO, V.K., TARRANT, T.K. Autoimmune lymphoproliferative syndrome: an update and review of the literature. In: *Curr Allergy Asthma Rep*. 2014; 14(9): 462. DOI: 10.1007/s11882-014-0462-4
  45. RAO, V.K., PRICE, S., PERKINS, K., et al. Use of mycophenolate mofetil in children with chronic, refractory immune cytopenias associated with autoimmune lymphoproliferative

- syndrome (ALPS). In: *Pediatr Blood Cancer*. 2009; 52(6): 697.
46. HEELAN, B.T., TORMEY, V., AMLOT, P., et al. Effect of anti CD20 (rituximab) on resistant thrombocytopenia in autoimmune lymphoproliferative syndrome. In: *Br J Haematol*. 2002; 118(4): 1078-1081. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2002.03753.x
  47. RAO, V.K., CARRASQUILLO, J.A., DALE, J.K., et al. Fluorodeoxyglucose positron emission tomography (FDG-PET) for monitoring lymphadenopathy in the autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS). In: *Am J Hematol*. 2006; 81(2): 81-85. DOI: 10.1002/ajh.20523
  48. BLEESING, J.J. Autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS). In: *Curr Pharm Des*. 2003; 9: 265.
  49. RIEUX-LAUCAT, F., FISCHER, A., DEIST, F.L. Cell-death signaling and human disease. In: *Curr Opin Immunol*. 2003; 15(3): 325-331. DOI: 10.1016/s0952-7915(03)00042-6
  50. VAN DER WERFF-TEN-BOSCH, J., OTTEN, J., THIELEMANS, K. Autoimmune lymphoproliferative syndrome type III: an indefinite disorder. In: *Leuk Lymphoma*. 2001; 41(1-2): 55-65. DOI: 10.3109/10428190109057954
  51. VAN DER WERFF-TEN-BOSCH, J., SCHOTTE, P., FERSTER, A., et al. Reversion of autoimmune lymphoproliferative syndrome with an antimalarial drug: preliminary results of a clinical cohort study and molecular observations. In: *Br J Haematol*. 2002; 117(2): 176-188. DOI: 10.1046/j.1365-2141.2002.03357.x
  52. RAO, V.K., DUGAN, F., DALE, J.K., et al. Use of mycophenolate mofetil for chronic, refractory immune cytopenias in children with autoimmune lymphoproliferative syndrome. In: *Br J Haematol* 2005; 129: 534.
  53. RAO, V.K., PRICE, S., PERKINS, K., et al. Use of rituximab for refractory cytopenias associated with autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS). In: *Pediatr Blood Cancer*. 2009; 52(7): 847-852. DOI: 10.1002/psc.21965
  54. DIMOPOULOU, M.N., GANDHI, S., GHEVAERT, C., et al. Successful treatment of autoimmune lymphoproliferative syndrome and refractory autoimmune thrombocytopenic purpura with a reduced intensity conditioning stem cell transplantation followed by donor lymphocyte infusion. In: *Bone Marrow Transplant*. 2007; 40(6): 605-606. DOI: 10.1038/sj.bmt.1705775
  55. CAMINHA, I., FLEISHER, T., HORNUNG, R.L., et al. Using biomarkers to predict the presence of FAS mutations in patients with features of the autoimmune lymphoproliferative syndrome. In: *J Allergy and Clin Immunol*. 2010;125(4):946-949. DOI: 10.1016/j.jaci.2009.12.983
  56. HOLLER, N., TARVIDEL, A., KOVACSOVICS-BANKOWSKI, M., et al. Two adjacent trimetric Fas ligands are required for Fas signaling and formation of a death inducing signaling complex. In: *Mol Cell Biol*. 2003; 23(4): 1428-1440. DOI: 10.1128/mcb.23.4.1428-1440.2003
  57. TEACHEY, D.T., GREINER, R., SEIF, A., et al. Treatment with sirolimus results in complete responses in patients with autoimmune lymphoproliferative syndrome. In: *Br J Haematol*. 2009;145(1):101-106. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2009.07595.x
  58. NEVEN, B., MAGERUS-CHATINET, A., FLORKIN, B., et al. A survey of 90 patients with autoimmune lymphoproliferative syndrome related to TNFRSF6 mutation. In: *Blood*. 2011; 118(18): 4798. DOI: 10.1182/blood-2011-04-347641
  59. TEACHEY, D.T. New advances in the diagnosis and treatment of autoimmune lymphoproliferative syndrome. In: *Curr Opin Pediatr*. 2012; 24(1): 1-8. DOI: 10.1097/MOP.0b013e32834ea739.
  60. RUSSELL, T.B., KURRE, P. Double-negative T cells are non-ALPS-specific markers of immune dysregulation found in patients with aplastic anemia. In: *Blood*. 2010; 116(23): 5072-5073. DOI: 10.1182/blood-2010-09-306910
  61. PACE, R., VINH, D.C. Autoimmune lymphoproliferative syndrome and Epstein-Barr virus-associated lymphoma: an adjunctive diagnostic role for monitoring EBV viremia? In: *Case Reports Immunology*. 2013; 2013: 245893. DOI: 10.1155/2013/245893

62. TEACHEY, D.T., SEIF, A.E., GRUPP, S.A. Advances in the management and understanding of autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS). In: *Br J Haematol.* 2010; 148(2): 205-216. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2009.07991.x
63. TEACHEY, D.T., GREINER, R., SEIF, A., et al. Treatment with sirolimus results in complete responses in patients with autoimmune lymphoproliferative syndrome. In: *Br J Haematol.* 2009;145(1):101. DOI: 10.1111/j.1365-2141.2009.07595.x
64. OLIVEIRA, V.D., ZANKL, H., RATH, T. Mutagenic and cytotoxic effects of immunosuppressive drugs on human lymphocyte cultures. In: *Exp Clin Transplant.* 2004; 2(2): 273-279.
65. ISSA, N., KUKLA, A., IBRAHIM, H.N. Calcineurin inhibitor nephrotoxicity: a review and perspective of the evidence. In: *Am J Nephrol.* 2013; 37(6): 602-612. DOI: 10.1159/000351648
66. MIANO, M., CALVILLO, M., PALMISANI, E., et al. Sirolimus for the treatment of multi-resistant autoimmune haemolytic anaemia in children. In: *Br J Haematol.* 2014;167(4):571-574. DOI: 10.1111/bjh.13010
67. BRIDE, K.L., VINCENT, T., SMITH-WHITLEY, K., et al. Sirolimus is effective in relapsed/refractory autoimmune cytopenias: results of a prospective multi-institutional trial. In: *Blood.* 2016; 127(1): 17-28. DOI: 10.1182/blood-2015-07-657981
68. WEI, A., COWIE, T. Rituximab responsive immune thrombocytopenic purpura in an adult with underlying autoimmune lymphoproliferative syndrome due to a splice- site mutation (IVS7 + 2 T > C) affecting the Fas gene. In: *Eur J Haematol.* 2007; 79(4): 363-366. DOI: 10.1111/j.1600-0609.2007.00924.x
69. RAO, V.K., PRICE, S., Perkins, K., et al. Use of rituximab for refractory cytopenias associated with autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS). In: *Pediatr Blood Cancer.* 2009; 52(7): 847-852. DOI: 10.1002/pbc.21965
70. KHANDELWAL, P., DAVIES, S.M., GRIMLEY, M.S., et al. Bortezomib for refractory autoimmunity in pediatrics. In: *Biol Blood Marrow Transplant.* 2014; 20(10): 1654-1659. DOI: 10.1016/j.bbmt.2014.06.032
71. BENKERROU, M., LE DEIST, F., DE VILLARTAY J.P., et al. Correction of Fas (CD95) deficiency by haploidentical bone marrow transplantation. In: *Eur J Immunol.* 1997; 27(8): 2043-2047. DOI: 10.1002/eji.1830270831
72. BOGGIO, E., ARICO, M., MELENSI, M., et al. Mutation of FAS, XIAP, and UNC13D genes in a patient with a complex lymphoproliferative phenotype. In: *Pediatrics.* 2013;132(4):e1052-e1058. DOI: 10.1542/peds.2012-1838
73. ARICO, M., BOGGIO, E., CETICA, V., et al. Variations of the UNC13D gene in patients with autoimmune lymphoproliferative syndrome. In: *PLoS One.* 2013; 8(7): e68045.
74. NEVEN, B., BRUNEAU, J., STOLZENBERG, M.C., et al. Defective anti-polysaccharide response and splenic marginal zone disorganization in ALPS patients. In: *Blood.* 2014; 124(10): 1597-1609. DOI: 10.1182/blood-2014-02-553834
75. Magerus-Chatinet, A., NEVEN, B., STOLZENBERG, M.C., et al. Onset of autoimmune lymphoproliferative syndrome (ALPS) in humans as a consequence of genetic defect accumulation. In: *J Clin Invest.* 2011; 121(1): 106-112. DOI: 10.1172/JCI43752

## **SUSCEPTIBILITATEA MENDELIANĂ LA BOLILE MICOBACTERIENE (MSMD): PROVOCĂRI ACTUALE ÎN DIAGNOSTIC ȘI MANAGEMENT**

**Mahnaz Jamee<sup>1</sup>, Armin Khavandegar<sup>2</sup>,  
Majid Zaki-Dizaji<sup>3</sup>, Seyed Alireza  
Mahdavian<sup>4</sup>**

**<sup>1</sup> Immunology and Allergy Department,  
Mofid Children's Hospital, Shahid  
Beheshti University of Medical Sciences,  
Tehran, Iran**

**<sup>2</sup> Student Research Committee, Alborz  
University of Medical Sciences, Karaj,  
Iran; Non-Communicable Diseases  
Research Center, Alborz University of  
Medical Sciences, Karaj, Iran**

**<sup>3</sup> Legal Medicine Research Center, Legal  
Medicine Organization, Tehran, Iran**

**<sup>4</sup> Pediatric Respiratory Diseases Research  
Center, National Research Institute of  
Tuberculosis and Lung Diseases  
(NRITLD), Shahid Beheshti University of  
Medical Sciences, Tehran, Iran**

### **INTRODUCERE**

Susceptibilitatea mendeliană către maladiile micobacteriene (MSMD) este o eroare înăscută a imunității înăscute, predispunând pacienții la risc crescut față de infecțiile cu specii de micobacterii slab virulente, inclusiv vaccinul Bacillus Calmette-Guérin (BCG) și micobacteriile oportuniste. În această revizuire, ne propunem să elucidăm aspectele demografice, clinice, genetice și terapeutice ale MSMD.

### **METODE**

A fost realizat un reviu sistematic al literaturii, inclusiv a fost evaluat textul integral al articolelor, care raportează cel puțin un pacient cu diagnosticul genetic de MSMD. Din fiecare articol au fost colectate date referitoare la anul publicării, numărul de participanți și datele

## **MENDELIAN SUSCEPTIBILITY TO MYCOBACTERIAL DISEASES (MSMD): CURRENT CHALLENGES IN DIAGNOSIS AND MANAGEMENT**

**Mahnaz Jamee<sup>1</sup>, Armin Khavandegar<sup>2</sup>,  
Majid Zaki-Dizaji<sup>3</sup>, Seyed Alireza  
Mahdavian<sup>4</sup>**

**<sup>1</sup> Immunology and Allergy Department,  
Mofid Children's Hospital, Shahid  
Beheshti University of Medical Sciences,  
Tehran, Iran**

**<sup>2</sup> Student Research Committee, Alborz  
University of Medical Sciences, Karaj,  
Iran; Non-Communicable Diseases  
Research Center, Alborz University of  
Medical Sciences, Karaj, Iran**

**<sup>3</sup> Legal Medicine Research Center, Legal  
Medicine Organization, Tehran, Iran**

**<sup>4</sup> Pediatric Respiratory Diseases Research  
Center, National Research Institute of  
Tuberculosis and Lung Diseases  
(NRITLD), Shahid Beheshti University of  
Medical Sciences, Tehran, Iran**

### **BACKGROUND**

Mendelian susceptibility to mycobacterial diseases (MSMD) is an inborn error of innate immunity, predisposing patients at the risk of infection with weakly virulent mycobacterial species, including Bacillus Calmette-Guérin (BCG) vaccines and environmental mycobacteria. In this review, we aim to elucidate the demographic, clinical, genetic and therapeutic aspects of MSMD.

### **METHODS**

A systematic literature search was performed and the full-text of articles reporting at least one patient with the genetic diagnosis of



genetice, demografice, clinice și imunologice ale pacienților. Toate analizele statistice au fost efectuate folosind software-ul SPSS (v. 26.0, Chicago, IL).

## **REZULTATE**

Au fost evaluate un număr total de 157 de articole din 63 de țări și au fost identificați 823 pacienți. Iran, Turcia, India, Arabia Saudită și Franța au raportat cel mai înalt număr de pacienți cu MSMD. Limfadenopatia a fost cea mai frecventă manifestare clinică a MSMD, fiind identificată în 45,3% din cazuri. Febra, organomegalia și sepsisul au fost următoarele cele mai frecvente constatări clinice, raportate în 30%, 24,7% și, respectiv, 20,8% cazuri. Au fost prezentate 294 de mutații unice în 20 de gene cunoscute în prezent, de tipul missense (34%), in/del (insertie sau ștergere)-frameshift (27%), nonsense (18%), splice site (12%), in/del -in frame (2,7%), InDel (2%) și 12 mutații mari cu deleție/duplicare. La momentul raportării, 21,3% dintre pacienți erau decedați și 71,9% erau în viață. Tratamentul indicat pacienților includea remedii antimicobacteriene (46,7%), IFN-gamma (20,2%) și -alfa (1,9%). Treizeci și nouă de pacienți, în principal cu deficit de receptor de interferon gamma, au beneficiat de transplant de celule stem hematopoietice. Rata mortalității la pacienții transplantați a constituit 33,3%.

## **CONCLUZIE**

MSMD este asociată cu o rată ridicată a mortalității, în principal din cauza eșecului în controlul infecției. Prin urmare, strategiile de pre-expunere, cum ar fi schimbarea politicii de vaccinare în zona endemică, stabilirea unui registru mondial al pacienților cu MSMD și monitorizarea sistematică a succesorilor în familiile afectate, par a fi pași vitali în reducerea ratei mortalității prin MSMD.

MSMD was precisely evaluated. Data related to publication year, the number of participants, and the patients' genetic, demographic, clinical, and immunological data were gathered from each article. All statistical analyses were performed using the SPSS software (v. 26.0, Chicago, IL).

## **RESULTS**

A total number of 157 articles from 63 countries were evaluated and 823 patients were found in the literature. Iran, Turkey, India, Saudi Arabia, and France had the highest number of reported MSMD patients. Lymphadenopathy was the most common MSMD clinical manifestation in 45.3% of cases. Fever, organomegaly, and sepsis were the next most common clinical findings, reported in 30%, 24.7%, and 20.8% cases, respectively. There were 294 unique mutations in 20 currently known genes that consisted of missense (34%), in/del (insertion or deletion)-frameshift (27%), nonsense (18%), splice site (12%), in/del-in frame (2.7%), InDel (2%) and 12 large deletion/duplication mutations. At the time of the report, 21.3% of patients were dead and 71.9% were alive. Antimycobacterial agents (46.7%), IFN-gamma (20.2%) and -alpha (1.9%) were among therapeutic agents. Thirty-nine patients, mainly with interferon gamma receptor deficiency, had received hematopoietic stem cell transplantation. The mortality rate for transplanted patients was 33.3%.

## **CONCLUSION**

MSMD is associated with high mortality rate mainly due to a failure in infection control. Therefore, pre-exposure strategies such as change in the vaccination policy in endemic area, establishing worldwide registry of MSMD patients, and precise follow-up of generations in affected families seems to be vital steps in reducing MSMD mortality rate.

**STAREA REALĂ ȘI  
PERSPECTIVELE DE  
DIAGNOSTIC ȘI TRATAMENT  
AL IMUNODEFICIENȚILOR  
PRIMARE ÎN REPUBLICA  
MOLDOVA**

**Lucia Andrieș**

**Laboratorul de alergologie și imunologie  
clinică**

**Universitatea de Stat de Medicină și  
Farmacie „Nicolae Testemițanu”**

**REAL STATUS AND PROSPECTS OF  
DIAGNOSIS AND TREATMENT  
OF PRIMARY  
IMMUNODEFICIENCY IN THE  
REPUBLIC OF MOLDOVA**

**Lucia Andries**

**Laboratory of Allergology and Clinical  
Immunology**

**"Nicolae Testemițanu" State University of  
Medicine and Pharmacy**

**REZUMAT**

Variabilitatea majoră a defectelor imune cu anomalii structurale și deficiențe funcționale,acompaniate de mutații sau aberații cromozomiale, complică mult diagnosticul și abordarea curativa a maladiilor imunodeficitare (MID). Imunodeficiența primară s-a impus drept o problemă majoră pentru medicina publică, dată fiind complexitatea manifestărilor sale clinice, dificultățile de diagnostic și creșterea impetuoasă a prevalenței maladiilor încadrabile în această definiție.

În Republica Moldova studiile științifice avizate și centrate pe acest subiect au debutat începând cu anul 2015 printr-un proiect desfășurat în cadrul Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu” (USMF Nicolae Testemițanu) și intitulat „Studiul particularităților epidemiologice, clinico-imunologice și molecular-genetice ale maladiilor imunodeficitare cu elaborarea procedeeleor inedite pentru imunoreabilitare”. A urmat asigurarea compartimentelor de suport: pe dimensiunea clinică a fost organizat Centrul de Fibroză Cistică și Boli Rare în baza IMSP Institutul Mamei și Copilului (IMSP IMC), serviciu care a fost completat și cu unitățile necesare de cadre științifice; pentru studiul imunologic s-a acționat în vederea dotării serviciilor abilitate cu echipamente contemporane pentru testarea statusului imun cu aplicarea panelului standard internațional de evaluare a populațiilor și subpopulațiilor limfocitare. Astfel s-a apelat la

**SUMMARY**

The major variability of immune defects with structural anomalies and functional deficiencies, accompanied by mutations or chromosomal aberrations, greatly complicates the diagnosis and curative approach of immunodeficiency diseases (IDDs). Primary immunodeficiency has imposed itself as a major problem for public medicine, given the complexity of its clinical manifestations, the difficulties of diagnosis and the impetuous increase in the prevalence of diseases that fall under this definition.

In the Republic of Moldova, approved and focused scientific studies on this subject began in 2015 through a project carried out within the State University of Medicine and Pharmacy "Nicolae Testemițanu" (USMF Nicolae Testemițanu) and entitled "Study of epidemiological, clinical-immunological peculiarities and molecular-genetics of immunodeficiency diseases with the development of novel procedures for immunorehabilitation". The provision of support compartments followed: on the clinical dimension, the Center for Cystic Fibrosis and Rare Diseases was organized on the basis of Institute of Mother and Child Healthcare (IMCHC), a service that was also completed with the necessary units of scientific staff; for the immunological study, action was taken to equip the competent services with contemporary equipment for testing the immune status with the application of the international standard panel for the

tehnica de citometria în flux cu anticorpi monoclonali anti-CD, metoda ELISA pentru aprecierea concentrației serice sangvine a claselor și subclaselor de imunoglobuline M, G, A și IgE totală, pentru estimarea activității fagocitare a polimorfonuclearelor, inclusiv a celei enzimatică apelând la testul NBT etc; testarea molecular-genetică indispensabilă în cazuri dificile de IDP a inclus aprecierea a 574 de gene (posibil implicate în geneza MID) prin secvențierea genetică de ultimă generație (NGS). Pentru suportul acestor acțiuni au fost elaborate valorile de referință ale indicatorilor TREC/KREC pentru nou-născuții sănătoși din țară.

În anul 2022 proiectul instituțional "Elaborarea metodelor inedite de diagnostic precoce al maladiilor imunodeficitare în baza studiului clinico-imunologic și molecular-genetic al pacienților cu suspiciune de imunodeficiențe primare" a fost încadrat în Programul Global de secvențiere genetică de generație nouă (NGS) pentru imunodeficiențele primare (IDP). A fost de fapt recunoașterea efortului nostru conjugat de a aborda consecvent domeniul complex al imunodeficiențelor, inclusiv prin elucidarea numărului real de maladii imunodeficitare în Republica Moldova. Intenția trasată a devenit efectiv reală odată cu punerea la punct a unui examen de screening al nou-născuților cu utilizarea test-sistemului TREC/KREC precum și cu accesul la servicii de testare molecular-genetică a pacienților cu suspiciune de imunodeficiență primară prin utilizarea secvențierii genetice de ultimă generație în cadrul Programului Global "Expansiunea Globală a perspectivelor lui Jeffrey: „Programul de secvențiere genetică pentru imunodeficiența primară de la Jeffrey Modell Fondation”.

## INTRODUCERE

Maladiile imunodeficitare (MID) sunt cele care definesc incidența și prevalența ascensivă a patologiei acute și cronice din diferite organe și sisteme. Variabilitatea extremă a imunodeficiențelor primare (IDP) cu defecte structurale și deficiențe funcționale,acompaniate de mutații sau aberații cromozomiale complică mult diagnosticul și selecția metodelor de remediere. IDP au

evaluation of lymphocyte populations and subpopulations. Thus, the technique of flow cytometry (cytometry in flow) with anti-CD monoclonal antibodies ELISA method was used to assess the blood serum concentration of classes and subclasses of immunoglobulins M, G, A and total IgE, to estimate the phagocytic activity of polymorphonuclear cells, including the enzymatic one calling at the NBT test, etc.; the indispensable molecular-genetic testing in difficult cases of PID included the appreciation of 574 genes (possibly involved in the genesis of PID) by next-generation genetic sequencing (NGS). To support these actions, the reference values of the TREC/KREC indicators for healthy newborns in the country were developed.

In 2022, the institutional project "Development of new methods for the early diagnosis of immunodeficiency diseases based on the clinical-immunological and molecular-genetic study of patients with suspected primary immunodeficiencies" was included in the Global next-generation genetic sequencing program of new generation (NGS) for primary immunodeficiencies (PID). It was actually the recognition of our joint effort to consistently approach the complex field of immunodeficiencies, including by elucidating the real number of immunodeficiency diseases in the Republic of Moldova. The outlined intention has actually become real with the development of a newborn screening exam using the TREC/KREC test-system as well as access to molecular-genetic testing services for patients with suspected primary immunodeficiency through the use of genetic sequencing state-of-the-art within the Global Program "Global Expansion of Jeffrey's Perspectives: "Genetic Sequencing Program for Primary Immunodeficiency at the Jeffrey Modell Fondation".

## BACKGROUND

Immunodeficiency diseases (IDDs) define the rising incidence and prevalence of acute and chronic pathology in various organs and systems. The extreme variability of primary immunodeficiencies (PID) with structural defects and functional deficiencies, accompanied by mutations or chromosomal aberrations greatly complicates the diagnosis and selection of remedial methods. IDPs have

devenit deja o problemă stringentă pentru medicina publică, dată fiind complexitatea lor clinică, dificultățile de diagnostic și creșterea impetuoasă a prevalenței acestora în ultimii ani. Studiile științifice avizate și centrate pe acest subiect în Republica Moldova au fost inițiate în anul 2015 printr-un proiect științific desfășurat în cadrul USMF "Nicolae Testemițanu" ce s-a intitulat "Studiul particularităților epidemiologice, clinico-imunologice și molecular-genetice ale maladiilor imunodeficitare cu elaborarea procedeelelor inedite de imunoreabilitare".

A fost inițiat un studiu complex, scopul și obiectivele proiectului fiind centrate pe elucidarea particularităților epidemiologice, clinico-imunologice și molecular-genetice ale MID din țara noastră. Pentru realizarea obiectivelor trasate au fost utilizate metode de screening și tehnologii inovatoare performante de diagnostic imunologic și molecular-genetic (imunofenotiparea populațiilor și subpopulațiilor limfocitare prin citometrie în flux cu utilizarea anticorpilor monoclonali anti-CD, aprecierea concentrației serice sangvine a imunoglobulinelor de clasele M, G, A, IgE totală și a subclaselor IgG1, IgG2, IgG3, IgG4). S-a efectuat și procesarea prin metode de statistică matematică a rezultatelor obținute.

Procesul de selecție și investigare complexă și aprofundată cu utilizarea metodelor tradiționale și performante a încadrat etapizat 682 de pacienți cu suspjecție de MID, urmând ca în baza datelor și documentelor internaționale despre IDP să fie elaborat un concept unic de diagnostic și tratament al bolnavilor cu această patologie la nivel de instituții medico-sanitare publice, în care sunt specificate particularitățile, manoperele și volumul intervențiilor medicale la nivel de asistență medicală primară, secundară și terțiară.

Primele rezultate de rezonanță ale acestui studiu multidimensional asupra maladiilor imunodeficitare în populația țării s-au reflectat în Protocolul Clinic Național "Imunodeficiențele primare PCN - 336" precum și în Protocolul Standardizat pentru medicii de familie, elaborări care reprezintă în fapt primele acte legislative de asistență medicală a IDP la nivelul instituțiilor publice

already become a pressing problem for public medicine, given their clinical complexity, diagnostic difficulties and the impetuous increase in their prevalence in recent years. The scientific studies approved and focused on this subject in the Republic of Moldova were initiated in 2015 through a scientific project carried out within the SUMP "Nicolae Testemițanu" entitled "Study of the epidemiological, clinical-immunological and molecular-genetic peculiarities of immunodeficiency diseases with the elaboration novel immunorehabilitation procedures".

A complex study was initiated, the aim and objectives of the project being centered on the elucidation of the epidemiological, clinical-immunological and molecular-genetic peculiarities of PID in our country. In order to achieve the set objectives, screening methods and high-performance innovative immunological and molecular-genetic diagnostic technologies were used (immunophenotyping of lymphocyte populations and subpopulations by flow cytometry with the use of anti-CD monoclonal antibodies, assessment of the blood serum concentration of class M, G immunoglobulins, A, total IgE and IgG1, IgG2, IgG3, IgG4 subclasses). The results obtained were also processed by mathematical statistical methods. The process of selection and complex and in-depth investigation with the use of traditional and high-performance methods framed 682 patients with suspicion of PID in stages, following which a unique concept of diagnosis and treatment of patients with this pathology will be developed on the basis of international data and documents about PID at the level of public medical-sanitary institutions, in which the particularities, operations and volume of medical interventions at the level of primary, secondary and tertiary medical assistance are specified.

The first resonant results of this multidimensional study on immunodeficiency diseases in the country's population were reflected in the National Clinical Protocol "Primary Immunodeficiencies PCN - 336" as well as in the Standardized Protocol for family doctors, elaborations which in fact represent the first legislative acts of medical assistance of PID at the level of public and private

și private cu diferite nivele de dotare cu echipament și de completare cu specialiști etc. Acest bloc de documente a specificat de fapt principiile diagnosticului precoce al IDP în instituțiile medicale primare în temeiul datelor clinico-anamnestică și a testărilor vizând concentrația serică sangvină a claselor și subclaselor de imunoglobuline. Aceste investigații, efectuate la nivelul centrelor medicilor de familie, pot asigura diagnosticul precoce al IDP de tip umoral în 50-70% de cazuri. Elevarea nivelului de cunoștințe ale medicilor de diferite specialități în domenii ce țin de IDP reprezintă un alt moment important atât în țara noastră, cât și în alte state ale lumii. În acest scop echipa cercetătorilor științifici a organizat 8 seminare zonale (Centru, Sud, Nord) și 6 conferințe raionale de profil (Hîncești, Cimișlia, Cahul, Călărași, Drochia, Dondușeni) cu participarea medicilor de familie, a celor din spitalele raionale, municipale și de la centrele de diagnostic. Un moment de mare valoare pentru diagnosticul precoce al IDP îl constituie implementarea test-sistemului TREC/KREC în screening-ul nou-născuților, bazat pe măsurarea cercurilor de excizie a limfocitelor T și B naive în reacția cantitativă de polimerizare în lanț (qPCR).

## MATERIALE ȘI METODE

La momentul actual cercetările clinico-paraclinice au încadrat 984 de pacienți suspecți de MID care au fost triați prin intermediul unui chestionar special elaborat pentru analiza complexă și aprofundată a rezultatelor de investigare. Drept reper de orientare s-au utilizat semnele sugestive de imunodeficiență primară pentru copii și adulți (tab. 1).

### **Tabelul 1. Screening-ul imunodeficiențelor primare la copii și adulți**

#### **Copil cu semne sugestive de IDP**

1. Istoric familial de IDP sau deces prematur inexplicabil (ex: până la vârsta de 30 de ani);
2. Eșecul creșterii (inabilitatea copilului de a spori în greutate sau/și de a crește);
3. Nevoia de administrare intravenoasă a antibioticelor sau/și de spitalizare pentru o infecție;
4. Șase sau mai multe infecții respiratorii virale în an (pneumonii, bronșite, sinuzite);
5. Patru sau mai multe infecții otice per an;

institutions with different levels of equipment and completion with specialists, etc.

This block of documents actually specified the principles of early diagnosis of PID in primary care settings based on clinical history data and testing of serum concentration of immunoglobulin classes and subclasses. These investigations, carried out at the level of family doctors' centers, can ensure the early diagnosis of PID of the humoral type in 50-70% of cases. Raising the level of knowledge of doctors of various specialties in fields related to PID represents another important moment both in our country and in other countries of the world. For this purpose, the team of scientific researchers organized 8 zonal seminars (Centre, South, North) and 6 district conferences (Hîncești, Cimișlia, Cahul, Călărași, Drochia, Dondușeni) with the participation of family doctors, those from district and municipal hospitals and from diagnostic centers. A moment of great value for the early diagnosis of PID is the implementation of the TREC/KREC test-system in newborn screening, based on the measurement of the excision circles of naïve T and B lymphocytes in the quantitative chain reaction (qPCR).

## MATERIALS AND METHODS

The clinical-paraclinical research included 984 suspected PID patients who were selected by means of a specially developed questionnaire for the complex and in-depth analysis of the investigation results. The suggestive signs of primary immunodeficiency for children and adults were used as a guideline (tab. 1).

### **Table 1. Screening of primary immunodeficiencies in children and adults** **Child with suggestive signs of PID**

1. Family history of PID or unexplained premature death (eg: before the age of 30);
2. Growth failure (child's inability to gain weight and/or grow);
3. The need for intravenous antibiotics and/or hospitalization for an infection;
4. Six or more viral respiratory infections per year (pneumonia, bronchitis, sinusitis);
5. Four or more ear infections per year;
6. Two or more episodes of sepsis, meningitis, osteomyelitis (per vitam);
7. Two or more months of antibiotic therapy without effect;

6. Două sau mai multe episoade de sepsis, meningită, osteomielită (per vitam);
7. Două sau mai multe luni de antibioterapie fără efect;
8. Candidoză mucocutanată rezistentă sau recurentă;
9. Abcese cutanate profunde sau abcese ale organelor interne recurente;
10. Infecții cauzate de microorganisme neobișnuite sau/și cu localizare neobișnuită;
11. Evoluție atipică a maladiilor hematologice sau autoimune;
12. Episoade repetate de diaree prelungită de etiologie necunoscută.

#### **Adulți cu semne sugestive de IDP**

1. Două sau mai multe infecții otice per an;
2. Două sau mai multe sinuzite acute per an (în absența istoricului de alergii);
3. Una sau mai multe pneumonii per an, mai mulți ani la rând;
4. Diaree cronică cu scădere ponderală;
5. Infecții virale recurente (gripă, herpes, condiloame etc.);
6. Nevoia de administrare intravenoasă a antibioticelor sau/și de spitalizare pentru o infecție;
7. Abcese cutanate profunde sau abcese recurente ale organelor interne;
8. Candidoză mucocutanată rezistentă sau recurentă;
9. Istoric familial de imunodeficiență primară.

*Notă:* extras din PCN nr. 336 "Imunodeficiențele primare"

Examinarea pacienților s-a completat, la necesitate, cu investigații instrumentale suplimentare (radiografia toracelui, sinusurilor nazale și paranasale, TC, RMN, ECG, USG, spirometrie etc). Testele clinice de laborator au inclus, la indicație, analiza biochimică a sângelui, hemoleucograma cu formulă leucocitară desfășurată, urograma. Testarea imunologică s-a efectuat în conformitate cu standardul internațional de testare a populațiilor și subpopulațiilor limfocitare prin utilizarea flowcitolmetriei de flux cu anticorpi monoclonali anti-CD. Au fost apreciate valorile relative și absolute de limfocitelor CD3+, CD4+, CD8+, CD16/56+, CD19+, IIR (indicele imunoregulator).

Grație unui grant substanțial oferit de Guvernul Japoniei, Laboratorul de alergologie și imunologie clinică a fost dotat cu un flowcitolmetru - BD FACS Via și cu un analizator hematologic - 5 Dif, tehnologii de esență pentru a fi implementată

8. Resistant or recurrent mucocutaneous candidiasis;
9. Deep skin abscesses or recurrent internal organ abscesses;
10. Infections caused by unusual microorganisms and/or with unusual localization;
11. Atypical evolution of hematological or autoimmune diseases;
12. Repeated episodes of prolonged diarrhea of unknown etiology; 1. Two or more ear infections per year;

#### **Adults with suggestive signs of PID**

1. Two or more ear infections per year;
2. Two or more acute sinusitis per year (in the absence of history of allergies);
3. One or more pneumonias per year, several years in a row;
4. Chronic diarrhea with weight loss;
5. Recurrent viral infections (flu, herpes, condylomas, etc.);
6. The need for intravenous antibiotics and/or hospitalization for an infection;
7. Deep skin abscesses or recurrent abscesses of internal organs;
8. Resistant or recurrent mucocutaneous candidiasis;
9. Family history of primary immunodeficiency;

*Note:* extract from PCN no. 336 "Primary immunodeficiencies"

The examination of the patients was supplemented, if necessary, with additional instrumental investigations (radiography of the chest, nasal and paranasal sinuses, CT, MRI, ECG, USG, spirometry, etc.). Clinical laboratory tests included, as indicated, biochemical blood analysis, complete blood cell count, urogram. Immunological testing was performed according to the international standard for testing lymphocyte populations and subpopulations using flow cytometry with anti-CD monoclonal antibodies. The relative and absolute values of lymphocytes CD3+, CD4+, CD8+, CD16/56+, CD19+, IIR (immunoregulatory index) were assessed.

Thanks to a substantial grant offered by the Government of Japan, the Allergology and Clinical Immunology Laboratory was equipped with a flow cytometer - BD FACS Via and a hematological analyzer - 5 Dif, essential technologies to implement immunophenotyping of lymphocytes with anti-CD monoclonal antibodies - a high-performance PID diagnostic method used in MID Diagnostic and Treatment Centers in Europe and the USA. The concentration of

imunofenotiparea limfocitelor cu anticorpi monoclonali anti-CD – o metodă performantă de diagnostic al IDP utilizată în Centrele de diagnostic și tratament al MID din Europa și SUA. Concentrația imunoglobulinelor serice sangvine a fost testată prin utilizarea metodei imunoenzimatică ELISA cu aprecierea claselor și subclaselor de imunoglobuline M, G, A și IgE totală. Activitatea fagocitară a PMN s-a determinat prin aprecierea procentului și numărului fagocitar, iar activitatea enzimatică a acestora - prin utilizarea testului NBT. Examenul molecular-genetic a inclus aprecierea a 574 de gene posibil cauzale în imunodeficiența primară, care s-a efectuat în laboratorul companiei Invitae, SUA. Rezultatele secvențierii genetice de ultimă generație (NSG) au fost confruntate cu manifestările clinice în vederea susținerii diagnosticului prezumtiv. Din focarele infecțioase au fost recoltate mase necrotice cu însămânțarea microflorei și aprecierea sensibilității acestora la antibiotice. Per total în cadrul cercetărilor de laborator au fost efectuate 10850 teste.

## REZULTATE

Maladiile imunodeficitare suspectate au îmbrăcat „masca” diferitor afecțiuni de tentă poliorganică, cu evoluție trenantă, cronic recidivantă și rezistentă la tratamentul administrat. Tabloul clinic al acestor pacienți era dominat de sindromul infecțios (96,2%), manifestat prioritar prin afecțiuni bronhopulmonare, ORL, reno-urinare, afectări cutanate, sepsis etc. Extrem de sugestive s-au dovedit o serie de criterii clinico-anamnestică cum ar fi retardul în dezvoltarea fizică și neuropsihică (20,8%), sarcinile cu gestoze și infecții intrauterine (CMV, VEB, HSV1,2), cazurile de decese în familie prin infecții supurative etc.

La majoritatea pacienților diagnosticul de IDP a fost stabilit tardiv, după 3-4 ani de la apariția semnelor sugestive, iar gravitatea de stare a pacienților era invers proporțională vârstei. Episoadele infecțioase frecvente, severe, atipice și/sau de lungă durată au fost

blood serum immunoglobulins was tested using the immunoenzymatic ELISA method with the assessment of classes and subclasses of immunoglobulins M, G, A and total IgE. The phagocytic activity of PMN was determined by assessing the phagocytic percentage and number, and their enzymatic activity - by using the NBT test. The molecular-genetic examination included the evaluation of 574 genes possibly causative in primary immunodeficiency, which was performed in the laboratory of the Invitae company, USA. Next-generation genetic sequencing (NSG) results were compared with clinical manifestations to support the presumptive diagnosis. Necrotic masses were collected from the infectious foci with the seeding of the microflora and the assessment of its sensitivity to antibiotics. A total of 10,850 tests were performed in the laboratory research.

## RESULTS

Suspected immunodeficiency diseases put on the "mask" of various conditions of a polyorganic nature, with slow evolution, chronically relapsing and resistant to the administered treatment. The clinical picture of these patients was dominated by the infectious syndrome (96.2%), manifested primarily by bronchopulmonary, ENT, reno-urinary, skin disorders, sepsis, etc. A series of clinical and anamnestic criteria proved to be extremely suggestive, such as retardation in physical and neuropsychic development (20.8%), pregnancies with gestosis and intrauterine infections (CMV, VEB, HSV1,2), cases of deaths in family through suppurative infections, etc.

In most patients, the diagnosis of IDP was established late, after 3-4 years after the appearance of suggestive signs, and the severity of the patients' condition was inversely proportional to age. Frequent, severe, atypical and/or prolonged infectious episodes were the hallmarks of immune system disorder. Bacteriological research established

criteriile caracteristice afecțiunilor sistemului imun. Cercetările bacteriologice au stabilit cum că infecțiile erau cauzate de agenți patogeni cu virulență minoră, de floră convențional patogenă și microorganisme oportuniste (*Str. viridans*, *B. hemolyticus* - 5,5%, *Pseudomonas aeruginosa* - 3,72%, *Klebsiella* - 3,7%, de asociații microbiene - 3%, *S.aureus* - 2,1%). Deseori sindromul infecțios se asocia cu cel alergic și/sau autoimun - 7,2%. Printre testele clinice de laborator hemoleucograma desfășurată se prezintă de valoare esențială pentru cercetările imunologice: limfopenia (numărul de limfocite redus sub 1500 cel./ $\mu$ l), trombocitopenia (trombocite cu talie minoră  $<70 \times 10^9/l$ ), leucopenia, eozinofilia sunt indici importanți în aprecierea stării pacientului, dar toți aceștia au necesitat interpretare în contextul manifestărilor clinice.

Datorită grantului substanțial acordat de către Guvernul Japoniei în cadrul proiectului pentru Laboratorul de alergologie și imunologie clinică a devenit o realitate testarea statusului imun al pacienților suspecți de maladii imunodeficitare cu evaluarea populațiilor și subpopulațiilor limfocitare prin tehnica de flowcitometrie de flux cu anticorpi monoclonali anti-CD. Prin această metodă se poate face numărătoarea în cifre relative și absolute a limfocitelor CD3+, CD4+, CD8+, CD16/56+, CD19+, IIR. Testarea factorilor imuni celulari, umorali și ai rezistenței nespecifice a permis identificarea verigii imune alterate, care ulterior se cerceta molecular-genetic pentru confirmarea diagnosticului clinico-imunologic.

O abordare inedită în depistarea precoce a imunodeficienței primare s-a fi produs prin utilizarea test-sistemului TREC/KREC în reacția de polimerizare în lanț cantitativă (qPCR) – metodă propusă pentru implementare în Republica Moldova de către cercetătorii laboratorului de genetică al Institutului de Cercetări Fundamentale în

that the infections were caused by pathogens with minor virulence, conventionally pathogenic flora and opportunistic microorganisms (*Str. viridans*, *B. hemolyticus* - 5.5%, *Pseudomonas aeruginosa* - 3.72%, *Klebsiella* - 3.7 %, of microbial associations - 3%, *S. aureus* - 2.1%). The infectious syndrome is often associated with the allergic and/or autoimmune syndrome - 7.2%. Among the clinical laboratory tests, the blood count performed is of essential value for immunological research: lymphopenia (the number of lymphocytes reduced below 1500 cells/ $\mu$ l), thrombocytopenia (platelets of minor size  $<70 \times 10^9/l$ ), leukopenia, eosinophilia are important indices in the assessment the patient's condition, but all of them required interpretation in the context of clinical manifestations.

Thanks to the substantial grant granted by the Government of Japan within the project for the Laboratory of Allergology and Clinical Immunology, the testing of the immune status of patients suspected of immunodeficiency diseases with the evaluation of lymphocyte populations and subpopulations through the technique of flow cytometry with anti-CD monoclonal antibodies has become a reality. With this method, the CD3+, CD4+, CD8+, CD16/56+, CD19+, IIR lymphocytes can be counted in relative and absolute numbers. The testing of cellular, humoral immune factors and non-specific resistance allowed the identification of the altered immune link, which was later molecular-genetically researched to confirm the clinical-immunological diagnosis.

A novel approach in the early detection of primary immunodeficiency was produced by using the TREC/KREC test-system in the quantitative chain reaction (qPCR) - a method proposed for implementation in the Republic of Moldova by the researchers of the genetics laboratory of the Institute of Fundamental Research in Biology and Medicine of the



Biologie și Medicină al Academiei de Științe din FR, filiala Siberiană (Novosibirsk), cu care avem contract de colaborare științifică în acest domeniu. Astfel am reușit să trasăm valorile de referință ale indicatorilor TREC/KREC la nou-născuții la termen sănătoși. Eficacitatea acestui test a fost studiată în grupul de pacienți cu suspecție de imunodeficiență primară prin testarea a 40 de mostre sangvine recoltate de la nou-născuți pe cardurile Guthrie cu extracția ulterioară a AND-ului și numărarea cercurilor de excizie a receptorilor limfocitelor T naive, și rezultatele obținute fiind comparate cu valrile de referință. Printre cele 40 de probe sangvine s-au apreciat 4,8% rezultate pozitive pentru TREC. Pentru sindromul Wiscott-Aldrich a fost elaborat algoritmul de diagnostic molecular-genetic în inovație pentru care AGEPI a eliberat un brevet de invenție. De menționat, că limfocitele T reprezintă 2/3 din limfocitele sangvine, iar numărul redus de celule T este asociat cu limfopenie în hemogramă; un test cu valori normale de celule T nu exclude, însă, imunodeficiența celulară, fiind necesară o analiză asupra subpopulațiilor limfocitare și a caracterelor fenotipice și funcționale ale acestora.

În cazul a 16 pacienți cu suspiciune de maladii imunodeficitare din orașele și satele Republicii Moldova s-a decis testarea molecular-genetică prin cercetarea a 574 de gene posibil intricate în geneza MID, analiză efectuată în laboratoarele companiei Invitae (SUA), care a confirmat diagnosticul suspectat la 33% dintre pacienții examinați. Astfel diagnosticul clinico-imunologic s-a confirmat definitiv în 5 cazuri, fiind interceptate mutații pe 69 de gene responsabile de patologia sistemului imunitar. La 9 pacienți s-a estimat a fi prezentă starea de purtător de gene recesive de IDP, iar două mutații au avut caracter de semnificație nedeterminată. Astfel au fost confirmate următoarele forme malade: imunodeficiență autosomal recesivă combinată severă, sensibilă la radiații – identificarea a două variante patogene în gena

Academy of Sciences of FR, the Siberian branch (Novosibirsk), with which we have a scientific collaboration contract in this field. Thus we managed to plot the reference values of TREC/KREC indicators in healthy term newborns. The efficacy of this test was studied in the group of patients with suspected primary immunodeficiency by testing 40 blood samples collected from newborns on Guthrie cards with subsequent DNA extraction and counting of excision circles of naïve T lymphocyte receptors, and the results obtained being compared with the reference values. Among the 40 blood samples, 4.8% positive results for TREC were assessed. For Wiscott-Aldrich syndrome, the innovative molecular-genetic diagnostic algorithm was developed for which AGEPI issued an invention patent. It should be noted that T lymphocytes represent 2/3 of blood lymphocytes, and the reduced number of T cells is associated with lymphopenia in the hemogram; a test with normal T-cell values does not, however, exclude cellular immunodeficiency, and an analysis of lymphocyte subpopulations and their phenotypic and functional characteristics is necessary.

In the case of 16 patients with suspected immunodeficiency diseases from the cities and villages of the Republic of Moldova, molecular-genetic testing was decided by researching 574 genes possibly involved in the genesis of MID, analysis carried out in the laboratories of the Invitae company (USA), which confirmed the suspected diagnosis at 33% of patients examined. Thus, the clinical-immunological diagnosis was definitively confirmed in 5 cases, mutations being intercepted on 69 genes responsible for the pathology of the immune system. 9 patients were estimated to be carriers of recessive IDP genes, and two mutations were of undetermined significance. Thus, the following disease forms were confirmed: severe combined autosomal recessive immunodeficiency, sensitive to radiation -

PRKDC, febră mediteraneană familială autosomal recesivă cu identificarea a două variante patogene în gena MEFV, deficit de adeziune leucocitară autosomal recesivă de tip 1 cu identificarea a două variante patogene în gena ITGB2, sindromul Blau dominant autosomal cu identificarea unei variante patogene în gena NOD2, imunodeficiență combinată severă autosomal recesivă prin deficit de ADN PKcs cu identificarea a două variante patogene în gena PRKDC, gena CYBB pentru boala granulomatoasă cronică, gena BTK pentru agamaglobulinemia X-linkată. Trei pacienți cu sindromul DiGeorge au fost confirmați molecular-genetic în laboratorul de genetică al Institutului de Cercetări Fundamentale în Biologie și Medicină al Academiei de Științe din FR, filiala Siberiană (Novosibirsk), ei prezentând alterarea genei 22q11.2.

Actualmente tratamentul pacienților cu MID se axează pe transplantul medular sau de celule stem hematopoietice care este cel mai eficient în caz de compatibilitate a donatorului și pacientului recipient după sistemul HLA. În ultimii ani, în tratamentul pacienților cu IDP se utilizează imunoglobulina G cu administrare intravenoasă, dar acest procedeu se cere perpetuat pe parcursul întregii vieți cu menținerea nivelului de IgG la titrul de 6 g/l.

Un aspect inedit îl prezintă terapia genică cu utilizarea vectorilor retrovirali, metodă elaborată în ultimii ani și aprobată doar la câțiva pacienți care nu dispuneau de donator compatibil după antigenele HLA. Riscul major de activare a protooncogenelor după utilizarea vectorilor de acest tip sunt factori de limitare a manoperei. Mai recent a fost elaborată metoda cu utilizarea vectorilor lentivirali, care actualment a fost aprobată preclinic la circa 100 pacienți și este în stadiu de înregistrare.

La finalul acestei treceri în revistă a rezultatelor obținute pe parcursul de desfășurare a primelor studii de anvergură asupra maladiilor imunodeficitare din

identificarea a două variante patogene în gena PRKDC, febră mediteraneană familială autosomal recesivă cu identificarea a două variante patogene în gena MEFV, deficit de adeziune leucocitară autosomal recesivă de tip 1 cu identificarea a două variante patogene în gena ITGB2, sindromul Blau dominant autosomal cu identificarea unei variante patogene în gena NOD2, imunodeficiență combinată severă autosomal recesivă prin deficit de ADN PKcs cu identificarea a două variante patogene în gena PRKDC, gena CYBB pentru boala granulomatoasă cronică, gena BTK pentru agamaglobulinemia X-linkată. Trei pacienți cu sindromul DiGeorge au fost confirmați molecular-genetic în laboratorul de genetică al Institutului de Cercetări Fundamentale în Biologie și Medicină al Academiei de Științe din FR, filiala Siberiană (Novosibirsk), ei prezentând alterarea genei 22q11.2.

Actualmente tratamentul pacienților cu MID se axează pe transplantul medular sau de celule stem hematopoietice care este cel mai eficient în caz de compatibilitate a donatorului și pacientului recipient după sistemul HLA. În ultimii ani, în tratamentul pacienților cu IDP se utilizează imunoglobulina G cu administrare intravenoasă, dar acest procedeu se cere perpetuat pe parcursul întregii vieți cu menținerea nivelului de IgG la titrul de 6 g/l.

Un aspect inedit îl prezintă terapia genică cu utilizarea vectorilor retrovirali, metodă elaborată în ultimii ani și aprobată doar la câțiva pacienți care nu dispuneau de donator compatibil după antigenele HLA. Riscul major de activare a protooncogenelor după utilizarea vectorilor de acest tip sunt factori de limitare a manoperei. Mai recent a fost elaborată metoda cu utilizarea vectorilor lentivirali, care actualment a fost aprobată preclinic la circa 100 pacienți și este în stadiu de înregistrare.

La finalul acestei treceri în revistă a rezultatelor obținute pe parcursul de desfășurare a primelor studii de anvergură asupra maladiilor imunodeficitare din

Republica Moldova care au debutat în anul 2015:

- Maladiile imunodeficitare nu sunt niște diagnostice accidentale, ele sunt o realitate cu tendințe de amplificare, incidența acestora fiind mult peste cifrele oficiale. Pe de altă parte, pentru detecția lor oportună și instituirea tratamentelor adecvate sunt necesare programe de screening neonatal care să considere valorile de referință ale indicatorilor TREC/KREC elaborate de echipa acestui proiect pentru nou-născuții sănătoși din țară.
  - Este indispensabil în acest sens ca serviciile abilitate ale sistemului medical să fie dotate cu echipamente contemporane pentru testarea statusului imun, inclusiv cu aparate de flowcitometrie și, nu în ultimul rând, să se asigure accesul la testarea molecular-genetică indispensabilă pentru diagnosticul veridic a MID.
  - Încadrarea proiectului instituțional "Elaborarea metodelor inedite de diagnostic precoce al maladiilor imunodeficitare în baza studiului clinico-imunologic și molecular-genetic al pacienților cu suspiciune de imunodeficiențe primare" în Programul Global de secvențiere genetică de generație nouă (NGS) pentru imunodeficiențele primare (IDP) ne-a convins de justetea principiilor pe care am făcut miză în abordarea imunodeficiențelor prezente în populația țării noastre.
  - Managementul modern al maladiilor imunodeficitare poate deveni efectiv real odată cu punerea la punct a unui examen de screening al nou-născuților cu utilizarea test-sistemului TREC/KREC precum și cu accesul înlesnit la servicii de testare molecular-genetică pentru pacienții cu suspiciune de imunodeficiență primară prin utilizarea secvențierii genetice de ultimă generație
- Moldova that started in 2015 through the "Study of the epidemiological, clinical-immunological and molecular-genetic peculiarities of immunodeficiency diseases with the development of new procedures for immunorehabilitation" we would like to point out some of the essential findings we reached:
- Immunodeficiency diseases are not accidental diagnoses, they are a reality with increasing tendencies, their incidence being much higher than the official figures. On the other hand, for their timely detection and the establishment of appropriate treatments, neonatal screening programs are needed that consider the reference values of the TREC/KREC indicators developed by the team of this project for healthy newborns in the country.
  - It is indispensable in this sense that the competent services of the medical system are equipped with contemporary equipment for testing the immune status, including flow cytometry devices and, last but not least, to ensure access to the indispensable molecular-genetic testing in difficult cases of PID.
  - Inclusion of the institutional project "Development of new methods for early diagnosis of immunodeficiency diseases based on the clinical-immunological and molecular-genetic study of patients with suspected primary immunodeficiencies" in the Global New Generation Genetic Sequencing Program (NGS) for primary immunodeficiencies (PID) convinced us of the correctness of the principles we have staked in addressing the immunodeficiencies present in our country's population.
  - Modern management of immunodeficiency diseases can become a reality with the development of a newborn screening exam using the TREC/KREC test system as well as easy access to molecular genetic testing services for patients with suspected

immunodeficiency primary by using state-of-the-art genetic sequencing.

**Cuvinte cheie:** imunodeficiențele primare, metode de diagnostic, tratament

**Keywords:** primary immunodeficiency, methods of diagnosis, treatment

## REFERENCES

1. ANDRIEȘ, L., REVENCO, N., BARBA, D. et al. Biomarkerii de laborator al imunodeficiențelor primare (recomandare metodică) Chișinău, CEP Medicina, 58 p.
2. ANDRIEȘ, L., REVENCO, N., BARBA, D. et al. Imunoeficiențele primare. Protocol Clinic Național PCN 336, ed.2, Tipografia Centrală, Chișinău, 2022, 60p.
3. ANDRIEȘ, L., REVENCO, N., BARBA, D. et al. Imunodeficiențele primare pentru medicii de familie, ed.2, tipografia Centrală, Chișinău, 2022, 42p.
4. BONILLA, F.A., KHAN, D.A., BALLAS, Z.K. et al. Pactice parameter for the diagnosis and management of primary imunodeficiency. J. Allergy and Clinical Immunol. 2015, 136 (5): 1186-1205.
5. GORDUCOVA, M.A., OSKORBIN, I.P., MISHUKOVA, O.V. et al. Development of Real Time multiplex PCR for the quantitative determination of TRECs and KRECs in whole blood and in dried blood spots. Medical Immunology. 2015, 17 (5): 467-478.
6. QUINN, J., MODELL, V., JORDAN, S. et al. Growth diagnosis and treatment of primary immunodeficiency with in global Jeffrey Modell Centres network. Allergy, Asthma and Clinical Immunology. 2022, 18 (19): 1289-1323.
7. SHCHERBINA, A. Masks of primary immunodeficiency disorders: diagnostic and therapeutic problems. Russian Journal of Children Hematology and Oncology. 2016, 3 (1): 52-58.
8. SPITSIN, E.N., GUSEVA, M.N., KOSTIK, M.M. et al. Next generation sequencing analysis of suspicion of inborn errors of immunity. Clin. Genet. 2020, 98(3): 231-239.
9. TANGYE, S.B., AL-HERZ, W., BOUSFIHA, A. et al. Human inborn errors of immunity: 2019 update on the classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee. J. Clin. Immunol. 2020, 40 (1): 24-64
10. YAMASHITA, M., INOUE, K., OKANO, T. Et al. Inborn errors of Immunity-recent advance in research of the pathogenesis. Infamm, Regln. 2021, 41(1): 9.

<b>BOLI AUTOINFLAMATORII</b>	<b>AUTOINFLAMMATORY DISEASES</b>
<b>Ninel Revenco</b>	<b>Ninel Revenco</b>
<b>Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu”</b>	<b>"Nicolae Testemițanu" State University of Medicine and Pharmacy</b>
<i>Definiție.</i> Bolile autoinflamatorii (BAI) reprezintă un grup heterogen de afecțiuni definite genetic și/sau clinic, caracterizate prin inflamație sistemică neprovocată, care induce episoade de febră și manifestări inflamatorii la	<i>Definition.</i> Autoinflammatory diseases (AI) represent a heterogeneous group of genetically and/or clinically defined conditions, characterized by unprovoked systemic inflammation, which induces episodes of fever

nivelul organelor. Mutațiile din genele implicate în procesele inflamatorii determină creșterea nivelului constitutiv al citokinelor proinflamatorii secretate, cum ar fi Interleukina-1 (IL-1). BAI prezintă o mortalitate și morbiditate semnificativă, inclusiv deficiență în dezvoltare, pierderea auzului și insuficiența renală [1].

**Epidemiologie.** În timp ce Febra Mediteraneană Familiară (FMF) poate fi întâlnită cu o prevalență ridicată de 1/1000 în mai multe populații mediteraneene, alte BAI, cum ar fi Sindromul Periodic Asociat Criopirinei (CAPS), Sindromul Periodic Asociat Receptorilor TNF (TRAPS) și Sindromul de Deficiență a Mevalonat Kinazei (MKD)/Sindromul Hiper-IgD (HIDS), sunt rare și au o incidență mai mică de 1/1.000.000 [1].

**Patogenie.** Apărarea imună necesită atât mecanisme specifice antigenelor, cât și mecanisme independente de antigene. Brațul specific al răspunsului imun, numit imunitate adaptivă, se bazează pe discriminarea învățată self/nonself, proces mediat prin expansiunea selectivă a clonelor celulare T și B, în care recombinația genetică a generat antigen-specific receptori.

Aceste răspunsuri "învățate" nu reprezintă singurul mecanism al apărării imune. Imunitatea înăscută se referă la o rețea de celule și proteine care răspund la infecții sau leziuni tisulare prin recunoașterea "înrădăcinată" genetic a moleculelor străine (de exemplu, componente ale peretelui celular bacterian) sau a moleculelor gazdă produse sau eliberate de celulele deteriorate (de exemplu, Interleukina-1 și cristalele de acid uric). Neutrofilele, macrofagele, mastocitele și celulele Natural Killer (celule NK) sunt printre principalii efectori celulari ai imunității înăscute. Complementul, un set de proteine care recunosc și se leagă de ținte nonself, exemplifică un braț non-celular al răspunsului imun înăscut.

Mecanismele imunitare înăscute și cele adaptive acționează în strânsă legătură. Recunoașterea semnalelor de pericol de către mecanismele imunitare înăscute dirijează dezvoltarea răspunsurilor imunitare adaptive, în timp ce lipsa recunoașterii favorizează toleranța.

and inflammatory manifestations at the level of organs. Mutations in genes involved in inflammatory processes cause an increase in the constitutive level of secreted pro-inflammatory cytokines, such as Interleukin-1 (IL-1). BAI carries significant mortality and morbidity, including developmental impairment, hearing loss, and renal failure [1].

**Epidemiology.** While Familial Mediterranean Fever (FMF) can be encountered with a high prevalence of 1/1000 in several Mediterranean populations, other AIDs such as Cryopyrin-Associated Periodic Syndrome (CAPS), TNF-Receptor-Associated Periodic Syndrome (TRAPS) and of Mevalonate Kinase Deficiency (MKD)/Hyper-IgD Syndrome (HIDS), are rare and have an incidence of less than 1/1,000,000 [1].

**Pathogenesis.** Immune defense requires both antigen-specific and antigen-independent mechanisms. The specific arm of the immune response, called adaptive immunity, is based on learned self/nonself discrimination, a process mediated by the selective expansion of T and B cell clones, in which genetic recombination has generated antigen-specific receptors.

These "learned" responses are not the only mechanism of immune defense. Innate immunity refers to a network of cells and proteins that respond to infection or tissue damage by genetically "ingrained" recognition of foreign molecules (e.g. bacterial cell wall components) or host molecules produced or released by damaged cells (e.g. Interleukin-1 and uric acid crystals). Neutrophils, macrophages, mast cells, and Natural Killer cells (NK cells) are among the main cellular effectors of innate immunity. Complement, a set of proteins that recognize and bind to nonself targets, exemplifies a noncellular arm of the innate immune response.

Innate and adaptive immune mechanisms work closely together. Recognition of danger signals by innate immune mechanisms directs the development of adaptive immune responses, while lack of recognition promotes tolerance. Established adaptive immune responses recruit innate immunity to assist in the effector response. For example, T cells can recruit

Răspunsurile imunitare adaptive stabilite recrutează imunitatea înăscută pentru a ajuta la răspunsul efector. De exemplu, celulele T pot recruta neutrofilele, iar anticorpii derivați din celulele B vizează bacteriile pentru liză prin complement.

Bolile autoimune, precum artrita juvenilă, miastenia gravis și diabetul de tip 1, reprezintă erori în discriminarea dintre self și nonself de către mecanismele imunitare adaptive. Semnele distinctive includ prezența autoanticorpilor, o predominanță feminină pentru majoritatea acestor boli și o asociere cu alele specifice în complexul major de histocompatibilitate (MHC), ale căror proteine sunt responsabile pentru prezentarea peptidului către celulele T.

În contrast, bolile autoinflamatorii apar prin activarea inadecvată a mecanismelor inflamatorii independente de antigen. Prin urmare, ele pot fi considerate drept boli primare ale imunității înăscute, deși celulele asociate în mod obișnuit cu imunitatea adaptivă (de exemplu, limfocitele T) pot contribui, de asemenea, la autoinflamație. În consecință, aceste boli, de obicei, nu prezintă autoanticorpi sau asocieri cu MHC și apar la fel de frecvent atât la bărbați, cât și la femei.

Multe boli autoinflamatorii sunt rare și, prin urmare, (cu excepția febrei mediteraneene familiale [FMF] și a afecțiunii autoinflamatorii presupuse, febra periodică cu stomatită aftoasă, faringită și adenită [PFAPA] este puțin probabil să le întâlnim în practica clinică de rutină. Cu toate acestea, ele scot în evidență elementul fundamental: Mecanismele care controlează imunitatea înăscută sunt critice pentru reglarea inflamației. Variantele mai subtile ale acestor mecanisme contribuie, probabil, la manifestarea altor boli mult mai comune.

Spre exemplu, majoritatea purtătorilor heterozigoți pentru variații patogene în gena FMF (MEFV) nu prezintă manifestări evidente ale FMF, dar pot prezenta manifestări mai subtile ale inflamației crescute. Acestea includ febre frecvente, susceptibilitate crescută la artrita idiopatică juvenilă, spondilită anchilozantă și anumite vasculite, precum și artrită reumatoidă severă. Esențial este faptul că multe afecțiuni considerate în general ca fiind

neutrophils, and B cell-derived antibodies target bacteria for lysis by complement.

Autoimmune diseases, such as juvenile arthritis, myasthenia gravis, and type 1 diabetes, represent errors in the discrimination between self and nonself by adaptive immune mechanisms. Hallmarks include the presence of autoantibodies, a female predominance for most of these diseases, and an association with specific alleles in the major histocompatibility complex (MHC), whose proteins are responsible for peptide presentation to T cells.

In contrast, autoinflammatory diseases occur through inappropriate activation of antigen-independent inflammatory mechanisms. Therefore, they can be considered primary diseases of innate immunity, although cells commonly associated with adaptive immunity (eg, T lymphocytes) may also contribute to autoinflammation. Consequently, these diseases usually do not show autoantibodies or MHC association and occur equally frequently in both males and females.

Many autoinflammatory diseases are rare and therefore (with the exception of familial Mediterranean fever [FMF] and the presumed autoinflammatory condition periodic fever with aphthous stomatitis, pharyngitis, and adenitis [PFAPA]) are unlikely to be encountered in routine clinical practice. However, they highlight the fundamental element: Mechanisms that control innate immunity are critical for regulating inflammation. Subtle variations of these mechanisms likely contribute to the manifestation of other, more common diseases.

For example, most carriers heterozygous for pathogenic variations in the FMF gene (MEFV) do not show overt manifestations of FMF, but may have more subtle manifestations of increased inflammation.

autoimune includ, de asemenea, elemente care pot fi considerate autoinflamatorii. În plus, bolile comune precum guta, pseudoguta și boala coronariană aterosclerotică implică mecanisme autoinflamatorii. Activarea cronică a mecanismelor înrudite poate contribui chiar la boli asociate cu vârsta, cum ar fi hipertensiunea arterială. Astfel, bolile autoinflamatorii canonice reprezintă "vârful aisbergului" al relevanței mecanismelor înrudite pentru sănătatea și boala umană.

#### **Categorii de Boli autoinflamatoare.**

Bolile autoinflamatorii pot fi grupate în categorii de lucru, ce au la bază principalele verigi patogenice (*Tabelul 1*). Bolile din fiecare categorie pot avea caracteristici clinice comune (*Tabelul 2*). Este important de menționat că multe afecțiuni implică mecanisme ce nu se limitează la o singură categorie.

These include frequent fevers, increased susceptibility to juvenile idiopathic arthritis, ankylosing spondylitis and certain vasculitides, and severe rheumatoid arthritis. Crucially, many conditions generally considered to be autoimmune also include elements that can be considered autoinflammatory. In addition, common diseases such as gout, pseudogout, and atherosclerotic coronary artery disease involve autoinflammatory mechanisms. Chronic activation of related mechanisms may even contribute to age-related diseases such as hypertension. Thus, the canonical autoinflammatory diseases represent the "tip of the iceberg" of the relevance of related mechanisms to human health and disease.

#### **Categories of Autoinflammatory**

**Diseases.** Autoinflammatory diseases can be grouped into work categories based on the main pathogenic links (Table 1). Diseases in each category may have common clinical features (Table 2). It is important to note that many conditions involve mechanisms that are not limited to a single category.



Tabelul 1. Bolile autoinflamatorii	
<b>Boli ale inflamazomilor și citokinelor din familia IL-1 înrudite</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Inflamazomul pyrin <ul style="list-style-type: none"> <li>Febra Mediteraneană Familială (FMF)</li> <li>Autoinflamație asociată pirinei cu dermatoză neutrofilă (PAAND)</li> <li>Sindromul hiperimmunoglobulin D (HIDS)</li> <li>Artrita sterilă piogenă, pioderma gangrenoasă și acnee (PAPA)</li> <li>Hiperzinemie/hipercalproteinemie (HZ/HC)</li> <li>Febra periodică, imunodeficiență și trombocitopenie (PFIT)</li> </ul> </li> <li>Inflamazomul NALP3/criopirină <ul style="list-style-type: none"> <li>Sindromul autoinflamator familial la rece (FCAS)</li> <li>Sindromul Muckle-Wells (MWS)</li> <li>Boli inflamatorii multisistemice cu debut neonatal (NOMID)</li> <li>Sindromul Majeed/lipin 2 (LPIN2)</li> </ul> </li> <li>Inflamazomul NLRP4 <ul style="list-style-type: none"> <li>Autoinflamație cu enterocolită infantilă (AIFEC)</li> </ul> </li> <li>Inflamazomul NLRP12 <ul style="list-style-type: none"> <li>Sindromul autoinflamator familial la rece 2 (FCAS2)</li> </ul> </li> <li>Inflamazomul NLRP1 <ul style="list-style-type: none"> <li>Carcinom palmoplantar multiplu cu auto-vindecare (MSPC)</li> <li>Keratoza familială lichenoidă cronică (FKLC)</li> <li>Autoinflamație asociată cu NLRP1 cu artrită și diskeratoză (NAIAD)</li> </ul> </li> <li>Inflamazomul AIM2</li> <li>Inflamazomul noncanonic</li> <li>Deficiența de Antagonist al Receptorului de IL-1 (DARD)</li> <li>Deficiența de Antagonist al Receptorului de IL-36 (DITRA)</li> </ul>	
<b>Boli ale producției și semnării interferonului</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Degradarea sau procesarea acizilor nucleici endogeni <ul style="list-style-type: none"> <li>AGS1 - Exonucleaza 1 cu trei prime reparații (TREX1)</li> <li>AGS2 - Ribonuclează H2 endonuclează complex subunitatea B (RNASEH2B)</li> <li>AGS3 - Ribonuclează H2 endonuclează complex subunitatea C (RNASEH2C)</li> <li>AGS4 - Ribonuclează H2 endonuclează complex subunitatea A (RNASEH2A)</li> <li>AGS5 - domeniu SAM și domeniul HD 1 (SAMHD1)</li> <li>AGS6 - Adenozin deaminaza care acționează asupra ARN-ului 1 (ADAR1)</li> <li>DNaz II</li> <li>Poliribonucleotid nucleotidiltransferaza 1 (PNPT1) - Polinucleotidă fosforilază (PNPaza)</li> </ul> </li> <li>Detectarea îmbunătățită a acidului nucleic <ul style="list-style-type: none"> <li>Stimulator al genelor interferonului (STING)</li> <li>AGS7 - proteina 1 care conține domeniul helicaș C indusă de interferon (IFIH1), care codifică proteina 5 asociată diferențierii melanomului (MDA5)</li> </ul> </li> <li>Disfuncția proteazomului <ul style="list-style-type: none"> <li>Dermatită neutrofilă cronică atipică cu lipodistrofie și temperatură crescută (LUMANARE) - Gene multiple</li> </ul> </li> <li>Semnarea receptorului de interferon amplificat <ul style="list-style-type: none"> <li>Peptidaza 18 specifică ubiquitinei (UPS18) - Pseudo-toxoplasmoză, alte (sifilis), rușea, citomegalovirus, sindromul virusului herpes simplex (TORCH)</li> <li>Modificator asemănător ubiquitinei ISG15 (ISG15)</li> </ul> </li> </ul>	
<b>Boli ale activității NFκB și/sau TNF</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Haploinsuficiența proteinei 3 induse de A20/TNF-alfa (TNFAIP3)</li> <li>Proteina domeniului 2 de oligomerizare de legare a nucleotidelor (NOD2) - sindromul Blau</li> <li>Sindromul Periodic Asociat cu Receptorul TNF (TRAPS)</li> <li>Deficiența Adenozin Deaminazei 2 (DADA2)</li> <li>Modulator esențial NFκB (NEMO)</li> <li>Tulburări ale ubiquitinării liniare <ul style="list-style-type: none"> <li>Sindromul autoinflamator legat de OTULIN (ORAS; adică otulipenia)</li> <li>Deficiența complexului linear de asamblare a lanțului de ubiquitină (LUBAC) - Ubiquitin ligaza 1 IRP2 oxidată cu hem (HOIL-1L), proteină de interacțiune HOIL-1 (HOIP)</li> </ul> </li> <li>Sindromul periodic asociat cu receptorul TNF 11 (TRAPS11) - membru al superfamiliei receptorilor TNF 11A (TNFRSF11A)</li> <li>Vacuole, enzimă E1, X-linkat, autoinflamatorii și somatice (VEXAS)</li> </ul>	
<b>Autoinflamație mediată de mecanisme diverse</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Sindromul subunității alfa a complexului proteic cootomer (COPA)</li> <li>Deficiența de anticorpi asociate cu PLCG2 și dereglarea imunității (PLAID)/autoinflamație și deficiența de anticorpi asociate cu PLCG2 și dereglarea imunității (APLAID)</li> <li>Anemia sideroblastică cu imunodeficiență a celulelor B, febră periodică și întârziere în dezvoltare (SFD)</li> <li>Tulburări de activare a complementului</li> </ul>	
<p>IL: interleukină; NALP3: proteina 3 care conține domeniile NAIT, LRR și PYD; NLRP4: Familie de receptori nod-like, domeniul de recrutare al caspazei care conține 4; NLRP: domeniul de oligomerizare de legare la nucleotide, care conține domeniul pirinei din familia receptorului; AIM2: absent în melanomul 2; AGS: sindrom Aicardi-Goutières; NFκB: factor nuclear kappa-amplificator de lanț ușor al celulelor B activate; TNF: factor de necroză tumorală; OTULIN: OTU deubiquitinază cu specificitate de legătură liniară; PLCG2: fosfolipaza C gamma 2.</p>	

Table 1. Autoinflammatory diseases	
<b>Diseases of inflammasomes and cytokines from the IL-1 family</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>The pyrin inflammasome <ul style="list-style-type: none"> <li>Familial Mediterranean Fever (FMF) □</li> <li>Pyrin-associated autoinflammation with neutrophilic dermatosis (PAAND)</li> <li>Hyperimmunoglobulin D syndrome (HIDS)</li> <li>Sterile pyogenic arthritis, pyoderma gangrenosum and acne (PAPA)</li> <li>Hyperzinemia/hypercalproteinaemia (HZ/HC)</li> <li>Periodic fever, immunodeficiency and thrombocytopenia (PFIT)</li> </ul> </li> <li>NALP3 inflammasome/cryopyrin <ul style="list-style-type: none"> <li>Familial Cold Autoinflammatory Syndrome (FCAS)</li> <li>Muckle-Wells Syndrome (MWS)</li> <li>Neonatal-onset multisystem inflammatory disease (NOMID)</li> <li>Majeed/lipin 2 syndrome (LPIN2)</li> </ul> </li> <li>Inflammasome NLRP4 <ul style="list-style-type: none"> <li>Autoinflammation with infantile enterocolitis (AIFEC)</li> </ul> </li> <li>NLRP12 inflammasome <ul style="list-style-type: none"> <li>Familial Cold Autoinflammatory Syndrome 2 (FCAS2)</li> </ul> </li> <li>NLRP1 inflammasome <ul style="list-style-type: none"> <li>Self-healing multiple palmoplantar carcinoma (MSPC)</li> <li>Familial chronic lichenoid keratosis (FKLC)</li> <li>NLRP1-associated autoinflammation with arthritis and dyskeratosis (NAIAD)</li> </ul> </li> <li>Inflammasome AIM2</li> <li>Inflammasome noncanonic</li> <li>IL-1 Receptor Antagonist Deficiency (DARD)</li> <li>IL-36 Receptor Antagonist Deficiency (DITRA)</li> </ul>	
<b>Diseases of interferon production and signaling</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Degradation or processing of endogenous nucleic acids <ul style="list-style-type: none"> <li>□ AGS1 - Three prime repair exonuclease 1 (TREX1)</li> <li>AGS2 - Ribonuclease H2 endonuclease complex B subunit (RNASEH2B)</li> <li>AGS3 - Ribonuclease H2 endonuclease complex subunit C (RNASEH2C)</li> <li>AGS4 - Ribonuclease H2 endonuclease complex subunit A (RNASEH2A)</li> <li>AGS5 - SAM domain and HD domain 1</li> <li>(SAMHD1) AGS6 - Adenosine deaminase acting on RNA 1 (ADAR1)</li> <li>DNAse II</li> <li>Polynucleotide nucleotidyltransferase 1 (PNPT1) - Polynucleotide phosphorylase (PNPase)</li> </ul> </li> <li>Enhanced detection of Stimulator of interferon genes (STING) nucleic acid <ul style="list-style-type: none"> <li>AGS7-interferon-inducible helicase C domain-containing protein 1 (IFIH1) encoding melanoma differentiation-associated protein 5 (MDA5)</li> </ul> </li> <li>Proteasome dysfunction <ul style="list-style-type: none"> <li>Chronic atypical neutrophilic dermatitis with lipodystrophy and elevated temperature (CANDLE) - Multiple genes</li> </ul> </li> <li>Amplified interferon receptor signaling <ul style="list-style-type: none"> <li>Ubiquitin-specific peptidase 18 (UPS18) - Pseudo-toxoplasmosis, other (syphilis), rubella, cytomegalovirus, herpes simplex virus syndrome (TORCH)</li> <li>□ ISG15 ubiquitin-like modifier (ISGIS)</li> </ul> </li> </ul>	
<b>Diseases of NFκB and/or TNF activity</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Haploinsufficiency of A20/TNF-α-induced protein 3 <ul style="list-style-type: none"> <li>(TNFAIP3) Nucleotide-binding oligomerization domain 2 protein (NOD2) - syndrome Blue</li> </ul> </li> <li>□ TNF Receptor Associated Periodic Syndrome (TRAPS) <ul style="list-style-type: none"> <li>Deficiency of Adenosine Deaminase 2 (DADA2)</li> <li>NFκB essential modulator (NEMO)</li> </ul> </li> <li>Disorders of linear ubiquitination <ul style="list-style-type: none"> <li>OTULIN-related autoinflammatory syndrome (ORAS; ie, otulipenia)</li> <li>Deficiency of linear ubiquitin chain assembly complex (LUBAC) - Heme oxidized IRP2 ubiquitin ligase 1 (HOIL-1L), HOIL-1 interacting protein (HOIP)</li> </ul> </li> <li>□ Periodic syndrome associated with TNF receptor 11 (TRAPS11) - member of the TNF receptor superfamily 11A (TNFRSF11A)</li> <li>- Vacuoles, E1 enzyme, X-linked, autoinflammatory and somatic (VEXAS)</li> </ul>	
<b>Autoinflammation mediated by diverse mechanisms</b>	
<ul style="list-style-type: none"> <li>Coatomer protein complex alpha subunit (COPA) syndrome.</li> <li>PLCG2-associated antibody deficiency and immune dysregulation (PLAID)/autoinflammation and PLCG2-associated antibody deficiency and immune dysregulation (APLAID)</li> <li>Sideroblastic anemia with immunodeficiency of B cells, periodic fever and delay in development (SFD)</li> <li>Complement activation disorders</li> </ul>	
<p>IL: interleukin; NALP3: protein 3 containing NAIT, LRR and PYD domains; NLRP4: Nod-like receptor family, caspase recruitment domain containing 4; NLRP: nucleotide binding oligomerization domain containing receptor family pyrin domain; AIM2: absent in melanoma 2; AGS: Aicardi-Goutières syndrome; NFκB: nuclear factor kappa-light chain enhancer of activated B cells; TNF: tumor necrosis factor; OTULIN: OTU deubiquitinase with linear bond specificity; PLCG2: phospholipase C gamma 2.</p>	

Un pacient cu dovezi de creștere a reactanților de fază acută (VSH, CRP sau SAA), în corespondență cu puseele clinice și luând în considerare atentă posibile boli perturbatoare (neoplazii, infecții, afecțiuni autoimune, alte erori în imunitatea congenitală) și o perioadă rezonabilă de activitate recurentă a bolii (cel puțin 6 luni), este clasificat ca având febră recurentă de origine ereditară dacă criteriile sunt îndeplinite.

PRINTO: Pediatric Rheumatology International Trials Organisation; *NLRP3*: familia NLR care conține domeniul pirină 3; *MEFV*: MEFV regulator al imunității înnașcute, pirină; *TNFRSF1A*: membru 1A al

A patient with evidence of an increase in acute phase reactants (ESR, CRP or SAA), in correspondence with clinical cases and carefully considering possible disruptive diseases (neoplasia, infections, autoimmune diseases, other errors in congenital immunity) and a reasonable period of recurrent disease activity (at least 6 months), is classified as having recurrent fever of hereditary origin if the criteria are met.

PRINTO: Pediatric Rheumatology International Trials Organization; *NLRP3*: NLR family containing pyrin 3 domain; *MEFV*: MEFV regulator of innate immunity, pyrin; *TNFRSF1A*: member 1A of the TNF receptor



superfamiliei receptorilor TNF; *MVK* : mevalonat kinaza; *VSH*: viteza de sedimentare a eritrocitelor; *PCR*: proteină C reactivă; *SAA*: amiloid seric A.

\* Variante patogene sau probabil patogene (heterozigote în bolile autosomal-dominante; homozigote sau în compus trans [sau bialelic] heterozigote în bolile autosomal-recesive).

¶ Varianta de semnificație incertă (VUS). Variantele benigne și probabile benigne ar trebui excluse.

Δ În compusul trans heterozigot pentru un *MEFV* patogenvariantă și un VUS, sau VUS bialelic sau heterozigot pentru o variantă *MEFV* patogenă.

#### **Tulburări ale inflamazomelor și citokinelor familiei IL-1 asociate.**

Inflamazomele sunt complexe proteice mari aflate în interiorul celulelor, care scindează pro-interleukina (IL) 1-beta inactivă în forma sa matură foarte inflamatorie. Activarea anormală a acestor complexe duce la generarea inadecvată a IL-1-beta, declanșând inflamația cu febră, deoarece IL-1-beta este un pirogen endogen puternic. Alte proteine scindate de inflamazome sunt IL-18, o citokină care potențează producția de interferon gamma, și gasdermina D, o proteină care formează pori în membrana celulară, permițând eliberarea IL-1-beta și IL-18 mature și provocând o formă de moarte celulară proinflamatorie numită piropoza.

Există cel puțin șapte complexe inflamazome cunoscute, fiecare construită în jurul unei proteine distincte care servește ca senzor de pericol și oferă un schelet pentru asamblarea inflamazomului când este declanșat. Mutațiile care afectează aceste complexe proteice cauzează boli autoinflamatorii mediate de inflamazom, numite uneori inflamazomopatii. De exemplu, febra mediteraneană familială (FMF) și sindromul de hiperimmunoglobulină D (IgD) apar din activarea anormală a inflamazomului pyrin, în timp ce sindromul autoinflamator familial de frig, sindromul Muckle-Wells și tulburarea inflamatorie multisistemică de debut neonatal (NOMID) apar din activarea anormală a inflamazomului cryopyrin. Caracteristicile clinice ale acestei familii de boli includ febră,

superfamily; *MVK*: mevalonate kinase; *ESR*: erythrocyte sedimentation rate; *PCR*: C-reactive protein; *SAA*: serum amyloid A.

\* Pathogenic or likely pathogenic variants (heterozygous in autosomal-dominant diseases; homozygous or in trans [or biallelic compound] heterozygous in autosomal-recessive diseases).

¶ Variant of uncertain significance (VUS). Benign and probable benign variants should be excluded because IL-1-beta is a potent endogenous pyrogen. Other proteins cleaved by inflammasomes are IL-18, a cytokine that potentiates interferon gamma production, and gasdermin D, a protein that forms pores in the cell membrane, allowing the release of mature IL-1-beta and IL-18 and causing a form of death proinflammatory cell called pyroptosis.

#### **Disorders of inflammasomes and associated IL-1 family cytokines.**

Inflammasomes are large protein complexes within cells that cleave inactive pro-interleukin (IL) 1-beta into its highly inflammatory mature form. Abnormal activation of these complexes leads to inappropriate generation of IL-1-beta, triggering inflammation with fever because IL-1-beta is a potent endogenous pyrogen. Other proteins cleaved by inflammasomes are IL-18, a cytokine that potentiates interferon gamma production, and gasdermin D, a protein that forms pores in the cell membrane, allowing the release of mature IL-1-beta and IL-18 and causing a form of death proinflammatory cell called pyroptosis.

There are at least seven known inflammasome complexes, each built around a distinct protein that serves as a danger sensor and provides a scaffold for assembly of the inflammasome when triggered. Mutations affecting these protein complexes cause inflammasome-mediated autoinflammatory diseases, sometimes called inflammasomopathies. For example, familial Mediterranean fever (FMF) and hyperimmunoglobulin D (IgD) syndrome arise from abnormal activation of the pyrin inflammasome, while familial autoinflammatory cold syndrome, Muckle-Wells syndrome, and neonatal-onset multisystem inflammatory disorder (NOMID) arise from abnormal activation of the cryopyrin inflammasome. Clinical features of this family

erupții cutanate, artralgie și simptome care afectează pieptul și abdomenul.

Familia IL-1 cuprinde 11 membri, inclusiv IL-1-beta și IL-18, dar și citokina proinflamatorie IL-36 și antagonistul receptorului IL-1 (IL-1RA), care este o citokină cu efect antiinflamator. Tulburările cu manifestări clinice similare celor din bolile inflamazomale, dar de obicei fără febră, pot apărea prin deficit de IL-1RA sau a unui antagonist al semnalizării IL-36.

**Bolile de producție și semnalizare a interferonilor.** Interferonii reprezintă o familie de citokine care mediază semnalizarea intercelulară pentru a coordona răspunsul imunitar la infecții. Activarea acestor căi duce la inflamație multisistemică, de obicei, dar nu întotdeauna, însoțită de febră. Bolile autoinflamatorii asociate pot apărea din defecte genetice oriunde pe calea interferonilor, de la supraproducția de citokine la semnalizare anormală prin receptorul interferonilor. Această familie de boli, fiind în creștere, este adesea numită "interferonopatii" și include sindromul Aicardi-Goutières și vasculita asociată cu STING cu debut în copilărie (SAVI). Aceste sindroame prezintă o diversitate clinică, dar caracteristicile sugestive includ vasculită cutanată afectând zonele expuse la frig (degete, nas, urechi externe), boala pulmonară interstițială și calcifierea ganglionilor bazali.

**Bolile de activare a NFκB.** Factorul nuclear kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NFκB) reprezintă o cale comună finală pentru multe stimuli ce activează celulele. Proteinele care alcătuiesc complexul NFκB se găsesc în formă inactivă în citoplasmă. Când sunt eliberate din inhibiție, acest complex migrează spre nucleu pentru a iniția transcripția unei rețele de gene proinflamatorii. Unele boli autoinflamatorii apar din activarea inadecvată a acestei căi, inclusiv sindromul Blau și haploinsuficiența A20/proteina indusă de factorul de necroză tumorală alfa 3 (TNFAIP3). Bolile asociate cu manifestări suprapuse, dar distincte, apar prin defecte în semnalizarea sau producția factorului de necroză tumorală (TNF), inclusiv sindromul periodic asociat receptorului TNF 1 (TRAPS).

of diseases include fever, rash, arthralgia, and symptoms affecting the chest and abdomen.

The IL-1 family comprises 11 members, including IL-1-beta and IL-18, but also the pro-inflammatory cytokine IL-36 and IL-1 receptor antagonist (IL-1RA), which is a cytokine with anti-inflammatory effect. Disorders with clinical manifestations similar to those of inflammatory diseases, but usually without fever, can arise from deficiency of IL-1RA or an antagonist of IL-36 signaling.

**Diseases of interferon production and signaling.** Interferons are a family of cytokines that mediate intercellular signaling to coordinate the immune response to infection. Activation of these pathways leads to multisystemic inflammation, usually but not always accompanied by fever. Associated autoinflammatory diseases can arise from genetic defects anywhere in the interferon pathway, from overproduction of cytokines to abnormal signaling through the interferon receptor. This growing family of diseases is often called "interferonopathies" and includes Aicardi-Goutières syndrome and childhood-onset STING-associated vasculitis (SAVI). These syndromes show clinical diversity, but suggestive features include cutaneous vasculitis affecting cold-exposed areas (fingers, nose, external ears), interstitial lung disease, and basal ganglia calcification.

**NFκB activation diseases.** Nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B cells (NFκB) represents a final common pathway for many stimuli that activate cells. The proteins that make up the NFκB complex are found in an inactive form in the cytoplasm. When released from inhibition, this complex migrates to the nucleus to initiate the transcription of a network of pro-inflammatory genes. Some autoinflammatory diseases arise from inappropriate activation of this pathway, including Blau syndrome and A20 haploinsufficiency/tumor necrosis factor-induced protein alpha 3 (TNFAIP3). Diseases associated with overlapping but distinct manifestations arise from defects in tumor necrosis factor (TNF) signaling or production, including TNF receptor-associated periodic syndrome 1 (TRAPS).

**Tabulul 3.**  
**Clasificarea clinică Eurofever/PRINTO pentru PFAPA și febra recurentă ereditară**

Febra Periodică Asociaată cu Stomatită Afloasă, Faringită și Adenită (PFAPA)	Sindroamele Periodice Asociate Criopirinei (CAPS)	Febra Mediteraneană Familială (FMF)	Sindromul Periodic Asociat cu Receptorul Factorului de Necroză Tumorală (TRAPS)	Deficitul de Mevalonat Kinază (DMK)
Cel puțin 7 din 8 : Prezența: - Faringoamigdalită - Durata episoadelor de 3-6 zile - Limfadenită cervicală - Periodicitate absentă: - Diaree - Durere toracică - Eruipții cutanate - Artrită	Prezența a cel puțin 2 din 5 : - Eruipție urticariană - Episoade de raze/stres declanșate - Pierderea auzului senzineural - Meningită aseptică cronică - Anomalii ale scheletului (supracrescență epifizară/bosșing frontal)	Cel puțin 6 din 9 : Prezența: - Etimie est-mediteraneană - Durata episoadelor de 1-3 zile - Durere toracică - Durere abdominală - Artrită - Stomatită aftoasă - Eruipție urticariană - Eruipție maculopapulară - Durere în ganglionii limfatici	Scor ≥5 puncte: Prezența: - Febră ≥7 zile (2 puncte) - Febră de 5-6 zile (1 punct) - Eruipție migratorie (1 punct) - Edem periorbital (1 punct) - Mialgie (1 punct) - Istoric familial pozitiv (1 punct) - Stomatită aftoasă (1 punct) - Faringoamigdalită (1 punct)	Prezența a cel puțin 3 din 6 : - Vârsta la debut <1 an - Simptome gastrointestinale - Ganglionii limfatici dureroși - Stomatită aftoasă - Triggeri - Eruipție cutanată maculopapulară
Sensibilitate: 0,97	Sensibilitate: 0,80	Sensibilitate: 0,91	Sensibilitate: 0,87	Sensibilitate: 0,91
Specificitate: 0,93	Specificitate: 0,91	Specificitate: 0,92	Specificitate: 0,92	Specificitate: 0,82
Exactitate: 0,99	Exactitate: 0,85	Exactitate: 0,97	Exactitate: 0,96	Exactitate: 0,92

PRINTO: Pediatric Rheumatology International Trial Organization.

**Clinica.** Bolile autoinflamatorii ar trebui suspectate la pacienții cu inflamație recurentă sau persistentă, care nu poate fi explicată de o altă cauză, cum ar fi infecția sau malignitatea. Manifestările pot include febră, erupții cutanate, serozite (pleurezie sau peritonită), artrită, meningită și uveită. Limfadenopatia și splenomegalia pot apărea, iar amiloidoza secundară (amiloida A [AA]) poate complica boala prelungită. Pe măsură ce spectrul bolilor autoinflamatorii recunoscute s-a extins, au fost identificate și alte caracteristici de prezentare, inclusiv enterocolita, erupția vasculitică, calcificările în ganglionii bazali, accidentul vascular cerebral, inclusiv hemoragia cerebrovasculară și boala pulmonară interstițială. Majoritatea pacienților dezvoltă primele manifestări ale bolii în copilărie, cu toate acestea, forme mai ușoare sau atipice pot apărea de novo la adulți.

Un indiciu deosebit de util pentru prezența autoinflamației este caracterul stereotip al episoadelor febrile și eșecul lor de a se comporta ca infecțiile comune. De exemplu, febrele pot apărea la intervale regulate, pot avea o durată standard, pot surveni fără simptome respiratorii superioare și în absența bolii în alte persoane din familie și pot rămâne insensibile la antibiotice.

Indicatorii inflamației, cum ar fi proteina C reactivă (PCR) și rata de sedimentare a eritrocitelor (VSH), sunt de obicei crescuți în

**Table 3.**  
**Eurofever/PRINTO clinical classification for PFAPA and hereditary relapsing fever**

Periodic Fever Associated with Aphthous Stomatitis, Pharyngitis and Adenitis (PFAPA)	Cryopyrin-Associated Periodic Syndromes (CAPS)	Familial Mediterranean Fever (FMF)	Tumor Necrosis Factor Receptor-Associated Periodic Syndrome (TRAPS)	Hereditary Kinase (DKK) Deficiency
At least 7 out of 8: Present: - Pharyngotonsillitis - Duration of episodes for 3-6 days - Lymphadenitis - Periodicity absent: - Diarrhea - Chronic aseptic meningitis - Abnormalities of skeletal structure (overgrowth of epiphyseal/bosging frontal)	The presence of at least 2 out of 5: - Eruption urticaria - Episodes of cutaneous triggered hearing loss - sensorineural - Chronic aseptic meningitis - Abnormalities of skeletal structure (overgrowth of epiphyseal/bosging frontal)	At least 6 out of 9: absent: - Ethnicity: Mediterranean - Duration of episodes of 1-3 days - Chest pain - Pain abdominal - Arthritis - Absence of Stomatitis - Absence of Eruption urticaria - Rash in lymph nodes	Score ≥5 points: Present: - Fever ≥7 days (2 points) - Fever for 5-6 days (1 point) - Migratory eruption (1 point) - Periorbital edema (1 point) - Myalgia (1 point) - Family history positive (1 point) - Absence of Aphthous stomatitis (1 point) - Pharyngo (1 point)	The presence of at least 3 out of 6: - Age at onset <1 an - Gastrointestinal symptoms - Lymph painful - Stomatitis - Arthritis - Rash maculopapular
Sensitivity: 0.97	Sensitivity: 0.80	Sensitivity: 0.91	Sensitivity: 0.87	Sensitivity: 0.91
Specificity: 0.93	Specificity: 0.91	Specificity: 0.92	Specificity: 0.92	Specificity: 0.82
Accuracy: 0.98	Accuracy: 0.85	Accuracy: 0.97	Accuracy: 0.96	Accuracy: 0.92

PRINTO: Pediatric Rheumatology International Trial Organization.

**The clinic.** Autoinflammatory diseases should be suspected in patients with recurrent or persistent inflammation that cannot be explained by another cause, such as infection or malignancy. Manifestations may include fever, rash, serositis (pleurisy or peritonitis), arthritis, meningitis, and uveitis. Lymphadenopathy and splenomegaly may occur, and secondary amyloidosis (amyloid A [AA]) may complicate prolonged disease. As the spectrum of recognized autoinflammatory diseases has expanded, other presenting features have been identified, including enterocolitis, vasculitic rash, basal ganglia calcifications, stroke including cerebrovascular hemorrhage, and interstitial lung disease. Most patients develop the first manifestations of the disease in childhood, however, milder or atypical forms may appear de novo in adults.

A particularly useful clue to the presence of autoinflammation is the stereotyped nature of febrile episodes and their failure to behave like common infections. For example, fevers may occur at regular intervals, have a standard duration, occur without upper respiratory symptoms and in the absence of illness in other family

timpul puseelor bolii și pot rămâne uneori anormali între episoade. Spre deosebire de bolile autoimune, autoanticorpii cu titre ridicate sunt de obicei absenți. Cu toate acestea, interferonopatiile pot fi însoțite de anticorpi întâlniți în mod obișnuit în lupusul eritematos sistemic și în vasculita asociată cu anticorpi antineutrofilici citoplasmatici (ANCA) [2].

**Diagnosticul.** Diagnosticul unei boli autoinflamatorii ereditare rare ar trebui luat în considerare la pacienții care prezintă următoarele simptome: febră recurentă, dureri de cap, tulburări musculoscheletale, dureri abdominale, erupții cutanate, afectarea ochilor, limfadenopatie, oboseală și, în special, iritabilitate crescută la copii și labilitate emoțională la adulți (vezi Tabelul 4). În prezența acestor simptome, markerii inflamatori, inclusiv PCR și/sau SAA, ar trebui determinați. Corelarea dintre simptomele clinice specifice ale bolilor autoinflamatorii și creșterea markerilor inflamatori furnizează dovezi solide ale unei boli autoinflamatorii [1].

members, and may remain insensitive to antibiotics.

Markers of inflammation, such as C-reactive protein (CRP) and erythrocyte sedimentation rate (ESR), are usually elevated during flares and may sometimes remain abnormal between episodes. Unlike autoimmune diseases, high titer autoantibodies are usually absent. However, interferonopathies may be accompanied by antibodies commonly encountered in systemic lupus erythematosus and in vasculitis associated with antineutrophil cytoplasmic antibodies (ANCA) [2].

**The diagnosis.** The diagnosis of a rare hereditary autoinflammatory disease should be considered in patients presenting with the following symptoms: recurrent fever, headache, musculoskeletal disorders, abdominal pain, rash, eye involvement, lymphadenopathy, fatigue, and especially increased irritability in children and emotional lability in adults (see Table 4). In the presence of these symptoms, inflammatory markers, including PCR and/or SAA, should be determined. Correlation between specific clinical symptoms of autoinflammatory diseases and increased inflammatory markers provides strong evidence of an autoinflammatory disease [1].

Tabelul 4.			Table 4.		
Algoritm de diagnostic PRO-KIND bazat pe dovezi pentru CAPS/TRAPS/MKD/HIDS			Evidence-based PRO-KIND diagnostic algorithm for CAPS/TRAPS/MKD/HIDS		
<p><b>Fenotipul clinic</b> Episoade de febră recurente pe o perioadă de &gt; 6 luni, simptome inflamatorii caracteristice, inclusiv dureri de cap, tulburări musculoscheletice, dureri abdominale, erupții cutanate, afectare oculară, limfadenopatie, oboseală, iritabilitate și labilitate emoțională.</p>			<p><b>Clinical phenotype</b> Recurrent episodes of fever for &gt;6 months, characteristic inflammatory symptoms including headache, musculoskeletal disorders, abdominal pain, rash, eye involvement, lymphadenopathy, fatigue, irritability and emotional lability.</p>		
<p><b>CAPS</b> Urticaria-like rash Episoade declanșate de frig/stres Pierdere a auzului senzorieural Meningită cronică aseptică Anomalii scheletice: creștere excesivă epifizară, proeminență frontală</p>	<p><b>TRAPS</b> Febri prelungită (&gt;5 zile) Erupție cutanată migratoare Edem periorbital Mialgii Istoric familial pozitiv</p>	<p><b>MKD/HIDS</b> Erupție maculopapulară Limfadenopatie dureroasă Simptome gastrointestinale Stomatită atoașă Factori declanșatori pentru agravarea bolii: infecții, vaccinări Debut timpuriu al bolii &lt; 1 an</p>	<p><b>CAPS</b> Urticaria-like rash Episodes triggered by colds/fever Hearing loss Chronic aseptic meningitis Skeletal anomalies: epiphyseal overgrowth, frontal prominence</p>	<p><b>TRAPS</b> Prolonged fever (&gt;5 days) Migratory rash Periorbital edema Myalgia Positive family history</p>	<p><b>MKD/HIDS</b> Maculopapular rash Painful lymphadenopathy Gastrointestinal symptoms Aphthous stomatitis Triggering factors for the aggravation of the disease: infections, vaccinations Early onset of the disease &lt; 1 year</p>
<p><b>Markeri ai inflamației</b> în timpul perioadelor de agravare și în intervalele fără simptome: PCR și/sau SAA, (\$100)</p>			<p><b>Markers of inflammation</b> during periods of exacerbation and symptom-free intervals: PCR and/or SAA, (\$100)</p>		
<p><b>Diagnosticul diferențial</b> infecții, neoplasme sau boli autoimune, alte erori înnăscute ale imunității</p>			<p><b>Differential diagnosis</b> infections, neoplasms or autoimmune diseases, other congenital errors of immunity</p>		
<p><b>Teste genetice</b></p>			<p><b>Genetic tests</b></p>		
<p>Panel genetic bolilor autoinflamatorii</p>	<p>Secvențierea Exomului Complet (WES- Whole Exome Sequencing)</p>	<p>Secvențierea întregului genom (WGS- Whole Genome Sequencing)</p>	<p>Genetic panel of auto-inflammatory diseases</p>	<p>Whole Exome Sequencing (WES- Whole Exome Sequencing)</p>	<p>Whole Genome Sequencing (WGS- Whole Genome Sequencing)</p>
<p>ar trebui utilizați ca terapie adjuvantă în CAPS doar pentru tratamentul simptomatic [1].</p>			<p>should be used as adjunctive therapy in CAPS only for symptomatic treatment [1].</p>		

**Tabelul 5.**

PCR: Proteină C-reactivă, SAA: Ser-Amyloid A

În plus, simptomele clinice tipice pentru CAPS includ erupții cutanate de tip urticarian, episoade declanșate de frig/stres, pierderea auzului de tip sensorineural, meningită cronică aseptică și anomalii scheletice, cum ar fi creșterea epifizară și proeminența frontală. Pacienții cu TRAPS pot prezenta episoade prelungite de febră de  $\geq 5$  zile, erupții cutanate migratorii, edem periorbital și mialgii, iar istoricul familial pozitiv poate fi prezent. Fenotipul tipic în cazul MKD/HIDS include debutul bolii la vârsta de  $< 1$  an, simptome gastrointestinale, dureri în ganglionii limfatici, stomatită aftoasă, erupții maculopapuloase și pusee de boală asociate cu diferiți factori declanșatori, cum ar fi infecțiile și vaccinările.

Testarea genetică este principalul instrument de diagnostic și, luând în calcul costul relativ crescut al testării panourilor genetice pentru multiple afecțiuni, ar trebui să fie un pas realizat cât mai devreme în evaluarea pacienților cu suspiciune de autoinflamare. În cazul în care un diagnostic specific este puternic suspectat pe baza prezentării și epidemiologiei, cum ar fi un pacient cu febra mediteraneană familială clasică (FMF), secvențierea țintită a unei singure gene poate fi mai rentabilă. În cazul PFAPA, diagnosticul rămâne clinic și nu are corelație genetică, dar poate fi stabilit cu încredere în absența testelor genetice pentru a exclude alte afecțiuni, în contextul clinic adecvat (de exemplu, în cazul unui copil considerat sănătos, cu episoade de febră lunară care durează de la patru până la șase zile și care se ameliorează cu o singură doză de glucocorticoizi).

Diagnosticul diferențial al bolilor autoinflamatorii trebuie explorat în detaliu și poate include neoplazii, infecții, afecțiuni autoimune și alte erori congenitale ale imunității. Testarea genetică moleculară ar trebui luată în considerare la toți pacienții. Consilierea genetică pentru pacienți și familiile lor este adesea necesară. Fenotipul și genotipul bolilor autoinflamatorii se pot diferenția

**Table 5.**

PCR: C-reactive protein, SAA: Serum-Amyloid A

In addition, typical clinical symptoms of CAPS include urticarial rash, cold/stress-triggered episodes, sensorineural hearing loss, chronic aseptic meningitis, and skeletal abnormalities such as epiphyseal growth and frontal prominence. Patients with TRAPS may present with prolonged febrile episodes of  $\geq 5$  days, migratory rashes, periorbital edema, and myalgias, and a positive family history may be present. The typical phenotype in MKD/HIDS includes disease onset at  $< 1$  year of age, gastrointestinal symptoms, lymph node pain, aphthous stomatitis, maculopapular eruptions, and flares associated with various triggers such as infections and vaccinations.

Genetic testing is the main diagnostic tool and, given the relatively high cost of testing genetic panels for multiple conditions, should be an early step in the evaluation of patients with suspected autoinflammation. If a specific diagnosis is strongly suspected based on presentation and epidemiology, such as a patient with classic familial Mediterranean fever (FMF), targeted single-gene sequencing may be more cost-effective. In the case of PFAPA, the diagnosis remains clinical and has no genetic correlation, but can be established with confidence in the absence of genetic testing to rule out other conditions, in the appropriate clinical context (eg, in an otherwise healthy child with monthly febrile episodes that lasting four to six days and improving with a single dose of glucocorticoids).

The differential diagnosis of autoinflammatory diseases should be explored in detail and may include neoplasms, infections, autoimmune conditions, and other congenital errors of



semnificativ și nu toate variațiile genetice sunt patogene. Starea actuală a patogenității unei variații genetice poate fi determinată utilizând baza de date infevers. Prezența unei variante patogene susține diagnosticul clinic. Leziunile potențial legate de boală includ surditatea internă, pierderea vederii, afectarea cognitivă, întârzierea creșterii, deformări osoase și/sau articulare, osteoporoza, amiloidoza AA și insuficiența renală [1].

**Managementul.** CAPS este caracterizat printr-un spectru larg de severitate: de la forme ușoare, cum ar fi sindromul autoinflamator familial la rece (FCAS) și sindromul Muckle–Wells (MWS), până la forme mai severe, precum sindromul cronic infantil neurologic-cutanat-articular (CINCA)/boală inflamatorie multisistemică cu debut neonatal (NOMID).

Factorii de risc, traiectoriile bolii și instrumentele de evaluare pentru monitorizarea activității bolii sunt bine studiate și validate. Eficacitatea inhibiției IL-1 a fost confirmată în studii clinice randomizate și studii observaționale de înaltă calitate, ceea ce a condus la aprobarea canakinumabului și a anakinrei (*vezi Tabelul 5*). Recent, au devenit disponibile datele de siguranță pe 10 ani privind inhibiția IL-1 în cazul CAPS. Eficiența studiilor de tratare către obiectiv, cu ajustări individuale ale dozelor, promite un control excelent al activității bolii. Monitorizarea standardizată a activității bolii și ajustările ulterioare ale dozei sau a strategiei de tratament sunt dezvoltate (*Fig. 1 A*). Grupurile specifice de pacienți, cum ar fi cei cu un fenotip sever, probabil vor necesita doze mai mari pentru a obține remisia. AINS sau corticosteroizii

immunity. Molecular genetic testing should be considered in all patients. Genetic counseling for patients and their families is often necessary. The phenotype and genotype of autoinflammatory diseases can differ significantly, and not all genetic variations are pathogenic. The current pathogenicity status of a genetic variation can be determined using the infevers database. The presence of a pathogenic variant supports the clinical diagnosis. Lesions potentially related to the disease include internal deafness, vision loss, cognitive impairment, growth retardation, bone and/or joint deformities, osteoporosis, AA amyloidosis, and renal failure [1].

**The management.** CAPS is characterized by a wide spectrum of severity: from mild forms, such as familial cold autoinflammatory syndrome (FCAS) and Muckle–Wells syndrome (MWS), to more severe forms, such as chronic infantile neurocutaneous- articular (FIVE)/neonatal-onset multisystem inflammatory disease (NOMID).

Risk factors, disease trajectories, and assessment tools for monitoring disease activity are well studied and validated. The efficacy of IL-1 inhibition was confirmed in randomized clinical trials and high-quality observational studies, leading to the approval of canakinumab and anakinra (see Table 5). Recently, 10-year safety data on IL-1 inhibition in CAPS have become available. The efficacy of treatment-to-goal trials with individual dose adjustments promise excellent control of disease activity. Standardized monitoring of disease activity and subsequent adjustments of dose or treatment strategy are being developed (*Fig. 1 A*). Specific patient groups, such as those with a severe phenotype, will likely require higher doses to achieve remission. NSAIDs or corticosteroids.

**Starea actuală de aprobare a medicamentelor de către Agenția Europeană a Medicamentului și Administrația Alimentelor și Medicamentelor din SUA pentru boli autoinflamatorii**

(De la: Protocolul de consens pentru diagnosticul și managementul sindroamelor autoinflamatorii ereditare CAPS, TRAPS și MKD/HIDS: o inițiativă PRO-KIND din Germania)

Tratament	L	Aprobare EMA (EMA-European Medicines Agency)	Aprobare FDA (FDA- Food-and-Drug Administration)
<b>CAPS</b>			
Canakinumab	1B	CINCA/NOMID, MWS și FCAS sever ≥2 ani și ≥7,5 kg	FCAS și MWS ≥4 ani
Rilonacept	1B	Niciuna	FCAS și MWS ≥12 ani
Anakinra	2A	Toți pacienții CAPS ≥8 luni și ≥10 kg	Doar NOMID /CINCA
<b>TRAPS</b>			
Canakinumab	1B	TRAPS ≥2 ani și ≥7,5 kg	TRAPS la adulți și copii
Anakinra	2B	Niciuna	Niciuna
Etanercept	2B	Niciuna	Niciuna
<b>HIDS (MKD)</b>			
Canakinumab	1B	MKD ≥2 ani și ≥7,5 kg	MKD la adulți și copii
Anakinra	2B	Niciuna	Niciuna
Etanercept	3B	Niciuna	Niciuna
Adalimumab	3B	Niciuna	Niciuna
Toclizumab	4	Niciuna	Niciuna

Tabelu rezumă indicațiile și specificațiile pentru aprobarea medicamentelor pentru boli autoinflamatorii, așa cum erau valabile în iulie 2019. Nivelurile de evidență au fost adaptate din nivelurile de evidență ale Centrului Oxford pentru Medicină bazate pe dovezi și gradele de recomandare: 1B - studiu individual randomizat controlat; 2A - revizuire sistematică a studiilor de cohortă; 2B - studiu individual de cohortă; 3B - studiu individual de caz-control, studiu de cohortă non-consecutiv; 4 - serii de cazuri.

(De la: Protocolul de consens pentru diagnosticul și managementul sindroamelor autoinflamatorii ereditare CAPS, TRAPS și MKD/HIDS: o inițiativă PRO-KIND din Germania)

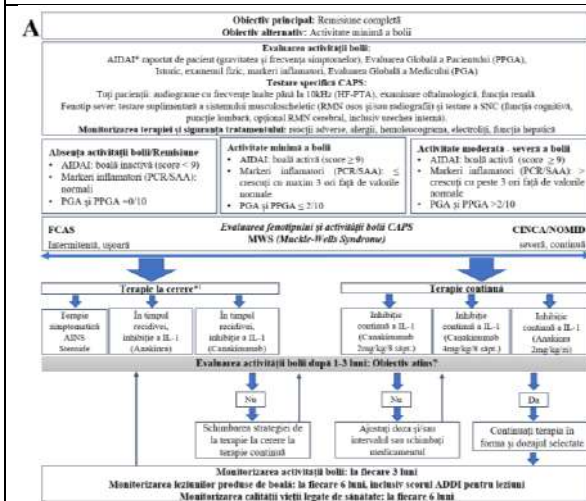
Current status of drug approval by the European Medicines Agency and the US Food and Drug Administration for autoinflammatory diseases

(From: Consensus protocol for the diagnosis and management of CAPS, TRAPS and MKD/HIDS: a PRO-KIND initiative from Germany)

Treatment	L	EMA approval (EMA-European Medicines Agency)	Aprobare FDA (FDA- Food-and-Drug Administration)
<b>CAPS</b>			
Canakinumab	1B	CINCA/NOMID, MWS and severe FCAS ≥2 years and ≥7.5 kg	FCAS and MWS ≥4 years
Rilonacept	1B	None	FCAS and MWS ≥12 years
Anakinra	2A	All CAPS patients ≥8 months and ≥10 kg	Nominated / FIVE only
<b>TRAPS</b>			
Canakinumab	1B	TRAPS ≥2 years and ≥7.5 kg	TRAPS in adults and children
Anakinra	2B	None	None
Etanercept	2B	None	None
<b>HIDS (MKD)</b>			
Canakinumab	1B	MKD ≥2 years and ≥7.5 kg	MKD in adults and children
Anakinra	2B	None	None
Etanercept	3B	None	None
Adalimumab	3B	None	None
Toclizumab	4	None	None

The table summarizes the indications and specifications for the approval of drugs for autoinflammatory diseases as they were valid in July 2019. The levels of evidence were adapted from the Oxford Center for Evidence-Based Medicine levels of evidence and grades of recommendation: 1B - individual randomized controlled trial; 2A - systematic review of cohort studies; 2B - individual cohort study; 3B - individual case-control study, non-consecutive cohort study; 4 - series of cases.

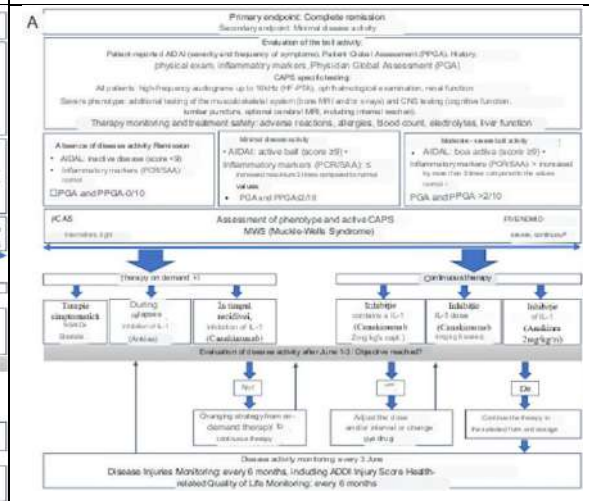
(From: Consensus protocol for the diagnosis and management of hereditary autoinflammatory syndromes CAPS, TRAPS and MKD/HIDS: a PRO-KIND initiative from Germany)



\*1 Majoritatea pacienților cu CAPS au un curs continuu al bolii, terapia la cerere este recomandată doar la pacienții cu activitate scăzută a bolii

Fig. 1. A Planul de tratament PRO-KIND de tip "tratare către obiectiv" pentru pacienții cu Sindroamele Periodice Asociate Criopirinei (CAPS) \*1. Majoritatea pacienților cu CAPS prezintă o evoluție continuă a bolii, iar terapia la cerere este recomandată numai în cazul pacienților cu activitate scăzută a bolii.

Spectrul de boală în TRAPS este, de asemenea, larg, însă mai puțin distinct față de CAPS. Variantele genetice și alți factori de risc sunt importanți. Mai multe opțiuni de tratament pentru pacienții cu TRAPS sunt susținute de



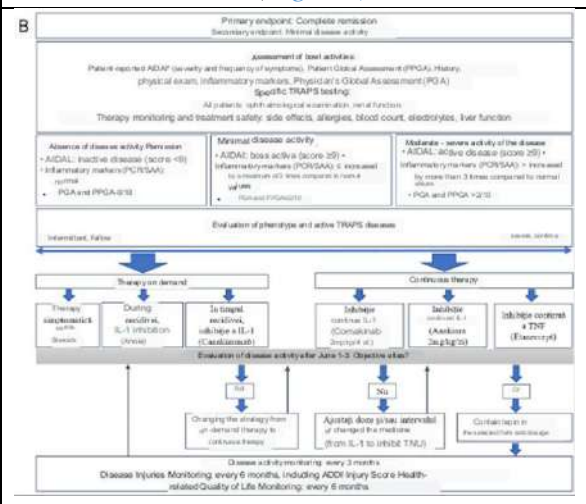
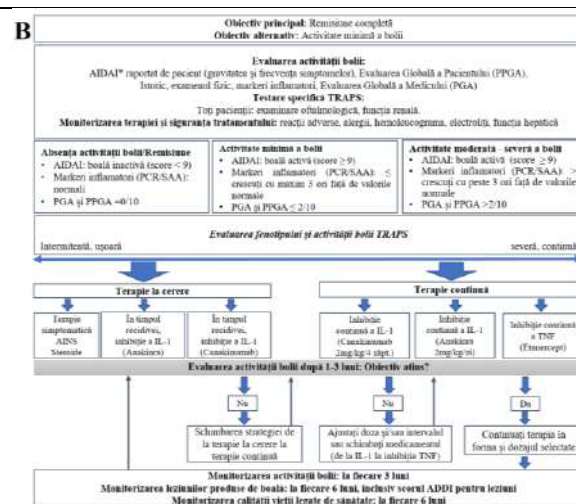
\*1 Most patients with CAPS have a continuous disease course, on-demand therapy is only recommended in patients with low disease activity

Fig. 1. A "Treatment to Goal" PRO-KIND treatment plan for patients with Cryopyrine Associated Periodic Syndromes (CAPS) \*1. Most patients with CAPS have ongoing disease progression, and on-demand therapy is recommended only in patients with low disease activity.

The spectrum of disease in TRAPS is also broad but less distinct than CAPS. Genetic variants and other risk factors are important. Several treatment options for patients with

dovezi: inhibiția IL-1 cu Canakinumab este eficientă și în prezent reprezintă singurul tratament aprobat pentru TRAPS (*Tabelul 5*). Terapia cu alte inhibitori IL-1 sau cu receptorul decoy TNF- $\alpha$ , Etanercept, a condus la o îmbunătățire semnificativă a simptomelor și parametrilor de laborator. În cazul TRAPS, direcționarea unei căi inflamatorii alternative la pacienții care nu răspund sau răspund parțial la tratament poate fi o oportunitate importantă. Tratamentul cu AINS a dus la ameliorarea simptomelor la 75% din pacienții cu TRAPS, dar rar a dus la încetarea efectivă a inflamației. Corticosteroizii pot avea, de asemenea, un efect imediat, posibil pe termen scurt, asupra inflamației la majoritatea pacienților. În cazul TRAPS, deciziile privind tratamentul ar trebui ghidate de fenotipul inițial și ulterior, activitatea bolii și estimarea riscului; monitorizarea standardizată și ajustările terapeutice sunt critice pentru a obține remisiunea (*Fig. 1B*).

TRAPS are supported by the evidence: IL-1 inhibition with Canakinumab is effective and is currently the only approved treatment for TRAPS (Table 5). Therapy with other IL-1 inhibitors or the decoy TNF- $\alpha$  receptor, Etanercept, led to significant improvement in symptoms and laboratory parameters. In the case of TRAPS, targeting an alternative inflammatory pathway in patients who do not or partially respond to treatment may be an important opportunity. NSAID treatment led to symptom relief in 75% of TRAPS patients, but rarely resulted in an effective cessation of inflammation. Corticosteroids can also have an immediate, possibly short-term, effect on inflammation in most patients. In TRAPS, treatment decisions should be guided by baseline and subsequent phenotype, disease activity, and risk estimate; standardized monitoring and therapeutic adjustments are critical to achieve remission (*Fig. 1B*).



*Fig. 1. B Planul de tratament PRO-KIND de tip "tratare către obiectiv" pentru pacienții cu Sindromul Periodic Asociat cu Receptorul Factorului de Necroză Tumorală (TRAPS)*

*Fig. 1. B PRO-KIND "Treatment to Goal" Treatment Plan for Patients with Tumor Necrosis Factor Receptor Associated Periodic Syndrome (TRAPS)*

MKD/HIDS (Sindromul Deficitului de Mevalonat Kinază) cuprinde un spectru larg de fenotipuri clinice, de la forme ușoare la severe, care se manifestă prin simptome diverse. Eficacitatea inhibitorilor de Interleukină-1 la pacienții cu MKD/HIDS a fost demonstrată și a condus la aprobarea Canakinumabului (*Tabelul 5*). În plus, s-a propus o abordare la cerere

MKD/HIDS (Mevalonate Kinase Deficiency Syndrome) encompasses a broad spectrum of clinical phenotypes, from mild to severe forms, manifested by diverse symptoms. The efficacy of Interleukin-1 inhibitors in patients with MKD/HIDS has



pentru Anakinra, care a redus semnificativ recidivele în MKD/HIDS. În cazuri individuale, s-a raportat răspuns la tratament cu inhibitori de TNF- $\alpha$  sau IL-6. În cazurile severe și cu o calitate slabă a vieții, se poate lua în considerare transplantul allogen de celule stem hematopoietice (HSCT). Administrarea AINS și a corticosteroizilor a demonstrat îmbunătățirea simptomelor. Tratamentul pacienților cu MKD/HIDS ar trebui să urmeze o abordare de tratare către obiectiv pentru a găsi strategia de tratament, medicamentul și dozele individuale (Fig. 1C).

been demonstrated and led to the approval of Canakinumab (Table 5). In addition, an on-demand approach to Anakinra was proposed, which significantly reduced relapses in MKD/HIDS. In individual cases, response to treatment with TNF- $\alpha$  or IL-6 inhibitors has been reported. In severe cases and with poor quality of life, allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) may be considered. Administration of NSAIDs and corticosteroids has shown improvement in symptoms. The treatment of patients with MKD/HIDS should follow a treatment-to-goal approach to find the treatment strategy, drug and individual doses (Fig. 1C).

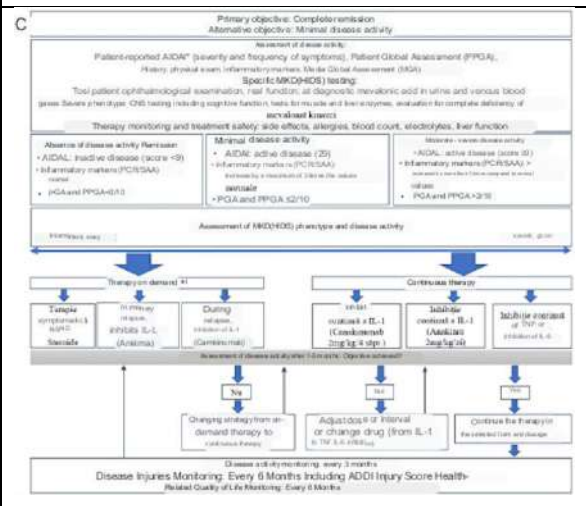
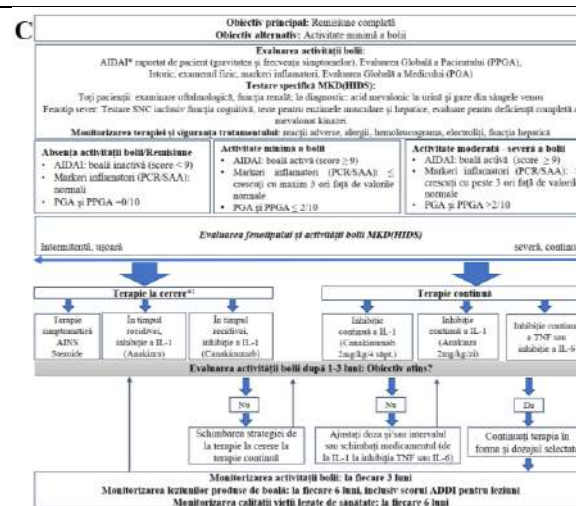


Fig. 1. C Planul de tratament PRO-KIND de tip "tratare către obiectiv" pentru pacienții cu Sindromul Deficitului de Mevalonat Kinază (MKD)

Planurile de tratament pentru pacienții cu CAPS (A), TRAPS (B) și MKD/HIDS (C) definesc obiectivele tratamentului. După stabilirea diagnosticului, pacienții primesc tratament la cerere (recomandat numai în cazul unei activități reduse a bolii) sau tratament continuu. După trei luni, pacienții sunt evaluați pentru a stabili dacă au atins obiectivul de tratament. Deciziile privind tratamentul includ continuarea sau ajustarea dozei, schimbarea medicamentelor sau schimbarea strategiei. Acest proces iterativ are ca scop obținerea, în final, a obiectivului de tratament și anume remisia completă. Recomandările și intervalele de monitorizare sunt prezentate. AIDAI: Indexul Activității

Fig. 1. C PRO-KIND "Treatment to Goal" Treatment Plan for Patients with Mevalonate Kinase Deficiency Syndrome (MKD)

Treatment plans for patients with CAPS (A), TRAPS (B), and MKD/HIDS (C) define treatment goals. After diagnosis, patients receive on-demand treatment (recommended only for low disease activity) or continuous treatment (recommended only for low disease activity) or continuous treatment. After three months, patients are evaluated to determine whether they have reached the treatment goal. Treatment decisions include continuing or adjusting the dose, changing medications, or changing strategy. This iterative process aims to ultimately achieve the treatment goal of complete remission.

<p>Bolilor Autoinflamatorii; ADDI (<i>Autoinflammatory Disease Damage Index</i>): Indexul de leziune ale Bolilor Autoinflamatorii pentru evaluarea extinderii leziunilor organice; PGA și PPGA: Evaluarea globală de către medic și pacient utilizând o scară analogică vizuală. * Definiția remisiei conform AIDAI [1].</p>	<p>Recommendations and monitoring intervals are presented. AIDAI: Autoinflammatory Disease Activity Index; ADDI (Autoinflammatory Disease Damage Index): Autoinflammatory Disease Injury Index for assessing the extent of organic lesions; PGA and PPGA: Global assessment by physician and patient using a visual analog scale. * Definition of remission according to AIDAI [1].</p>
<p><b>Mozaicism.</b> Variantele patogene care conduc la boli autoinflamatorii nu sunt neapărat prezente în toate celulele. Unii pacienți prezintă simptome autoinflamatorii pe baza mozaicismului, referindu-se la prezența celulelor cu genotipuri distincte într-un singur individ. Mozaicismul a fost identificat la pacienții cu boli autoinflamatorii cu debut tardiv, ușoare sau altfel atipice, în spectrul sindroamelor periodice asociate cu criopirin (CAPS); sindromul asociat cu receptorul alfa al factorului de necroză tumorală (TRAPS); boala asociată receptorului 4 al familiei Nod-like, cu domeniu de recrutare a caspazelor (NLRC4); sindromul Blau și sindromul VEXAS (vacuole, enzima E1, cromozomul X, autoinflamatorie și somatic).</p> <p>Mozaicismul apare prin dezvoltarea mutațiilor cauzate de boală după stadiul de singură celulă al embriogenezei. Proporția și distribuția celulelor purtătoare ale mutației variază în funcție de momentul apariției mutației. Dacă mutația apare la un stadiu timpuriu, celulele rezultate pot fi larg distribuite, incluzând astfel chiar celule germinale ce pot fi transmise viitorilor descendenți (numit mozaicism gonosomal). Divergența genetică care apare mai târziu este, de obicei, restricționată la celulele nongonadale (mozaicism somatic) și chiar la populații specifice de celule. În astfel de cazuri, mutația poate să nu fie detectată dacă testarea este restricționată la o populație celulară diferită de cele afectate sau dacă populația de celule mutante reprezintă doar o mică fracțiune din celulele testate, astfel încât "semnalul" provenit din celulele purtătoare ale mutației să fie acoperit de o fracțiune mai mare de celule nonmutante. Detectarea acestor cazuri poate necesita tehnici specializate, inclusiv secvențierea deoxyribonucleică (ADN) de nouă</p>	<p><b>Mosaicism.</b> Pathogenic variants leading to autoinflammatory diseases are not necessarily present in all cells. Some patients present with autoinflammatory symptoms based on mosaicism, referring to the presence of cells with distinct genotypes in a single individual. Mosaicism has been identified in patients with late-onset, mild, or otherwise atypical autoinflammatory diseases in the spectrum of cryopyrin-associated periodic syndromes (CAPS); tumor necrosis factor receptor alpha syndrome (TRAPS); Nod-like family receptor 4 disease with caspase recruitment domain (NLRC4); Blau syndrome and VEXAS syndrome (vacuoles, E1 enzyme, X chromosome, autoinflammatory and somatic).</p> <p>Mosaicism occurs through the development of disease-causing mutations after the single-cell stage of embryogenesis. The proportion and distribution of mutation-carrying cells varies depending on when the mutation occurs. If the mutation occurs at an early stage, the resulting cells can be widely distributed, thus including even germ cells that can be transmitted to future offspring (called gonosomal mosaicism). The genetic divergence that occurs later is usually restricted to nongonadal cells (somatic mosaicism) and even to specific cell populations. In such cases, the mutation may not be detected if the testing is</p>

generație (secvențiere adâncă), testarea a mai multor țesuturi și generarea de clone din diferite țesuturi de la același pacient [2].Manifestările clinice ale bolilor inflamatorii sunt reprezentate în fig. 4

restricted to a different cell population than the affected ones, or if the population of mutated cells represents only a small fraction of the cells tested, so that the "signal" from cells carrying the mutation be covered by a larger fraction of nonmutant cells. Detection of these cases may require specialized techniques, including next-generation deoxyribonucleic (DNA) sequencing (deep sequencing), testing of multiple tissues, and generation of clones from different tissues from the same patient [2].

Boli autoinflamatorii				VII. Auto-inflammatory disorders			
Inflamație recurentă	Inflamație sistemică cu șaricrie	Inflamație steriliă (piele/oase/articulații)	Altele:	Recurrent inflammation	Systemic inflammation with urticaria rash	Sterile inflammation (skin / bone / joints)	Others
<b>AR</b> <b>DA:</b> 1-4 zile <b>FA:</b> Variabil Polimerizată, durere articulară, urticarie, limfocitoză. Colica în sensul +++ Eritem asemănător eritemului (Erythema nodosum-like) (EMN) (MIF1) (MIF2)	<b>AR-DA:</b> 2-10 zile Epizode în zig. Urticarie eruptivă, artrită, febră. C-reaktivă ++ Neutrofilii accentuate în ser (neutrophils) (NLRP2) (MIF1) (MIF2)	<b>AR-DA:</b> câteva zile <b>FA:</b> 1-3 pe lună Osteomielită multifocală cronică recurentă, durere severă, umflarea artrozilor a tenarilor, senzație translație-dependență (MIF1) (MIF2)	<b>AR, DA:</b> Cronică Urticarie, erupție cutanată, necropsii de sine, boala lui Crohn, răspuns modest susținut în fața azatioprină (MIF1) (MIF2)	<b>AR</b> <b>DA:</b> 24-48 h Cold exposure, fever, urticaria, arthralgia, erythema nodosum-like (MIF1) (MIF2)	<b>AR-DA:</b> 2-10 zile Epizode în zig. Urticarie eruptivă, artrită, febră. C-reaktivă ++ Neutrofilii accentuate în ser (neutrophils) (NLRP2) (MIF1) (MIF2)	<b>AR-DA:</b> câteva zile <b>FA:</b> 1-3 pe lună Osteomielită multifocală cronică recurentă, durere severă, umflarea artrozilor a tenarilor, senzație translație-dependență (MIF1) (MIF2)	<b>AR, DA:</b> Cronică Urticarie, erupție cutanată, necropsii de sine, boala lui Crohn, răspuns modest susținut în fața azatioprină (MIF1) (MIF2)

Figura 4 Manifestările clinice ale bolilor inflamatorii

**Bibliografie/ References:**

- Hansmann, S., Lainka, E., Horneff, et al. (2020). Consensus protocols for the diagnosis and management of the hereditary autoinflammatory syndromes CAPS, TRAPS and MKD/HIDS: a German PRO-KIND initiative. *Pediatric rheumatology online journal*, 18(1), 17. <https://doi.org/10.1186/s12969-020-0409-3>
- Peter A Nigrovic, MD, (May 31, 2023). The autoinflammatory diseases: An overview. [https://www.uptodate.com/contents/the-autoinflammatory-diseases-an-overview?search=Autoinflammatory%20diseases&source=search\\_result&selectedTitle=1~83&usage\\_type=default&display\\_rank=1](https://www.uptodate.com/contents/the-autoinflammatory-diseases-an-overview?search=Autoinflammatory%20diseases&source=search_result&selectedTitle=1~83&usage_type=default&display_rank=1)
- Aksentijevich I.,Masters S.L.,Ferguson P.J., et al.An autoinflammatory disease with deficiency of the interleukin-1-receptor antagonist//N.Engl.J.Med,2009,Vol.360,p.2426-2437
- Aksentijevich I.,McDermott M.F.Lessons from characterization and treatment of the autoinflammatory syndromes//Curr.Opin.Rheumatol.-2017,Vol.29,no.2,p.187-194
- Almeida de Jesus A.,Goldbach-Mansky R.Monogenic autoinflammatory diseases:concept and clinical manifestation.Clin.Imunol.-2013,Vol.147,no.3,p.155-174
- Bodar E.J.,Drenth J.P.H.,van der Meer J.S.M. et al.Dysregulation of innate immunity:hereditary periodic fever syndromes//Br.J.Haematol.2009,vol.144,p.279-302

## **DEFICIENȚA DE ADEZIUNE LEUCOCITARĂ (LAD)**

**Lucia Andries, Doina Barba, Valentina Surdu, Maria Pleșca**  
**Laboratorul de alergologie și imunologie clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemițanu”, IMSP Institutul Mamei și Copilului**

### **REZUMAT**

Deficiența de aderență a leucocitelor (LAD – Leukocyte Adhesion Deficiency) prezintă o imunodeficiență primară rară care face parte din grupa defectelor cantitative și funcționale ale neutrofilelor, printre care se regăsesc neutropeniile înnăscute, boala granulomatoasă cronică, sindromul Shwachman – Diamond, proteinoza alveolară pulmonară. În toate aceste forme malade au loc defecte ale neutrofilelor care se manifestă fie prin insuficiența cantitativă a celulelor (neutropenia) sau prin dereglarea funcției lor (deficiența de aderență și killing-ul intracelular). Sunt descrise trei tipuri de deficiență de aderență a leucocitelor cu elucidarea defectelor genetice, manifestărilor clinice (semne, simptome), caracterul evolutiv, principiile de abordare a tratamentului și prognosticul. Este elucidat cazul clinic al unei paciente în vârstă de doi ani cu sindromul LAD-I, cu evaluarea particularităților clinice, hematologice, imunologice, molecular-genetice și perspective terapice. Concomitent sunt specificate particularitățile variantelor clinice ale formelor LAD-II și LAD-III.

## **LEUCOCYTE ADHESION DEFICIENCY (LAD)**

**Lucia Andries, Doina Barba, Valentina Surdu, Maria Pleșca**  
**Laboratory of Allergology and Clinical Immunology, State University of Medicine and Pharmacy "Nicolae Testemițanu", IMSP Mother and Child Institute**

### **SUMMARY**

Leukocyte Adhesion Deficiency (LAD – Leukocyte Adhesion Deficiency) presents a rare primary immunodeficiency that is part of the group of quantitative and functional defects of neutrophils, among which are congenital neutropenias, chronic granulomatous disease, Shwachman-Diamond syndrome, pulmonary alveolar proteinosis. In all these morbid forms, defects of neutrophils occur which are manifested either by the quantitative insufficiency of the cells (neutropenia) or by the deregulation of their function (adhesion deficiency and intracellular killing). Three types of leukocyte adhesion deficiency are described with elucidation of genetic defects, clinical manifestations (signs, symptoms), evolutionary character, principles of treatment approach and prognosis. The clinical case of a two-year-old patient with LAD-I syndrome is elucidated, with the evaluation of clinical, hematological, immunological, molecular-genetic peculiarities and therapeutic perspectives. At the same time, the particularities of the clinical variants of the LAD-II and LAD-III forms are specified.

## INTRODUCERE

În condiție de normă leucocitele se deplasează rapid în torentul sangvin și adeziunea lor la endoteliu este imposibilă. Prin activarea celulelor endoteliale la inflamație se inițiază rolling-ul leucocitelor de-a lungul peretelui vascular. Selectinele endoteliului exprimate după activarea acestuia, se leagă cu leucocitele prin liganzi glucidici și astfel induc rolling-ul lor. Leucocitele legate de selectine sunt influențate de microambianță, în special de chemokine care activează integrinele. Deficiența de aderență a leucocitelor este o tulburare rară de adeziune și migrare a leucocitelor rezultată din mutațiile genelor ce codifică câteva familii de molecule de adeziune (superfamilia integrinelor  $\beta 1$ ,  $\beta 2$ ,  $\beta 3$ , receptorilor selectinici și liganzilor lor fucozilați). Dezvoltarea procesului inflamator local include un complex de evenimente secvențiale ca dilatarea vaselor sangvine, creșterea permeabilității vasculare, extravazarea plasmei urmate de migrația celulelor. Migrarea leucocitelor din torentul sangvin în țesuturi și acumularea lor rapidă în focarele inflamatorii este necesară pentru controlul asupra antigenelor non-proprie invadatoare. Interacțiunea leucocitelor cu celulele endoteliale ale vaselor sangvine este elementul central în răspunsul inflamator, fiind mediat de câteva familii de molecule de adeziune. Rolul esențial al superfamiliei de integrine  $\beta 2$  a fost stabilit după detecția defectelor de adeziune a leucocitelor de tipul I – LAD-I. La acești pacienți, leucocitelor le lipsește o proteină de suprafață (CD18) care le face incapabile să ajungă în focarele de infecție și să distrugă bacteriile sau fungile patogene.

Deficiența de adeziune a leucocitelor se distinge de trei tipuri în funcție de genetică, semne și simptome (LAD-I, LAD-II, LAD-III). LAD-I se caracterizează prin manifestări clinice timpurii (după naștere), prin infecții bacteriene/fungice severe și inflamație. Printre primele semne ale acesteia este detașarea întârziată a bontului de cordon ombilical, care, de obicei, cade în primele două săptămâni de viață a copilului, pe când la sugarii cu LAD-I această desprindere se întâmplă la trei-patru săptămâni și chiar mai târziu, procesul fiind însoțit de inflamația ciotului restant prin infecții bacteriene (omfalită). Infecțiile și inflamațiile bacteriene apar cel mai frecvent pe

## INTRODUCTION

Under normal conditions leukocytes move quickly in the blood stream and their adhesion to the endothelium is impossible. By activating the endothelial cells during inflammation, the rolling of leukocytes along the vascular wall is initiated. Endothelial selectins expressed after its activation bind with leukocytes through carbohydrate ligands and thus induce their rolling. Selectin-bound leukocytes are influenced by the microenvironment, particularly by chemokines that activate integrins. Leukocyte adhesion deficiency is a rare disorder of leukocyte adhesion and migration resulting from mutations in genes encoding several families of adhesion molecules ( $\beta 1$ ,  $\beta 2$ ,  $\beta 3$  integrin superfamily, selectin receptors and their fucosylated ligands). The development of the local inflammatory process includes a complex of sequential events such as blood vessel dilation, increased vascular permeability, plasma extravasation followed by cell migration. The migration of leukocytes from the blood stream into tissues and their rapid accumulation in inflammatory foci is necessary for the control of invading non-self antigens. The interaction of leukocytes with endothelial cells of blood vessels is the central element in the inflammatory response, being mediated by several families of adhesion molecules. The essential role of the  $\beta 2$  integrin superfamily was established after the detection of leukocyte adhesion defects type I – LAD-I. In these

patients, leukocytes lack a surface protein (CD18) that makes them unable to reach the foci of infection and destroy pathogenic bacteria or fungi.

Leukocyte adhesion deficiency is distinguished into three types based on genetics, signs and symptoms (LAD-I, LAD-II, LAD-III). LAD-I is characterized by early clinical manifestations (after birth), severe bacterial/fungal infections and inflammation. Among the first signs of this is delayed detachment of the umbilical cord stump, which usually falls off in the first two weeks of the baby's life, while in infants with LAD-I



piele și mucoase. Se manifestă prin gingivita și parodontita, care poate conduce la pierderea dinților primari sau permanenți. Un semn distinctiv al LAD-I este absența puroiului la locurile de infecție. Rănile se vindecă lent și sunt teren propice pentru infecții suprapuse.

LAD-I este cauzată de defecte ale genei *ITGB2* care codifică molecula CD18. Pe fond de infecții acute cantitatea de neutrofile în sângele periferic este majorată de câteva ori. Pacienții cu LAD-I sunt rezistenți la infecțiile virale. Severitatea manifestărilor clinice corelează cu gradul de deficiență a CD18. Pacienții care au mai puțin de 1% de la expresia normală a CD18 dezvoltă un fenotip sever de boală cu infecții frecvente ce comportă pericol vital, dacă expresia CD18 este de 2,5-10% de la normă, maladia evoluează într-o formă mai puțin gravă. Au fost descriși câțiva pacienți cu expresie normală a CD18 și cu fenotip clasic de LAD-I, ceea ce se explică prin mutație cu sinteza proteinei nefuncționale. LAD-II este o maladie rară care se dezvoltă în rezultatul defectului metabolismului fucozei, care conduce la absența SLeX și altor liganzi fucozilați pentru selectine. Rolling-ul – primul stadiu al neutrofilelor recrutate în focarul inflamator este mediat de fixarea selectinelor la liganzii fucozilați glucoconjugați. În LAD-II rolling-ul constituie doar 5% de la nivelul normal și migrația neutrofilelor este dereglată.

Chemotaxia neutrofilelor este scăzută. Nivelul selectinei L și expresia integrinelor CD11b/CD18 sunt normale. Sugarii cu LAD-II dezvoltă infecții bacteriene recurente mai ușoare decât cele observate în cazul LAD-I. Pneumonia, infecțiile cronice ale urechii medii, parodontita și infecțiile localizate ale pielii (celulită) se înregistrează frecvent. Nu se observă supurații pe zona infecției. Pe măsura creșterii cu vârsta, frecvența infecțiilor scade (după vârsta de 3 ani) și principala complicație rămâne parodontita. Persoanele cu LAD-II au grupa sangvină Bombay (hh), hipotonie, trăsături faciale distinctive, retard mental sever și statutar. LAD-II este cauzată de defecte ale genei *SLC35C1*, care afectează metabolismul fucozei și conduce la absența SLeX și altor liganzi pentru selectine. Rolling-ul neutrofilelor recrutate în focarul inflamator este mediat de fixarea selectinelor la liganzi fucozilați

this detachment occurs at three to four weeks and even later, the process being accompanied by inflammation of the remaining stump through bacterial infections (omphalitis). Bacterial infections and inflammations occur most frequently on the skin and mucous membranes. It is manifested by gingivitis and periodontitis, which can lead to the loss of primary or permanent teeth. A hallmark of LAD-I is the absence of pus at the sites of infection. Wounds heal slowly and are breeding grounds for superimposed infections. LAD-I is caused by defects in the *ITGB2* gene that codes for the CD18 molecule. Against the background of acute infections, the amount of neutrophils in the peripheral blood is increased several times. Patients with LAD-I are resistant to viral infections. The severity of clinical manifestations correlates with the degree of CD18 deficiency. Patients who have less than 1% of normal CD18 expression develop a severe disease phenotype with frequent life-threatening infections, if CD18 expression is 2.5-10% of normal, the disease evolves into a more severe form a little serious. A few patients with normal CD18 expression and classic LAD-I phenotype, explained by mutation with non-functional protein synthesis, have been described. LAD-II is a rare disease that develops as a result of a defect in fucose metabolism, leading to the absence of SLeX and other fucosylated ligands for selectins. Rolling – the first stage of neutrophils recruited to the inflammatory focus is mediated by the binding of selectins to glucoconjugated fucosylated ligands. In LAD-II rolling is only 5% of the normal level and neutrophil migration is deregulated. Neutrophil chemotaxis is decreased. L-selectin level and expression of CD11b/CD18 integrins are normal. Infants with LAD-II develop milder recurrent bacterial infections than seen with LAD-I. Pneumonia, chronic middle ear infections, periodontitis and localized skin infections (cellulitis) are common. No suppuration is observed in the area of infection. As the age increases, the frequency of infections decreases (after the age of 3 years) and the main complication

glicoconjugați. În cazul LAD-II rolling-ul constituie numai 5% din nivelul normal și migrația neutrofilelor se dereglează. Pacienții cu LAD-II au fenotipul sangvin Bombay (absența antigenului H) prin combinarea cu Lewis negativ după aglutinogenul A și B.

Pentru LAD-II sunt caracteristice retardul mental și statutar, particularități structurale ale feței și fenotipul rar sangvin Bombay (hh). Purtătorii acestui tip sangvin sunt donatori universali (sângele lor poate fi transfuzat oricărui pacient cu luarea în considerare a factorului Rhesus, dar lor li se va accepta doar sângele persoanelor cu același fenotip).

Pacienții cu LAD-II suportă infecții bacteriene severe recidivante (pneumonie, periodontită, otită, celulită localizată, alterarea pielii fără purulență) de la vârstă precoce. În puseul infecțios este caracteristică creșterea numărului de leucocite în sângele periferic. Severitatea infecțiilor este mai temperată decât în LAD-I, iar după vârsta de 3 ani frecvența episoadelor infecțioase scade și pacienții nu mai necesită administrarea profilactică a antibioticelor.

Deficiența de aderență a leucocitelor de tip III este o maladie autosomal recesivă, în care expresia integrinelor și activitatea adezivă a receptorilor integrinelor endoteliale este normală, dar activarea *in situ* a tuturor integrinelor leucocitarare, inclusiv LFA-1, Mac-1 și VLA-4, a chemokinelor eliberate de endoteliu sau chemoatracantele este redusă esențial pe neutrofile și limfocite. Cu toate că rolling-ul leucocitelor pe suprafața endoteliului nu este afectat, ele nu sunt capabile de aderență cu liganzii endoteliului ca răspuns la chemokinele eliberate. Semnalul mediat de GPCR (G – Protein Coupled Receptor) al acestor celule este normal și capacitatea lor de a migra la chemotaxie nu este scăzută. Defectul cheie din acest sindrom este pierderea capacității genetice determinate de activare a integrinelor la semnalele de stimulare chemoattractantă emise de GPCR, precum și de semnalele independente de aceasta.

Tabloul clinic afișat de LAD-III este identic cu cel din LAD-I, adică cu infecții severe, leucocitoză esențială, detașarea întârziată a bontului de cordon, tendința de a sângera mai ușor

remains periodontitis. People with LAD-II have Bombay (hh) blood group, hypotonia, distinctive facial features, severe mental retardation and status. LAD-II is caused by defects in the SLC35C1 gene, which affects fucose metabolism and leads to the absence of SLeX and other selectin ligands. The rolling of recruited neutrophils into the inflammatory focus is mediated by the attachment of selectins to glycoconjugated fucosylated ligands. In the case of LAD-II the rolling is only 5% of the normal level and the migration of neutrophils is deregulated. Patients with LAD-II have the Bombay blood phenotype (absence of H antigen) by combining with negative Lewis after agglutinin A and B.

LAD-II is characterized by mental and stature retardation, structural facial features, and the rare Bombay blood phenotype (hh). Carriers of this blood type are universal donors (their blood can be transfused to any patient taking into account the Rhesus factor, but only the blood of people with the same phenotype will be accepted).

Patients with LAD-II suffer from recurrent severe bacterial infections (pneumonia, periodontitis, otitis, localized cellulitis, skin alteration without purulence) from an early age. In infectious pus, an increase in the number of leukocytes in the peripheral blood is characteristic. The severity of infections is milder than in LAD-I, and after the age of 3 years, the frequency of infectious episodes decreases and patients no longer require prophylactic antibiotics.

Leukocyte adhesion deficiency type III is an autosomal recessive disease in which the expression of integrins and the adhesive activity of endothelial integrin receptors is normal, but *in situ* activation of all leukocyte integrins, including LFA-1, Mac-1, and VLA-4, of endothelium-released chemokines or chemoattractants is essentially reduced on neutrophils and lymphocytes. Although rolling of leukocytes on the endothelial surface is not affected, they are not capable of adhesion with endothelial ligands in response to released chemokines. The GPCR (G – Protein Coupled Receptor) mediated signal of

și abundent, mai ales după proceduri chirurgicale, sângerări nazale (epistaxis), gingivite. LAD-III este cauzată de defecte ale genei *FERMT3*.

*Epidemiologia:* LAD afectează egal băieții și fetele. Incidența exactă în populația generală este necunoscută. Se consideră că LAD-I se întâlnește cu o frecvență de 1:1000000 populație.

*Diagnosticul LAD* se bazează pe evaluarea clinică minuțioasă, pe istoricul detaliat al pacientului, pe analiza hemoleucogramei complete. O hemogramă poate afișa nivele crescute de neutrofile și limfocite. Un diagnostic de LAD-I trebuie luat în considerație la orice sugar (băiat sau fetiță) cu infecții recurente ale țesuturilor moi și valori elevate de leucocite. Confirmarea de laborator al diagnosticului de LAD-I este susținută de scăderea expresiei subunităților  $\alpha$  sau  $\beta$  al integrinei  $\beta 2$  (CD11 și CD18 respectiv). CD18 se expresiază la a 20-a săptămână de gestație și cordocenteză, la această etapă poate fi utilizată pentru diagnosticul prenatal. În familiile cu defectul genetic stabilit, diagnosticul prenatal se realizează în termen mai precoce.

Diagnosticul oricăreia dintre cele 3 forme de LAD poate fi confirmat prin teste molecular-genetice. Testarea poate dezvălui mutațiile caracteristice ale genelor asociate cu fiecare tip: gena *ITGB2* cu LAD-I, gena *SLC35C1* cu LAD-II și gena *FERMT3* cu LAD-III.

*Tratamentul LAD:* Tratamentul de bază este utilizarea agresivă a antibioticelor pentru a trata infecțiile recidivante asociate cu LAD. Persoanele cu forme moderate sau ușoare de LAD-I sau LAD-II răspund, de obicei, la un tratament prompt cu antibiotice în episoadele de infecție acută. Terapia cu antibiotice, preventivă sau profilactică, poate fi recomandată pentru persoanele cu LAD-I. În cazuri rare, transfuziile de neutrofile (cele mai afectate celule sangvine în LAD) pot ajuta la tratarea infecțiilor care pun viața în pericol. Acestea, însă, nu sunt disponibile la scară largă și ar trebui utilizate numai în cazuri severe când toate celelalte opțiuni terapeutice au eșuat. Transfuziile de sânge sunt necesare pentru persoanele cu LAD-III care fac episoade de sângerare severă.

these cells is normal and their ability to migrate by chemotaxis is not decreased. The key defect in this syndrome is the loss of the genetically determined ability to activate integrins to chemoattractant stimulation signals emitted by GPCRs as well as GPCR-independent signals.

The clinical picture displayed by LAD-III is identical to that of LAD-I, i.e. with severe infections, essential leukocytosis, delayed cord stump detachment, tendency to bleed more easily and profusely, especially after surgical procedures, epistaxis (epistaxis), gingivitis. LAD-III is caused by defects in the *FERMT3* gene.

### **EPIDEMIOLOGY**

LAD affects boys and girls equally. The exact incidence in the general population is unknown. LAD-I is thought to occur with a frequency of 1:1000000 population.

The diagnosis of LAD is based on thorough clinical evaluation, detailed patient history, complete blood count analysis. A blood count may show increased levels of neutrophils and lymphocytes. A diagnosis of LAD-I should be considered in any infant (boy or girl) with recurrent soft tissue infections and elevated white blood cell counts. Laboratory confirmation of the diagnosis of LAD-I is supported by decreased expression of the  $\beta 2$  integrin  $\alpha$  or  $\beta$  subunits (CD11 and CD18 respectively). CD18 is expressed at 20 weeks of gestation and cordocentesis, at this stage it can be used for prenatal diagnosis. In families with the established genetic defect, the prenatal diagnosis is carried out earlier.

The diagnosis of any of the 3 forms of LAD can be confirmed by molecular-genetic tests. Testing can reveal the characteristic gene mutations associated with each type: the *ITGB2* gene with LAD-I, the *SLC35C1* gene with LAD-II, and the *FERMT3* gene with LAD-III.

*Treatment of LAD:* The mainstay of treatment is the aggressive use of antibiotics to treat recurrent infections associated with LAD. People with moderate or mild forms of LAD-I or LAD-II usually respond to prompt antibiotic treatment in episodes of acute



Singura terapie corectivă pentru persoanele cu LAD-I și LAD-III este transplantul de celule stem hematopoietice. Transplantul de celule stem poate corecta defectele genetice ale leucocitelor și sunt recomandate cât mai precoce, dacă este posibil. Rezultatele inițiale ale transplantului de celule stem acordat persoanelor cu LAD-I severă au fost foarte încurajatoare. Supraviețuirea globală a persoanelor cu LAD-I care au avut un transplant de celule stem este de aproape 75%.

Cercetătorii studiază dacă terapia genică, implantarea de copii sănătoase ale genei *ITGB2* în celulele stem din sângele persoanelor cu LAD-I pot vindeca boala.

Suplimentarea cu fucoză, o formă de zahăr, este investigată ca o modalitate de a trata persoanele cu LAD-II. Câțiva pacienți au avut o îmbunătățire semnificativă a simptomelor, inclusiv prevenirea infecțiilor recurente. Cu toate acestea, nu toți pacienții răspund la suplimentarea cu fucoză. Sunt necesare cercetări suplimentare pentru a determina siguranța și eficacitatea pe termen lung a acestei strategii de tratament.

Deficitul de adeziune a leucocitelor (LAD-1) este o tulburare rară de aderență și migrare a leucocitelor, rezultată din mutații ale genei *ITGB2* care codifică componenta integrina  $\beta 2$  CD18. Deficiența de CD18 împiedică dimerizarea normală a integrinei și aderarea leucocitelor la suprafețele endoteliale, procese esențiale pentru extravazarea și activitatea antimicrobiană, ceea ce se soldează cu infecții severe și mortalitate infantilă substanțială printre pacienții care nu primesc transplant alogen de celule stem hematopoietice.

Într-o evaluare retrospectivă multicentrică pentru intervalul 1988-2017 mortalitatea prin LAD-I severă a fost raportată ca fiind de 75% până la vârsta de 2 ani. Majoritatea pacienților cu LAD-I moderate (2-30% neutrofile care exprimă CD18) supraviețuiesc copilăria cu infecții recurente ale pielii și mucoaselor, dar mortalitatea acestora sub vârsta de 40 de ani depășește 50%. LAD-I se caracterizează de asemenea prin complicații legate de cordonul ombilical (detașarea lui întârziată și omfalită), vindecarea deficienței a rănilor și leucocitoza persistentă.

Antibiotic therapy, preventive or prophylactic, may be recommended for people with LAD-1. In rare cases, transfusions of neutrophils (the most affected blood cells in LAD) can help treat life-threatening infections. These, however, are not widely available and should only be used in severe cases when all other therapeutic options have failed. Blood transfusions are needed for people with LAD-III who have severe bleeding episodes.

The only curative therapy for people with LAD-I and LAD-III is hematopoietic stem cell transplantation. Stem cell transplants can correct genetic defects in leukocytes and are recommended as early as possible. The initial results of stem cell transplantation given to people with severe LAD-I have been very encouraging. The overall survival of people with LAD-I who have had a stem cell transplant is nearly 75%.

Researchers are studying whether gene therapy, implanting healthy copies of the *ITGB2* gene into the blood stem cells of people with LAD-I, can cure the disease.

Supplementation with fucose, a form of sugar, is being investigated as a way to treat people with LAD-II. Several patients had significant improvement in symptoms, including prevention of recurrent infections. However, not all patients respond to fucose supplementation. Further research is needed to determine the long-term safety and efficacy of this treatment strategy.

Leukocyte adhesion deficiency (LAD-1) is a rare disorder of leukocyte adhesion and migration resulting from mutations in the *ITGB2* gene encoding the  $\beta 2$  integrin component CD18. CD18 deficiency prevents normal integrin dimerization and leukocyte adhesion to endothelial surfaces, processes essential for extravasation and antimicrobial activity, resulting in severe infections and substantial infant mortality among patients who do not receive allogeneic hematopoietic stem cell transplantation.

In a multicenter retrospective review for the period 1988–2017, mortality from severe LAD-I was reported to be 75% by age 2 years.

**Prezentarea unui caz clinic de LAD-I.**

**Pacienta S. B.**, născută din prima sarcină, fără complicații, prin naștere naturală la termen, cu greutatea de 3420 g, și talia de 51 cm. Copila a fost vaccinată conform protocolului național de vaccinare fără reacții postvaccinale. Este alăptată natural, diversificarea nutriției de la 6 luni. Provenită din părinți neconsanguini. Dezvoltarea fizică și neuropsihică este conform vârstei respective. Istoric familial sugestiv nu se invocă. Boala a debutat la a 7-a zi după naștere cu omfalită. Investigațiile biologice au relevat indicii de leucocitoză marcată (peste 50.000/ul) cu neutrofilie. A prezentat abcese cutanate recurente fără supurare cu leucocitoză peste 30.000/ul și neutrofilie; a făcut un episod de sepsis cu Stafilococ, are gingivită și periodontită persistentă. Toate episoadele infecțioase au necesitat tratament antibiotic, atât injectabil, cât și oral. Panoramicul hemogramei este prezentat în tab. 1

**Tabelul 1. Dinamicul parametrilor hemogramelor ai pacientei cu LAD-I**

Most patients with moderate LAD-I (2-30% neutrophils expressing CD18) survive childhood with recurrent skin and mucosal infections, but their mortality under the age of 40 years exceeds 50%. LAD-I is also characterized by complications related to the umbilical cord (delayed detachment and omphalitis), poor wound healing, and persistent leukocytosis.

Presentation of a clinical case of LAD-I. Patient S. B., born from her first pregnancy, without complications, by natural birth at term, with a weight of 3420 g and a waist of 51 cm. The child was vaccinated according to the national vaccination protocol without post-vaccination reactions. She is breastfed naturally, diversifying nutrition from 6 months. Derived from non-consanguineous parents. Physical and neuropsychic development is according to the respective age. Suggestive family history is not cited. The disease started on the 7th day after birth with omphalitis. Biological investigations revealed evidence of marked leukocytosis (over 50,000/ul) with neutrophilia. He presented with recurrent skin abscesses without suppuration with leukocytosis over 30,000/ul and neutrophilia; had an episode of Staphylococcus sepsis, has persistent gingivitis and periodontitis. All infectious episodes required antibiotic treatment, both injectable and oral. The overview of the hemogram is presented in tab. 1.

Dynamics of hemogram parameters of the patient with LAD-I. Table 1.

Indicators, a.mass.	18.07.2020 (7 days)		In one year		In two years		Testing in Romania	
	Results	V.R.	Result	V.R.	Results	V.R.	Results	V.R.
RBC (10 <sup>6</sup> /μl)	4,14	4,1-6,7	4,2	4,1-5,3	4,42	4,0-5,3	4,64	4,5

Hb (g/dl)	14,9	15-24	11,4	11,3-14,1	11,2	11,4-14,5	10	10,7-14
NCT (%)	41,5	44-70	32,7	32-40	34,8	32-41	31,5	30-43
WBC ( $10^3/\mu\text{l}$ )	40,65	7,2-12,4	8,31	6-17	26,5	6-17	24,7	5,5-15,5
Neutrophils ( $10^3/\mu\text{l}$ )	23,3	1-9	6,08	1,5-7,5	12,59	1,5-8,5	12,7	1,5-8,0
Lymphocytes ( $10^3/\mu\text{l}$ )	9,09	2-17	0,87	4-10,5	11,29	3,0-9,5	10,1	1,7-6,9
Monocytes ( $10^3/\mu\text{l}$ )	7,12	0-1	0,82	0-1	1,64	0,2-0,8	0,97	0,1-1
Eosinophils ( $10^3/\mu\text{l}$ )	0,89	0,03-0,29	0,61	0,03-0,29	0,61	0,02-0,7	0,72	0,08-0,78
Basophils ( $10^3/\mu\text{l}$ )	0,25	0,02-0,07	0,3	0,03-0,04	0,37	0-0,2	0,15	0-1
PLT ( $10^3/l$ )	358	150-400	336	150-420	403	150-500	311	150-450
VSH (mm/h)	31	2-15	12	2-15	10	2-15	10	2-15

Note: V.R. reference values.

**Results of immune status testing are shown in Table 2.**

**Table 2**

**The immunogram of the patient with LAD-I in different periods of the disease:**

Age	In one year	In two years
The evaluated indicators	Result / Reference values	Result / Reference values
Lymphocytes, $10^9/L$	10,2 / 1,7-6,9	9,4 / 1,7-6,9
CD3 <sup>+</sup> , $10^9/L$	6,89 / 1,8-3,0	5,69 / 0,9-4,5
CD4 <sup>+</sup> , $10^9/L$	2,71 / 1,0-1,8	3,04 / 0,5-2,4
CD8 <sup>+</sup> , $10^9/L$	3,61 / 0,8-1,5	0,3 / 1,6-1,9

IIR CD4/CD8, 10 <sup>9</sup> /L	0,8 / 1,0-1,6	1,5 / 1,1-1,6
CD16/56 NK, 10 <sup>9</sup> /L	3,05 / 0,2-0,6	2,4 / 0,01-1,0
CD19 LB, 10 <sup>9</sup> /L	6,89 / 1,8-3,0	9,57 / 0,2-2,1
IgG, g/l	11,9 / 6,8-14,4	11,82 / 4,53-9,16
IgA, g/l	2,67 / 0,1 – 1,31	2,08 / 0,2 – 1,0
IgM, g/l	1,51 / 0,3-1,0	0,64 / 0,19-1,46

**Testarea molecular-genetică:** La pacienta *S.B.* au fost identificate: gena *ITGB2*, două variante patogenice - s.59-10C>A (Intronic) și s.949 C>T(p.Gln317)

La mamă, *V.A.* a fost identificată gena *ITGB2* varianta patogenică s.59-10C>A (Intronic).

La tată: A fost identificată gena *ITGB2*, varianta patogenică s.949C>T (p.Gln317).

Astfel, *pacienta S.B.* a moștenit de la ambii părinți varianta patogenică a genei *ITGB2*, care este responsabilă de deficiența de adeziune leucocitară de tipul I.

## CONCLUZII

1. Manifestările clinice al IDP LAD-I se asociază cu leucocitoză marcată în sânge.

2. Confirmarea diagnosticului clinic se bazează pe testarea molecular-genetică cu aprecierea genei cauzale.

3. Tratamentul efectiv al afecțiunii LAD-I este transplantul medular .

**Cuvinte-cheie:** imunodeficiență primară, deficiență de adeziune leucocitară, sindromul LAD, diagnostic și tratament.

## REFERENCES

- HANNA, S., ETZIONI, A. Leukocyte adhesion deficiencies. Ann NY Acad Sci. 2012;1250:50-55.
- ALMARZA NOVOA, E., KASBEKAR, S., THRASHER, A.J., et al. Leukocyte adhesion deficiency-I: A comprehensive review of all published cases // J.Allergy Clin. Immunol. Pract.-2018-Jan.-pii:S2213-2198(17)31026-7.

**Molecular-genetic testing:** In patient *S.B.* were identified: *ITGB2* gene, two pathogenic variants - s.59-10C>A (Intronic) and s.949 C>T(p.Gln317).

At the mother's, *V.A.* the pathogenic variant *ITGB2* gene s.59-10C>A (Intronic) was identified.

In the father: The *ITGB2* gene, the pathogenic variant s.949C>T (p.Gln317), was identified.

Thus, patient *S.B.* inherited from both parents the pathogenic variant of the *ITGB2* gene, which is responsible for leukocyte adhesion deficiency type I.

## CONCLUSIONS

1. Clinical manifestations of IDP LAD-I are associated with marked leukocytosis in the blood.

2. Confirmation of the clinical diagnosis is based on molecular-genetic testing with the assessment of the causative gene.

3. The effective treatment of LAD-I disease is bone marrow transplantation.

**Key words:** primary immunodeficiency, leukocyte adhesion deficiency, LAD syndrome, diagnosis and treatment.

3. AYGUN, D., NEPESOV, S., GERSHONI, R., CAMCIOGLU, Y. Leukocyte Adhesion Deficiency III: Report of Two Siblings // *Pediatr Neonatol.*-2017.-Feb. (vol58, no.1). – P.99 – 100.
4. CABANILLAS, D., REGAIRAZ, L., DESWARTE, C., et al. Leukocyte Adhesion Deficiency Type 1 (LAD1) with Expressed but Nonfunctional CD11/CD18 // *J.Clin.Immunol.*-2016.-Oct. (vol36, no. 7).- P.627-630.
5. CARLOS, T. M., HARLAN, J. M. Leukocyte-endothelial adhesion molecules // *Blood.*-1994.- vol.84.-P.2068-2101.
6. CRAZZOLARA, R., MAURER, K., SCHULZE, H., et al. A new mutation in the KINDLIN-3 gene ablates integrin-dependent leukocyte, platelet, and osteoclast function in a patient with leukocyte adhesion deficiency-III // *Pediatr. Blood Cancer.* – 2015.- Sep. (vol 62. No 9.) – P.1677-1679.
7. DE ROSE, D., GILIANI, S., NOTARANGELO, L. D. et al. Long term outcome of eight patients with type 1 Leukocyte Adhesion Deficiency (LAD-1): Not only infections, but high risk of autoimmune complications // *Clin, Immunol.* – 2018. – Mar. – pii: S1521-6616 (17)30894-X.
8. EL SAYED, Z.A, EL-GHONEIMY, D. H., AFIFI, H. A Rare Association Between Leukocyte Adhesion Deficiency Type I and Psoriasis in Humans // *Allergy Asthma Immunol. Res.* – 2011. – Apr.(vol.3, no.2). – P.138-140.
9. ESMAEILI, B., GHADAMI, M., FAZLOLLAHI, M. R., et al Prenatal diagnosis of leukocyte adhesion deficiency type-1 (five cases from iran with two new mutations) // *Iran J. Allergy Asthma Immunol.*-2014.-Feb(vol.13. No.1). – P.61-65.
10. ETZIONI, A. Defects in the leukocyte adhesion cascade. *lin//Rev.Allergy Immunol.*-2010.-Feb. (vol.38, no.1). – P.54-60.
11. ETZIONI, A. Leukocyte Adhesion Deficiencies: molecular basis, clinical findings, and therapeutic options // *Adv. Exp. Med. Biol.* – 2007. – Vol.601.-P.51-60.
12. ETZIONI, A. Leukocyte Adhesion Deficiency Type III – when integrins activation fails // *J.Clin. Immunol.* – 2014. – Nov.(vol.34, no. 8). – P.900-903.
13. ETZIONI, A., Tonetti M. Leukocyte Adhesion Deficiency II- from A to almost Z // *Immunol. Rev.* – 2000 - Vol. 178 – P. – 138-147.
14. FOXALL, C., Watson S. R, Dowbenko D., et al. The three members of the selectin receptor family recognize a common carbohydrate epitope, the sialy Lewis(x) oligosaccharide // *J. Cell. Biol.* -1992 – Vol.117 – P.895-902.
15. GAZIT, Y., Mory A., Etzioni A., et al. Leukocyte Adhesion Deficiency Type II: long-term follow-up and review of the literature // *J. Clin. Immunol.* – 2010 –Mar.(Vol.30, no.2) – P.-308-313.
16. HANNA, S., ETZIONI, A., Leukocyte Adhesion Deficiencies // *Ann. NY Acad. Sci.* – 2012 – Feb. – Vol. – 1250 – P. 50-55.
17. HOGG, N., STEWARD, M. P., SCARTH, S.L., et al. A novel leukocyte adhesion deficiency caused by expressed but nonfunctional integrins Mac-1 and LFA-1 // *J. Clin. Invest.* – 1999 – Vol.-103 – P.193-202.
18. JASANI, B., NANAVATI, R., KABRA, N. Unusual neonatal presentation of type I leukocyte adhesion. Deficiency // *J. Clin. Neonatology* – 2014 – Vol. 3, is. 2 - .109-111.
19. MADKAIKAR, M., ITALIA, K., GUPTA, M., et al. Leukocyte adhesion deficiency –I with a novel intronic mutation presenting with pyoderma gangrenosum – like lesion // *J. Clin. Immunol.* – 2015-May (Vol. 35, no. 4) – p. 431-434.

20. MATHEW, E. C., SHAW, J. M., BONILLA, F.A., et al. A novel point mutation in CD18 causing the expression of dysfunctional CD11/CD18 leucocyte integrins in a patient with leucocyte adhesion deficiency (LAD) // Clin. Exp. Immunol. – 2000 – Vol.121 – P.133-138.
21. NIGAR, S., KHAN E. A., AHMAD, T. A., Leukocyte adhesion defect: An uncommon immunodeficiency // J. Pak. Med. Assoc. – 2018 – Jan (Vol. 68, no. 1) – P.119-122.
22. PACEY, L. Gum disease reversed in LAD patients // Br. Dent. J. – 2014 – Jun. (Vol. 216, no. 12) – P. 657.
23. PHILIPS, M. L., SCHWARTZ, B. R., ETZIONI, A., et al. Neutrophil adhesion in leukocyte adhesion deficiency syndrome type 2 // J. Clin. Invest. – 1995 – Vol. 96 – P. 2898-2906.
24. SAULTIER, O.P., ALESSI, M.C., MICHEL, G., CHAMBOST, H. Hematopoietic stem cell transplantation for the treatment of leukocyte adhesion deficiency type III // *Pediatr. Neonatol.* – 2017 – Dec. ( Vol.58, no. 6) – P. 560-561.
25. TAN, S.M., HYLAND, R. H., AL-SHAMKHANI, A., et al. Effect of integrin b2 subunit truncation on LFA-1 (CD11a/CD18) and Mac-1 (CD11b/CD18) assembly, surface expression, and function // *J. Immunol.* – 2000 – Vol.165 – P.-2574-2581.
26. BAUER, T. R. Jr, GU, Y.-C., CREEVY, K. E., et al. Leukocyte Adhesion Deficiency in Children and Irish Setter Dogs // *Pediatric Research.* – 2004 – vol.55 – p-363-367.
27. TIPU, H. N. Leukocyte adhesion deficiency type I: A rare primary immunodeficiency disorder // *Pediatr Allergy Immunol.* – 2017 – May (Vol.28, no. 3) – P. 303-305.
28. VAHLQUIST, A., HAKANSSON, L. D. RONNBLOM, L., et al. Recurrent pyoderma gangrenosum and cystic acne associated with leucocyte adhesiondeficiency due to novel mutation in ITGB2: successful treatment with infliximab and adalimumab // *Acta Derm. Venereol.* – 2015 – Mar. (vol.95, no. 3) – P. 349-351.
29. VAN DE VIJVER, E., VAN DEN BERG, T. K., KUIJPERS, T,W. Leukocyte adhesion deficiencies // *Hematol. Oncol. Clin. North Am.*-2013 – Feb.(Vol.27, no.1) – P.101-116, viii.

## **SINDROMUL DIGEORGE**

**Turcu Oxana<sup>1,2</sup>, Andries Lucia<sup>1</sup>, Revenco Ninel<sup>1</sup>, Filipenco Maxim<sup>3</sup>, Eremciuc Rodica<sup>2</sup>**

<sup>1</sup>Laboratorul de Alergologie și Imunologie Clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemitanu”, Chișinău, Republica Moldova

<sup>2</sup>Institutul Mamei și Copilului, Chișinău, Republica Moldova

<sup>3</sup>Universitatea de Stat din Novosibirsk, Federația Rusă

### **REZUMAT**

Sindromul DiGeorge (SDG) este o imunodeficiență primară (IDP) caracterizată

## **DIGEORGE SYNDROME**

**Turcu Oxana<sup>1,2</sup>, Andries Lucia<sup>1</sup>, Revenco Ninel<sup>1</sup>, Filipenco Maxim<sup>3</sup>, Eremciuc Rodica<sup>2</sup>**

<sup>1</sup> Laboratory of Allergology and Clinical Immunology State University of Medicine and Pharmacy “Nicolae Testemitanu”, Chisinau, Republic of Moldova

<sup>2</sup>Institute of Mother and Child Healthcare, Chisinau, Republic of Moldova

<sup>3</sup>State University of Novosibirsk, Russian Federation

### **ABSTRACT**

DiGeorge syndrome (DGS) is a primary immunodeficiency (PID) characterized by

prin absența sau subdezvoltarea timusului și este asociat cu o susceptibilitate ridicată la infecții din cauza producției insuficiente de limfocite T. Timusul este „școala” în care limfocitele T sunt educate să „lupte” cu infecțiile și să prevină autoimunitatea. SDG este determinat de migrarea anormală a crestei neurale cervicale în arcurile și pungile faringiene în perioada intrauterină. Adicional la posibilele deficiențe ale sistemului imun determinate de hipoplazia timică, SDG se poate prezenta cu hipocalciemie datorată hipoplaziei paratiroidei și cu defecte ale tractului de ieșire a cordului. SDG de regulă este diagnosticat în copilăria precoce. Copiii cu SDG diferă prin severitatea bolii în relație cu extinderea țesutului timic absent.

Particularitățile manifestărilor clinice necesită o evaluare atentă a echipei multidisciplinare cu monitorizare și tratament individualizat pe tot parcursul vieții pacientului.

## INTRODUCERE

Sindromul DiGeorge (SDG) este o imunodeficiență primară (IDP) caracterizată prin absența sau subdezvoltarea timusului și este asociat cu o susceptibilitate înaltă către infecții din cauza producției scăzute de limfocite T. Primele descrieri ale SDG sunt identificate în 1828, dar descrierea completă cu imunodeficiență, hipoparatiroidism și malformații cardiace congenitale, a fost raportată de Dr. Angelo DiGeorge în 1965 [4, 6].

Cea mai de temut caracteristică a SDG este absența/hipoplazia țesutului timic, deoarece acest organ este responsabil de maturarea celulelor T. Absența completă a timusului este foarte rară, afectează mai puțin de 1% dintre pacienții cu SDG și este asociată cu imunodeficiență combinată severă (SCID). Severitatea deficitului imun depinde de extinderea hipoplaziei timice la pacienții cu SDG și poate varia de la un fenotip ușor la moderat până la sever.

absent or poorly developed thymus and is associated with high susceptibility to infections due to decreased T cell production. The thymus is the “school house” where T-cells are educated to fight infection and prevent autoimmunity. DGS is caused by abnormal cervical neural crest migration into the derivatives of the pharyngeal arches and pouches during fetal growth. In addition to possible immune system deficiencies due to thymic hypoplasia, SDG can present with hypocalcemia due to parathyroid hypoplasia and cardiac outflow tract defects. DGS is typically diagnosed in infancy or early childhood. Children with SDG differ in disease severity in relation to the extent of absent thymic tissue.

The particularities of the clinical presentation require careful evaluation of multidisciplinary team with follow-up and treatment on an individual basis throughout the patient's life.

## BACKGROUND

DiGeorge syndrome (DGS) is a primary immunodeficiency (PID) characterized by absent or poorly developed thymus and is associated with high susceptibility to infections due to decreased T cell production. We can identify the first descriptions of DGS in 1828, but complete description with immunodeficiency, hypoparathyroidism, and congenital heart disease, was reported by Dr. Angelo DiGeorge in 1965 [4, 6].

The most concerning characteristic of DGS is the absence/decreased thymic tissue, because this organ is responsible for T cell maturation. A complete absence of the thymus is very rare, affects less than 1% of patients with DGS, and is associated with severe combined immunodeficiency (SCID). The severity of immune deficiency depends on the extent of thymic hypoplasia in patients with DGS and can vary from mild to moderate to severe phenotype.

The majority of patients present with conotruncal heart defects like tetralogy of Fallot, truncus arteriosus, and interrupted aortic arch, but ventricular septal defect (VSD), pulmonary atresia with VSD may be

Majoritatea pacienților prezintă defecte cardiace conotruncale, cum ar fi tetralogia Fallot, truncus arteriosus și arcul aortic întrerupt, dar pot fi identificate și defectul septului ventricular (VSD) sau atrezia pulmonară asociată cu VSD. Aceste malformații variază în severitate, de la ușoare până la cele cu pericol pentru viață.

Alte caracteristici frecvente în SDG sunt anomalii scheletice, renale, oculare și gastrointestinale. Întârzierea dezvoltării, inclusiv problemele de învățare și de comportament și posibilele tulburări psihiatrice, sunt de asemenea îngrijorătoare la acești pacienți [4].

## CAZ CLINIC

Prezentăm cazul unei adolescente de 14 ani, care se prezintă cu probleme de învățare, întârzierea limbajului și dureri/redoare matinale în articulațiile talocrurare.

Din *istoricul vieții* copilul născut din a patra sarcină, a doua naștere în a doua căsătorie. Sarcina a fost indusă prin tehnica FIV, rezultând în o sarcină gemelară bisaculară, dar cu evoluție complicată cu polihidroamnios și dezvoltare hipoplasică a unui din fetuși. Naștere prematură la 34 săptămâni prin operație cezariană, al doilea făt (hipoplasic) fiind născut mort. Copilul născut cu greutate mică la naștere (1850 grame), necesitând suport nutrițional în condiții de staționar.

Copilul la naștere suspectat cu malformație cardiacă congenitală, fiind efectuate EcoCG repetate, care au confirmat prezența defectului septal atrial tip *ostium secundum* cu vene pulmonare parțial aberante.

Fetița a fost consultată de medicul genetician, care a marcat asocierea dismorfismului facial cu defectul septal atrial tip *ostium secundum* și a recomandat realizarea testului de cariotipare. Rezultatul a identificat o anomalie cromozomială echilibrată: 46, XX inv (9) (p;q), geneticianul indicând necesitatea efectuării *Comparative genomic hybridisation (CGH) analysis*.

identified. These defects range in severity from mild to life-threatening.

Other common features in DGS include skeletal, renal, ocular, and gastrointestinal anomalies. Developmental delay including learning and behaviour problems and possible psychiatric disorders are also of concern in these patients [4].

## CLINICAL CASE

We present the case of a 14-year-old adolescent girl, who presents with learning problems, language delay and morning pain/swelling in the talocrural joints.

From *the life history* of the child born from the fourth pregnancy, the second birth in the second marriage. The child born from an IVF-induced pregnancy, bisaccular twin pregnancy, but with complicated evolution with polyhydramnios and hypoplastic development of one of the fetuses. Premature birth at 34 weeks by caesarean section, the second fetus (hypoplastic) being stillborn. The child born with low birth weight (1850 grams), requiring hospital nutritional support.

The child at birth is suspected of congenital heart malformation, repeated EcoCG being performed, which confirmed the presence of the atrial septal defect *ostium secundum* type and the partial anomalous pulmonary venous return. The girl was consulted by the geneticist, who noted the association of facial dysmorphism with the *ostium secundum* type atrial septal defect and recommended the karyotyping test. The result identified a balanced chromosomal abnormality: 46, XX inv (9) (p;q), the geneticist indicating the need to perform *Comparative genomic hybridisation (CGH) analysis*.

The child was monitored by the cardiothoracic surgeon for the first two years of life, and at the age of 2.5 years the surgical intervention with DSA plasty and correction of the pulmonary vessels position was performed. The surgical and the post-surgical period were without complications. During the surgical intervention, the absence of the thymus was discovered, a fact that raised the suspicion of a primary immunodeficiency, in particular, of DiGeorge syndrome. Later, at the age of 2,5



Copilul a fost monitorizat de către cardiocirurg primii doi ani de viață, și la vârsta de 2,5 ani a fost realizată intervenția chirurgicală cu plastia DSA și corecția poziției vaselor pulmonare. Intervenția și perioada postchirurgicală au decurs fără complicații. Totodată în cadrul intervenției chirurgicale, a fost descoperită absența timusului, fapt care a ridicat suspiciunea unei imunodeficiențe primare, în special a sindromului DiGeorge. Ulterior (la vârsta de 2,5 ani) copilul a fost consultat de medicul imunolog, care a indicat teste de laborator imunologice: imunofenotiparea (tabel 1), aprecierea nivelurilor imunoglobulinelor serice (tabel 2).

years, the child was consulted by the immunologist, who indicated immunological laboratory tests: immunophenotyping (table 1), assessment of serum immunoglobulin levels (table 2).

**Tab. 1. Immunophenotyping testing of T and B lymphocytes of the patient at the age of 2,5 years**

**Tab. 1. Imunofenotiparea limfocitelor T și B a pacientei la vârsta de 2,5 ani**

Parametrul, unitate Parameter, unit	Valoare Value	Valori de referință References
Lymphocytes, abs	950	
Lym T CD3, abs	503,5	
Lym T CD3, %	53	56-65
Lym T CD4 helper, abs	332,5	
Lym T CD4 helper, %	35	25-35
Lym T CD8 supressor, abs	152	
Lym T CD8 supressor, %	16	22-36
Lym B CD19, abs	123	
Lym B CD19, %	13	8-10
Lym NK CD16, abs	228	
Lym NK CD16, %	24	17-20
Report CD4+/CD8+	2,19	1-1,5

**Tab. 2. Valorile imunoglobulinelor serice apreciate la pacientă**

**Tab. 2. Values of serum immunoglobulins assessed in the patient**

Parametrul, unitate Parameter, unit	Valoare Value	Valori de referință References
IgA, g/l	1,1	0,8-3,7
IgM, g/l	1,8	0,4-2,2

IgG, g/l	21,1	7-10,0
IgE, UI/ml	12,0	0-20

Valorile reduse ale limfocitelor CD3, CD8 au confirmat prezenta unei deficiențe imune, dar relative întru-cât imunoglobulinele serice prezentau nivele suficiente.

Ulterior pacienta a decăzut din vizorul medicilor. În această perioadă copilul a prezentat o creștere satisfăcătoare, dar o dezvoltare deficitară, cu dificultăți de memorare și învățare. În pofida parametrilor reduși ai limfocitelor T și B, dar și a imunoglobulinelor serice, copilul nu a prezentat infecții frecvente și/sau cu evoluție severă. Acest fapt relevă posibilitatea existenței țesutului timic ectopic, posibil în glandele paratiroide. Prezența glandelor paratiroide este confirmată prin absența convulsiilor hipocalcemice, dar și valori suficiente ale calciului – 2,11 (2,02-2,60) mmol/l și ușor crescute ale fosforului seric – 1,69 (0,87-1,45) mmol/l, evaluate periodic.

Pacienta a fost reevaluată la vârsta de 5 și 9 ani.

Valorile imunoglobulinelor reduse, dar nu absente, poate explica lipsa complicațiilor infecțioase severe caracteristice imunodeficiențelor primare (tab. 3).

**Tabel 3.** Valorile imunoglobulinelor serice apreciate la pacientă

The reduced values of CD3, CD8 lymphocytes confirmed the presence of an immune deficiency, but relative as the serum immunoglobulins showed sufficient levels.

Later, the patient fell out of the doctors' sight. During this period, the child showed satisfactory growth, but poor development, with difficulties in memorizing and learning. Despite the reduced parameters of T and B lymphocytes, but also of serum immunoglobulins, the child did not have frequent and/or severe infections. This fact reveals the possibility of the existence of ectopic thymic tissue, possibly in the parathyroid glands. The presence of parathyroid glands is confirmed by the absence of hypocalcemic convulsions, but also sufficient values of serum calcium – 2,11 (2,02-2,60) mmol/l and slightly increased in phosphorus – 1,69 (0,87-1,45) mmol/l, evaluated periodically.

The patient was reevaluated at the age of 9 years.

The values of immunoglobulins reduced, but not absent, may explain the lack of severe infectious complications characteristic of primary immunodeficiencies (tab. 3).

**Tabel 3.** Valorile imunoglobulinelor serice apreciate la pacienta

Parametrul, unitate Parameter, unit	Valoare Value		Valori de referință References
	5 ani/years	9 ani/years	
IgA, g/l	0,6	1,06	0,3-1,5
IgM, g/l	2,4	2,5	0,8-1,6
IgG, g/l	4,6	9,29	8,8-16,0
IgE, UI/ml	7,5	111	0-100

Pentru diagnosticul diferențial între imunodeficiența umorală primară sau combinată s-a efectuat imunofenotiparea, care a evidențiat valori ușor scăzute sau normale ale limfocitelor T și B (tab. 4).

In order to make the differential diagnosis between primary humoral or combined immunodeficiency, immunophenotyping testing was performed, which revealed slightly reduced and normal values of T and B cells (tab. 4).

**Tab. 4.** Immunophenotyping testing of the patient

**Tab. 4.** Testarea prin imunofenotipare a pacientei

Parametrul, unitate Parameter, unit	Valoare Value		Valori de referință References
	5 ani/years	9 ani/years	
Lymphocytes, abs			
Lym T CD3, abs	1,37	0,94	1,61-4,23
Lym T CD3, %	45,7	56,93	62-80
Lym T CD4 helper, abs	0,86	0,52	0,9-2,8
Lym T CD4 helper, %	28,06	31,23	35-51
Lym T CD8 supressor, abs	0,47	0,59	0,6-1,9
Lym T CD8 supressor, %	15,6	35,66	22-38
Lym B CD19, abs	0,98	0,22	0,7-1,3
Lym B CD19, %	32,5	13,46	21-28
Lym NK CD16, abs	0,61	0,43	0,096-1,3
Lym NK CD16, %	20,44	26,13	7,5-19,6
Report CD4+/CD8+	1,8	1,82	1,0-2,1

Variațiile importante ale parametrilor imuni au impus necesitatea realizării testării molecular-genetice pentru confirmarea definitivă a diagnosticului de sindrom DiGeorge. Testarea genetică a fost realizată în Federația Rusă, care a confirmat prezența deleției cromozomului 22q11.2 cu afectarea genei TBX1.

The important variations of the immune parameters imposed the need to carry out molecular-genetic testing for the definitive confirmation of the diagnosis of DiGeorge syndrome. Genetic testing was performed in the Russian Federation, which confirmed the presence of the deletion of chromosome 22q11.2 with TBX1 gene damage.

Tulburările hormonale sunt frecvente la pacienții cu sindrom DiGeorge. În timp ce hipoparatiroidismul a fost prima tulburare endocrină documentată în sindromul DiGeorge, deficiența hormonului de creștere, hipotiroidismul și hipertiroidismul sunt

Hormonal disturbances are common in patients with DiGeorge syndrome. While hypoparathyroidism was the first endocrine disorder documented in DiGeorge syndrome, growth hormone deficiency, hypothyroidism, and hyperthyroidism are recognized as

recunoscute drept complicații frecvente în acest defect genetic [7].

Astfel, pornind de la acest postulat a fost evaluat profilul hormonilor tiroidieni al pacientei, dar modificările structurale ale glandei prin examenul ultrasonografic. Markerii funcției glandei tiroide au fost modificați (tabel 5).

**Tab. 5.** Markerii funcției glandei tiroide

Parametrul Parameter	Valoare Value	Valori de referință References	Unitate Unit
Hormonul tiriotrop, TSH	8,54	0,27-4,20	μIU/ml
Tiroxina liberă, fT4	0,94	0,93-1,7	ng/dl
Anti-TPO	620,5	0-9	ME/ml
Anti-tirioglobulină	0,7	0-4	ME/ml

common complications in this genetic defect [7]. Thus, starting from this postulate, the patient's thyroid hormone profile was evaluated, but the structural changes of the gland through the ultrasonographic examination. Markers of thyroid gland function were altered (table 5).

**Tab. 5.** Markers of thyroid gland function

Examenul ultrasonografic al tiroidei a decelat o glandă mărită în volum la 8,6 cm<sup>3</sup> (norma 2,9-4,3 cm<sup>3</sup>) cu modificări difuze ale parenchimului acesteia cu patern de leziuni autoimune și o hipervascularizare a țesutului tiroidian.

Pacienta a fost consultată de medical pediatru-endocrinolog, care a stabilit diagnosticul de tiroidită autoimună cu hipotiroidism subclinic și a indicat monitorizare în dinamică.

În acest mod **diagnosticul clinic** al pacientei confirmat datorită efortului unei echipe medicale multidisciplinare a fost prompt:

*Sindrom DiGeorge. MCC. Defectul septal atrial tip ostium secundum cu vene pulmonare parțial aberante (corectat chirurgical). Tiroidită autoimună cu hipotiroidism subclinic. Deficit vitamina D.*

Diagnosticul precoce, dar și intervenția chirurgicală realizată cu succes și fără complicații intra- și postoperatorii, s-a realizat în o creștere și dezvoltare suficientă a pacientei.

Ultrasonographic examination of the thyroid revealed a gland enlarged in volume to 8.6 cm<sup>3</sup> (norm 2.9-4.3 cm<sup>3</sup>) with diffuse changes in its parenchyma with a pattern of autoimmune lesions and a hypervascularization of the thyroid tissue.

The patient was consulted by a pediatrician-endocrinologist, who established the diagnosis of autoimmune thyroiditis with subclinical hypothyroidism and indicated dynamic monitoring.

In this way, the patient's clinical diagnosis was confirmed thanks to the efforts of a multidisciplinary medical team:

*DiGeorge syndrome. MCC. Ostium secundum atrial septal defect with partially aberrant pulmonary veins (surgically corrected). Autoimmune thyroiditis with subclinical hypothyroidism. Vitamin D deficiency.*

The early diagnosis, but also the successful surgical intervention and without intra- and postoperative complications, was achieved in

## DISCUȚII

Sindromul de deleție 22q11, cunoscut și sub denumirea sindrom DiGeorge sau sindromul velocardiofacial, este unul dintre cele mai frecvente sindroame de microdeleție, fiind identificat la 1 din 4000-6000 nou-născuți vii. Prevalența microdeleției 22q11.2 poate fi mai frecventă decât cea raportată în literatură din motivul accesului limitat la testarea genetică [4].

Societatea Europeană pentru Imunodeficiențe (ESID) a propus următoarele criterii de diagnostic pentru definirea sindromului DiGeorge [5]:

### *Sindromul DiGeorge definitiv*

Pacient de sex masculin sau feminin cu un număr redus de celule T CD3+ (mai puțin de 500/mm<sup>3</sup>) și două dintre următoarele trei caracteristici:

- 1) defect cardiac conotruncal (truncus arteriosus, tetralogie Fallot, arc aortic întrerupt sau subclavie dreaptă aberantă),
- 2) hipocalcemie cu o durată mai mare de 3 săptămâni care necesită tratament,
- 3) deleția cromozomului 22q11.2.

### *Sindromul DiGeorge probabil*

Pacient de sex masculin sau feminin cu un număr redus de celule T CD3+ (mai puțin de 1500/mm<sup>3</sup>) și deleția cromozomului 22q11.2.

### *Sindromul DiGeorge posibil*

Pacient de sex masculin sau feminin cu un număr redus de celule T CD3+ (mai puțin de 1500/mm<sup>3</sup>) și cel puțin unul dintre următoarele:

- 1) defect cardiac,
- 2) hipocalcemie cu o durată mai mare de 3 săptămâni care necesită tratament,
- 3) facies dismorfic sau anomalii palatinale.

Cazul clinic prezentat este o fetiță monitorizată cu malformație cardiacă de la naștere, iar

a sufficient growth and development of the patient.

## DISSCUSSIONS

22q11 deletion syndrome, also known as DiGeorge syndrome or velocardiofacial syndrome, is one of the most common microdeletion syndromes, being identified in 1 in 4000-6000 live births. The prevalence of 22q11.2 microdeletion may be more common than reported in the literature due to limited access to genetic testing [4].

The European Society for Immunodeficiencies (ESID) proposed the following diagnostic criteria for the definition of DiGeorge syndrome [5]:

### *Definitive DiGeorge syndrome*

Male or female patient with reduced numbers of CD3+ T cells (less than 500/mm<sup>3</sup>) and two of the three following characteristics:

- 1) conotruncal cardiac defect (truncus arteriosus, tetralogy of Fallot, interrupted aortic arch or aberrant right subclavian)
- 2) hypocalcemia of greater than 3 weeks duration that requires therapy
- 3) deletion of chromosome 22q11.2

### *Probable DiGeorge syndrome*

Male or female patient with reduced numbers of CD3+ T cells (less than 1500/mm<sup>3</sup>) and a deletion of chromosome 22q11.2.

### *Possible DiGeorge syndrome*

Male or female patient with reduced numbers of CD3+ T cells (less than 1500/mm<sup>3</sup>) and at least one of the following:

- 1) cardiac defect,
- 2) hypocalcemia of greater than 3 weeks duration that requires therapy,
- 3) dysmorphic facies or palatal abnormalities.

The clinical case presented is a girl monitored with cardiac malformation since birth, and

intraoperator descoperită și cu absența timusului. Aceste semne asociate cu dismorfismul facial au ridicat suspiciunea unei deficiențe imune primare. Evaluarea sistematică a profilului imun (imunoglobulinele serice și imunofenotiparea), care decelau valori normale sau ușor scăzute ale parametrilor imuni au permis presupunerea existenței unui țesut timic ectopic, ce ar produce nivele suficiente ale limfocitelor CD3.

Imunodeficiența apare ca urmare a hipoplaziei timice și a producerii afectate ulterioare de limfocite T. Într-o analiză recentă a 1.421 de persoane cu microdeleție 22q11.2, circa 50% din aceștia prezentau populații anormale de celule T. Cu toate acestea a fost observat că producția de limfocite T se ameliorează cu vârsta pacientului [2]. În cazul pacienților cu valori ușor scăzute ale limfocitelor T funcția de apărare împotriva agenților patogeni era normală [6]. Acest fapt este observat și în cazul copilului prezentat întru-cât mama a raportat o rezistență bună față de infecții, cu o evoluție ușoară-medie a complicațiilor infecțioase.

Deficitul imunității umorale a fost observat la 17% dintre pacienți, mai frecvent la cei cu probleme autoimune, inclusiv artrita reumatoidă juvenilă [2]. Hipogamaglobulinemia prezentă în primul an de viață se rezolvă de obicei, iar hipergamaglobulinemia poate apărea după vârsta de cinci ani [6].

Totodată malformația cardiacă mai puțin severă, corectată chirurgical în o singură etapă a permis copilului o dezvoltare fizică ulterioară satisfăcătoare. Campbell și coautorii (2018), în studiul menționat anterior, au evidențiat defecte cardiace congenitale la 64% dintre indivizi. Cele mai frecvente anomalii identificate fiind defectele conotruncale ale tractului de ieșire, iar DSA fiind diagnosticat la 10% din aceasă populație [2].

Hipocalcemia, rezultată din subdezvoltarea glandelor paratiroide, este o altă manifestare a SDG care poate pune viața în pericol a circa 60% dintre nou-născuții cu SDG. Totodată debutul tardiv al complicațiilor hipocalcemiei

intraoperativ descoperită și cu absența timusului. These signs associated with facial dysmorphism raised the suspicion of a primary immune deficiency. The systematic evaluation of the immune profile (serum immunoglobulins and immunophenotyping), which detected normal or slightly decreased values of the immune parameters, allowed the assumption of the existence of an ectopic thymic tissue, which would produce sufficient levels of CD3 lymphocytes.

Immunodeficiency occurs as a result of thymic hypoplasia and subsequent impaired production of T lymphocytes. In a recent analysis of 1,421 individuals with the 22q11.2 microdeletion, about 50% of them had abnormal T cell populations. However, it was noted that T lymphocyte production improves with patient growth [2]. In patients with slightly decreased values of T cells, the defense function against pathogens was normal [6]. This fact is also observed in the case of our child, as the mother reported a good resistance to infections, with a mild evolution of infectious complications.

Deficiency of humoral immunity was observed in 17% of patients, more commonly in those with autoimmune problems, including juvenile rheumatoid arthritis [2]. Hypogammaglobulinemia present in the first year of life usually resolves, and hypergammaglobulinemia may occur after five years of age [6].

At the same time, the less severe cardiac malformation, surgically corrected in a single stage, allowed the child a satisfactory subsequent physical development. Campbell et al. (2018) in a study mentioned above revealed congenital heart defects in 64% of individuals. The most common abnormalities identified are the conotruncal defects of the outflow tract, and ASD being diagnosed in 10% of that population [2].

Hypocalcemia, resulting from underdevelopment of the parathyroid glands, is another manifestation of DGS that can be life-threatening in about 60% of newborns with DGS. At the same time, the late onset of hypocalcemia complications at older ages is

la vârste mai mari, este rar datorită unei presupuse hiperplazii compensatorii a țesutului paratiroidian existent [1].

Fetița prezentată în cazul nostru nu a raportat episoade de complicații hipocalcemice precum sunt convulsiile, iar valorile serice ale calciului și fosforului, apreciate periodic, erau în limitele normei.

Tulburări ale tiroidei au fost raportate sporadic la pacienții cu sindrom DiGeorge. Un studiu clinic european a constatat hipotiroidismul la 4 din 548 (0,7%) pacienți cu deleția 22q11.2. Deoarece evoluția tulburărilor tiroidiene la acest grup populațional este necunoscută, *screening*-ul inițial al T4 și TSH este justificat la toți acești pacienți. Teste ulterioare sunt necesare dacă apar simptome de hipo- sau hipertiroidism, fiind discutată necesitatea instituirii terapiei de substituție tiroidiană sau antitiroidiană [7].

Prognosticul pacienților cu SDG variază mult, fiind dependent de severitatea manifestărilor clinice. SDG complet cu absența totală a țesutului timic, este diagnosticat la mai puțin de 1% dintre pacienții cu microdeleție 22q11.2, prognosticul în acest caz fiind unul nefavorabil cu deces în primul an de viață. Pacienții cu SDG parțial nu au un prognostic definit, iar supraviețuirea de regulă este în corelație cu severitatea anomaliilor cardiace și posibilitatea corecției acestora în timp util [3].

## CONCLUZII

Sindromul DiGeorge este cel mai frecvent sindrom de microdeleție, dar frecvent este subdiagnosticat, deoarece prezența și severitatea semnelor clinice variază mult. Un nou-născut cu malformație cardiacă congenitală asociată cu dismorfism facial, dereglarea metabolismului calciului/fosforului, și complicații infecțioase trebuie supus unui diagnostic diferențial riguros pentru confirmarea sau excluderea SDG.

rare due to a supposed compensatory hyperplasia of the existing parathyroid tissue [1].

The girl presented in our case did not report episodes of hypocalcemic complications such as seizures, and the serum calcium and phosphorus values, assessed periodically, were within the normal range.

Thyroid disorders have been reported sporadically in patients with DiGeorge syndrome. A European clinical trial found hypothyroidism in 4 of 548 (0.7%) patients with 22q11.2 deletion. Because the evolution of thyroid disorders in this population group is unknown, initial screening with T4 and TSH is mandatory in all these patients. Further tests are necessary if symptoms of hypo- or hyperthyroidism appear, and the need to start thyroid replacement or antithyroid therapy is discussed [7].

The prognosis of patients with SDG varies greatly, being dependent on the severity of the clinical manifestations. Complete SDG with total absence of thymic tissue is diagnosed in less than 1% of patients with 22q11.2 microdeletion, the prognosis in this case being negative with death in the first year of life. Patients with partial SDG do not have a definite prognosis, and survival is usually correlated with the severity of cardiac abnormalities and the possibility of their timely correction [3].

## CONCLUSIONS

DiGeorge syndrome is the most common microdeletion syndrome, but it is frequently underdiagnosed because the presence and severity of clinical signs vary widely. A newborn with congenital heart malformation associated with facial dysmorphism, derangement of calcium/phosphorus metabolism, and infectious complications should undergo a rigorous differential diagnosis to confirm or exclude SDG.

**Cuvinte cheie:** imunodeficiență primară, sindrom DiGeorge, imunofenotipare, examen molecular-genetic

**Keywords:** primary immunodeficiency, DiGeorge syndrome, immunophenotyping, molecular-genetic test

## REFERENCES

1. BASSETT, A., MCDONALD-MCGINN, D., DEVRIENDT, K, et al. Practical guidelines for managing patients with 22q11.2 deletion syndrome. In: *J Pediatr.* 2011; 159:332
2. CAMPBELL, I., SHEPPARD, S., CROWLEY, T., et al. What is new with 22q? An update from the 22q and You Center at the Children's Hospital of Philadelphia. In: *Am J Med Genet.* 2018; 176: 2058-69
3. MARKERT, M.L., DEVLIN, B.H., CHINN, I.K., MCCARTHY, E.A. Thymus transplantation in complete DiGeorge anomaly. In: *Immunol Res.* 2009; 44(1-3): 61-70
4. MCDONALD-MCGINN, D., SULLIVAN, K., MARINO, B., et al. 22q11.2 deletion syndrome. In: *Nat Rev Dis Primers.* 2015, vol. 1:15071.
5. SEIDEL, M., KINDLE, G., GATHMANN, B. et al. The European Society for Immunodeficiencies (ESID) Registry working definitions for the clinical diagnosis of inborn errors of immunity. In: *J Allergy Clin Immunol Pract.* 2019; 7:1763-70
6. SULLIVAN, K.E. Chromosome 22q11.2 deletion syndrome and DiGeorge syndrome. In: *Immunol Rev.* 2019; 287:186-201
7. WEINZIMER, S. Endocrine aspects of the 22q11.2 deletion syndrome. In: *Genetics in Medicine.* 2001, vol. 3 (1): 19-22, ISSN 1098-3600

<b>BOALĂ GRANULOMATOASĂ CRONICĂ CU DEBUT ÎN PERIOADA NEONATALĂ</b>	<b>CHRONIC GRANULOMATOUS DISEASE WITH NEONATAL MANIFESTATIONS</b>
Dolapciu Elena <sup>1,2</sup> , Andries Lucia <sup>1</sup> , Revenco Ninel <sup>1,2</sup> , Privalova Elena <sup>1</sup> , Stasii Ecaterina <sup>2</sup>	Dolapciu Elena <sup>1,2</sup> , Andries Lucia <sup>1</sup> , Revenco Ninel <sup>1,2</sup> , Privalova Elena <sup>1</sup> , Stasii Ecaterina <sup>2</sup>
<sup>1</sup> Laboratorul de Alergologie și Imunologie Clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemitanu” <sup>2</sup> Departmentul Pediatrie, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemitanu” <sup>3</sup> IMSP Institutul Mamei și Copilului, Chișinău, Republica Moldova	<sup>1</sup> Laboratory of Allergology and Clinical Immunology, The State University of Medicine and Pharmacy “Nicolae Testemitanu” <sup>2</sup> Department of Pediatrics, The State University of Medicine and Pharmacy “Nicolae Testemitanu”, <sup>3</sup> Institute of Mother and Childcare, Chisinau, Republic of Moldova
<b>ABSTRACT</b>  Boala granulomatoasă cronică (BGC) este o patologie înnăscută rară a imunității cauzată de un defect genetic al fagocitelor cu activitate	<b>ABSTRACT</b>  Chronic granulomatous disease (CGD) is a rare inborn defect of immunity caused by a genetic dysfunction of phagocytes with



microbicidă intracelulară inadecvată, care rezultă în infecții bacteriene și fungice recurente severe.

Diagnosticul precoce al BGC este primordial pentru inițierea tratamentului profilactic cât mai timpuriu pentru ameliorarea calității vieții pacienților și reducerea complicațiilor infecțioase.

Este prezentat cazul unui pacient cu BGC cu debut în perioada neonatală cu afectarea pielii, oaselor și a ganglionilor limfatici. Testarea statutului imun și concentrației Ig serice a demonstrat.....

Aprecierea activității fagocitare a PMN (polimorfonuclearilor) a demonstrat absența celulelor NBT-pozitive. Cercetarea molecular-genetică a depistat o mutație hemizigotă în gena CYBB, fapt care a confirmat diagnosticul de BGC X-lincată de tip recesiv.

Diagnosticul a fost stabilit în cadrul Proiectului de Stat "Elaborarea metodelor inedite de diagnostic precoce al maladiilor imunodeficitare în baza studiului clinico-imunologic și molecular-genetic al pacienților cu suspjecție la imunodeficiențe primare". Ulterior a fost inițiată terapia profilactică și frecvența episoadelor infecțioase acute a scăzut semnificativ.

## INTRODUCERE

Boala granulomatoasă cronică (BGC) este o patologie înnăscută cauzată de o disfuncție genetică a fagocitelor cu dificultăți în formarea superoxidului și altor radicali liberi ai oxigenului, infecții bacteriene și fungice recurente severe [7].

Incidența BGC variază semnificativ la nivel mondial în funcție de numărul căsătoriilor etnic mixte și în rudenie: de la 1:1 mln de născuți vii în Italia și 1:70000 în populația arabă israeliană [2,4]. Preponderant este afectat sexul masculin (4:1).

BGC este o maladie genetică cu transmitere autosomal-recesivă sau X-lincată [8].

inadequate intracellular microbicidal activity and recurrent life-threatening bacterial and fungal infections.

Its early diagnosis is essential to start preventive treatment, improve the quality of life of patients and reduce the number of infectious complications.

A 6 months-old male patient was included in the study. He presented with a history of recurrent skin infections, osteomyelitis, and purulent lymphadenitis. Family history was positive for severe bacterial skin infections in close child relatives from the mother's side. The laboratory exam revealed a negative NBT test and a mutation within the hemizygous CYBB gene, correlated with onset of CGD. The diagnosis was possible thanks to the State Project "Development of new methods for early diagnosis of immunodeficiency diseases based on clinical, immunological and molecular-genetic studies of patients with suspected primary immunodeficiencies".

The child was started on prophylactic therapy and the frequency of episodes of acute infections decreased significantly.

## BACKGROUND

Chronic granulomatous disease (CGD) is a pathology of the innate immune system caused by a genetic dysfunction of phagocytes with difficulty in the formation of superoxide and other oxygen free radicals, severe recurrent bacterial and fungal infections [7].

The incidence of BGC varies significantly worldwide according to ethnic communities and degrees of intermarriage: from 1:1 million live births in Italy and 1:70,000 in the Israeli Arab population [2,4]. It affects predominantly the males (4:1).

Defectul genetic în una din cele 5 subunități ale complexului NADPH-oxidază (gp91phox, p22phox, p47phox, p67phox, p40phox binding protein subunits) sau proteina EROS (esențială pentru speciile reactive de oxigen), care stabilizează celelalte cinci subunități și contribuie la dezvoltarea bolii [1,4,8].

Ca consecința defectelor NADPH-oxidazei, fagocitele pacienților cu CGD nu sunt capabile să producă peroxid de hidrogen și să distrugă microflora catalazo-positivă (*Staphylococcus aureus*, *Burkholderia cepacia*, *Serratia marcescens*, *Nocardia spp*, *Aspergillus spp*, etc) [2,4].

Majoritatea pacienților sunt diagnosticați la vârsta de 2-3 ani de viață, când devin clinic simptomatici cu complicații infecțioase severe, recurente, care afectează preponderent plămânii (79%), nodulii limfatici (53%), ficatul (27%) și tegumentele (42%) [3]. Maladia însă poate să debuteze mai tardiv, chiar și la vârsta adultă având manifestări clinice polimorfe.

Criteriile de diagnostic pentru boală granulomatoasă cronică au fost definite de ESID [10]. Astfel, la un pacient de sex masculin sau feminin cu test NBT pozitiv sau cu defect al exploziei oxidative în neutrofilele activate (mai puțin de 5% din control) va fi stabilit diagnosticul definitiv de BGC în cazul când este prezent unul din următoarele criterii:

- 1) o mutație în gp91, p22, p47, p67phpx
- 2) absența ARNm pentru una dintre aceste gene
- 3) rude maternelle (veri/unchi/nepoți) cu test NBT pozitiv sau cu defect al exploziei oxidative [10].

La același pacient va fi stabilit diagnosticul de BGC posibil în cazul când acesta prezintă:

- 1) infecții profunde (abces hepatic, perirectal sau pulmonar; adenită sau osteomielita) cauzată de stafilococ, *Serratia marcescens*, candida sau *Aspergillus*;

The pathology is transmitted genetically, the mechanism being autosomal-recessive or X-linked [8].

The genetic defect in one of 5 subunits of the NADPH oxidase complex (gp91phox, p22phox, p47phox, p67phox, p40phox binding protein subunits) or EROS protein (essential for reactive oxygen species), which stabilizes the other five subunits, is responsible for the disease [1,4,8].

Because of the defects in NADPH oxidase, phagocytes from patients with CGD are able to ingest certain pathogen agents but are unable to produce hydrogen peroxide and destroy them [2]. Mainly, the organisms that infect patients with CGD are catalase-positive (*Staphylococcus aureus*, *Burkholderia cepacia*, *Serratia marcescens*, *Nocardia spp*, *Aspergillus spp*, etc).[2,4]

Most patients are diagnosed between two and three years of age, when they develop clinical symptoms of severe, recurrent infectious complications that mainly affect the lungs (79%), lymph nodes (53%), liver (27%) and skin. 42%) [3]. But clinically, the disease can begin later, even in adulthood, with polymorphic clinical manifestations.

The diagnostic criteria for chronic granulomatous disease have been defined by the European Society for Primary Immunodeficiencies [10]. So, definitive diagnosis is stable in male or female patient with abnormal NBT or respiratory burst in activated neutrophils (less than 5% of control) who has one of the following:

- 1) Mutation in gp91, p22, p47 or p67 phox
- 2) Absent mRNA for one of the above genes by northern blot analysis
- 3) Maternal cousins, uncles or nephews with an abnormal NBT or respiratory burst [10]

In the same patient, the possible diagnosis will be established if he presents:

2) granuloame difuze în tractul respirator, gastrointestinal sau urogenital;

3) eșecul creșterii și hepatosplenomegalie sau limfadenopatie [10].

Managementul BGC se concentrează pe profilaxie, depistarea precoce a infecțiilor acute și tratamentul agresiv al complicațiilor [9].

Trimetoprim-sulfametoxazol (TMP-SMZ) este antimicrobianul de elecție pentru profilaxia în BGC datorită spectrului larg de activitate, inofensivitatea pentru flora gastrointestinală și concentrația selectivă în neutrofile [2]. Itraconazolul este remediul de primă intenție pentru profilaxia infecției fungice [5,7].

În pofida măsurilor profilactice, pacienții cu BGC pot prezenta infecții severe cu pericol pentru viață [9].

Valorile semnificativ crescute ale PCR și/sau VSH sugerează prezența unei infecții oculte [9]. Tratamentul acestor infecții necesită să fie prompt și agresiv cu remedii antibacteriene și antifungice parenterale timp de câteva săptămâni, iar terapia orală ulterioară va continua luni de zile [2,7,9].

Singurul tratament etiopatogenetic al BGC este transplantul de celule stem, care va induce o remisie stabilă, eradicarea infecțiilor preexistente și a leziunilor inflamatorii cronice, va ameliora creșterea și pronostic [1,9].

De menționat, că BGC necomplicată nu este considerată o indicație pentru transplant, dar este o metodă de elecție pentru pacienții cu infecții severe recurente, în pofida profilaxiei corecte, cu insuficiențe poliorganice sau complicații inflamatorii severe [1,9].

Astfel, tratamentul profilactic pe durata vieții are o importanță majoră în managementul pacienților cu BGC [1,10]. Datorită acestei terapii prognosticul și calitatea vieții pacienților cu BGC s-au ameliorat considerabil în ultimii ani, s-a redus esențial incidența infecțiilor severe, iar speranța la viață este raportată la 40 de ani [1,10].

1) Deep seated infection (liver, perirectal or lung abscess; adenitis; or osteomyelitis) due to staphylococcus, serratia marcescens, candida or aspergillus;

2) Diffuse granulomata in respiratory, gastrointestinal or urogenital tracts;

3) Failure to thrive and hepatosplenomegaly or lymphadenopathy [10].

The focus is on prevention, early detection of acute infection, and aggressive treatment of complications. [9].

Trimethoprim-sulfamethoxazole (TMP-SMZ) is the antimicrobial agent of choice for the prevention of CGD because of its broad spectrum of activity, inactivity against gastrointestinal flora, and selective concentration in neutrophils. [2]. Itraconazole is the first choice for lifelong prophylaxis of fungal infection [5,7].

In spite of prophylactic measures severe life-threatening infections may occur in CGD patients at any time [9].

Significant elevation in CRP (c-reactive protein) and/or ESR (erythrocyte sedimentation rate) suggests research for occult infection [9]. Treatment of acute infection should be aggressive, patients will receive parenteral antibiotics for several weeks, and oral therapy continued over months [2,7,9].

The only definitive treatment for CGD is stem cell transplantation [1], which results in sustained remission, improved survival and growth, and elimination of pre-existing infections and chronic inflammatory lesions. [1,9]. However, uncomplicated CGD is not considered an indication for HSCT; on the contrary, it may be most useful in patients with recurrent severe infections despite prophylactic therapy, organ dysfunction, or severe inflammatory complications. [1,9].

Thus, life-long prophylactic treatment is of major importance [1,10], thanks to this therapy the prognosis and quality of life of

## PREZENTAREA CAZULUI CLINIC

Pacientul P.B., de sex masculin, cu vârsta de 6 luni, s-a prezentat cu *acuze* la infecții severe recidivante.

*Antecedente personale:* copilul născut de la a treia sarcină la termen, cu greutatea corporală de 3700 g. Sarcina a evoluat pe fondal de pielonefrită acută la mama la 20 și 30 de săptămâni de gestație cu administrarea tratamentului antibacterian. Istoricul familial agravat prin prezența epizoadelor recurente de furunculoză la bunicul și unchiul pacientului din partea mamei și decesul mamei bolnavului la vârstă fragedă din cauza complicațiilor infecțioase.

Pacientul a fost vaccinat doar cu HVB 0 în maternitate, celelalte vaccinuri nu au fost administrate din motivul infecțiilor recurente. Băiatul a fost alimentat natural primele 2 luni de viață, ulterior – cu formulă adaptată.

*Istoricul bolii.* Perioada neonatală a fost complicată cu piodermită la naștere, bronhopneumonie acută bilaterală, osteomieliță acută (labele piciorului, antebrațul stâng) și septicemia stafilococică la a 15 zi de viață. Pe fondal de tratament antibacterian combinat, copilul a prezentat episoade repetate de reinfecție stafilococică, osteomieliță hematogenă cu dezvoltarea cicatricilor pe ambele picioare și în regiunea antebrațului stâng. La vârsta de 2 luni a fost depistată infecția CMV acută (ADN pozitiv în sânge și urina), care a necesitat administrarea tratamentului antiviral cu Valganciclovir. S-a administrat și imunoglobulina umană antistafilococică pentru

patients with CGD have been considerably improved in recent years, the incidence of severe infections has been considerably reduced, and patients on average survive at least 40 years [1,10].

## CLINICAL CASE PRESENTATION

We present the case of a 6-month-old male child who was referred to the Rare Disease Center, Institute of Mother and Child Healthcare with history of severe recurrent infections.

*Past life history.* The child was born from the third full-term pregnancy, weighing 3700 gr. During pregnancy, the mother suffered from acute pyelonephritis at 20 and 30 weeks of gestation with the administration of antibacterial treatment. The family history was positive for recurrent furunculosis in childhood in the child's grandfather and uncle on the mother's side. The child's aunt died at an early age due to infectious complications. The child received only HVB vaccine in maternity ward due to early infectious complications. Breastfed 2 months, then with adapted formula.

*History of the disease.* The neonatal period was complicated by pyoderma at birth, acute bilateral bronchopneumonia, acute osteomyelitis (of the right and left legs, left forearm) and staphylococcal septicemia on the 15th day.

Against the background of treatment, recurrences of skin septicemia with scarring on both feet and left forearm appeared. Acute CMV infection with high replication titers in urine and blood was detected. Antiviral treatment with Valganciclovir was started.

Antistaphylococcal immunoglobulin was administered to enhance the immune response.

a facilitat răspunsul imun. Hemoleucograma efectuată la acel moment a evidențiat o anemie ușoară (Hb=92g/l, Er=3x10<sup>12</sup>/l) și devierea formulei leucocitare spre stânga (nesegmentate 9%).

La vârsta de 4 luni pacientul suportă un episod repetat de bronhopneumonie bilaterală, abcese multiple ale feței (nas, pleopa inferioară, ureche), osteomielite oaselor faciale cu defect de sept nazal și limfadenita purulentă locală.

Copilul a necesitat tratamentul chirurgical al focarelor purulente, iar examenul bacteriologic al conținutului abceselor a identificat *Stafilococcus epidermidis* și *Enterobacter aerogenis*. Hemoleucograma a evidențiat o anemie de grad moderat (Hb=88g/l, Er=2,8x10<sup>12</sup>/l, Ht=30,1%), leucocitoză cu neutrofilie (L=30,1x10<sup>9</sup>/l, segmentate=42%, nesegmentate=13%), VSH majorat (36mm/ora).

Pe fondal de tratament antibacterian combinat (Vancomicina și Meropenem) la vârsta de 5 luni pacientul dezvoltă limfadenită acută a regiunii feței, complicată cu adenoflegmon în zona retromandibulară pe dreapta, provocată de *Klebsiella pneumoniae*, care a necesitat intervenție chirurgicală cu drenarea abcesului.

Testele de laborator au identificat anemie (Hb=107 g/l), leucocitoză (39,2x10<sup>9</sup>/l) cu o creștere a nesegmentatelor (14%) și un VSH crescut (27 mm/ora).

Radiografia cutiei toracice a evidențiat sechele ale bronhopneumoniei bilaterale cu rezorbție incompletă și reacția pleurei interlobare orizontale pe dreapta. Lărgirea mediastinului neomogen bilateral cu accent pe dreapta pe contul timusului.

Examenul histopatologic al ganglionilor limfatici a evidențiat proces inflamator acut purulent, necrotico-disruptiv și microabcedant, cu abcese reticulo-epiteliale acute și aspecte de reacție inflamatorie celulară atipică.

The blood count showed mild anemia (Hb=92g/l, Er=3x10<sup>12</sup>/l) and left shift of leucocyte formula (immature neutrophils=9%).

At the age of 4 months, the patient presented with bilateral bronchopneumonia, multiple abscesses of the face (nose, lower eyelid, ear), osteomyelitis of the facial bones with nasal septum defect, and local purulent lymphadenitis.

Surgical treatment of purulent foci was performed, and bacteriological examination of the contents revealed *Stafilococcus epidermidis* and *Enterobacter aerogenes*.

In the blood count, moderate anemia (Hb=88g/l, Er=2.8x10<sup>12</sup>/l, Ht=30.1%), leukocytosis with neutrophilia, left shift of leucocyte formula (Leu=30.1x10<sup>9</sup>, segmented=42%, bands=13%), increased ESR (36mm/hour) were found.

Against the background of combined antibacterial treatment (Vancomycin and Meropenem), at the age of 5 months, the child developed acute lymphadenitis of the facial region, complicated by adenophlegmon in the right retromandibular region, caused by *Klebsiella pneumoniae*, which required repeated surgical intervention with drainage of the abscess.

Laboratory tests identified mild anemia (Hb=107 g/l), leukocytosis (39.2x10<sup>9</sup>/l) with an increase of band cells (14%), and a high erythrocyte sedimentation rate (27mm/hour).

The chest X-ray revealed the sequelae of bilateral bronchopneumonia with incomplete resorption, the reaction of the interlobular pleura on the right, and thymomegaly on the right.

The histopathological examination of the lymph nodes revealed necrosis and a destructive inflammatory process, with acute reticulo-epithelial abscesses and aspects of an atypical cellular inflammatory reaction.

*Clinical exam.* At the time of examination, the child's condition was good.

*Examenul fizic.* La momentul examinării, starea pacientului era satisfăcătoare. Dezvoltarea fizică și neurologică a copilului corespundea vârstei (M - 7,2 kg (P27, -0,6z), T= 66 cm (P27, -0,61z), PC=42 cm (P9, -1,3z). Semnele vitale corespundeau valorilor de vârstă: FR = 32/minut, FCC=125 b/minut, SaO2= 98%. Tegumentele palide, cu cicatrici multiple postabces/postoperator în regiunea nasului, a obrazului stâng, submandibular și a ambelor picioare. Examenul clinic detaliat al sistemelor și organelor nu a evidențiat alte particularități.

Examenul ultrasonografic al organelor interne a identificat hepatomegalie ușoară și modificări reactive în splină și pancreas.

*Hemoleucograma* a relevat o creștere moderată a nesegmentatelor (10%, norma fiind 1-6%), creșterea valorilor ASAT -51,1U/l (N=0-43U/l) și ALAT - 48,9U/l (N=0-40U/L). În coprograma s-a identificat reacția pozitivă la sânge occult, deși calprotectina fecală - fără devieri patologice (97,7mg/g, valori normale 0-200mg/g).

Luând în considerație prezența infecțiilor severe recidivante cu localizare multiplă, care necesită tratament antibacterian combinat de lungă durată, precum și istoricului familial agravat, a fost realizată testarea sistemului imun în Laboratorul de Alergologie și Imunologie Clinică al Universității de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”. Testele imunologice au relevat subseturi de limfocite crescute: nivelul absolut de CD3 -10,076 (N=2,2-6,4x10<sup>3</sup>μl), CD4 - 4,673 (N=), CD8-4,956, imunoglobulinele nu au prezentat modificări esențiale (tab. 1).

**Tabelul 1. Datele imunologice ale pacientului în dinamică**

Physical and mental development corresponds to age (Weight= 7.2 kg (per27, - 0.6 z), Length = 66 cm (per27, -0.61z), Head Circumference=42 cm (per 9, -1.3z), vital signs: RR= 32/minute, HR=125 b/minute, SaO2= 98%.

Pale skin with scars from past lymphadenitis, osteomyelitis, and abscesses on the face, nose, submandibular region, and left leg region. No other abnormalities were seen during the general examination.

*The lab exam* revealed a moderate increase of bands cells in the blood count (10%), and increased values of AST (51.1U/l) and ALT (48.9U/l) in the biochemical examination.

Abdominal ultrasound identified mild hepatomegaly and reactive changes in the spleen and pancreas. The stool test revealed a positive fecal occult blood test. Fecal calprotectin - without pathological deviations (97.7mg/g, normal range 0-200mg/g).

Taking into account the presence of severe recurrent infections with multiple locations, which require long-term combined antibacterial treatment, as well as the positive family history, the immune assessment tests were made in the Laboratory of Allergology and Clinical Immunology, SUMF “N.Testemițanu”.

Immunological tests revealed increased lymphocyte subsets (absolute level of CD3, CD4, CD8), and immunoglobulins showed no essential changes (tab.1).

**Table 1. Patient's immunological data**

Parametrii imunologici, un.m.	Valori de referință	6 luni	1 an	2 ani
CD3, (%)	45-79%	73,1	56,9	56,99
CD3, (abs)	2,2-6,4 x10 <sup>3</sup> μl	10, 076	3,651	2,71
CD4 (%)	36-61%	33,86	34,83	30,94

CD4, abs	1,7-4,6 x10 <sup>3</sup> µl	4,673	2,235	2,71
CD8, (%)	6-34%	35,91	19,65	24,17
CD8, abs	0,72-2,49 x10 <sup>3</sup> µl	4,956	1,261	2,11
CD16, (%)	6,2-18,2%	6,08	3,82	5,64
CD16,abs	0,04-0,9 x10 <sup>3</sup> µl	0,839	0,245	0,74
CD19, (%)	19-31%	18,39	36,47	31,7
CD19, abs	0,5-1,5 x10 <sup>3</sup> µl	2,551	2,340	2,77
IIR(CD4 <sup>+</sup> /CD8 <sup>+</sup> )	1,2-3,5	0,94	1,77	1,28
IgA, g/l	0,09-1,72	1,26	0,27	1,13
IgM, g/l	0,15-1,73	1,46	0,81	5,3
IgG, g/l	3,2-12,8	10,03	9,30	9,4
IgE, UI/ml	0-40	31,6	23,3	488

Cercetări activității fagocitare au evidențiat testul NBT pozitiv (lipsa celulelor NBT-pozitive), numărul și indexul fagocitar – fără devieri patologice (tab. 2).

**Tabelul 2. Testarea funcției fagocitare**

Additional immunological investigations revealed a pathological function of NADPH-oxidase (negative NBT test), number and phagocytic index - without pathological deviations (table 2).

**Table 2. Phagocytic function testing**

<b>Indicii</b>	<b>Valori de referință</b>	<b>Rezultat</b>
<b>Parameter</b>	<b>References</b>	<b>Result</b>
Numărul fagocitar (%)	63,7-90,1	81
Fagocyte (%)		
Index fagocitar (unități celulare)	1,9-7,3	5,99
Fagocyte index (cells)		
NBT-test (unități celulare)	0,1-0,15	0
NBT-test		(nu sunt celule NBT-pozitive)

S-a efectuat examenul molecular-genetic realizat de compania Invitae (SUA), grație colaborării internaționale și contribuției Programului Global Genetic Sequencing Program for Primary Immunodeficiency, susținut de către JMF (SUA). Grație acestei colaborări a fost posibilă identificarea unei mutații noi în gena hemizigotă CYBB (c.1241C>A (p.Thr414Lys)), responsabilă pentru dereglarea funcției proteinei CYBB.

To confirm the final diagnosis, a molecular genetic study was conducted by Invitae (USA) thanks to international cooperation and the contribution of the Primary Immunodeficiency Genetic Sequencing Program of the Jeffrey Modell Foundation.

A new mutation in the hemizygous CYBB gene (c.1241>A (p. Asp396Glu) responsible for impaired function of the CYBB protein

Rezultatele analizei complexe clinice, paraclinice și molecular-genetice la confruntarea cu postulatele ESID denotă că diagnosticul final este boală granulomatoasă cronică X-lincată de tip recesiv.

Confirmarea diagnosticului de BGC a argumentat inițierea terapiei profilactice cu Sulfametoxazol-Trimetoprim în doză de 5 mg/kg/zi și Itraconazol în doză de 5 mg/kg zilnic.

Pacientul este regulat monitorizat de către specialiști cu evaluarea clinico-paraclinică riguroasă. Frecvența episoadelor de infecții acute au scăzut semnificativ: în perioada de observație, pacientul a suportat o laringită acută și o bronhopneumonie acută cu evoluție medie.

## DISCUȚII

BGC este o patologie genetică a sistemului imunitar, implicând funcția oxidativă a fagocitului cu complicații infecțioase recurente [7]. Defectul NADPH-oxidazei respiratorii determină susceptibilitatea către infecții severe bacteriene și fungice în primii ani de viață, însă debutul în perioada neonatală este foarte rar.

Astfel, Miladinovic M și coaut (2021), analizând incidența manifestărilor neonatale ale bolii cronice granulomatoase la nou-născuți, au identificat doar 24 de cazuri cu primele manifestări clinice până la vârsta de 6 săptămâni, dintre care 4 copii au avut semne clinice ale bolii deja în timpul nașterii [3]. La pacientul prezentat în studiul primele manifestări clinice de piodermită au fost prezente la naștere și au evaluat rapid către septicemie la vârsta de 15 zile.

Similar cu pacientul prezentat, afectarea sistemului respirator, a pielii și ganglionilor limfatici predomină în datele literaturii, semne clinice ale BGC fiind foarte polimorfe [1,4,8].

De menționat că în țările endemice de tuberculoză, primele complicații apar precoce după vaccinarea cu vaccinul viu atenuat BCG și sunt cauzate de *M.tuberculosis* [8].

În cazul prezentat copilul nu a fost vaccinat cu vaccinul BCG, având piodermita la naștere,

confirmed the diagnosis of X-linked recessive CGD.

The child started prophylactic therapy with Sulfamethoxazole-Trimethoprim at a dose of 5 mg/kg and Itraconazole at 5 mg/kg daily.

The child is under the regular supervision of specialists. Episodes of acute infections decreased significantly: during the observation period, the patient suffered from acute laryngitis and acute bronchopneumonia of moderate severity.

## DISCUSSION

CGD is a rare inborn defect of immunity caused by a genetic dysfunction of phagocytes with recurrent life-threatening infections [7].

The NADPH oxidase defect of phagocytes leads to the appearance of severe bacterial and fungal infections in the first years of life, but very rarely the onset is in the neonatal period.

Thus, Milica Miladinovic and colleagues analyzed bibliographic sources regarding the incidence of neonatal manifestations of chronic granulomatous disease in newborns (2021). They identified only 24 cases with the first clinical manifestations up to 6 weeks, of which 4 children were already symptomatic at birth [3].

The child presented in the study demonstrated the first clinical manifestations of pyoderma from birth, which rapidly evaluated to septicemia at 15 days of age.

As in the presented patient, according to the literature, affection to the respiratory system, skin and lymph nodes prevails, and clinical signs are very polymorphic [1,4,8].

It should be noted that in countries endemic for tuberculosis, the first complications occur early after vaccination with a live attenuated BCG vaccine and are caused by *M. tuberculosis* [8].

In our case, the child was not vaccinated with the BCG vaccine, having pyoderma at



agenții cauzali la el fiind alte bacterii catalazopozitive, precum stafilococul și enterobacter.

Datorita heterogenității manifestărilor clinice diagnosticul BGC, conform datelor literaturii, se stabilește în primii doi-trei ani de viața. La copii cu manifestări neonatale identificați în studiul Miladinovic M și colab. diagnosticul a fost stabilit în mediu la vârsta de 8 luni [3]. Investigațiile efectuate în Laboratorul de Alergologie și Imunologie al USMF au permis și în cazul pacientului nostru să stabilim diagnosticul precoce, la vârsta de 6 luni.

Integrarea în Programul Internațional de Secvențiere Genetică de ultimă generație pentru imunodeficiență primară ne-a permis confirmarea diagnosticului molecular-genetic cu depistarea mutației genei hemizigote CYBB care codifică subunitatea gp91phox a NADPH-oxidazei și este responsabilă pentru forma recesivă X-lincată a bolii, cea mai frecventă formă descrisă în literatura de specialitate [1,6,8].

Conform surselor bibliografice studiate, cunoașterea tipului mutației și aplicarea terapiei profilactice antimicrobiene/antifungice pe viața, permite să reducem considerabil rata complicațiilor infecțioase și să ameliorăm calitatea și speranța vieții pacienților [6,9]. Similar și în cazul pacientului B.P., frecvența și severitatea infecțiilor s-a micșorat esențial în perioada supravegherii pe fond de tratament preventiv antibacterian și antifungic zilnic.

Însă, numărul foarte mic de pacienți cercetați cu debut neonatal al BGC nu ne permite să presupunem prognosticul pentru pacientul.

Acest fapt și posibilitatea apariției procesului infecțios pe fond de terapie de prevenție, crește și mai mult importanța supravegherii periodice permanente.

## CONCLUZII

birth, the pathogens that caused clinical manifestations were other catalase-positive bacteria, such as staphylococci and enterobacteria.

Due to the heterogeneity of clinical manifestations, the diagnosis of BGC according to literature data is established in the first two-three years of life. In children identified by Milica Miladinovic with neonatal manifestations - on average it was established at 8 months [3].

Thanks to the collaboration with the Laboratory of Allergology and Immunology, SUMF "Nicolae Testemițanu", the diagnosis was also established early in the case of our patient, at the age of 7 months.

Participation in the International Genetic Sequencing Program and molecular genetic testing of the patient made it possible to confirm the final diagnosis. A hemizygous mutation of the CYBB gene encoding the gp91phox subunit of NADPH oxidase and responsible for the X-linked recessive form of the disease, most frequently described in the literature, has been identified. [1,6,8].

According to the studied bibliographic sources, knowledge of the type of mutation and lifelong use of prophylactic antimicrobial/antifungal therapy can significantly reduce the incidence of infectious complications, and improve the quality and life expectancy of patients [6,9].

Similarly, in our patient, the frequency and severity of infections decreased significantly during the observation period against the background of daily antibacterial and antifungal prophylactic treatment.

However, the very small number of patients studied with neonatal onset of CGD does not allow us to suggest a prognosis for our patient.

This fact and the possibility of maintaining the infectious process even against the background of prophylactic

<p>Patologia sistemului fagocitar trebuie suspectată la toți copiii cu infecții severe recurente ale pielii, oaselor și ganglionilor limfatici. Terapia antibacteriană și antifungică profilactică pe viața ameliorează semnificativ prognosticul și calitatea vieții pacienților cu BGC, iar monitorizarea clinico-imunologică este un element cheie pentru identificarea precoce a complicațiilor infecțioase. Aprofundarea cunoștințelor medicilor despre BGC va contribui la diagnosticul mai precoce, la inițierea timpurie a terapiei și la scăderea ratei mortalității.</p>	<p>therapy further increases the importance of continuous periodic monitoring.</p> <p><b>CONCLUSIONS</b></p> <p>Pathology of the phagocytic system should be suspected in all children with severe recurrent infections of the skin, bones, and lymph nodes.</p> <p>Lifelong prophylactic antibiotic and antifungal therapy significantly improve the prognosis and quality of life of patients with CGD, but continuous monitoring remains very important.</p> <p>Increasing the knowledge of doctors about the disease will contribute to earlier diagnosis, earlier initiation of therapy, and a decrease in mortality.</p>
<p><b>Cuvintele-cheie:</b> boală granulomatoasă cronică, copii, NBT test, defectul NADPH oxidazei, testare molecular-genetică.</p>	<p><b>Key words:</b> chronic granulomatous disease, children, NBT test, NADPH oxidase defect, molecular-genetic testing.</p>
<p><b>REFERENCES</b></p> <ol style="list-style-type: none"> <li>1. GENNERY, A. Recent advances in understanding and treating chronic granulomatous disease [version 1; peer review: 4 approved] <i>F1000Research</i> 2017, 6 (F1000 Faculty Rev):1427 <a href="https://doi.org/10.12688/f1000research.11789.1">https://doi.org/10.12688/f1000research.11789.1</a></li> <li>2. WOLFE, L.C., KEEFE, E. Pediatric Chronic Granulomatous Disease. Updated: Apr 12, 2021 <a href="https://emedicine.medscape.com/article/956936-overview#a6">https://emedicine.medscape.com/article/956936-overview#a6</a></li> <li>3. MILADINOVIC, M., WITTEKINDT, B., FISCHER, S., et al. Case Report: Symptomatic Chronic Granulomatous Disease in the Newborn. In: <i>Front Immunol.</i> 2021; 12:663883. doi: 10.3389/fimmu.2021.663883. PMID: 33854515; PMCID: PMC8039294.</li> <li>4. KUTUKCULER, N., AYKUT, A., NESLIHAN, E. et al. Chronic granulomatous disease: Two decades of experience from a paediatric immunology unit in a country with high rate of consanguineous marriages. In: <i>Scand J Immunol.</i> 2019;89: e12737. <a href="https://doi.org/10.1111/sji.12737">https://doi.org/10.1111/sji.12737</a></li> <li>5. REINHARD, A. Modern management of chronic granulomatous disease. In: <i>SegeerBritish Journal of Haematology.</i> 2008; 140, 255-266. doi:10.1111/j.1365-2141.2007.06880.x</li> <li>6. ROOS, D., DE BOER, M. Molecular diagnosis of chronic granulomatous disease. In: <i>Clin Exp Immunol.</i> 2014; 175(2): 139-149. doi:10.1111/cei.12202</li> <li>7. SCHWENKENBECHER, P, NEYAZI, A., DONNERSTAG, F., et al. Chronic Granulomatous Disease First Diagnosed in Adulthood Presenting With Spinal Cord In: <i>Infection. Front. Immunol.</i> 2019; 9:1258. doi: 10.3389/fimmu.2018.01258</li> <li>8. <a href="https://www.uptodate.com/contents/chronic-granulomatous-disease-pathogenesis-clinical-manifestations-and-diagnosis">https://www.uptodate.com/contents/chronic-granulomatous-disease-pathogenesis-clinical-manifestations-and-diagnosis</a></li> <li>9. <a href="https://www.uptodate.com/contents/chronic-granulomatous-disease-treatment-and-prognosis">https://www.uptodate.com/contents/chronic-granulomatous-disease-treatment-and-prognosis</a></li> </ol>	

## **DIAGNOSTICUL TARDIV AL IMUNODEFICIENȚEI PRIMARE**

**Turcu Oxana<sup>1,2</sup>, Andries Lucia<sup>1</sup>, Revenco  
Ninel<sup>1,2</sup>, Elena Dolapciu<sup>1,2</sup>**

**<sup>1</sup> Laboratorul de Alergologie și Imunologie  
Clinică și Departmentul Pediatrie,  
Universitatea de Stat de Medicină și  
Farmacie “Nicolae Testemitanu”, Chișinău  
Republica Moldova**

**<sup>2</sup> IMSP Institutul Mamei și Copilului,  
Chișinău, Republica Moldova**

## **LATE DIAGNOSIS OF PRIMARY IMMUNODEFICIENCY**

**Turcu Oxana<sup>1,2</sup>, Andries Lucia<sup>1</sup>, Revenco  
Ninel<sup>1,2</sup>, Elena Dolapciu<sup>1,2</sup>**

**<sup>1</sup>Department of Pediatrics and Laboratory  
of Allergology and Clinical Immunology,  
State University of Medicine and  
Pharmacy “Nicolae Testemitanu”,  
Chisinau, Republic of Moldova**

**<sup>2</sup>Institute of Mother and Child Healthcare,  
Chisinau, Republic of Moldova**

### **REZUMAT**

Imunodeficiența variabilă comună (CVID) este o formă rară de imunodeficiență primară, care implică diferențierea defectuoasă a celulelor B în celule plasmatică, cu nivele scăzute de imunoglobuline. CVID se caracterizează prin infecții sino-pulmonare cronice/recurente severe, tulburări autoimune, boală granulomatoasă și risc sporit de malignitate. Majoritatea pacienților cu CVID sunt diagnosticați în decada doi-trei de viață, deși 1/3 din toți pacienții cu CVID, conform datelor din registrul ESID, au vârsta de 8-10 ani. Prezentăm cazul unei paciente adulte confirmate cu diagnosticul CVID la vârsta de 54 ani, după ce a suportat episoade repetate de infecții severe cu localizare variată. Inițierea tratamentului substitutiv cu imunoglobulină intravenoasă, a redus semnificativ complicațiilor infecțioase și a necesității în utilizarea antibioticelor.

### **INTRODUCERE**

CVID este o maladie cu mai multe fațete caracterizată prin heterogenitate genetică, imunologică și clinică marcată. Tulburarea este asociată cu un spectru larg de manifestări clinice, care au ca rezultat întârzierea

### **ABSTRACT**

Common variable immunodeficiency (CVID) is a rare form of primary immunodeficiency disorder that involves defective differentiation of B lymphocytes into plasma cells with low levels of immunoglobulins. CVID is characterized by severe chronic/recurrent sinopulmonary infections, autoimmune disorders, granulomatous disease, and increased risk of malignancy. Most CVID patients are diagnosed in their second to third decade of life, although 1/3 of all CVID patients, according to data from the ESID registry, are aged 8-10 years. We present the case of an adult patient confirmed with the diagnosis of CVID at the age of 54, after repeated episodes of severe infections with varied localization. The initiation of substitution treatment with intravenous immunoglobulin significantly reduced the infectious complications and the need for the use of antibiotics.

### **BACKGROUND**

CVID is a multifaceted disease characterized by marked genetic, immunological, and clinical heterogeneity. The disorder is associated with a broad spectrum of clinical manifestations resulting in significant

semnificativă a diagnosticului, tratament incorect și creșterea mortalității și morbidității. Conform criteriilor de diagnostic revizuite ale Societății Europene pentru Imunodeficiențe (ESID) din 2014, a fost sugerat ca diagnosticul de CVID să fie stabilit după vârsta de 4 ani și după excluderea deficitului de limfocite T (CD4 scăzut: <300 celule pentru vârsta 2-6 ani, <250 celule pentru 6-12 ani, <200 celule pentru >12 ani; CD4 naiv scăzut (CD45RA+): <25% pentru vârsta 2-6 ani, <20% pentru 6-16 ani, <10% pentru vârsta peste 16 ani; absența proliferării celulelor T) și a deficitului secundar de anticorpi. Nu există semne clinice specifice sau un test patognomic pentru CVID. Astfel, că în prezent sunt propuse criterii de diagnostic ESID pentru definirea CVID [6].

### ***CVID probabil***

Pacient de sex masculin sau feminin care are o scădere marcată a IgG (cel puțin 2 SD sub media pentru vârstă) și o scădere marcată a cel puțin unuia dintre izotipurile IgM sau IgA și îndeplinește toate următoarele criterii:

- 1) debutul imunodeficienței după vârsta de 2 ani,
- 2) absența izohemaglutinelor și/sau răspuns slab la vaccinuri (<70% din valoarea normală legată de vârstă),
- 3) au fost excluse cauzele definite de hipogammaglobulinemie.

### ***CVID posibil***

Pacient de sex masculin sau feminin care are o scădere marcată (cel puțin 2 SD sub media vârstei) a unuia dintre izotipurile majore (IgM, IgG și IgA) și îndeplinește toate următoarele criterii:

- 1) debutul imunodeficienței după vârsta de 2 ani,
- 2) absența izohemaglutinelor și/sau răspuns slab la vaccinuri (<70% din valoarea normală legată de vârstă),
- 3) au fost excluse cauzele definite de hipogammaglobulinemie.

Astfel, CVID este un diagnostic de excludere.

diagnostic delay, incorrect treatment and increased mortality and morbidity. According to the 2014 European Society for Immunodeficiencies (ESID) revised diagnostic criteria, CVID has been suggested to be diagnosed after the age of 4, and after T cell deficiency (low CD4: <300 cells for 2-6 years, <250 cells for 6-12 years, <200 cells for >12 years; low naive CD4 (CD45RA+): <25 percent for 2 to 6 years, <20 percent for 6 to 16 years, <10 percent for over 16 years of age; absent T cell proliferation) and secondary antibody deficiency are ruled out. There is no specific clinical feature or laboratory test characteristic for CVID and currently ESID diagnostic criteria for definition of CVID are proposed [6].

### ***Probable CVID***

Male or female patient who has a marked decrease of IgG (at least 2 SD below the mean for age) and a marked decrease in at least one of the isotypes IgM or IgA, and fulfills all of the following criteria:

- 1) onset of immunodeficiency at greater than 2 years of age,
- 2) absent isohemagglutinins and/or poor response to vaccines (<70 percent of age-related normal value),
- 3) defined causes of hypogammaglobulinemia have been excluded.

### ***Possible CVID***

Male or female patient who has a marked decrease (at least 2 SD below the mean for age) in one of the major isotypes (IgM, IgG and IgA) and fulfills all of the following criteria:

- 1) onset of immunodeficiency at greater than 2 years of age,
- 2) absent isohemagglutinins and/or poor response to vaccines (<70 percent of age-related normal value),
- 3) defined causes of hypogammaglobulinemia have been excluded.

CVID is thus a diagnosis of exclusion.

### **CLINICAL CASE**

Adult female patient of 54 years old, presented with **complaints** of frequent chronic cough

## CAZ CLINIC

Pacientă adultă de 54 de ani, a prezentat **acuze** la tuse cronică, frecventă cu expectorații de spută purulentă, infecții respiratorii recurente și alte infecții localizate care au necesitat terapie antibacteriană orală, parenterală (2-3 cure de antibiotice pe an) și episoade repetate de diaree.

**Debutul** episoadelor recurente de infecții este la vârsta de 33 de ani cu infecții respiratorii repetate cu evoluție îndelungată. Tusea cronică zilnică cu expectorații de spută purulentă a persistat din 2018. În același an pacienta a fost internată cu otită purulentă, complicată cu abces intracerebral temporo-parietal pe stânga și edem cerebral care a necesitat tratament antibacterian combinat intravenos.

Anterior de vârsta de 33 de ani, pacienta raportează unele infecții, dar fără episoade severe și nici semne persistente precum tusea cronică.

**Istoricul familial** este important, cu moartea prematură atât părinților, cât și a doi frați, determinate de diferite tipuri de malignitate (tumori gastrice și pulmonare).

Izolarea forțată și măsurile de igienă sporite în timpul pandemiei COVID-19 au fost favorabile pacientei, deoarece în această perioadă s-a redus semnificativ numărul episoadelor infecțioase.

Un nou episod de infecție severă cu polipoză bilaterală, sinuzită purulentă, bronșită obstructivă și o exacerbare a pielonefritei cronice cu micronefrolitiază a necesitat spitalizarea pacientului.

Pe parcursul acestei internari pacientul a fost supus bronhoscopiei, tomografiei computerizate a cutiei toracice și craniului.

Bronhoscopia cu fibre optice flexibile a identificat bronșiectazii bilaterale și endobronșită severă. Bronșiectaziile în segmentele bazale ale plămânilor a fost confirmată pe TC toracic. TC cerebrală a

with expectorations of purulent sputum, recurrent respiratory and other localized infections that required oral, parenteral antibacterial therapy (2-3 courses of antibiotics a year) and repeated episodes of diarrhea.

**The onset** of recurrent episodes of infections is at the age of 33 years with repeated respiratory infections with protracted evolution. Daily chronic cough with expectorations of purulent sputum persisted since 2018. In the same year patient was hospitalized with purulent otitis, complicated with intracerebral left temporo-parietal abscess and cerebral edema that required intravenous combined antibiotic treatment.

Before the age of 33, patient reports some infections, but no severe episodes, and no persistent signs like chronic cough.

**Family history** is important, with premature death of both parents and two brothers from different types of malignancy (gastric and lung tumors).

The forced isolation and increased hygiene measures during the COVID-19 pandemic were favorable for the patient because the number of infectious episodes was significantly reduced.

A new episode of severe infection with bilateral polypous, purulent sinusitis, obstructive bronchitis, and an exacerbation of chronic pyelonephritis with micronephrolithiasis required patient hospitalization.

During this hospitalization, the patient underwent bronchoscopy, chest and brain computed tomography.

Flexible fiberoptic bronchoscopy identified bilateral bronchiectasis and severe endobronchitis. Bronchiectasis in the basal segments of the lungs was confirmed on chest CT. Brain CT revealed chronic pansinusitis, chronic left otomastoiditis.

At the beginning of 2022, the patient suffered an episode of diarrhea with marked weight loss (4 kg for one week), being diagnosed with pancreatitis. In the following 6 months, the patient had three infectious episodes that required antibacterial treatment: exacerbation

evidențiat pansinuzită cronică, otomastoidită cronică pe stânga.

La începutul anului 2022, pacienta a suferit un episod de diaree cu scădere marcată în greutate (4 kg timp de o săptămână), fiind diagnosticată cu pancreatită. În următoarele 6 luni, pacienta a suportat trei episoade infecțioase care au necesitat tratament antibacterian: exacerbaria sinuzitei maxilare cronice și două exacerbari ale bronșiectaziilor, inclusiv un episod sever care a necesitat spitalizare.

**Examenul clinic** a identificat parametrii vitali și antropometrici în variațiile normei, cu excepția excesului ponderal de 80 kg și un IMC de 29,41 kg/m<sup>2</sup>. Piele palidă, uscată cu turgor și elasticitate satisfăcătoare și țesut adipos subcutanat bine dezvoltat. Ganglionii limfatici nu erau palpabili. Tonus muscular normal, sistem osteoarticular fără particularități.

Pacienta prezenta respirație nazală dificilă cu o durată îndelungată. Cutia toracică simetric distinsă și retracții intercostale ușoare. Auscultarea toracelui a evidențiat respirație atenuată bilateral, cu crepitații în special în segmentele bazale. Zgomotele cordului erau clare și ritmice. Abdomenul moale, suplu și indolor la palpare, ficatul cu dimensiuni ușor crescute, până la 2 cm sub rebordul costal drept, splina la rebord. Scaunul la momentul evaluării era normal.

Pacienta a efectuat bronhoscopii repetate care au identificat constant endobronșita purulentă. În pofida bronșiectaziilor bilaterale și a endobronșitei severe, funcția pulmonară la spirometrie a fost normală.

Hemoleucograma și examenul biochimic au fost normale, cu excepția unei dislipidemii ușoare (colesterol – 214 mg/dL, colesterol HDL – 35 mg/dL, colesterol LDL 165 mg/dL, trigliceride – 152 mg/dL) și glucoza serică ușor crescută (6,7 mmol/L).

Cultura de spută nu a identificat infecție sau colonizare cronică, singurul germen de cultură a fost *Str.pneumoniae*.

of chronic maxillary sinusitis and two exacerbations of bronchiectasis, including a severe episode that required hospitalization.

**The clinical examination** identified vital signs within the norm, but with an excessive weight of 80 kg and a BMI of 29.41 kg/m<sup>2</sup>. Pale, dry skin and maintained skin turgor and elasticity with well-developed subcutaneous adipose tissue. Lymph nodes were not palpable. Normal muscle tone, osteoarticular system without particularities.

Patient had difficult nasal breathing, reported for long time. Symmetrical distended chest, and slight intercostal retractions. Auscultation of the chest revealed decreased air-entry bilaterally, especially at the bases. There were fine end-inspiratory crackles at both bases. Sounds of the heart were clear and rhythmic. Abdomen was soft, supple, and painless to palpation, the liver was lightly increased, up to 2 cm below the right rib edge, spleen to edge. The stool at the moment of the evaluation was normal.

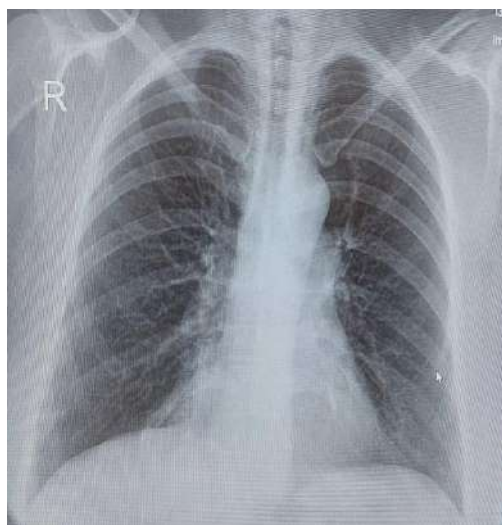
Patient underwent repeated bronchoscopies that constantly identified purulent endobronchitis. Despite bilateral bronchiectasis and severe endobronchitis, the lung function test was normal.

The blood count and biochemical examination were normal, with the exception of mild dyslipidemia (cholesterol – 214 mg/dL, HDL cholesterol – 35 mg/dL, LDL cholesterol 165 mg/dL, triglycerides – 152 mg/dL) and borderline blood glucose test (6,7 mmol/L).

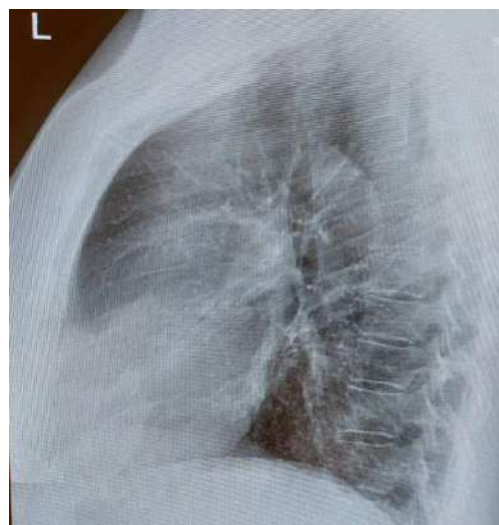
Sputum culture did not identified chronic infection or colonization, the only cultured germ was *Str.pneumoniae*.

The chest X-ray showed bilateral basal fibrosis and pneumonia in the S5 segment on the right (fig.1).

Radiografia toracică a evidențiat fibroză bazală bilaterală și pneumonie în segmentul S5 din dreapta (fig.1).



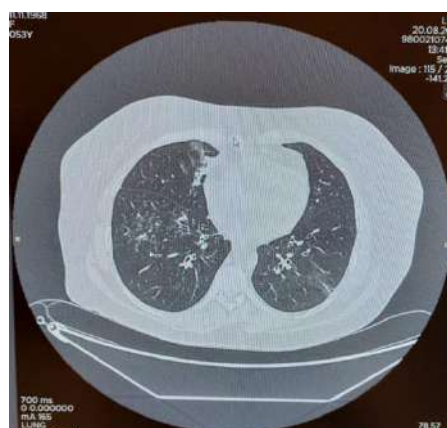
**Fig.1.** Radiografia toracică: fibroză bazală și pneumonie în segmentul S5 din dreapta



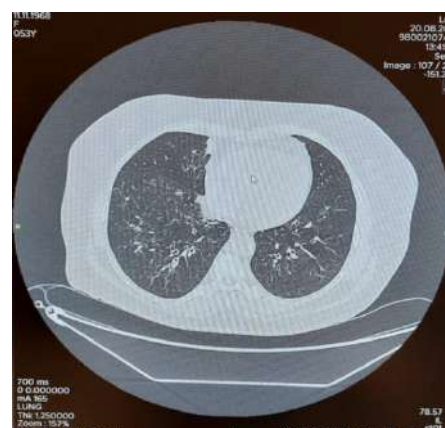
**Fig.1.** Chest X-ray: basal fibrosis and pneumonia in the S5 segment on the right

HRCT este cea mai sensibilă și specifică metodă neinvazivă de diagnosticare a bolilor bronho-pulmonare cronice și în special a bronșiectaziei, iar scanurile HRCT ale pacientei noastre prezintă bronhii cu pereți groși, dilatate (fig. 2).

HRCT is the most sensitive and specific non-invasive method for diagnosing of chronic broncho-pulmonary diseases and especially of bronchiectasis. The HRCT scans of our patient shows thick-walled, slightly ectatic bronchi (fig. 2).



**Fig. 2.** HRCT: Boală bronho-pulmonară cronică, bronșiectazii bilaterale preponderent în segmentele bazale, semne de bronșiolită infecțioasă (S3, S4, S5 în dreapta, bilateral bazal), hipertensiune pulmonară minimă, fibroză bazală bilaterală.



**Fig. 2.** HRCT: Chronic broncho-pulmonary disease, bilateral bronchiectasis mainly in the basal segments, signs of infectious bronchiolitis (S3, S4, S5 on the right, bilateral basal), minimal pulmonary hypertension, bilateral basal fibrosis.

### ***Differential diagnosis***

### ***Differential diagnosis***

Luând în considerare infecțiile recurente cu evoluție severă, identificarea modificărilor pulmonare cronice (bronșiectazii), pacienta a necesitat un diagnostic diferențial între fibroza chistică, diskinezia ciliară, deficit de antitripsină, boală reumatismală, imunodeficiența secundară și primară.

Testul sudorii cu valori normale a exclus diagnosticul de fibroză chistică. Valorile normale ale NO nazal au exclus diagnosticul de diskinezie ciliară. Deficitul de antitripsină a fost, de asemenea, exclus prin cuantificarea nivelului seric de alfa-1 antitripsină, care au fost în limitele valorilor normale.

Pacienta a fost testată negativ pentru HIV.

În acest fel, pacienta a rămas cu suspiciune înaltă pentru imunodeficiența primară, deși este în vârstă adultă și debutul semnelor clinice a fost tardiv.

Grupul de lucru clinic al ESID a dezvoltat 6 semne de avertizare pentru a promova conștientizarea imunodeficienței primare a adulților [<https://esid.org/Working-Parties/Clinical-Working-Party/Resources/6-Warning-Signs-for-PID-in-Adults>]:

1. Patru sau mai multe infecții care necesită TAB în decurs de un an (otită, bronșită, sinuzită, pneumonie)
2. Infecții recurente sau infecții care necesită terapie cu antibiotice prelungită
3. Două sau mai multe infecții bacteriene severe (osteomielite, meningită, septicemie, celulită)
4. Două sau mai multe pneumonii demonstrate radiologic în decurs de 3 ani
5. Infecție cu localizare neobișnuită sau agent patogen oportunist/atipic
6. IDP diagnosticată în familie.

Pacienta noastră a îndeplinit 4 din aceste 6 semne: a avut infecții repetate tratate cu antibiotice, mai mult de 2 pneumonii dovedite radiologic în decurs de 3 ani și localizare neobișnuită a infecției (mastoidita).

Infecțiile pulmonare recurente și severe sunt o caracteristică pentru evoluția mai multor tipuri

Taking into consideration the recurrent infections with severe evolution, the identification of chronic lung changes (bronchiectasis), the patient needed differential diagnosis for cystic fibrosis, ciliary dyskinesia, antitrypsin deficiency, rheumatic disease, secondary and primary immunodeficiency.

Normal sweat test excluded diagnosis of cystic fibrosis. Normal values of nasal NO ruled out the diagnosis of ciliary dyskinesia. Antitrypsin deficiency was also excluded by quantifying alpha-1 antitrypsin serum levels, which turned out to be normal.

Patient was tested negative for HIV.

In this way, the patient remained with high suspicion for primary immunodeficiency, although she is an adult and the onset of clinical signs was late.

Clinical Working Party of ESID developed 6 warning signs to promote the awareness of adult primary immunodeficiency [<https://esid.org/Working-Parties/Clinical-Working-Party/Resources/6-Warning-Signs-for-PID-in-Adults>]:

1. Four or more infections requiring antibiotics within one year (otitis, bronchitis, sinusitis, pneumonia)
2. Recurring infections or infection requiring prolonged antibiotic therapy
3. Two or more severe bacterial infections (osteomyelitis, meningitis, septicemia, cellulitis)
4. Two or more radiologically proven pneumonia within 3 years
5. Infection with unusual localization or unusual pathogen
6. PID in the family.

Our patient fulfilled 4 of these 6 signs: she had repeated infections treated with antibiotics, more than 2 radiologically proven pneumonia within 3 years and unusual localization of the infection (mastoiditis).

Recurrent and severe lung infections are a characteristic for the evolution of several types of primary immunodeficiencies. Long-term complication of chronic lung diseases is bronchiectasis which can be associated with a number of immunological diseases. For this



de imunodeficiențe primare. Complicația pe termen lung a bolilor pulmonare cronice sunt bronșiectaziile care poate fi asociată cu o serie de boli imunodeficitare. Din acest motiv, am selectat cele mai frecvente imunodeficiențe primare care sunt asociate mai des cu bronșiectazii, ca complicații ale infecțiilor respiratorii recurente severe. Potrivit Chan E. și coautorilor (2019), în cazul identificării bronșiectaziilor non-fibroză chistică, diagnosticul diferențial trebuie realizat între următoarele tipuri de imunodeficiență primară: deficit de IgG (Bruton-type, deficit selectiv al subclaselor IgG), deficit dobândit de IgG, CVID), deficit selectiv de IgA, sindrom de ataxie-telangiectazie, deficit de aderență leucocitară (boală granulomatoasă cronică), hipergammaglobulinemie M [3].

Ca următoare etapă a diagnosticului de imunodeficiență primară, a fost evaluat nivelul seric al imunoglobulinelor A, M, G, E. Rezultatele acestui test au confirmat prezența unei imunodeficiențe primare cu afectarea producției de anticorpi. Astfel, nivelul IgA a fost zero, iar nivelul IgG a scăzut semnificativ (tab. 1).

**Tabel 1.** Valorile imunoglobulinelor serice apreciate la pacientă

Parametrul, unitate Parameter, unit	Valoare Value	Valori de referință References
IgA, g/l	0,0	0,4-2,3
IgM, g/l	0,3	0,4-2,3
IgG, g/l	3,1	7-16,0
IgE, UI/ml	1,6	0-100
CH100, U/ml	69	30-75

Pentru diagnosticul diferențial între imunodeficiența umorală primară sau combinată s-a efectuat imunofenotiparea, care a evidențiat valori normale ale limfocitelor T și B (tab. 2).

reason, we have selected the most common primary immunodeficiencies that are more frequently associated with bronchiectasis, as complications of severe recurrent respiratory infections. According to Chan E. and co-authors (2019), in case of identification of non-cystic fibrosis bronchiectasis, the differential diagnosis must be made between the following types of primary immunodeficiency: IgG deficiency (Bruton-type, selective deficiency of IgG subclasses, acquired deficiency of IgG, CVID), selective IgA deficiency, ataxia-telangiectasia syndrome, leukocyte adhesion deficiency (chronic granulomatous disease), hypergammaglobulinemia M [3].

As the next step in the diagnosis of primary immunodeficiency, the serum level of immunoglobulins A, M, G, E was evaluated. The results of this test confirmed the presence of a primary immunodeficiency with the impairment of antibody production. Thus, the IgA level was zero, and the IgG level markedly reduced (tab. 1).

**Tabel 1.** Valorile imunoglobulinelor serice apreciate la pacienta

In order to make the differential diagnosis between primary humoral or combined immunodeficiency, immunophenotyping testing was performed, which revealed normal values of T and B cells (tab. 2).

**Tab. 2.** Testarea prin imunofenotipare a pacientei

**Tab. 2.** Immunophenotyping testing of the patient

Parametrul, unitate Parameter, unit	Valoare Value	Valori de referință References
Lymphocytes, abs	2328	1000-4000
Lym T, abs	1951	527-2846
Lym T, %	84	49-81
Lym T CD4 helper, abs	878	332-1642
Lym T CD4 helper, %	38	28-51
Lym T CD8 supressor, abs	982	170-811
Lym T CD8 supressor, %	43	12-38
Lym B CD19, abs	264	78-899
Lym B CD19, %	11	7-23
Lym NK CD16, abs	82	67-1134
Lym NK CD16, %	3	6-29
Report CD4+/CD8+	0,89	1-3,7

Ambele investigații, aprecierea nivelului imunoglobulinelor serice și imunofenotiparea au fost realizate în Laboratorul de Alergologie și Imunologie Clinică al Universității de Stat Medicină și Farmaceutică „Nicolae Testemițanu”.

Valorile normale ale limfocitelor B și T au exclus diagnosticul de IDP combinată.

Hipogamaglobulinemia primară este definită ca reducerea nivelului seric al gamaglobulinelor sub 2 devieri standard față de valorile normale pentru vârstă, fiind expresia majoră a imunodeficiențelor umorale sau cu componentă umorală.

Imunodeficiența variabilă comună (CVID) este cea mai frecventă cauză a hipogamaglobulinemiei la adulți, iar agamaglobulinemia (X lincată) – la populația pediatrică.

Both test serum immunoglobulin levels and immunophenotyping were realized in the Allergology and Clinical Immunology Laboratory of State Medical and Pharmaceutical University “Nicolae Testemitanu”.

Normal values of B and T cells ruled out the diagnosis of combined PID.

Primary hypogammaglobulinemia defined as a decrease in the serum level of gammaglobulins below 2 standard deviations compared to the normal values for age, being the major expression of humoral immunodeficiencies or with a humoral component.

Common variable immunodeficiency (CVID) is often the cause of hypogammaglobulinemia in adults, and agammaglobulinemia (X-linked) is most common in the pediatric population.

In order to finalize the diagnosis of primary immunodeficiency, the patient benefited from the molecular-genetic examination carried out by the company Invite (USA), thanks to the

Pentru a definitiva diagnosticul de imunodeficiență primară, pacienta a beneficiat de examenul molecular-genetic realizat de compania Invivo (SUA), grație colaborării internaționale și contribuției *Programului Global Genetic Sequencing Program for primary immunodeficiency*, realizat de către JMF (SUA). Examenul molecular-genetic a inclus cercetarea a 450 de gene implicate în dezvoltarea imunodeficiențelor primare.

Rezultatul genetic al pacientei a identificat o variantă patogenă posibil implicată în activitatea tiroidiană (dishormonogeneza tiroidiană), dar nu a detectat mutații responsabile de hipogammaglobulinemia diagnosticată la pacientă.

Deci pacienta a fost diagnosticată cu imunodeficiență variabilă comună.

## DISCUȚII

Cazul clinic prezentat este un pacient diagnosticat tardiv, în decada a șasea de viață, cu imunodeficiență primară.

Conform datelor Registrului ESID, majoritatea pacienților cu CVID sunt diagnosticați după vârsta de pubertate sau în a doua a treia decadă de viață, deși 25-35% din toți pacienții cu CVID sunt diagnosticați la vârsta de 8-10 ani. Diagnosticul de CVID anterior de vârsta de 4-6 ani este dificil și trebuie considerat preliminar din cauza imaturității imunologice și a hipogamaglobulinemiei tranzitorii a sugarului la unii copii [2].

CVID are o prevalență estimată între 1:100 000 și 1:10 000 la populația caucaziană și este una dintre cele mai frecvente imunodeficiențe primare umorale. CVID afectează în mod egal sexul masculin și feminin [2, 5].

În cazul pacientei noastre, anamneza familială nu a fost informativă, neavând rude cu semne

international collaboration and the contribution of the *Global Genetic Sequencing Program for primary immunodeficiency*, carried out by JMF (USA). The molecular-genetic examination included the research of 450 genes involved in the development of primary immunodeficiencies.

The genetic result identified a pathogenic variant possibly involved in thyroid activity (thyroid dysmorphogenesis), but did not detect mutations responsible for the hypogammaglobulinemia diagnosed in our patient.

So the patient was diagnosed with common variable immunodeficiency.

## DISCUSSIONS

Our patient was diagnosed late, in the sixth decade of life, with primary immunodeficiency.

According to the data from the ESID Registry, most patients with CVID are diagnosed after puberty or in the second-third decade of life, although 25-35% of all CVID patients have their diagnosis at 8-10 years of age. The diagnosis of CVID before 4-6 years of age it is difficult and should be considered preliminary because of immunologic immaturity and transient hypogammaglobulinemia of infancy in some children [2].

CVID has an estimated prevalence between 1:100 000 to 1:10 000 in Caucasians and is one of the most common antibody primary immunodeficiency disorders. CVID equally affects males and females [2, 5].

In the case of our patient, the family anamnesis was not informative, having no relatives with warning clinical signs for PID or with a confirmed diagnosis of PID.

More than 90% of patients with CVID have no anamnesis of this disorder among family members, thus the cause of most cases of CVID is unknown [4].

Lung infections account for over 90% of the clinical picture in CVID [1].

Our patient reported recurrent severe respiratory infections that required repeated intravenous courses with antibacterial drugs. At the time of diagnosis, the patient had

clinice suspecte pentru IDP sau cu diagnostic confirmat de IDP.

Peste 90% dintre pacienții cu CVID nu au un istoric familial pozitiv pentru această maladie, astfel că cauza majorității cazurilor de CVID este necunoscută [4].

Infecțiile pulmonare reprezintă peste 90% din tabloul clinic în CVID [1].

Pacienta noastră a raportat infecții respiratorii severe recurente care au necesitat cure intravenoase repetate cu remedii antibacteriene. La momentul diagnosticului, pacienta prezenta bronșiectazii, complicație a acestor infecții frecvente, iar rezultatul bacteriologic al secrețiilor bronșice, nu a identificat colonizare cu germeni atipici, dar *Str.pneumoniae*.

Unii autori consideră că infecțiile recurente cu bacterii încapsulate precum *Str.pneumoniae* și *H.influenza*, dar și procesul inflamator îndelungat sunt factori patogenetici importanți în dezvoltarea bronșiectaziilor în CVID [2].

Pacienții cu CVID pot prezenta leziuni pulmonare progresive spre cronice (bronșiectazii), infecții gastrointestinale și hepatice recurente, infiltrații granulomatoase cu localizare în diferite organe, hiperplazie limfoidă sau malignități (limfoame cu fenotip de limfocite B). Riscul crescut de infecții cu microorganisme atipice precum *Staphylococcus aureus* metilicilin rezistent, *Pseudomonas spp.* și *Clostridium difficile* au fost raportate în acest grup de populație [1].

Tratamentul CVID este neîntrerupt, substitutiv cu imunoglobulină intravenoasă sau subcutanată (400-600 mg/kg de imunoglobulină pe lună) [4].

Pacienta noastră din momentul diagnosticului a inițiat tratamentul cu imunoglobulină intravenoasă care a determinat o reducere importantă a incidenței exacerbărilor bronșiectaziilor și a necesității în cure cu antibiotice.

bronchiectasis, a result of these frequent infections, and the bacteriological result of the bronchial secretions, which did not identify colonization with atypical germs, but *Str.pneumoniae*.

It is believed that the recurrent infections with encapsulated bacteria such as *Str.pneumoniae* and *H.influenza* and prolonged inflammation underlie the pathogenesis of bronchiectasis in CVID [2].

CVID patients may present with long-term progressive to chronic lung disease (bronchiectasis), gastrointestinal and liver recurrent infections, granulomatous infiltrations of diverse organs, lymphoid hyperplasia, or malignancy (lymphomas of a B-cell phenotype). Increased risk of infection with atypical microorganisms as methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas spp.*, and *Clostridium difficile* has been reported in this group of population [1].

Treatment of CVID is continuous substitutive intravenous or subcutaneous immunoglobulin (400-600 mg/kg of immunoglobulin per month) [4].

Our patient in the moment of diagnosis started intravenous immunoglobulins that lead to the reduction in the incidence of bronchiectasis exacerbations and antibiotic needs.

## CONCLUSSION

The most common immunodeficiency associated with bronchiectasis in adult population is CVID. Thus, recurrent infections and non-CF bronchiectasis should raise the suspicion for CVID and underlying correct diagnosis. An early accurate diagnosis and a correct treatment will give these patients hope for a normal life.

## CONCLUZII

CVID este cea mai frecventă imunodeficiență asociată cu bronșiectazii la populația adultă. Astfel, infecțiile recurente și bronșiectaziile non-FC trebuie să ridice suspiciunea de CVID și diagnosticul corect ulterior. Un diagnostic stabilit precoce și un tratament corect pot oferi acestor pacienți speranță la viață și o calitate bună a acesteia.

**Cuvinte cheie:** imunodeficiență primară, imunodeficiență variabilă comună, imunofenotipare, examen molecular-genetic  
**Keywords:** primary immunodeficiency, common variable immunodeficiency, immunophenotyping, molecular-genetic test

## REFERENCES

1. BALOH, C., REDDY, A., HENSON, M., et al. 30-Year Review of Pediatric- and Adult-Onset CVID: Clinical Correlates and Prognostic Indicators. In: *J Clin Immunol*. 2019; 39: 678.
2. BONILLA, F., BARLAN, I., CHAPEL, H. et al. International Consensus Document (ICON): Common Variable Immunodeficiency Disorders. In: *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2016; 4(1): 38-59. doi: 10.1016/j.jaip.2015.07.025
3. CHAN, E., WOOTEN, W., HSIEH, E. et al. Diagnostic evaluation of bronchiectasis. In: *Respiratory Medicine: X*, vol. 1, 2019. ISSN 2590-1435
4. GHAFOR, A., JOSEPH, S. Making a Diagnosis of Common Variable Immunodeficiency: A Review. In: *Cureus*. 2020; 12(1): e6711.
5. MODELL, V., ORANGE, J., QUINN, J., MODELL, F. Global report on primary immunodeficiencies: 2018 update from the Jeffrey Modell Centers Network on disease classification, regional trends, treatment modalities, and physician reported outcomes. In: *Immunol Res*. 2018; 66: 367-380.
6. SEIDEL, M., KINDLE, G., GATHMANN, B. et al. The European Society for Immunodeficiencies (ESID) Registry working definitions for the clinical diagnosis of inborn errors of immunity. In: *J Allergy Clin Immunol Pract*. 2019; 7:1763-70.

### AGAMAGLOBULIEMIA X-LINCATĂ ASOCIATĂ CU ARTRITA JUVENILĂ IDIOPATICA

Dolapciu Elena<sup>1,2</sup>, Revenco Ninel<sup>1,2</sup>,  
Andries Lucia<sup>1</sup>, Foca Silvia<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratorul de Alergologie și Imunologie Clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemitanu”

### X-LINKED AGAMAGLOBULINEMIA ASSOCIATED WITH JUVENILE IDIOPATHIC ARTHRITIS

Dolapciu Elena<sup>1,2</sup>, Revenco Ninel<sup>1,2</sup>, Andries Lucia<sup>1</sup>, Foca Silvia<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Laboratory of Allergology and Clinical Immunology, The State University of Medicine and Pharmacy “Nicolae Testemitanu”

<sup>2</sup>Departmentul Pediatrie, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemitanu”

<sup>3</sup>IMSP Institutul Mamei și Copilului, Chișinău, Republica Moldova

## ABSTRACT

Agammaglobulinemia X-lincată (XLA) este o imunodeficiență primară de tip umoral, caracterizată prin absența celulelor B mature, deficit sever de anticorpi și susceptibilitate crescută la infecții.

Este prezentat cazul unui pacient de 8 ani, care s-a prezentat inițial cu istoric de artrită la umărul stâng, genunchiul drept și regiunea talocrurală dreaptă. Caracteristicile clinice și rezultatele de laborator au fost în concordanță cu artrita idiopatică juvenilă, forma oligoarticulară. În anamneza a suportat episoade repetate de infecții severe (cazuri recurente de pneumonii, otite, peritonita, septicemie, flegmoane) cu administrare curelor repetate de tratament antibacterian. Testarea statusului imun a evidențiat o scădere severă a nivelurilor de imunoglobuline serice sangvine (IgM-0,05 g/l, IgG-0,3g/l, IgA-0,2g/l) și ale limfocitelor B circulante (CD19-0,0).

Cercetarea molecular-genetică a confirmat diagnosticul XLA prin identificarea unei mutații nedescrise anterior în exonul 10 c.872C>A (p.Ala291Asp) al genei BTK. A fost inițiată terapia de substituție cu imunoglobulina intravenoasă lunar cu scăderea semnificativă a frecvenței infecțiilor acute.

## INTRODUCERE

Agammaglobulinemia X-lincată, numită și agammaglobulinemia Bruton, este o imunodeficiență primară umorală, caracterizată prin absența celulelor B mature, deficiență severă de anticorpi și susceptibilitate crescută la infecții [1,2,6].

<sup>2</sup>Department of Pediatrics, The State University of Medicine and Pharmacy “Nicolae Testemitanu”,

<sup>3</sup>Institute of Mother and Childcare, Chisinau, Republic of Moldova

## ABSTRACT

X-linked agammaglobulinemia (XLA) is a rare inherited immunodeficiency disorder characterized by the absence of mature B cells, severe antibody deficiency, and increased susceptibility to infections.

An 8 -year-old male presented with a 2-year course of arthritis in his left shoulder, right knee, and right talocrural region. The clinical features and laboratory findings were consistent with juvenile idiopathic arthritis, oligoarticular form. He had many prior infections (recurrent cases of pneumonia, otitis, and septicemia) and received repeated cures of antibiotic treatment.

Immunological studies revealed severely decreased levels of serum immunoglobulin (IgM-0,05 g/l, IgG-0,3g/l, IgA-0,2g/l ) and circulating B lymphocytes (CD19-0,0). Sequencing of the BTK gene identified a novel mutation in exon 10 c.872C>A (p.Ala291Asp) that disrupted BTK function and established the diagnosis of XLA. The patient started therapy with monthly intravenous immunoglobulin and the frequency of episodes of acute infections decreased significantly.

## BACKGROUND

X-linked agammaglobulinemia (XLA), also called Bruton's agammaglobulinemia is a rare inherited humoral immunodeficiency disorder characterized by the absence of mature B cells, severe antibody deficiency, and increased susceptibility to infections [1,2,6].

The accurate incidence and prevalence of the disease is difficult to estimate, however, data from the USA shows a prevalence of 1 in 379,000 live births, primarily affecting males [1,6]. Approximately sixty percent of the affected patients have the spontaneous variant of mutation, while

Incidența și prevalența exactă a bolii sunt dificile de estimat din cauza polimorfismului clinic, ce duce la subdiagnostic. Datele din SUA arată o prevalență de 1 la 379.000 de născuți vii, preponderent fiind afectat sexul masculin [1,6]. Aproximativ 60% dintre pacienții afectați au o variantă spontană a mutației, în timp ce 40% apar cu un istoric familial pozitiv [1,6]. În geneza XLA au fost identificate circa 540 de mutații ale genei BTK care este situată pe brațul lung al cromozomului X [6]. Deficiența proteinei tirozin kinazei Bruton duce la stoparea dezvoltării limfocitelor B la stadiul celulei ProB, la reducerea semnificativă a limfocitelor B mature, a celulelor plasmatică și la scăderea producției a tuturor claselor de imunoglobuline cu răspunsuri al anticorpilor defecte [1,2,6].

Ca urmare a răspunsului imun umoral deficitar, pacienții suferă de infecții recurente, cauzate de bacterii piogene încapsulate (Str. pneumonia, H. influenzae, St. aureus, speciile Pseudomonas etc.). De asemenea, pacienții sunt sensibili la viruși Echo- și Cocksackie [1,2].

Apariția primelor manifestări clinice, de obicei, după primele 6 luni de viață când efectul protector al imunoglobulinelor materne în trimestrul 3 de sarcină, scade. Cu toate acestea, debutul manifestărilor clinice poate fi între 3 și 18 luni, dar și de la 3 până la 5 ani [1,6]. Conform datelor literaturii de specialitate, cea mai frecventă manifestare clinică la pacienții cu agamaglobulinemia este otita medie bacteriană recurentă, urmată de sinuzite, infecții ale căilor respiratorii inferioare și ale pielii [6]. Bronșite și pneumonii recurente, care apar și pe fondalul terapiei de substituție cu imunoglobuline, pot duce la apariția bronșiectaziilor și a insuficienței respiratorii cronice. La fel, pot apărea infecții bacteriene sistemice, cum ar fi artrita septică, osteomielita, meningita și sepsisul [1,6]. Adicional, pacienții cu XLA sunt predispuși să dezvolte meningoencefalită, hepatită sau infecții dermatomiozita-like provocate de către

forty percent appear with a positive family history. [1,6]

XLA is caused by nearly 540 mutations in the BTK gene which is present on the long arm of the X-chromosome[6].

Deficiency of Bruton's tyrosine kinase protein leads to arrest in the development of B cells at the ProB cell stage, significant reduction of mature B lymphocytes, plasma cells and decreased production of all classes of immunoglobulins with defective antibody responses [1,2,6].

As a result of the deficient humoral immune response, patients suffer from recurrent bacterial infections caused by encapsulated pyogenic bacteria (Str. pneumonia, H. influenzae, St. aureus, Pseudomonas species, etc ). They are also susceptible to echoviruses and coxsackieviruses. [1,2]

The age of onset of the clinical signs is usually after the first 6 months of life when the protective effect of maternal immunoglobulins transported across the placenta during the 3rd trimester of pregnancy wanes. However, they can appear between 3 and 18 months of age and as late as 3 to 5 years of age [1,6].

According to the literature, the most common clinical manifestation in patients with agammaglobulinemia is recurrent bacterial otitis media, followed by sinusitis, lower respiratory and skin infections [6]. Recurrent bronchitis and pneumonia, which also occur against the background of immunoglobulin replacement therapy, can lead to bronchiectasis and chronic respiratory failure. However, systemic bacterial infections such as septic arthritis, osteomyelitis, meningitis, and sepsis may appear [1,6]. In addition, patients with XLA are predisposed to developing meningoencephalitis, hepatitis, or dermatomyositis-like infections due to enteroviruses, whose replication in healthy people is controlled by humoral immunity [1]. There is also an increased risk of lymphoma and adenocarcinoma of gastrointestinal origin [2].

The development of various types of autoimmune complications has been reported in 15% of XLA cases, manifested by autoimmune hemolytic

enterovirusi, a căror replicare la persoanele sănătoase este controlată de către partea umorală a sistemului imun [1]. Există, de asemenea, un risc crescut de limfom și adenocarcinom de origine gastrointestinală la acești pacienți [2].

Dezvoltarea diferitor tipuri de complicații autoimune a fost raportată în 15% cazuri de XLA, fiind manifestate prin anemie hemolitică autoimună, boli inflamatorii intestinale, sclerodermie, artrită reumatoidă, dermatomiozită și alopecie [4].

Mecanismele care conduc la dezvoltarea complicațiilor autoimune la pacienții cu XLA nu sunt pe deplin înțelese. Se presupune că apariția acestor complicații se asociază cu activarea căilor dependente de BTK: cu calea patologică de semnalizare TLR9 (receptorul toll-like 9) în timpul activării NF-κB (factorul nuclear kappa amplifcător al lanțului ușor al celulelor B activate), precum și cu defecte în subpopulațiile de celule dendritice [4].

Manifestarea clinică caracteristică a XLA este absența amigdalelor, adenoidelor și a ganglionilor limfatici periferici, care este sediul pentru celule B, însă acestea pot fi palpate în caz de hipertrofie a regiunii celulare T [1,6].

Retard staturo-ponderal se poate observa, în special la copiii mai mari, din cauza infecțiilor recurente.

Diagnosticul XLA se face prin:

- detecția nivelurilor scăzute de IgG, IgM și IgA serice (mai mult de 2SD sub valorile de referința pentru vârstă),
- absența izohemaglutininelor și/sau răspuns slab la vaccinuri,
- absența sau reducerea semnificativă a celulelor B (CD19+), mai puțin de 2% [1].

Confirmarea diagnosticului clinic se efectuează pe bază de detectarea unei mutații a genei BTK [6].

anemia, inflammatory bowel disease, scleroderma, rheumatoid arthritis, dermatomyositis, and alopecia [4].

The mechanisms leading to the development of autoimmune complications in patients with XLA are not fully understood. Presumably, they are associated with BTK-dependent pathways: with the pathological TLR9 (toll-like receptor) signaling pathway during NF-κB (nuclear factor kappa light chain enhancer of activated B cells) activation, as well as with defects in dendritic cell subpopulations [4].

The characteristic physical sign of XLA is the absence of B-cell-rich tonsils, adenoids, and peripheral lymph nodes, which can still be palpated in case of hypertrophy of the T-cell region [1,6].

Failure to thrive can be noted, especially in older children, due to recurrent infections.

Diagnosis of XLA is made by detecting

- low levels of Serum IgG, IgM, and IgA (more than 2SD below normal for age),
- absent iso hemagglutinins, and /or poor response to vaccines
- absent or markedly reduced CD19+ B cells detected by flow cytometry (less than 2%) [1].

To confirm the diagnosis, a genetic study with a confirmed mutation in the VTK gene is necessary[6].

Prevention of acute infections and replacement therapy with intravenous or subcutaneous immunoglobulin at a dose of 400-800 mg/kg every 2-4 weeks are the mainstay of treatment for these patients. Aggressive antibiotic therapy is used for confirmed or suspected infections [1,6].

Patients suffering from agammaglobulinemia do not develop a significant humoral response to vaccines. However, vaccination with inactivated vaccines is recommended for the development of a T-cell immune response that will provide additional protection to the administered immunoglobulin [1].



Prevenirea infecțiilor acute și terapia de substituție cu imunoglobulină intravenoasă sau subcutanată în doză de 400-800 mg/kg la fiecare 2-4 săptămâni reprezintă principalul tratament pentru acești pacienți. Terapia antibacteriană precoce, complexă este utilizată pentru infecțiile acute confirmate sau suspectate clinic [1,6].

Pacienții care suferă de agammaglobulinemie nu dezvoltă un răspuns umoral semnificativ postvaccinal. Cu toate acestea, vaccinarea cu vaccinuri inactivate este recomandată pentru asigurarea unui răspuns imun T-celular care va oferi protecție suplimentară adițional imunoglobulinei administrate [1].

### CAZ CLINIC

Pacientul V.M, de sex masculin, cu vârsta de 8 ani, s-a prezentat cu **acuze** la infecții respiratorii frecvente complicate cu bronhopneumonii, dureri articulare (umăr, cot pe stînga, genunchi drept, talocrural pe dreapta), dificultăți de mers, inapetența, dureri abdominale recidivante, adaos ponderal slab.

**Antecedente personale:** copil născut de la I sarcina la termen cu masa corporală 3720 g, talia - 52 cm. Sarcina a evoluat pe fon de eminența de avort spontan la 19 săptămîni. Nasterea naturală fara particularități. Alimentat la sîn 1an și 1 luna. Anamneza alergologică neagravată. Vaccinat conform calendarului de vaccinări, fără reacții patologice.

**Istoricul bolii:** se consideră bolnav de la 3 luni, cînd a suportat varicela forma medie. La 9 luni a fost internat la spital cu bronhopneumonie, de atunci anual suportă 2-3 bronhopneumonii cu evoluție trenantă, cu necesitatea tratamentului antibacterian parenteral. Din anamneza peste 10 epizoade de bronhopneumonii, 20 epizoade de bronșită, 8 epizoade de otită și 5 epizoade de sinusita acută. În 2019 a fost stabilit diagnosticul de artrita juvenilă idiopatică, forma oligoarticulară, inițiat tratamentul

### CLINICAL CASE

Patient V.M., male, 8 years old, complained of frequent respiratory diseases complicated by bronchopneumonia, joint pain (shoulder, left elbow, right knee, right ankle), difficulty walking, loss of appetite, periodic abdominal pain, poor weight gain.

**Past life history:** the child was born from the first pregnancy at term with a body weight of 3720 g, height 52 cm. Pregnancy developed against the background of the possibility of spontaneous abortion at 19 weeks. Natural childbirth, breastfeeding 1 year and 1 month. Allergic history without features. Vaccinated according to the vaccination schedule, without pathological reactions.

#### **Past medical history.**

He is considered sick from the age of 3 months, when he had chicken pox.

At 9 months he was in the hospital with bronchopneumonia, since then he has been suffering from 2-3 bronchopneumonia per year with a long course and the need for parenteral antibiotic treatment.

In history - 10 times sick with pneumonia, 20 times with bronchitis, 8 times with otitis media and 5 times with acute sinusitis.

In 2019, a diagnosis of juvenile idiopathic arthritis, a paucioarticular form, was established, anti-inflammatory treatment was started, after which the child disappeared from the field of view of doctors.

In October 2021, he suffers from acute appendicitis complicated with generalized peritonitis, septicemia, septicopemia with many superinfected necrotic skin foci, CID syndrome, MODS.

Laparotomy was performed, long-term aggressive antibacterial treatment was indicated (Amoxicillin+clavulanic acid, Cefepime, Meropenem, Gentamicin, Ciprofloxacin). In December 2021, he is readmitted for septic surgery with phlegmon of the abdominal wall, intestinal adhesion disease, in February 2022 - phlegmon on the right thigh (in the wound - Ps. aeruginosa).

**Clinical exam.** The general condition of the child was serious, determined by the joint syndrome,

antiinflamator, după care pacientul a dispărut din vizorul medicilor. În octombrie 2021 suportă apendicita acută complicată cu peritonită generalizată, septicemia, septicopiemia cu multe focare cutanate necrotizante suprainfectate, sindromul CID, insuficiența poliorganică (MODS). S-a efectuat laparotomia, tratamentul antibacterian agresiv de lungă durată (Amoxicilina+acid Clavulanic, Cefepim, Meropenem, Gentamicina, Ciprofloxacina). În decembrie 2021 se reinternează în chirurgia septică cu flegmonul peretelui abdominal, boală aderențială intestinală, în februarie 2022 internat cu flegmonul coapsei pe dreapta (în plagă- Ps. aeruginosa). În martie 2022 suportă pneumonia lobului inferior pe stînga cu evoluție trenantă.

**Examen obiectiv:** la momentul prezentării starea generală a pacientului este gravă, determinată de sindromul articular, dureri la mers, malnutriție moderată. Facies suferind, mers șchiopătat, limitat în articulație genunchiului și talocrurală pe dreapta. Masa corpului 21 kg (p3,-1,94z) , talia- 117 cm ( p1,-2,4z), IMC= 15,3 kg/m<sup>2</sup> (per33, -0,44z)- se atestă retard staturo-ponderal. Tegumente palide cu multiple formațiuni ovoide, cafenii pe corp, cu aspect de cheloid, cu plus țesut, de dimensiuni 1-1,5 cm.

Pe abdomen cicatrice postoperator cu formare de surplus de țesut. Absență ganglionilor limfatici periferici la inspecție și palpație. Țesut subcutanat slab dezvoltat, hipotrofia musculară. Prezintă deformarea și majorarea în volum a articulației genunchiului drept, talocrurală dreaptă. Istmul faringian linistit, amigdale palatine nu se vizualizau. Carie dentară, anomalii dentare (extracție dentară în 2019, 2022, complicații purulente, periostite). Auscultativ în pulmoni respirația aspră pe toată arie pulmonară, ușor atenuată bazal pe dreapta. Zgomotele cardiace ritmice, clare, sonore, ușor tahicardice, suflu sistolic la apex. Abdomenul moale, balonat, mărit în volum, sensibil la palpare profundă, cu o formațiune de volum mare paraumbilical.

walking pain, moderate malnutrition. Facies suffering, limping gait, limited in the knee joint and talocrural on the right. M= 21 kg (p3,-1.94z), t= 117 cm (p1,-2.4z), BMI= 15.3kg/m<sup>2</sup> (per33, -0.44z) – the child was wasted and stunted. Pale skin with multiple ovoid brown formations on the body, a keloid appearance, and additional tissue, 1-1.5 cm.

Postoperative scar on the abdomen was with the formation of excess tissue. Absence of peripheral lymph nodes was noted. Subcutaneous tissue was poorly developed, with muscle hypotrophy. Deformation and increase in volume of the right knee joint and the right talocrural joint were attested.

Pharyngeal isthmus clean, palatine tonsils could not be visualized. Dental caries, dental anomalies (tooth extraction in 2019, 2022, purulent complications, periostitis). Auscultation in the lungs: breathing was harsh throughout the lung area, slightly attenuated on the right. Rhythmic heart sounds, clear, sonorous, slightly tachycardic, systolic murmur at the apex.

Ficatul +2 cm sub rebord costal drept. Scaunul prezent, 1-3 ori pe zi de consistență tercioform, neprelucrat.

Hemoleucograma a demonstrat leucocitoză moderată (15,3%) cu neutrofilie (72%) și deviere a formulei leucocitare spre stînga (14% nesegmentate), anemia grad ușor (Hb=111g/l).

Examenul biochimic a depistat hipoproteinemie (61,6g/l), proteina C reactivă crescută (44,9g/l), markerii hepatitelor virale (HepB, HepC) și HIV/SIDA au fost negative, ce a permis să excludem o imunodeficiență secundară.

Examen serologic pentru identificarea infecției cu CMV, EBV, HSV, M. pneumoniae, Cl. pneumoniae, Toxoplasma a identificat absența anticorpilor specifici. Radiografia cutiei toracice a evidențiat sechele unei bronhopneumonii polisegmentare pe stînga (desen pulmonar intensificat și deformat în S5, S10 pe stînga cu elemente fibrotice locale). La radiografia cavității abdominale s-a identificat boală aderențială cu ocluzie intestinală parțială, faptul care poate explica prezența formațiunii paraombilicale. Examenul radiologic al articulației șoldului a evidențiat coxartroză pe stînga, coxa valga pe dreapta. Prezența sindromului algic abdominal, retardului staturo-ponderal și a sindromului de malabsorbție, a argumentat efectuarea investigațiilor - screening pentru boala celiacă și fibroza chistică cu rezultat negativ.

Luînd în considerație prezența infecțiilor recurente cu localizare multiplă (otite, sinusite, pneumonii, flegmoane, septicemii), semnelor de malabsorbție cu retard staturo-ponderal, s-a efectuat testarea sistemului imunitar. Testele imunologice au relevat concentrația imunoglobulinelor serice mult redusă (IgM-0,05 g/l, IgG-0,3g/l, IgA-0,2g/l) și absența limfocitelor B în imunofenotiparea (tab.1).

Abdomen soft, bloated, enlarged, tender to deep palpation, with a large paraumbilical mass.

Liver +2 cm below the right costal rib. Stool 1- 3 times a day of soft consistency, with undigested food fragments.

The blood count identified moderate leukocytosis (15.3%) with neutrophilia (72%) and shift of the leukocyte formula to the left (14%), mild anemia (Hb=111g/l). The biochemical examination detected hypoproteinemia (61.6g/l) and positive PCR (44.9g/l). Viral Hepatitis markers (HepB, HepC) and HIV/AIDS testes were negative, which allowed us to exclude a secondary immunodeficiency. Serological examination for the identification of infection with CMV, EBV, HSV, M.pneumoniae, Cl.pneumoniae, Toxoplasma identified the absence of specific antibodies. Chest X-ray revealed the sequelae of a left poly segmental bronchopneumonia (congested and distorted lung pattern in S5, S10 on the left with local fibrosis). Adherent disease with partial intestinal occlusion was identified on the radiograph of the abdominal cavity, which may explain the presence of the paraumbilical formation.

Radiological examination of the hip joint revealed coxarthrosis on the left, and coxa valga on the right. The presence of abdominal pain, stunting and malabsorption syndrome, argued for screening for celiac disease and cystic fibrosis, which were negative.

Taking into account the presence of recurrent infections with multiple localizations (otitis, sinusitis, pneumonia, phlegmons, septicemia), signs of malabsorption with weight loss, the immune system was tested in the Allergology and Clinical Immunology Laboratory of the State University of Medicine and Pharmacy. "Nicolae Testemițanu".

Immunological tests revealed a low concentration of serum immunoglobulins (IgM-0.05 g/l, IgG-0.3g/l, IgA-0.2g/l) and the absence of B lymphocytes in immunophenotyping (tab. 1).

**Tabelul 1. Datele examenului imunologic a pacientului**      **Table 1. Patient's immunological data**

Parametrii imunologi, un.m	Valori de referința	Datele pacientului
CD 3, %	66-76%	<b>97</b>
CD3, abs	1,4-2,0 x10 <sup>3</sup> μl	<b>7,66</b>
CD4, %	33-41	<b>19,57</b>
CD4, abs	0,7-1, 1x10 <sup>3</sup> μl	1,546
CD8, %	25-35	<b>77,11</b>
CD8, abs	0,6-1,9x10 <sup>3</sup> μl	<b>6,094</b>
CD16, %	10,6-22,4	<b>2,1</b>
CD16, abs	0,096-0,13x 10 <sup>3</sup> μl	0,165
CD19, %	12-22	<b>0,0</b>
CD19, abs	0,3-0,5 x10 <sup>3</sup> μl	<b>0,0</b>
IIR	1,2-3,5	0,94
IgA, g/l	0,9-1,9	0,2
IgM, g/l	0,8-1,9	0,05
IgG, g/l	9,7-11,7	0,3
IgE, UI/ml	0-100	

Pentru a definitiva diagnosticul s-a efectuat examenul molecular-genetic cu evaluarea a 574 de gene realizat la compania Invitae (SUA). A fost identificată o nouă mutație în gena hemizigotă BTK( Exon 10, c.872C>A (p.Ala291Asp)), responsabilă pentru perturbarea funcției proteinei BTK, faptul care a confirmat diagnosticul de XLA (boala Bruton).

Confirmarea diagnosticului de XLA a argumentat inițierea terapiei de substituție cu Imunoglobulina umană în doza de 400 mg/kg/intravenos fiecare 4 săptămîni. Tratamentul de substituție este administrat de 8 luni în doza de 400 mg/kg fiecare 4-6 săptămîni (în funcție cînd se prezintă pacientul), cu menținerea nivelului de IgG pretransfuzie pînă la 7 g/l.

To complete the diagnosis, the molecular-genetic examination was performed with the evaluation of 574 genes carried out by the company Invitae (USA).

Through this collaboration, it was possible to identify a new mutation in the hemizygous BTK gene (Exon 10, c.872C>A (p.Ala291Asp)) responsible for the dysfunction of the BTK protein, which confirmed the diagnosis of XLA (Bruton disease).

Confirmation of the diagnosis of XLA warranted initiation of replacement therapy with human immunoglobulin at a dose of 400 mg/kg/intravenous every 4 weeks. The substitution treatment is administered for 8 months at a dose of 400 mg/kg every 4-6 weeks (depending on when the patient presents), with the increase of the pre-transfusion IgG level up to 7 g/l.

Pacientul este regulat monitorizat de către specialiști cu evaluarea clinico-paraclinică riguroasă. În timpul monitorizării s-a notat o accelerare în creșterea copilului, adaos ponderal a constituit 3 kg, s-au redus mult durerile abdominale și sindromul articular.

Frecvența episoadelor de infecții acute au scăzut semnificativ, însă, pe parcursul monitorizării copilul a suportat infecții respiratorii virale acute și o bronhopneumonie bilaterală, cu tratament în staționar.

## DISCUȚII

Imunodeficiențele umorale reprezintă cele mai frecvente patologii din grupul erorilor înnascute de imunitate [1].

Manifestările clinice infecțioase de obicei apar în a doua jumătate a primului an de viață, vârsta medie de stabilirea diagnosticului clinic fiind de 3-5 ani [1,6].

Cazul pacientului V.M. prezintă un interes deoarece în pofida suportării epizoadelor repetate de bronșite, pneumonii și otite cu semne clinice sugestive pentru imunodeficiența umorală, diagnosticul a fost suspectat doar la vârsta de 8 ani.

Posibil, prin faptul acesta putem explica dezvoltarea la pacient a unor complicații mai rar întâlnite actualmente la pacienții cu IDP umorală, care beneficiază de terapia de substituție precoce, ca peritonita, flegmonul, septicemia. Diagnosticul diferențial a fost dificil și din cauza prezenței bolii adezive postoperatorii și a malnutriției la pacientul, care a necesitat excluderea sindroamelor de malabsorbție și a pierderii secundare de proteine.

O altă particularitate a cazului, este asocierea XLA cu artrită juvenilă idiopatică.

Conform celor mai recente date, s-a constatat că pacienții cu imunodeficiență primară de tip umoral prezintă tot mai multe semne clinice de „disregulare imună”,

The patient is periodically monitored by specialists with rigorous clinical-paraclinical evaluation. During monitoring, an acceleration of the child's growth was observed, weight gain was 3 kg, abdominal pain and joint syndrome were greatly reduced.

The frequency of episodes of acute infections decreased significantly, however, during the monitoring the child suffered several upper respiratory viral infections and a bilateral bronchopneumonia, with inpatient treatment.

## DISCUSSION

Humoral immunodeficiencies are the most common pathology in the group of congenital immune disorders [1].

Infectious clinical manifestations usually appear in the second half of the first year of life, the median age for clinical diagnosis is 3-5 years [1,6].

The case of the patient V.M. is of interest because, despite repeated episodes of bronchitis, pneumonia, and otitis with clinical signs of humoral immunodeficiency, the diagnosis was suspected at the age of 8.

Perhaps this fact can explain the development of some complications in him, which are currently rare in patients with humoral immunodeficiencies, such as peritonitis, phlegmon, and septicemia.

The differential diagnosis was also difficult due to the presence of postoperative adhesive disease and malnutrition in the patient, which required the exclusion of malabsorption syndromes and secondary protein loss.

Another particularity of the case is the association of XLA with juvenile idiopathic arthritis.

According to the latest data, it has been revealed that patients with primary immunodeficiency are increasingly showing signs of "immune dysregulation", such as autoimmune manifestations, lympho-proliferation and malignancy [7].

A number of studies have found that among patients with agammaglobulinemia, rheumatological complications are the most common [4]. The risk of

precum manifestări autoimune, limfoproliferare și malignitate [7].

O serie de studii au descoperit că printre pacienții cu agammaglobulinemie, complicațiile reumatologice sunt cele mai frecvente [4]. Riscul de a dezvolta complicații autoimune este mare din cauza defectelor răspunsului umoral și a nivelurilor scăzute de imunoglobuline serice [4].

Cu toate acestea, artrita de etiologie autoimună sau autoinflamatoare este rară la pacienții XLA (7%) comparativ cu populația generală de pacienți cu imunodeficiențe primare (18%) [5].

Dovezi recente au legat diagnosticul de artrită idiopatică juvenilă de expunerea la antibiotice din copilărie, susținând ideea că utilizarea repetată a antibioticelor și infecția ar putea atât perturba microbiota umană, cât și influența incidența tulburărilor autoimune prin modificarea reglării imune și a auto-toleranței [5]. Artrita juvenilă în asociere cu agammaglobulinemia are un răspuns rapid pozitiv la tratament cu antiinflamatoare non-steroidiene și imunoglobulina G umană [5]. În cazul când pacienții nediagnosticați se prezintă cu afecțiuni reumatice sunt esențiale investigații suplimentare pentru a exclude proces infecțios acut pînă la inițierea tratamentului procesului imun, deoarece amînarea tratamentului antibacterian or inițierea tratamentului imunosupresiv va duce la creșterea riscului unor infecții severe, diseminate, uneori cu potențial letal [5].

La pacientul M.V. clinico-paraclinic a fost stabilită artrita pauciarticulară. După inițierea tratamentului de substituție, evoluție bolii este cu ameliorare cu scadere a activității procesului inflamator pe fon de antiinflamatoare non-steroidiene, evoluția identică fiind notată și în alte cazuri similare din literatura [5].

## CONCLUZII

developing autoimmune complications is high due to defects in the humoral response and low levels of serum immunoglobulin [4].

However, arthritis of autoimmune or autoinflammatory etiology is rare in patients with XLA (7%) compared with the general population of patients with primary immunodeficiency (18%) [5].

Recent evidence has linked the diagnosis of juvenile idiopathic arthritis to childhood antibiotic exposure, supporting the idea that repeated antibiotic use and infection could both disrupt the human microbiome and increase the incidence of autoimmune disorders by altering immune regulation and self-tolerance [5].

JIA in XLA patients responds well to IVIG and nonsteroid anti-inflammatory drugs [5]. It is important to remember, that when undiagnosed patients presents with autoimmune rheumatic features, it is critical to investigate them and exclude infections before starting treatment for autoimmune diseases. Delaying antibiotics or using immunosuppressant agents would put patients at significant higher risk of severe, even disseminated or life-threatening infections in such cases[5].

In the patient M.V. pauciarticular arthritis was established according to clinical and paraclinical investigations. After the initiation of the substitution treatment, the evolution of the disease is with clinical improvement and a decrease in the activity of the inflammatory process, the same evolution being noted in other similar cases in the literature [5].

## CONCLUSIONS

X-linked agammaglobulinemia is a pathology that is usually diagnosed in the first years of life and is very rarely accompanied by juvenile idiopathic arthritis. Establishing the early diagnosis and initiating replacement treatment will allow for avoiding severe infectious complications as well as lead to improvement in the evolution of arthritis.

Agamaglobulinemia X lincata este o patologie care de obicei este diagnosticată în primii ani de viață și foarte rar este acompaniată de artrita juvenilă idiopatică. Stabilirea diagnosticului precoce și inițierea tratamentului de substituție va permite evitarea unor complicații infecțioase severe precum și va duce la ameliorare evoluției artritei.

**Cuvinte-cheie:** agamaglobulinemia X-lincată, artrita juvenila idiopatica, statutul imun si genetic

**Keywords:** X-linked agamaglobulinemia, juvenile idiopathic arthritis, molecular-genetic and immunological studies

## REFERENCES

1. Agamaglobulinemia. <https://www.uptodate.com/contents/agamaglobulinemia>
2. DOGRUEL, D., SERBES, M., ŞASIHÜSEYINOGLU, A.Ş., et al. Clinical and genetic profiles of patients with X-linked agamaglobulinemia from southeast Turkey: Novel mutations in BTK gene. In: *Allergologia et Immunopathologia*. 2019; Volume 47, Issue 1. ISSN 0301-0546, <https://doi.org/10.1016/j.aller.2018.03.004>. (<https://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0301054618300740>)
3. MASSAAD, M.J., ZAINAL, M., Al-Herz, W. Frequency and Manifestations of Autoimmunity Among Children Registered in the Kuwait National Primary Immunodeficiency Registry. In: *Front. Immunol.* 2020; 11:1119. doi: 10.3389/fimmu.2020.01119
4. SHIRMAST, P., AL-HUSSIENI, K. Evaluating Autoimmunity in Patients with Agamaglobulinemia. In: *Immunol Genet J.* 2019; 2(3):35-43.
5. WANG, R., XIE, Q., ZHOU, M. et al. Juvenile idiopathic arthritis in X-linked agamaglobulinemia with a novel in-frame deletion: a case report and functional analysis. In: *Int J Clin Exp Pathol.* 2017; 10(2): 2250-2254 [www.ijcep.com](http://www.ijcep.com) /ISSN:1936-2625/IJCEP0045436
6. TANEJA, A., MUCO, E., CHHABRA, A. Bruton Agamaglobulinemia. [Updated 2022 Sep 5]. In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan-. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK448170/>
7. WALTER et al. Autoimmunity as a continuum in primary immunodeficiency. *Current Opinion in Pediatrics*, 2019, 31(6):851-862. DOI: [10.1097/MOP.0000000000000833](https://doi.org/10.1097/MOP.0000000000000833)

**IMUNIZAREA LA PACIENȚII CU  
ERORI ÎNNĂSCUTE DE  
IMUNITATE**

**IMMUNISATION IN PATIENTS  
WITH INBORN ERRORS OF  
IMMUNITY**

**Gaidarji Olga<sup>1</sup>, Revenco Ninel<sup>1,2</sup>, Andrieș Lucia<sup>1</sup>**

**<sup>1</sup> Laboratorul de Alergologie și Imunologie Clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemitanu”**

**<sup>2</sup> IMSP Institutul Mamei și Copilului, Chișinău, Republica Moldova**

## **ABSTRACT**

Infecțiile la pacienții cu erori înnăscute de imunitate (EÎI), sunt frecvent asociate cu morbiditate și mortalitate sporită, iar terapia antimicrobiană poate fi mai puțin eficientă, în comparație cu persoanele cu sistem imun intact. Astfel, prevenția infecțiilor prin vaccinare, este o parte importantă a îngrijirilor acestor pacienți.

De-a lungul timpului, vaccinarea a ameliorat considerabil starea de sănătate a populației, în mod special în rândurile copiilor. Copiii și adolescenții cu erori înnăscute de imunitate prezintă susceptibilitate crescută față de factorii infecțioși, întrucât unele boli care pot fi prevenite prin vaccinuri se pot manifesta prin forme severe, chiar deces la pacienții imunodeprimați. Prin urmare, anumite vaccinuri sunt recomandate în mod specific pacienților cu EÎI. În cazul vaccinurilor vii este necesară precauție, acestea fiind uneori chiar excluse din lista vaccinurilor în unele forme de imunodeficiențe primare pentru a evita creșterea necontrolabilă a virusului sau bacteriilor vii atenuate.

Respectarea programului de vaccinare este important pacienții cu erori înnăscute de metabolism și familia acestuia, astfel fiind diminuate atât morbiditatea, cât și mortalitatea determinate de infecțiile prevenibile prin imunizare.

## **INTRODUCERE**

Infecțiile la pacienții erori înnăscute de imunitate (EÎI), sunt frecvent asociate cu morbiditate și mortalitate sporită, iar terapia antimicrobiană poate fi mai puțin eficientă, în comparație cu persoanele cu sistem imun intact. Astfel, prevenția infecțiilor prin

**Gaidarji Olga<sup>1</sup>, Revenco Ninel<sup>1,2</sup>, Andrieș Lucia<sup>1</sup>**

**<sup>1</sup> Laboratory of Allergology and Clinical Immunology State University of Medicine and Pharmacy “Nicolae Testemitanu”, Chisinau, Republic of Moldova**

**<sup>2</sup> Institute of Mother and Childcare, Chisinau, Republic of Moldova**

## **ABSTRACT**

Infections in patients with innate errors of immunity (IEI) are frequently associated with high mortality and morbidity. Also, antibacterial therapy tends to be less effective in these patients, if compared with those with normal immune system. Therefore, infection prevention is especially important in patients with IEI.

Vaccination significantly enhanced the health in general population, especially among children. Adolescents and children with EIE are highly susceptible to infections, and vaccine preventable diseases evolve even more severe than in healthy population, sometimes leading to death/

Therefore, certain vaccines are specifically recommended for IEI patients. In the case of live vaccines, caution is necessary, they are sometimes even excluded from the list of vaccines in people with primary immunodeficiencies to avoid uncontrollable growth of the virus or live attenuated bacteria.

Adherence to the vaccination schedule is important for patients with inborn errors of metabolism and their families, thus reducing both morbidity and mortality caused by immunization-preventable infections.

## **BACKGROUND**

Infections in patients with innate errors of immunity (IEI) are frequently associated with high mortality and morbidity. Also,



vaccinare, este o parte importantă a îngrijirilor acestor pacienți.

## MATERIAL ȘI METODE

Studiul literaturii se bazează pe analiza articolelor științifice din ultimii ani incluse în baza de date MEDLINE, la cuvintele cheie: vaccin, imunizare, pacienți imunocompromiși, imunodeficiențe primare, erori înăscute de imunitate. Au fost selectate cele mai relevante articole, ghiduri și recomandări, consensuri internaționale.

## REZULTATE

*Erorile înăscute de imunitate (EÎI)* – reprezintă un grup heterogen de dereglări, a căror cauză sunt mutațiile genelor specifice cu defecte ale unui sau câtorva componente ale sistemului imun. EÎI sunt în general moștenite și includ afecțiuni determinate de peste 400 de mutații cunoscute până în prezent (exemple: agamaglobulinemia X-linkată, sindromul Wiskott Aldrich, boala granulomatoasă cronică)<sup>1</sup>.

*Siguranța și eficacitatea vaccinurilor la pacienții cu erori înăscute de imunitate.* Abordarea pacientului cu EÎI trebuie să fie bazată pe doi piloni: siguranța și eficacitatea vaccinării.

**Siguranța.** Odată cu cercetările efectuate asupra vaccinurilor, au loc și testările pentru siguranța și eficacitatea vaccinurilor. Acestea, sunt făcute la indivizi cu imunitatea normală, iar inofensivitatea lor la pacienții imunodeficienți poate fi doar estimată în baza defectului imun în cauză. Efectele adverse ale vaccinărilor la pacienții cu EÎI vor fi raportate la agenția medicamentului și dispozitivelor medicale (AMDM). Înaintea imunizării pacientului cu deficiențe imune, va fi luat în calcul, în primul rând, tipul de vaccin [1].

**1. Vaccinurile inactivate, recombinante prin inginerie genetică și subunitare.** Acestea pot

antibacterial therapy tends to be less effective in these patients, if compared with those with normal immune system. Therefore, infection prevention is especially important in patients with IEI.

## MATERIAL AND METHODS

Literature review is based on the scientific articles from MEDLINE database. Key words were as follow: vaccine, immunizations, immunocompromised patients, primary immunodeficiencies, innate errors of immunity. Relevant guidelines, articles, recommendations and consensus documents were selected.

## RESULTS

*Inborn errors of immunity (IEI)* - represent a heterogeneous group of disorders, the cause of which are mutations of specific genes with defects of one or several components of the immune system. IEI are generally inherited and include conditions determined by more than 400 mutations known to date (examples: X-linked agammaglobulinemia, Wiskott Aldrich syndrome, chronic granulomatous disease)<sup>1</sup>.

### *Safety and efficacy of vaccines in patients with inborn errors of immunity*

The approach to the IEI patient must be based on two pillars: the safety and efficacy of vaccination.

**Safety.** Along with vaccine research, there is also testing for vaccine safety and effectiveness. These are done in individuals with normal immunity, and their harmlessness in the immunodeficient patients can only be estimated based on the specific immune defect. Adverse effects of vaccinations in patients with IEI will be reported to the Medicines and Medical Devices Agency (MADM). Before immunizing the patient with immune

conține viruși sau bacterii integrale, fragmentate sau modificate, dar și endotoxine bacteriene, polizaharide combinate și proteine-polizaharide conjugate. Vaccinurile cu ARN mesager, utilizate împotriva SARS-CoV-2 pot fi, de asemenea, considerate vaccinuri subunitare. Aceste tipuri de vaccinuri nu au riscuri adiționale, în comparație cu pacienții imunocompetenți și trebuie oferite pacienților, atunci când oferă beneficii posibile. De menționat, că deși majoritatea vaccinurilor din acest grup nu poartă riscuri adiționale, unele subtipuri de vaccinuri pot provoca infecții (vaccin antipneumococic și antimeningococic), la pacienții cu deficiențe de complement (tabelul 1).

**2. Vaccinurile vii** – siguranța acestor vaccinuri variază în dependență de severitatea imunodeficienței. La pacienții cu imunodeficiențe combinate, imunizarea cu vaccinurile vii, poate cauza o infecție diseminată. Infecția indusă de vaccin la pacientul cu imunodeficiență nedignosticată a fost raportată cu vaccinul antipoliomielitic oral, rotavirus, BCG, varicelă și rujeola (din componența ROR) [1].

În țările, unde există screening pentru imunodeficiența severă combinată (SCID), majoritatea sugarilor vor fi diagnosticați până la administrarea vaccinurilor. Astfel, copiii, care au screening pozitiv la SCID nu vor primi vaccinuri până când SCID-ul și alte afecțiuni care implică limfopenia prin celule T nu vor fi excluse. Excepții prezintă țările, unde BCG se administrează de rutină, până la externarea din maternitate. La acești copii vaccinul viu se administrează până la obținerea rezultatului screening-ului neonatal. Având în vedere faptul că în țara noastră nu există program de screening neonatal, vaccinurile vii prezintă riscuri pentru pacienții cu erori înăscute de imunitate nedignosticate.

#### **Vaccinurile vii includ următoarele:**

*Virale:* rujeola-oreion-rubeola, varicela, polivirus oral, vaccin antigripal viu atenuat, febra galbenă, rotavirus.

deficiencias, first of all the type of vaccine will be taken into account [1].

**1. Inactivated, genetically engineered recombinant and subunit vaccines.** They may contain whole, fragmented or modified viruses or bacteria, but also bacterial endotoxins, combined polysaccharides and conjugated protein-polysaccharides. Messenger RNA vaccines used against SARS-CoV-2 can also be considered subunit vaccines. These types of vaccines have no additional risks compared to immunocompetent patients and should be offered to patients when they offer possible benefits. It should be noted that although most vaccines in this group do not carry additional risks, some subtypes of vaccines can cause infections (anti-pneumococcal and anti-meningococcal vaccines), in patients with complement deficiencies (table 1).

**2. Live vaccines** – the safety of these vaccines varies depending on the severity of the immunodeficiency. In patients with combined immunodeficiencies, immunization with live vaccines may cause disseminated infection. Vaccine-induced infection in patients with undiagnosed immunodeficiency has been reported with oral poliomyelitis vaccine, rotavirus, BCG, varicella and measles (from the MMR component) [1].

In countries where screening for severe combined immunodeficiency (SCID) is available, most infants will be diagnosed by the time vaccines are administered. Thus, children with positive screen for SCID will not receive vaccines until SCID and other conditions involving T-cell lymphopenia have been ruled out. Exceptions are countries where BCG is routinely administered until discharge from maternity. In these children, the live vaccine is administered until the result of the neonatal screening is obtained. Considering the fact that there is no neonatal screening program in our country, live vaccines pose

*Bacteriene: BCG.*

**Eficacitatea vaccinării** – pacienții cu afecțiuni specifice pot să nu răspundă la imunizare pe măsura așteptărilor. Însă, vaccinarea se recomandă oricând aceasta ar putea fi benefică pentru pacient. Cu cât mai severă este imunodeficiența, cu atât sunt mai mare riscurile de a nu avea imunogenitate [3].

#### ***Riscurile vaccinării în raport cu subtipul erorii înnăscute de imunitate***

Toți pacienții pot fi imunizați cu vaccinuri inactivate, în baza calendarului național. Utilizarea vaccinurilor vii atenuate se va baza pe subtipul deficienței imune:

**Imunodeficiențele combinate.** Pacienții cu imunodeficiențe combinate au un defect combinat al celulelor T și B. Toate vaccinurile vii (virale și bacteriene) sunt contraindicate în imunodeficiențele combinate severe (SCID) și imunodeficiențe combinate parțiale

#### **Erorile înnăscute de metabolism sunt considerate sindromul DiGeorge și SCID.**

Toate vaccinurile vii de oricare tip sunt contraindicate în aceste afecțiuni. Vaccinurile inactivate au o imunogenitate extrem de mică la acești pacienți și nu conferă protecție după administrarea lor.

**Erorile înnăscute de imunitate parțiale** includ sindromul Wiskott-Aldrich, ataxia-telangiectazia și multe altele. Toate vaccinurile vii, în general, sunt contraindicate la acești pacienți. Vaccinurile inactivate pot fi mai puțin eficiente la acești pacienți, dar pot fi administrate.

**Vaccinarea la pacienții cu sindrom DiGeorge mai puțin sever** (majoritatea pacienților), va fi discutată de la caz la caz. La pacienții cu un număr mai mare de 500 limfocite CD3/mm<sup>3</sup> sau peste 200 limfocite CD8+ și un răspuns proliferativ normal la mitogeni pot fi luați în considerare pentru vaccinarea cu vaccinul ROR (rujeolă-oreion-rubeolă)

**Deficiențe de anticorpi.** Unele vaccinuri virale și bacteriene sunt contraindicate în

risks for patients with undiagnosed inborn errors of immunity.

#### **Live vaccines include the following:**

*Viral:* measles-mumps-rubella, chicken pox, oral poliovirus, live attenuated influenza vaccine, yellow fever, rotavirus.

*Bacterial:* BCG.

**Vaccination effectiveness** – patients with specific conditions may not respond to immunization as expected. However, vaccination is recommended whenever it could be beneficial for the patient. The more severe the immunodeficiency, the greater the risks of not having immunogenicity [3].

#### ***Vaccination risks according to immune error subtype***

All patients can be immunized with inactivated vaccines based on the national schedule. The use of live attenuated vaccines will be based on the subtype of EII:

**Combined immunodeficiencies.** Patients with combined immunodeficiencies have a combined defect of T and B cells. All live vaccines (viral and bacterial) are contraindicated in severe combined immunodeficiencies (SCID) and partial combined immunodeficiencies

**Inborn errors of metabolism are considered DiGeorge syndrome and SCID.** All live vaccines of any type are contraindicated in these conditions. Inactivated vaccines have extremely low immunogenicity in these patients and do not confer protection after their administration.

**Partial inborn errors of metabolism include** Wiskott-Aldrich syndrome, ataxia-telangiectasia, and many others. All live vaccines are generally contraindicated in these patients. Inactivated vaccines may be less effective in these patients but can be administered.

deficiențe de anticorpi, în dependență de severitatea disfuncției imune.

- **Severe** - EÎI severe, cu afectarea funcției de celule B, includ agamaglobulinemia X-linkată și imunodeficiența comună variabilă. Acești pacienți nu vor fi imunizați cu unele vaccinuri vii, precum VPO (vaccin oral contra poliomielitei), vaccinul viu atenuat contra gripei, febrei galbene și vaccinuri vii contra febrei tifoide. Alte vaccinuri vii nu vor fi administrate (de exemplu ROR și varicela), pe motiv de imunizare pasivă după administrarea de imunoglobulinei.
- **Deficiențe ușoare** - pacienții cu forme mai ușoare de deficiențe, precum sunt deficiențe simptomatice ale IgA și a subclaselor de IgG, nu vor fi imunizați cu VPO, BCG și vaccinul contra febrei galbene, în cazul în care ei nu primesc tratament substitutiv.

**Defecte fagocitare** - Includ neutropenii congenitale, boala granulomatoasă cronică, deficit de adeziune leucocitară și deficiență de mieloperoxidază. Acestor pacienți nu li se va administra vaccinuri bacteriene vii. Administrarea vaccinurilor virale vii este sigură (excepție defect de adeziune leucocitară), deoarece acești pacienți, de asemenea, pot avea deficiențe de răspuns umoral.

**Deficiențe congenitale de complement și asplenia congenitală** - sunt caracterizate prin deficit de complement, dar imunitate celulară și umorală intactă. Astfel, pacienților li se va administra toate vaccinurile vii și inactivate. Îndeosebi, imunizarea contra *Nisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* și *Haemophilus influenzae* este foarte importantă.

**Defectele imunității înăscute.** Imunizarea depinde de defectul în cauză.

Pacienții cu defecte ale imunității înăscute, asociate cu infecțiile bacteriene invazive nu vor primi vaccinuri vii bacteriene.

**Vaccination in patients with less severe DiGeorge syndrome (most patients)**, will be discussed on a case-by-case basis. Patients with a CD3 lymphocyte count greater than 500/mm<sup>3</sup> or a CD8+ lymphocyte count greater than 200 and a normal proliferative response to mitogens may be considered for MMR (measles-mumps-rubella) vaccination

**Antibody deficiencies.** Some viral and bacterial vaccines are contraindicated in antibody deficiencies, depending on the severity of the immune dysfunction.

- **Severe** – severe IEs with impaired B-cell function include X-linked agammaglobulinemia and variable common immunodeficiency. These patients will not be immunized with some live vaccines, such as OPV (oral polio vaccine), live attenuated influenza, yellow fever and live typhoid vaccines. Other live vaccines will not be administered (eg MMR and varicella), due to passive immunization after administration of immunoglobulins.
- **Mild deficiencies** - patients with milder forms of deficiencies, such as symptomatic deficiencies of IgA and IgG subclasses, will not be immunized with OPV, BCG, and yellow fever vaccine unless they receive replacement therapy.

**Phagocytic defects** - Include congenital neutropenias, chronic granulomatous disease, leukocyte adhesion deficiency, and myeloperoxidase deficiency. These patients will not be given live bacterial vaccines. Administration of live viral vaccines is safe (except leukocyte adhesion defect) as these patients also may have humoral response deficiencies.

**Congenital complement deficiencies and congenital asplenia** - are characterized by complement deficiency but intact cellular and

Pacienții cu defecte ale imunității înăscute, asociate cu infecții virale severe - nu vor primi vaccinuri vii virale.

Cei care prezintă susceptibilitate sporită la infecții micobacteriene, nu vor primi vaccin BCG.

Toate vaccinurile virale și bacteriene sunt contraindicate la pacienții ale căii NL-Kappa-B, care se prezintă ca SCID.

### ***Recomandări pentru vaccinarea la pacienții cu EII specific***

Unele vaccinuri sunt deosebit de importante pentru pacienții cu diferite tipuri de stări imunodeficitare, din cauza susceptibilității acestora.

**Vaccin antigripal inactivat.** Se recomandă vaccinarea anuală tuturor pacienților cu EII care sunt capabili să producă un răspuns imun de orice intensitate. Acesta e deosebit de important la pacienții cu boală granulomatoasă cronică. Unii pacienți au un răspuns mai potent în cazul administrării unor doze repetate sau mai mari (de exemplu: două doze standarte cu un interval de cel puțin o lună sau vaccinarea cu o doză mai mare)

**Vaccinul antipneumococic.** Vaccinul conjugat este recomandat pacienților cu imunodeficiențe combinate, deficiențe umorale, de complement, asplenie congenitală, defecte fagocitare, care nu primesc imunoglobulină. Pacienții cu imunodeficiențe mai lejere, precum deficiențele simptomatice de IgA, de subclase a IgG sau de anticorpi specifici, sunt adesea imunizați cu vaccin pneumococic polizaharidic după vârsta de 2 ani cu scop diagnostic - pentru a testa răspunsul la antigeni polizaharidici. Cei, care nu răspund deloc la imunizare prin producere de anticorpi, sunt elibigili pentru tratament cu imunoglobulină.(4)

**Vaccin antimeningococic.** Se va administra pacienților cu deficiențe de anticorpi, asplenie congenitală, celor cu imunodeficiențe combinate. Pacienților cu asplenie, se

humoral immunity. Thus, patients will receive all live and inactivated vaccines. In particular, immunization against *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* and *Haemophilus influenzae* is very important.

**Defects of innate immunity.** Immunization depends on the defect in question.

Patients with defects in innate immunity associated with invasive bacterial infections will not receive live bacterial vaccines.

Patients with defects of innate immunity associated with severe viral infections will receive live viral vaccines.

Those with increased susceptibility to mycobacterial infections will not receive BCG vaccine.

All viral and bacterial vaccines are contraindicated in NL-kappa-B pathway patients presenting as SCID.

### ***Recommendations for vaccination in patients with specific IEI***

Some vaccines are particularly important for patients with various types of immunodeficiency states because of their susceptibility.

**Inactivated influenza vaccine.** Annual vaccination is recommended for all patients with IEI who are able to mount an immune response of any intensity. This is particularly important in patients with chronic granulomatous disease. Some patients have a more potent response to repeated or higher doses (for example: two standard doses at least one month apart or vaccination with a higher dose)

**The pneumococcal vaccine.** The conjugate vaccine is recommended for patients with combined immunodeficiencies, humoral, complement deficiencies, congenital asplenia, phagocytic defects, who do not receive immunoglobulin. Patients with milder

recomandă administrarea vaccinurilor conjugate, deoarece ei ar putea să nu răspundă la vaccin polizaharidic pur.

**Vaccinul antihemofilic (Hib)** - o doză de vaccin împotriva *Haemophilus influenzae* tip b trebuie administrat o dată pacienților neimunizați cu vârsta mai mare de 5 ani, care au riscuri sporite de infecții cu bacterii încapsulate.

**Vaccinul contra virusului papilomei umane.**

Acest vaccin va fi luat în considerare la toți pacienții cu erori înnăscute de imunitate, în special la cei, care au risc sporit de infecție cu virusul papilomei umane (ataxie-telangectazie, deficiență CD40/CD40 ligand, CVID, sindrom Wiskott-Aldrich).

***Vaccinarea contra COVID-19 la pacienții cu erori înnăscute de imunitate.***

Vaccinul anti-COVID-19 este o metodă de profilaxie împotriva formelor severe de COVID-19. Vaccinarea persoanelor imunocompromise este discutabilă, dar deja există studii care demonstrează inofensivitatea lor pentru pacienții imunodeprimați. Însă, nivelul seroconversiei postvaccin care în cazul unor EÎI poate fi minim. Organizațiile internaționale recomandă vaccinarea grupelor de risc, care includ pacienții cu imunodeficiențe moderat-severe (ex: Sdr. DiGeorge, Sdr. Wiskott Aldrich).(5)

immunodeficiencies, such as symptomatic IgA, IgG subclass, or specific antibody deficiencies, are often immunized with pneumococcal polysaccharide vaccine after age 2 years for diagnostic purposes—to test the response to polysaccharide antigens. Those who do not respond at all to immunization by producing antibodies are ineligible for immunoglobulin treatment. (4)

**Meningococcal vaccine.** It will be administered to patients with antibody deficiencies, congenital asplenia, those with combined immunodeficiencies. Conjugate vaccines are recommended for patients with asplenia, as they may not respond to pure polysaccharide vaccine.

***Haemophilus influenzae type b vaccine*** - one dose of *Haemophilus influenzae* type b vaccine should be given once to unimmunized patients older than 5 years who are at increased risk of infections with encapsulated bacteria.

**The human papilloma virus vaccine.** This vaccine will be considered in all patients with inborn errors of immunity, especially those at increased risk of human papillomavirus infection (ataxia-telangiectasia, CD40/CD40 ligand deficiency, CVID, Wiskott-Aldrich syndrome).

***Vaccination against COVID-19 in patients with inborn errors of immunity.***

The anti-COVID-19 vaccine is a method of prophylaxis against severe forms of COVID-19. Vaccination of immunocompromised people is debatable, but there are already studies that demonstrate their harmlessness for immunocompromised patients. However, the level of post-vaccine seroconversion, which in the case of some IEIs, can be minimal. International organizations recommend vaccination of risk groups, which include patients with moderate-severe immunodeficiencies (eg: Dr. DiGeorge, Dr. Wiskott Aldrich).(5)

**Table 1. Vaccination of patients with primary immunodeficiencies (2)**

Vaccine	Combined immunodeficiencies		Complement deficiencies		Patients with substitutive therapy	Immune regulation deficiency	Phagocyte deficiency			Defecte ale imunității înnăscute			Auto-inflammatory diseases	Complement deficiencies
	Severe	Lejere	Severe	Lejere			CGD, neutropenias	LAD	Bacteriene	Virale	Micobact.			
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
<b>Inactivated/subunit</b>														
DTaP	B	A	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	
HepA	B	A	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	
HepB	B	A	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	
HIB	B	A	B	A	B	A	A	A	E	A	A	A	E	
HPV	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
Influenza (s/c, i/m)	B	A	A	A	A	A	E	A	A	A	A	A	A	
Meningococcal	B	A	B	A	A	A	A	A	E	A	A	A	E	
Meningococcal serotype B	B	A	B	A	A	A	A	A	E	A	A	A	E	
Pneumococcal conjugated	B	A	B	A	B	A	A	A	E	A	A	A	E	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Pneumococcal polysaccharide	B	A	B	A	B	A	A	A	E	A	A	A	E	
Polio (i/m)	B	A	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	
Rabi	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
<b>Live attenuated</b>														
Influenza	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	
ROR	C	D	C	D	C	A	A	C	A	C	A	A	A	
Polio (oral)	C	C	C	C	C	A	A	C	A	C	A	A	A	
Rotavirus	C	C	C	D	C	A	A	C	A	C	A	A	A	
Varicella	C	D	C	D	C	A	A	C	A	C	A	A	A	
BCG	C	C	D	D	D	D	D	C	C	D	D	C	D	

A: They are harmless; possible benefit; recommended administration; it is used according to the national vaccination calendar  
 B: Harmless; unlikely benefit; administration is not recommended.  
 C: They can be harmful (significant); unlikely benefit; administration is not recommended.  
 D: They can be harmful (insignificant); possible benefit; administration is recommended.  
 E: Recommended administration for therapeutic benefit.

**Tabelul 1. Vaccinarea pacienților cu imunodeficiențe primare (2)**

Vaccin	Imunodeficiențe combinate		Deficiențe de anticorpi		Pacienții cu terapie de substituție	Deficiențe ale reglării imune	Deficiențe fagocitare			Defecte ale imunității înnăscute			Boli auto-inflamatorii	Deficiențe ale sistemului complement
	Severe	Lejere	Severe	Lejere			BGrC, neutropenii	LAD	Bacteriene	Virale	Micobact.			
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
<b>Vaccinuri subunitare/inactivate</b>														
DTPa	B	A	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	
HepA	B	A	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	
HepB	B	A	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	
HIB	B	A	B	A	B	A	A	A	E	A	A	A	E	
HPV	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
Antigripal (s/c, i/m)	B	A	A	A	A	A	E	A	A	A	A	A	A	
Antimeningococ	B	A	B	A	A	A	A	A	E	A	A	A	E	
Antimeningococ serotip B	B	A	B	A	A	A	A	A	E	A	A	A	E	
Antipneumococic conjugat	B	A	B	A	B	A	A	A	E	A	A	A	E	
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	
Antipneumococic polizaharidic	B	A	B	A	B	A	A	A	E	A	A	A	E	
Polio (i/m)	B	A	B	A	B	A	A	A	A	A	A	A	A	
Antirabic	B	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	A	
<b>Vaccinuri vii atenuate</b>														
Gripa	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	C	
ROR	C	D	C	D	C	A	A	C	A	C	A	A	A	
Polio (oral)	C	C	C	C	C	A	A	C	A	C	A	A	A	
Rotavirus	C	C	C	D	C	A	A	C	A	C	A	A	A	
Varicela	C	D	C	D	C	A	A	C	A	C	A	A	A	
BCG	C	C	D	D	D	D	D	C	C	D	D	C	D	

A: Sunt inofensive; beneficiu posibil; administrarea recomandată; se utilizează conform calendarului național de vaccinări  
 B: Sunt inofensive; beneficiu puțin probabil; administrarea nu se recomandă.  
 C: Pot fi ofensive (semnificativ); beneficiu puțin probabil; administrarea nu se recomandă.  
 D: Pot fi ofensive (nesemnificativ); beneficiu posibil; administrarea se recomandă.  
 E: Administrarea recomandată pentru beneficiu terapeutic.

**Concluzii:** Respectarea programului de vaccinare este important pentru pacienții cu erori înnăscute de metabolism și familia acestuia, astfel fiind diminuate atât morbiditatea, cât și

**Conclusions:** Adherence to the vaccination schedule is important for patients with inborn errors of metabolism and their families, thus

mortalitatea determinate de infecțiile prevenibile prin imunizare.

reducing both morbidity and mortality caused by immunization-preventable infections.

**Cuvinte cheie:** imunizare, erori înnăscute de metabolism, vaccin

**Keywords:** primary immunodeficiency, common variable immunodeficiency, immunophenotyping, molecular-genetic test

## REFERENCES

1. ANDRIES, L.; REVENCO, N.; BARBA, D.; et al. Imunodeficiențele primare. PCN-336. Chisinau, 2022, 60 p. ISBN 978-5-88554-091-9.
2. AZOICAI, Doina, RADULESCU, Amanda, PIȚIGOI, Daniela, POPOVICI, Florin. Ghidul Recomandări de vaccinare a pacienților cu imunodeficiențe de diverse cauze. Ghid. 2021.
3. BONILLA, F.A. Vaccines in Patients with Primary Immune Deficiency. In: Immunol Allergy Clin North Am. 2020; 40(3): 421-35.
4. SOBH, A, BONILLA, F.A. Vaccination in Primary Immunodeficiency Disorders. In: J Allergy Clin Immunol Pract. 2016; 4(6): 1066-75.
5. MILOTA, T., STRIZOVA, Z., SMETANOVA, J., SEDIVA, A. An immunologist's perspective on anti-COVID-19 vaccines. In: Curr Opin Allergy Clin Immunol. 2021; 21(6): 545-52.
6. HLONGWA, L., PETER, J., MAYNE, E. Value of diagnostic vaccination in diagnosis of humoral inborn errors of immunity. In: Hum Immunol. 2023; 84(5-7): 337-41.
7. DELMONTE, O.M., CASTAGNOLI, R., NOTARANGELO, L.D. COVID-19 and Inborn Errors of Immunity. In: Physiology (Bethesda). 2022; 37(6): 0.

## INSTRUMENT ÎN APRECIEREA CUNOȘTINȚELOR ASUPRA IMUNODEFICIENȚELOR PRIMARE A REZIDENTILOR ȘI MEDICILOR INSTITUȚIILOR MEDICO-SANITARE PUBLICE

## TOOL FOR ASSESSING THE KNOWLEDGE OF PRIMARY IMMUNE DEFICIENCIES OF RESIDENTS AND DOCTORS OF PUBLIC MEDICAL AND SANITARY INSTITUTIONS

Iacomi Vladimir<sup>1,2</sup>, Vișnevschi Anatolie<sup>1,2</sup>, Dumitraș Tatiana, Rotaru Liliana, Veselovschi Anna, Țurcanu Adela, Bacalîm Liliana, Biniuc D., Revenco Ninel<sup>2</sup>, Andrieș Lucia<sup>1,2</sup>

Iacomi Vladimir<sup>1,2</sup>, Vișnevschi Anatolie<sup>1,2</sup>, Dumitraș Tatiana, Rotaru Liliana, Veselovschi Anna, Țurcanu Adela, Bacalîm Liliana, Biniuc D., Revenco Ninel<sup>2</sup>, Andrieș Lucia<sup>1,2</sup>

<sup>1</sup>Laboratorul de Alergologie și Imunologie Clinică, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae Testemitanu”

<sup>1</sup>Laboratory of Allergology and Clinical Immunology State University of Medicine and Pharmacy “Nicolae Testemitanu”, Chisinau, Republic of Moldova



**<sup>2</sup>Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu", Chișinău, Republica Moldova**

**<sup>2</sup>State University of Medicine and Pharmacy "Nicolae Testemitanu", Chisinau, Republic of Moldova**

## **REZUMAT**

Perfectarea cunoștințelor și vigilenței asupra imunodeficiențelor primare în rândul medicilor specialiști și rezidenților care zilnic pot depista, trata și ameliora calitatea vieții pacienților cu aceste stări, devine prioritară odată cu apariția noilor tehnologii care facilitează diagnosticul precoce. Scopul studiului a fost aprecierea și compararea nivelului de cunoștințe asupra imunodeficiențelor primare (IDP) la copii și adulți în rândul rezidenților și medicilor specialiști ai instituțiilor medico-sanitare publice (IMSP), pentru aprecierea direcțiilor de perfecționare a educației medicale continue la acest compartiment. A fost realizată compararea datelor de anchetare a 37 de medici specialiști pediatri și de laborator și 74 de rezidenți de la specialitățile medicină internă, de laborator și oncologie. Chestionarul conține 25 de întrebări despre semnele de alarmă a IDP la copii și adulți, semne generale a IDP, semne specifice a IDP, managementul terapiei și imunizării pacienților cu IDP. Cele mai bune cunoștințe despre IDP au fost demonstrate de medicii specialiști pediatri cu prevalența procentului de răspunsuri corecte, precum și de rezidenți specialitatea medicină internă.

## **INTRODUCERE**

Imunodeficiențele primare (IDP) sunt un grup de boli congenitale rare ale sistemului imunitar, care de obicei, se prezintă cu o dificultate de diagnostic. Actulmente, sunt cunoscute peste 450 de boli ereditare a sistemului imunitar, care apar ca urmare a unor defecte genetice ce duc la dereglarea imunității, iar numărul lor crește în continuu [1-3,8].

IDP poate fi suspectată prin anumite semne clinice, printre care se enumeră infecțiile recurente, adesea bacteriene, sau infecțiile cauzate de agenți patogeni atipici, sau cu o

## **ABSTRACT**

Improving knowledge and vigilance on primary immunodeficiencies among specialist doctors and residents who can detect, treat and improve the quality of life of patients with these conditions on a daily basis, becomes a priority with the emergence of new technologies that facilitate early diagnosis. The purpose of the study was to assess and compare the level of knowledge on primary immunodeficiencies (PID) in children and adults among residents and medical specialists of public medical and sanitary institutions (PMSI), in order to assess the directions for improvement of continuous medical education in this field. The questionnaire contains 25 questions about warning signs of IDP in children and adults, general signs of IDP, specific signs of IDP, management of therapy and immunization of patients with IDP. The best knowledge about IDP was demonstrated by pediatric specialists with the prevalence of the percentage of correct answers, as well as by resident doctors in the specialty of internal medicine.

## **INTRODUCTION**

Primary immunodeficiencies (pids) are a group of rare congenital diseases of The immune system, which usually present with a diagnostic difficulty. Currently, more than 450 hereditary diseases of the immune system are known, which appear as a result of genetic defects that lead to immune dysregulation, and their number is continuously increasing [1-3,8].

PIDs can be suspected by certain clinical signs, including recurrent infections, often bacterial, or infections caused by atypical pathogens, or with an atypical and severe course [5,8].

Other clinical data include autoimmune diseases, allergic manifestations and tumor

evoluție atipică și severă [5,8]. Alte date clinice includ bolile autoimune, manifestările alergice și maladiile tumorale. Dezvoltarea cercetării genetice a condus la o creștere semnificativă a numărului de IDP recunoscute în ultimii 20 de ani, dar diagnosticul lor este încă insuficient de precizat. Problema diagnosticării precoce a IDP există în multe țări ale lumii, inclusiv în Europa de Est [4,6]. Unul dintre motivele principale este lipsa de vigilență a medicilor atât din asistența medicală primară, cât și a specialiștilor de profil [8].

Medicii de diverse specialități de medicină practică confundă adesea IDP cu imunodeficiențele secundare sau le tratează ca afecțiuni comorbide.

Diagnosticul IDP și identificarea formelor nosologice ale acestora sunt extrem de relevante, deoarece acest lucru duce la determinarea tacticilor de tratament oportun, care vor favoriza îmbunătățirea calității și a speranței de viață a pacienților.

O sarcină importantă este creșterea gradului de conștientizare a stagiariilor și studenților cu privire la diagnosticul IDP. Deoarece aceste boli sunt observate în practica medicilor de diferite specialități, este important ca viitorii medici specialiști și rezidenți, în cadrul cursurilor de perfecționare continuă, să dobândească cunoștințe inedite despre diagnosticul acestora.

Studiile anterioare au arătat o lipsă de conștientizare atât a studenților, cât și a stagiariilor, precum și a medicilor cu privire la diagnosticul IDP. Cel mai probabil, această problemă este legată de lipsa de focalizare (număr insuficient de ore în programele instituțiilor de învățământ superior de medicină, cicluri de certificare, cicluri de perfecționare tematică) asupra studiului patologiei sistemului imunitar. Pentru mulți medici primari, sistemul imunitar reprezintă încă „terra incognita” [7,8].

Având în vedere variabilitatea semnelor clinice și conștientizarea scăzută, majoritatea

diseases. The development of genetic research has led to a significant increase in the number of PIDs recognized in the last 20 years, but their diagnosis is still insufficiently precise. The problem of early diagnosis of PID exists in many countries of the world, including Eastern Europe [4,6]. One of the main reasons is the lack of vigilance of both primary care physicians and specialists [8].

Doctors of various specialties of practical medicine often confuse PID with secondary immunodeficiencies or treat them as comorbid conditions.

The diagnosis of PID and the identification of their nosology forms are extremely relevant, because this leads to the determination of timely treatment tactics, which will favor the improvement of the quality and life expectancy of patients.

An important task is to increase the awareness of trainees and students about the diagnosis of PID. Since these diseases are observed in the practice of doctors of various specialties, it is important that future medical specialists and residents, in the framework of continuing education courses, acquire new knowledge about their diagnosis.

Previous studies have shown a lack of awareness among both students and trainees as well as physicians regarding the diagnosis of PID. Most likely, this problem is related to the lack of focus (insufficient number of hours in the programs of medical institutions of higher education, certification cycles, thematic improvement cycles) on the study of the pathology of the immune system. For many primary care physicians, the immune system still represents represents “terra incognita” [7,8].

Given the variability of clinical signs and low awareness, most PIDs are diagnosed at the tertiary level or in the presence of complications, or a severe infectious syndrome.

Therefore, increasing the level of knowledge about PID among doctors should start right

IDP sunt diagnosticate la nivel terțiar sau în prezența complicațiilor, sau a unui sindrom infecțios sever.

Prin urmare, creșterea nivelului de cunoștințe despre IDP în rândul medicilor ar trebui să înceapă chiar în incinta universității de medicină, să continue și să se îmbunătățească pe întreaga perioadă de studii postuniversitare, precum și prin autoperfecționare. În prezent, acest lucru este facilitat în mare măsură de extinderea inițiativelor de educare și informare a medicilor și a publicului cu privire la manifestările IDP.

**SCOPUL STUDIULUI** a fost compararea nivelului de cunoștințe asupra IDP în rândul medicilor pediatri și rezidenților USMF "Nicolae Testemițanu" pentru a determina domeniile de îmbunătățire a educației în cadrul acestui compartiment.

## **MATERIALE ȘI METODE**

Datele anonime ale sondajului au fost comparate pentru 37 de medici, 74 de rezidenți de diverse specialități a Universității de Stat de Medicină și Farmacie "Nicolae Testemițanu". Studiul a fost efectuat în perioada 2022–2023.

Pentru sondaj au fost formulate 25 de întrebări (tabelul 1), la care respondenții au răspuns „da” sau „nu”. Chestionarul a cuprins patru secțiuni principale: semne de avertizare ale IDP la copii (4 întrebări) și la adulți (2 întrebări); semne generale ale IDP (5 întrebări), semne specifice IDP (9 întrebări), strategii de tratament și imunizare a pacienților cu IDP (5 întrebări). Chestionarul a fost elaborat de imunologi, cu prelucrarea și suplimentarea datelor bibliografice, și aplicat conform stadardele etice.

Înainte de sondaj, respondenții erau informați despre motivele colectării informațiilor și despre modul în care acestea vor fi utilizate. Înainte de colectarea acestor chestionare, participanților li s-a citit o declarație care îi informa că participarea lor a fost voluntară și

within the premises of the medical university, continue and improve throughout the period of postgraduate studies, as well as through self-improvement. Currently, this is greatly facilitated by expanding initiatives to educate and inform physicians and the public about PID manifestations.

**THE AIM OF THE STUDY** was to compare the level of knowledge on PID among pediatricians

and SUMPh "Nicolae Testemitanu" residents in order to determine the areas for improving education in this field.

## **MATERIALS AND METHODS**

The anonymous survey data were compared for 37 doctors, 74 residents of various specialties of the "Nicolae Testemitanu" State University of Medicine and Pharmacy. The study was conducted in the period 2022–2023.

For the survey, 25 questions were formulated (table 1), to which the respondents answered

"yes" or "no". The questionnaire included four main sections: warning signs of PID in children (4 questions) and in adults (2 questions); general signs of PID (5 questions), specific signs of PID (9 questions), treatment strategies and immunization of patients with PID (5 questions). The questionnaire was developed by immunologists, with the processing and supplementation of bibliographic data, and applied according to ethical standards.

Before the survey, respondents were informed about the reasons for collecting the information and how it would be used. Before collecting these questionnaires, participants

că răspunsurile lor au fost anonime și confidențiale. Această declarație a primit acordul tuturor respondenților care au răspuns la chestionar.

Au fost oferite chestionare pentru medici pediatri și medici de laborator. Prin urmare 37 de specialiști care au constituit 100%, au fost de acord să răspundă la întrebări. Printre respondenții specialității de pediatrie au fost 14 (56%) medici din ISMP primare – primul contact. Medicii de la nivelul secundar al asistenței medicale au constituit 7 (28%) și cei de la nivel terțiar – 4 (16%). Medicii rezidenți au fost repartizați după cum urmează: 23 (31,1%) la disciplina Sinteze Clinice în Departamentul Medicină Internă, 10 (13,5%) la disciplina Gastroenterologie, 25 (33,8%) la Medicină de Laborator și 16 (21,6%) la Oncologie. Chestionarele au fost distribuite respondenților la locul de muncă în timpul programului de lucru.

Cercetarea a urmat principiile stabilite în Declarația WMA de la Helsinki.

Rezultatele au fost analizate folosind proceduri standard cu pachetul software SPSS 22.

Distribuția variabilelor a fost evaluată folosind testul  $\chi^2$  și testul exact Fisher. Nivelul de semnificație al testelor a fost stabilit la  $p = 0,05$ .

## REZULTATE ȘI DISCUȚII

Vârsta medicilor a variat între 28 și 65 de ani (vârsta medie 46,5 ani). Femeile au constituit majoritatea medicilor chestionați (74 %).

Vârsta medicilor rezidenți a variat între 25 și 49 de ani (vârsta medie 37 ani). Majoritatea rezidenților chestionați au fost de sex feminin (71,4 %). Lista și procentul de răspunsuri corecte între toți respondenții sunt prezentate în tabelul 2.

Conform rezultatelor din tabelul 1 și 2, se poate susține că cel mai mare procent de răspunsuri corecte au fost date de medicii specialiști pediatri (68 %), cel mai mic de rezidenții

were read a statement informing them that their participation was voluntary and that their responses were anonymous and confidential. This statement was agreed to by all respondents who answered the questionnaire.

Questionnaires were provided for pediatricians and laboratory physicians. Therefore, 37 specialists who constituted 100%, agreed to answer the questions. Among the pediatric specialty respondents were 14 (56%) doctors from the primary PSMI – the first contact. Doctors from the secondary level of medical assistance constituted 7 (28%) and those from the tertiary level – 4 (16%). Resident doctors were distributed as follows: 23 (31.1%) in the discipline of Clinical Syntheses in the Department of Internal Medicine, 10 (13.5%) in the discipline of Gastroenterology, 25 (33.8%) in Laboratory Medicine and 16 (21.6%) in Oncology. Questionnaires were distributed to respondents at their workplace during business hours.

The research followed the principles set out in the WMA Declaration of Helsinki.

The results were analyzed using standard procedures with the SPSS 22 software package.

The distribution of variables was assessed using the  $\chi^2$  test and Fisher's exact test. The significance level of the tests was set at  $p = 0.05$ .

## RESEARCH RESULTS AND DISCUSSION

The age of the doctors ranged from 28 to 65 years (mean age 46.5 years). Women constituted the majority of doctors surveyed (74 %). The age of resident physicians ranged from 25 to 49 years (mean age 37 years). Most of the surveyed residents were female (71.4 %). The list and percentage of correct answers among all respondents are presented in Table 2.

According to the results in Tables 1 and 2, it can be argued that the highest percentage of correct answers were given by pediatric specialists (68%), the lowest by Laboratory Medicine residents (56.8%), being revealed a

Medicină de Laborator (56,8 %), fiind relevată o diferență semnificativă între indicatorii acestor două grupe dintre respondenți ( $p < 0,001$ ). Astfel, se poate presupune că rezidenții la Medicină de Laborator acordă o atenție insuficientă particularităților bolilor sistemului imunitar în timpul studiilor universitare. La compararea răspunsurilor medicilor pediatri (68 %) și medicilor de laborator (55,3 %), răspunsurile mai corecte au fost date de către pediatri, ceea ce poate indica o scădere a vigilenței și absența unei creșteri a cunoștințelor privind IDP prin autoperfecționare în rândul medicilor de laborator.

La analiza răspunsurilor la întrebările privind semnele generale ale IDP, s-a constatat că 72,7 % dintre medicii rezidenți, și 66,6 % dintre medicii de laborator și practic 3 din 4 medici pediatri consideră că IDP apare doar la copii. Un număr mic de respondenți știau că dismorfismul facial este caracteristic pentru imunodeficiență variabilă generală (32 % dintre medicii pediatri, 0% dintre medicii de laborator, 34,8% dintre rezidenții disciplinei Sinteze Clinice). Vigilența respondenților cu privire la markerii tumorali ca manifestări comune ale IDP a fost insuficientă (8,3 % răspunsuri corecte pentru medicii de laborator și 52% pentru rezidenții aceleiași discipline).

Procentul mediu de răspunsuri corecte asupra caracteristicilor generale ale IDP în rândul tuturor respondenților a fost de 64,9 %. Nu a existat o diferență semnificativă între grupurile de respondenți.

Au existat, de asemenea, dificultăți în a răspunde la întrebările despre semnele de avertizare ale IDP. Doar 40 % dintre medicii pediatri, 10 % dintre medicii rezidenți la disciplina gastroenterologie au indicat că două sau mai multe pneumonii în timpul anului pot fi un semn de IDP la copii. Cea mai mare provocare pentru medici și rezidenți au fost întrebările despre semnele de avertizare ale IDP la adulți. Doar 16,6 % dintre medici și 12 % dintre rezidenții Catedrei Medicină de Laborator au reușit să indice corect că două sau mai multe pneumonii, confirmate prin

significant difference between the indicators of these two groups of respondents ( $p < 0.001$ ). Thus, it can be assumed that Laboratory Medicine residents pay insufficient attention to the particularities of immune system diseases during their university studies.

When comparing the responses of pediatricians (68 %) and laboratory physicians (55.3 %), more correct responses were given by pediatricians, which may indicate a decrease in vigilance and the absence of an increase in PID knowledge through self-improvement among laboratory physicians.

When analyzing the answers to questions about the general signs of PID, it was found that 72.7% of resident doctors, and 66.6% of laboratory doctors and practically 3 out of 4 pediatricians believe that PID occurs only in children. A small number of respondents knew that facial dysmorphism is characteristic of general variable immunodeficiency (32% of pediatricians, 0% of laboratory physicians, 34.8% of Clinical Synthesis residents). Respondents' vigilance regarding tumor markers as common manifestations of PID was insufficient (8.3 % correct answers for laboratory physicians and 52% for residents of the same discipline).

The average percentage of correct answers on the general characteristics of the PID among all respondents was 64.9 %. There was no significant difference between respondent groups.

There were also difficulties in answering questions about the warning signs of PIDs. Only 40% of pediatricians, 10% of gastroenterology residents indicated that two or more pneumonias during the year can be a sign of PID in children. The biggest challenge for physicians and residents was questions about the warning signs of PID in adults. Only 16.6% of physicians and 12% of residents of the Department of Laboratory Medicine were able to correctly indicate that two or more radiographically confirmed pneumonias within three years in adults can be a sign of PID. This result in these two groups was significantly lower than in the case of

radiografii, în decurs de trei ani la adulți pot fi un semn de IDP. Acest rezultat, în aceste două grupuri a fost semnificativ mai mic decât în cazul medicilor pediatri ( $p = 0,0022$  și, respectiv,  $p = 0,01$ ). Cele mai scăzute cunoștințe despre semnele de avertizare la adulți au fost demonstrate de medicii rezidenți ai Departamentului Medicină Internă și Catedrei Medicină de Laborator (54,1 % din răspunsurile corecte). Cu toate acestea, toți participanții la sondaj au arătat o cunoaștere bună a unor astfel de semne specifice ale IDP, cum ar fi localizarea atipică a infecțiilor și/sau infecția atipică a acestora și, respectiv, 61,9% din răspunsurile corecte). Nu a existat o diferență semnificativă între datele obținute cu privire la cunoașterea semnelor de avertizare ale IDP la copii și adulți în rândul medicilor și rezidenților, între timp, în rândul rezidenților, proporția răspunsurilor corecte despre semnele de avertizare la adulți a fost semnificativ mai mică decât a celor la copii ( $p = 0,051$ ).

Nu a fost găsită nici-o diferență semnificativă la compararea procentului general de răspunsuri corecte despre semnele specifice de IDP în rândul participanților la sondaj. Rata medie a răspunsurilor corecte pe caracteristicile specifice ale IDP a fost de 53,2% (50,9% - în rândul medicilor specialiști; 49,7% - în rândul medicilor rezidenți). Un număr redus de răspunsuri corecte a fost dat de toți respondenții rezidenți oncologi și ai Catedrei Medicină de Laborator pentru sindromul Nijmegen. Proporția răspunsurilor corecte despre necesitatea testării genetice a copiilor cu microcefalie a fost de 85% (91,65 % medici; respectiv 78,4 % rezidenți). La întrebarea despre permisiunea de a efectua radiografii toracice la copiii cu sindrom Nijmegen, cea mai mică proporție de răspunsuri corecte a fost în rândul medicilor rezidenți Sinteze Clinice - 39,1 % ( $p < 0,0001$  în comparație cu alte grupe).

Toți respondenții au demonstrat cunoștințe moderate despre semnele de avertizare ale IDP la copii. Procentul mediu de răspunsuri corecte a fost de 61,2% în rândul medicilor, 60,6% în rândul rezidenților. Din păcate, participanții nu

pediatricians ( $p = 0.0022$  and  $p = 0.01$ , respectively). The lowest knowledge of warning signs in adults was demonstrated by resident physicians of the Department of Internal Medicine and the Department of Laboratory Medicine (54.1% of correct answers). However, all survey participants showed a good knowledge of such specific signs of PID as atypical localization of infections and/or its atypical infection and 61.9% of correct answers, respectively). There was no significant difference between the data obtained on the knowledge of the warning signs of PID in children and adults among doctors and residents, meanwhile, among residents, the proportion of correct answers about the warning signs in adults was significantly lower than that in children ( $p = 0.051$ ).

No significant difference was found when comparing the overall percentage of correct responses on specific PID signs among survey participants. The average rate of correct answers on the specific characteristics of the PID was 53.2% (50.9% - among specialist doctors; 49.7% - among resident doctors). A small number of correct answers were given by all oncology resident and Department of Laboratory Medicine respondents for Nijmegen syndrome. The proportion of correct answers about the need for genetic testing of children with microcephaly was 85% (91.65% doctors; respectively 78.4% residents). When asked about the permission to perform chest X-rays in children with Nijmegen syndrome, the lowest proportion of correct answers was among the resident doctors Clinical Syntheses - 39.1 % ( $p < 0.0001$  compared to other groups).

All respondents demonstrated moderate knowledge of the warning signs of PID in children. The average percentage of correct answers was 61.2% among physicians, 60.6% among residents. Unfortunately, participants did not show better awareness of PID signs in adults either (59.8%; and 63.1% respectively). Resident physicians gave fewer correct answers compared to medical specialists (47.3% versus 65.7%,  $p = 0.001$ ). Medical

au arătat o mai bună conștientizare a semnelor IDP nici la adulți (59,8 %; și 63,1% respectiv). Medicii rezidenți au dat mai puține răspunsuri corecte comparativ cu medicii specialiști (47,3% versus 65,7%,  $p = 0,001$ ). Medicii specialiști au arătat o conștientizare mai mare a unui astfel de semn specific al sindromului Nijmegen, cum ar fi prezența unor pete „café au lait” în cantitate de 6 sau mai multe (73,5% din răspunsurile corecte față de 51,6 % la medicii rezidenți,  $p = 0,005$ ). Dimpotrivă, medicii rezidenți au arătat cele mai bune cunoștințe în comparație cu specialiștii despre absența dismorfiei faciale cu imunodeficiență comună variabilă ( $p = 0,003$  și respectiv  $p < 0,0001$ ). Pe baza acestor date, se poate argumenta că, în studiul patologiei sistemului imunitar, se acordă puțină atenție studiului simptomelor clinice caracteristice într-o anumită IDP. Rezidenții erau mai conștienți de semnele sindromului Louis-Barr. Telangiectazia ca semn al acestui sindrom a fost observată de 90,3 % dintre rezidenți, ceea ce a fost semnificativ mai mare decât în rândul medicilor ( $p = 0,004$ ). Cu toate acestea, în toate grupurile, cunoașterea alfa-fetoproteinei ca marker al sindromului Louis-Bar a fost scăzută. Participanții la sondaj au arătat o bună cunoaștere a semnelor specifice ale sindromului Wiskott-Aldrich. Astfel, 85,5% dintre medici, și 86,7 % dintre medicii rezidenți știau că procesele inflamatorii frecvente ale sistemului respirator în combinație cu trombocitopenie și eczeme ar putea fi semne ale acestui sindrom.

Respondenții au dezvăluit un nivel suficient de ridicat de cunoștințe și au argumentat despre problema terapiei de substituție cu preparate de imunoglobuline la pacienții cu IDP, care apar cu o deficiență de anticorpi, și problema posibilității de a administra vaccinuri vii la copiii cu IDP severă. Majoritatea medicilor pediatri au dat răspunsuri corecte la aceste întrebări. Ei au avut un procent semnificativ mai mare de răspunsuri corecte la întrebările legate de tratament și vaccinare în comparație cu toate celelalte întrebări ( $p < 0,0001$  pentru semne specifice,  $p = 0,034$  pentru semnele de avertizare,  $p = 0,003$  pentru semnele generale).

specialists showed a greater awareness of such a specific sign of Nijmegen syndrome as the presence of 6 or more “café au lait”; spots (73.5% of correct answers vs. 51.6% for resident doctors,  $p = 0.005$ ). On the contrary, residents showed the best knowledge compared to specialists about the absence of facial dysmorphism with variable common immunodeficiency ( $p = 0.003$  and  $p < 0.0001$ , respectively). Based on these data, it can be argued that in the study of the pathology of the immune system, little attention is paid to the study of the characteristic clinical symptoms in a particular PID. Residents were more aware of the signs of Louis-Barr syndrome. Telangiectasia as a sign of this syndrome was observed by 90.3% of residents, which was significantly higher than among physicians ( $p = 0.004$ ). However, in all groups, knowledge of alpha-fetoprotein as a marker of Louis-Bar syndrome was low. Survey participants showed good knowledge of the specific signs of Wiskott-Aldrich syndrome. Thus, 85.5% of doctors and 86.7% of resident doctors knew that frequent inflammatory processes of the respiratory system in combination with thrombocytopenia and eczema could be signs of this syndrome. The respondents revealed a sufficiently high level of knowledge and argued about the issue of replacement therapy with immunoglobulin preparations in patients with PID, who appear with an antibody deficiency, and the issue of the possibility of administering live vaccines to children with severe PID. Most pediatricians gave correct answers to these questions. They had a significantly higher percentage of correct answers to the treatment and vaccination questions compared to all other questions ( $p < 0.0001$  for specific signs,  $p = 0.034$  for warning signs,  $p = 0.003$  for general signs). The same trend was observed among oncology residents and the Clinical Synthesis discipline ( $p < 0.0001$ ,  $p = 0.005$ ,  $p = 0.002$ , respectively). Among residents, significantly better outcomes were demonstrated in response to treatment and vaccination questions compared to specific signs (76.1 vs. 57.7%,  $p < 0.0001$ ). The

Aceeași tendință a fost observată și în rândul rezidenților oncologi și disciplinei Sinteze Clinice ( $p < 0,0001$ ,  $p = 0,005$ , respectiv  $p = 0,002$ ). În rândul rezidenților, au fost demonstrate rezultate semnificativ mai bune ca răspuns la întrebările privind tratamentul și vaccinarea comparativ cu semnele specifice (76,1 vs. 57,7%,  $p < 0,0001$ ). Numărul de răspunsuri corecte din blocul de caracteristici specifice a fost semnificativ mai mic în comparație cu blocurile de avertizare și semne generale ale IDP ( $p = 0,003$  și, respectiv,  $p = 0,01$ ).

Rezultatele studiului confirmă insuficiența de cunoștințe privind semnele alarmante, generale și specifice ale IDP la toți participanții la sondaj. Deoarece subdiagnosticarea IDP duce adesea la progresia bolii, dezabilitate, leziuni ireversibile somatice sau chiar decesul pacientului, ar trebui să se acorde mai multă atenție problemei diseminării informațiilor clare despre IDP în rândul medicilor și în rândul rezidenților. Indicatorul răspunsurilor corecte în rândul rezidenților a fost nesemnificativ mai scăzut (78,2; respectiv 71,1%). Rezidenții au avut cea mai mare rată medie de răspunsuri corecte la întrebările de tratament și vaccinare a copiilor cu IDP,  $p = 0,003$ . Astfel, se poate presupune că rezidenții și medicii pediatri, datorită naturii activităților lor practice, au o cantitate mai mare de cunoștințe privind vaccinarea și tratamentul copiilor.

Comparând rezultatele unui sondaj privind semnele generale, alarmante, specifice, tratamentul și vaccinarea copiilor cu IDP în rândul respondenților, trebuie menționat că rezidenții și medicii specialiști ai instituțiilor medico-sanitare publice, necesită informare continuă, precum și în rândul populației generale, prin mese rotunde, prelegeri, apariții la televiziune, distribuire de broșuri, și implicarea organizațiilor publice. Cu acces adecvat la diverse și foarte eficiente metode de diagnostic și tratament, multe complicații ale IDP la copii pot fi evitate, iar viața pacienților, calitatea și durata acestora vor fi păstrate.

number of correct responses in the specific feature block was

significantly lower compared to the warning and general sign blocks of the PID ( $p = 0.003$  and  $p = 0.01$ , respectively). The results of the study confirm the lack of knowledge regarding the alarming, general and specific signs of PID in all survey participants. Because underdiagnosis of PID often leads to disease progression, disability, irreversible somatic damage, or even patient death, more attention should be paid to the issue of disseminating clear information about PID among physicians and residents. The rate of correct answers among residents was insignificantly lower (78.2; 71.1%, respectively). Residents had the highest mean rate of correct responses to the treatment and vaccination questions of children with PID,  $p = 0.003$ . Thus, it can be assumed that residents and pediatricians, due to the nature of their practical activities, have a greater amount of knowledge regarding the vaccination and treatment of children.

Comparing the results of a survey regarding the general, alarming, specific signs, treatment and vaccination of children with PID among the respondents, it should be noted that residents and medical specialists of public health institutions require continuous information, as well as among the general population, through round tables, lectures, television appearances, distribution of brochures, and the involvement of public organizations. With adequate access to various and highly effective methods of diagnosis and treatment, many complications of PID in children can be avoided, and the life of patients, its quality and duration will be preserved.

Because the clinical symptoms of PID are highly variable, it is necessary to give more

importance to the study of both the warning signs in children and adults, as well as the characteristic signs of the disease.

Studies conducted in other countries also demonstrated a lack of awareness of the general population about the problem of



Deoarece simptomele clinice ale IDP sunt foarte variabile, este necesar să se acorde mai multă importanță studiului atât a semnelor de avertizare la copii și adulți, cât și a semnelor caracteristice ale bolii.

Studiile efectuate în alte țări au demonstrat și o lipsă de conștientizare a populației generale cu privire la problema imunodeficiențelor primare, ceea ce a făcut posibilă determinarea direcțiilor de rezolvare a problemei.

Astfel, o creștere a numărului de ore academice pentru studiul sistemului imunitar și semiotica afecțiunilor la beneficiarii instituțiilor medicale, medicilor de diverse specialități, în primul rând în asistența medicală primară, și în rândul rezidenților aflați în cicluri de precertificare, cicluri de tematică, va contribui la îmbunătățirea cunoștințelor despre IDP, care este cheia diagnosticului precoce, administrarea unui tratament adecvat în timp util, prevenirea complicațiilor, îmbunătățirea evoluției bolii și a vieții copilului.

## CONCLUZII

Rezultatele studiului au relevat o conștientizare joasă a medicilor practicieni, și a rezidenților absolvenți al USMF "Nicolae Testemițanu" referitor la imunodeficiențele primare. Cele mai bune cunoștințe au fost demonstrate de medicii pediatri, urmate de medicii rezidenți la disciplina Sinteze Clinice.

Cea mai mică conștientizare a fost demonstrată în toate grupurile de respondenți cu privire la caracteristicile specifice ale IDP. Cele mai bune cunoștințe au fost demonstrate în tratamentul și vaccinarea copiilor cu IDP, în special de către rezidenți și medicii pediatri.

Studiul a permis identificarea legăturilor slabe în pregătirea medicilor în diagnosticul și managementul copiilor și adulților cu IDP și identificarea domeniilor de îmbunătățire a cunoștințelor despre IDP ale rezidenților și medicilor, care vor îmbunătăți calitatea și speranța de viață a copiilor cu aceste boli.

primary immunodeficiencies, which made it possible to determine directions for solving the problem.

Thus, an increase in the number of academic hours for the study of the immune system and the semiotics of diseases among the beneficiaries of medical institutions, doctors of various specialties, primarily in primary health care, and among residents in pre-certification cycles, thematic cycles, will contribute to improving knowledge about PID, which is the key to early diagnosis, administering adequate treatment in a timely manner, preventing complications, improving the evolution of the disease and the life of the child.

## CONCLUSIONS

The results of the study revealed a low awareness of medical practitioners, and of the graduating residents of SUMPh "Nicolae Testemitanu" regarding primary immunodeficiencies. The best knowledge was demonstrated by pediatricians, followed by resident physicians in the Clinical Synthesis discipline.

The lowest awareness was demonstrated in all respondent groups regarding the specific characteristics of PID. The best knowledge was demonstrated in the treatment and vaccination of children with PID, especially by residents and pediatricians.

The study allowed the identification of weak links in the training of physicians in the diagnosis and management of children and adults with PID and the identification of areas for improvement of knowledge about PID of residents and physicians, which will improve the quality and life expectancy of children with these diseases.

**Cuvinte cheie:** imunodeficiență primară, chestionare, cunoștințe

**Keywords:** primary immunodeficiency, questionnaire, knowledge

**Tabelul 1. Lista întrebărilor, numărul și procentul răspunsurilor corecte oferite de medicii specialiști**

**Table 1. Survey questions, number and percentage of of correct answers given by the surveyed doctors**

N	Întrebarea/ Question	Răspunsuri corecte/ Correct answers			
		Medici specialiști Pediatri/ Medical Doctors Pediatricians (n=25)		Medici de Laborator/ Medical Doctors Lab (n=12)	
		abs/ abs	%	abs/ abs	%
1.	Imunodeficiențele primare (IDP) se întâlnesc numai la copii/ Primary immunodeficiencies occur only in children	19	76	8	66,6
2.	Telangiectaziile pot fi caracteristice pentru ataxie-telangiectazie (sindromul Louis-Barr)/ Telangiectasia may be specific to ataxia-telangiectasia syndrome (Louis-Bar syndrome)	19	76	10	83,3
3.	Absența timusului confirmă sindromul DiGeorge/ The absence of thymus confirms DiGeorge syndrome	12	48	9	75
4.	Imunodeficiența variabilă generală (CVID) mai frecvent este diagnosticată la copii/ Common variable immunodeficiency is most oftenly diagnosed in children	8	32	9	75
5.	Mălăchii tumorale pot fi criterii de IDP/ Oncological diseases can be a sign of PID	14	56	11	91,6
6.	Alfa-fetoproteina se determină în concentrații sporite în ataxie telangiectazie/ AFP (alpha-fetoprotein) appears in high concentrations in A-T syndrome	16	64	1	8,3
7.	Patru si mai multe otite pe parcursul anului pot fi criterii suspecte ale IDP/ Four or more new ear infections within 1 year may be a warning sign of PID	16	64	10	83,3
8.	Retardul ponderal poate fi criteriu al IDP/ Failure of a child to gain weight normally may be a sign of PID	18	72	8	66,6
9.	Abcesele recurente ale pielii si organelor (fără dereglarea integrității țesuturilor din cauza traumei) pot fi criterii al IDP/ Repeated abscesses of skin and organs (without damage to the tissue integrity caused by trauma) may be a sign of PID	21	84	3	25
10.	Multiple (6 si mai mult) pete "cafea cu lapte" sunt mai specifice pentru sindromul Nijmegen/ Numerous (6 and more) of 'coffee-with-milk' colored spots are specific to Nijmegen breakage syndrome (NBS)	18	72	9	75
11.	Două si mai multe cazuri de pneumonie pe parcursul anului pot fi unica manifestare clinică a IDP la copii/ Two or more cases of pneumonia in a year may be the only clinical manifestation of PID	10	40	7	58,3
12.	Patru si mai multe episoade inflamatorii (otita, bronhita, pneumonie) la adult pot fi criterii de IDP/ Four or more episodes of infection (otitis, bronchitis, pneumonia) in an adult patient may be a sign of PID	16	64	8	66,6
13.	Două si mai multe pneumonii (confirmate radiologic) pe parcursul a trei ani la adult pot fi criterii al IDP/ In adults, two or more cases of pneumonia (radiographically confirmed) within three years may be a sign of PID	6	24	2	16,6
14.	Copii cu diagnostic de microcefalie trebuie să fie testați genetic/ Children diagnosed with microcephaly should undergo genetic testing	25	100	10	83,3
15.	Infecțiile cu localizare atipică sau indusă de un patogen atipic pot fi criterii de IDP/ Infections with atypical localization or caused by atypical pathogens may be a sign of PID	22	88	2	16,6
16.	Dinamorfismul facial este caracteristic pentru imunodeficiență variabilă generală/ Dysmorphic facial features are specific to common variable immunodeficiency (CVID)	8	32	0	0
17.	Unica metodă de terapie a IDP cu evoluție critică este tratamentul cu immunoglobulină pentru administrarea i.v. sau s.c./ The only method of treatment for PID with antibody deficiency is therapy with intravenous or subcutaneous immunoglobulin agents	20	80	1	8,3
18.	Indicii normali morfologici a leucocitelor, hemoglobinei, trombocitelor, hematocritului, sunt suficienți pentru excluderea neutropeniei/ Normal levels of leukocytes (WBC), hemoglobin, platelets, HCT are sufficient to exclude neutropenia	17	68	6	50
19.	Vaccinurile vii sunt contraindicate în sindromul Nijmegen/ Live vaccines are contraindicated for patients with NBS	21	84	9	75
20.	Inflamația, trombocitopenia și eczema pot fi manifestări ale sindromului Wiskott-Aldrich/ Inflammation + thrombocytopenia + eczema may be the signs of Wiskott-Aldrich syndrome	24	96	9	75
21.	În sindromul Nijmegen se permite examinarea radiologică a cutiei toracice/ In cases of Nijmegen syndrome chest X-ray examination is allowed	15	60	9	75
22.	Copiii cu IDP pot fi administrați vaccinuri vii/ Live vaccines can be administered to children with severe PID	20	80	9	75
23.	Vaccinarea anti-pneumococci trebuie să fie realizată copiilor cu IDP care au păstrat capacitatea de sinteză a anticorpilor în contextul grupelor de risc/ Vaccination against pneumococcus should be given to children with PID that have retained the ability to synthesize antibodies (within the risk group)	23	92	10	83,3
24.	Toți adulții cu asplenie primară sau secundară trebuie vaccinați contra pneumococilor, meningococilor/ All adults with primary and secondary asplenia should be vaccinated against pneumococcus and meningococcus	19	76	1	8,3
25.	Mălăchii autoimune mai frecvent se înregistrează la pacienți cu IDP/ Autoimmune diseases are much more common in patients with PID	18	72	3	41,6

## REFERENCES

- SHARMA, D., JINDAL, A.K., et al. Approach to a Child with Primary Immunodeficiency Made Simple. In: *Indian Dermatol Online J.* 2017; 8(6): 391-405. doi: 10.4103/idoj.IDOJ\_189\_17. PMID: 29204384; PMCID: PMC5707833.
- KHALILZADEH, S., BOLOORSAZ, M.R., BAGHAIE, N., et al. Primary immunodeficiency in children: report of seven years study. In: *Tanaffos.* 2011;10(2): 38-43. PMID: 25191361; PMCID: PMC4153139.
- PICARD, C., BOBBY GASPARD, H., AL-HERZ, W., et al. International Union of Immunological Societies: 2017 Primary Immunodeficiency Diseases Committee Report on

- Inborn Errors of Immunity. In: *J Clin Immunol.* 2018; 38(1): 96-128. doi: 10.1007/s10875-017-0464-9. Epub 2017 Dec 11. PMID: 29226302; PMCID: PMC5742601.
4. El-Helou, S.M., Biegner, A.K., Bode S., et al. The German National Registry of Primary Immunodeficiencies (2012-2017). In: *Front Immunol.* 2019; 10:1272. doi: 10.3389/fimmu.2019.01272. PMID: 31379802; PMCID: PMC6659583.
  5. PICARD, C., AL-HERZ, W., BOUSFIHA, A., et al. Primary Immunodeficiency Diseases: an Update on the Classification from the International Union of Immunological Societies Expert Committee for Primary Immunodeficiency 2015. In: *J Clin Immunol.* 2015; 35(8): 696-726. doi: 10.1007/s10875-015-0201-1. Epub 2015 Oct 19. PMID: 26482257; PMCID: PMC4659841.
  6. BOUSFIHA, A.A., JEDDANE, L., AILAL, F., et al. Primary immunodeficiency diseases worldwide: more common than generally thought. *J Clin Immunol.* 2013 Jan;33(1):1-7. DOI: 10.1007/s10875-012-9751-7
  7. MODELL, V., ORANGE, J.S., QUINN, J. MODELL, F. Global report on primary immunodeficiencies: 2018 update from the Jeffrey Modell Centers Network on disease classification, regional trends, treatment modalities, and physician reported outcomes. In: *Immunologic Research.* 2018; 66:367-380. DOI: 10.1007/s12026-018-8996-5
  8. КИНАШ, М., БОЯРЧУК, О., ХАРИЯН, Т., ДОБРОВОЛСКА, Л. Issues of improving knowledge about primary immunodeficiencies. In: *Voprosy Prakticheskoi Pediatrii.* 2019; 14: 55-62. 10.20953/1817-7646-2019-6-55-62.

## ABORDĂRI DE PRINCIPIU ÎN DIAGNOSTICUL DE LABORATOR AL MALADIEI GRANULOMATOASE CRONICE

**Elena Privalova, Veronica Leurda,  
Ludmila Calistru, Svetlana Capcelea,  
Valentina Surdu, Ana Scripcari, Olga  
Iarmaliuc, Ana Crijevițchi, Nicolae  
Calistru**

**Laboratorul de alergologie și imunologie  
clinică, Universitatea de Stat de Medicină  
și Farmacie "Nicolae Testemitanu"**

**Rezumat:** Boala granulomatoasă cronică (BGC) este o imunodeficiență primară, cauzată de defecte genetice ale complexului NADPH (nicotinamidă adenin dinucleotidă fosfat) oxidază. Această maladie rară apare, de

## PRINCIPLE APPROACHES IN THE LABORATORY DIAGNOSIS OF CHRONIC GRANULOMATOUS DISEASE

**Elena Privalova, Veronica Leurda,  
Ludmila Calistru, Svetlana Capcelea,  
Valentina Surdu, Ana Scripcari, Olga  
Iarmaliuc, Ana Crijevițchi, Nicolae  
Calistru**

**Laboratory of Allergology and Clinical  
Immunology, "Nicolae Testemitanu" State  
University of Medicine and Pharmacy**

**Abstract:** Chronic granulomatous disease (CGD) is a primary immunodeficiency caused by genetic defects of the NADPH (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate) oxidase complex. This rare disease usually

obicei, în primii ani de viață cu o incidență de 1:200.000 – 1:250.000 născuți vii și se caracterizează prin incapacitarea organismului de distrugere a bacteriilor și fungilor. Studiul de caz asupra unui pacient cu suspiciune de BGC a urmărit evaluarea și analiza atentă a probelor de laborator ale acestuia, precum și pe cele ale membrilor familiei sale pentru descifrarea suportului caracterului ereditar al patologiei. Anamneza și manifestările clinice ale pacientului cu vârstă de 2 ani anunță istoricul unor multiple infecții recidivante piogene, localizate și sistemice, provocate de *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*. Hemograma desfășurată atestă semne de leucocitoză, limfocitoza și accelerarea VSH, ceea ce indică o reacție inflamatorie. Testarea statusului imun a demonstrat elevarea nivelului de limfocite CD19<sup>+</sup>. Mobilitatea și activitatea fagocitară a polimorfonuclearelor (numărul și indicele fagocitar) s-au încadrat în normativele regionale, în schimb proba cu nitro blue tetrazolium (NBT) denotă absența leucocitelor cu funcție de oxidare în procesul de fagocitoză. Pentru precizarea diagnosticului s-a procedat la testarea molecular-genetică cu secvențierea a 574 de gene (SUA), conform căreia, pe lângă mai multe variații genice de semnificație incertă, a fost identificată o mutație missense c.1241C>A (p.Thr414Lys), hemizigotă în gena CYBB localizată pe cromozomul X, care codifică glicoproteina gp91phox asociată cu boala granulomatoasă cronică recesivă X-linkată.

**Introducere.** Boala granulomatoasă cronică (BGC) este o imunodeficiență primară, cauzată de defecte genetice ale complexului NADPH oxidază [3]. Această boală rară se manifestă, de obicei, în primii ani de viață cu o incidență de 1:200 000 – 1:250 000 născuți vii [7, 8], uneori, în funcție de tipul de mutație, poate debuta la o vârstă mai mare [8] și determină incapacitatea organismului de a distruge bacteriile și fungile. Se manifestă prin infecții recurente și hiperinflamație. Cei mai

occurs in the first years of life with an incidence of 1:200,000 – 1:250,000 live births and is characterized by the inability of the body to destroy bacteria and fungi. The case study of a patient with suspected BGC followed the evaluation and careful analysis of his laboratory samples as well as those of his family members to decipher the support for the hereditary nature of the pathology. The history and clinical manifestations of the 2-year-old patient indicate a history of multiple recurrent pyogenic, localized and systemic infections caused by *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*. The complete blood count shows signs of leukocytosis, lymphocytosis and increased ESR, which indicates an inflammatory reaction. Immune status testing demonstrated elevated CD19<sup>+</sup> lymphocytes. The mobility and phagocytic activity of polymorphonuclear cells (number and phagocytic index) were within the regional norms, instead the sample with nitro blue tetrazolium (NBT) denotes the absence of leukocytes with oxidation function in the phagocytosis process. To clarify the diagnosis, molecular-genetic testing was performed with the sequencing of 574 genes (USA), according to which, in addition to several genetic variations of uncertain significance, a missense mutation c.1241C>A (p.Thr414Lys) was identified, hemizygous in the CYBB gene located on the X chromosome, which encodes the gp91phox glycoprotein associated with X-linked recessive chronic granulomatous disease.

**Introduction.** Chronic granulomatous disease (CGD) is a primary immunodeficiency, caused by genetic defects of the NADPH oxidase complex [3]. This rare disease usually manifests itself in the first years of life with an incidence of 1:200,000 – 1:250,000 live births [7, 8], sometimes, depending on the type of mutation, it can start at an older age [8] and causes the body's inability to destroy bacteria and fungi. It is manifested by recurrent

frecvent printre agenții patogeni ce se implică în evoluția BGC sunt raportați: *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella*, *Aspergillus*, *Candida*, *Serratia* etc. [3, 7, 9] Hiperactivarea factorului de transcripție NF- $\kappa$ B și a inflamazomilor din fagocite în BGC are ca rezultat pe termen lung producția de citokine proinflamatorii și formarea granulomului, uneori și cu manifestări de colită etc. Pacienții cu BGC și femeile purtătoare de gena cauzală au, de asemenea, o incidență mai mare a bolilor autoimune [6, 10].

Din punct de vedere genetic BGC este o maladie heterogenă, fiind indusă de mutații în cinci gene structurale (CYBB, CYBA, NCF1, NCF2 și NCF4), care determină scăderea funcției fagocitelor sau incapacitatea lor de a genera o explozie respiratorie cu distrugerea bacteriilor și fungilor. Mai cunoscută este forma recesivă X-linkată (XR-CGD), cauzată de mutația genei CYBB, care codifică proteina gp91 (phox) și forma autosomal recesivă (AR-CGD), cauzată de mutațiile de pe CYBA, NCF1, NCF2 sau NCF4, care codifică proteina p22 (phox), p47 (phox), p67 (phox), respectiv p40 (phox) [2, 4, 11].

În focarul infecțios, atunci când complexul enzimatic NADPH oxidază este activat, contactul neutrofilelor cu microorganismele sau mediatorii inflamatori provoacă o explozie în lanțul respirator. Ultima epuizează oxigenul din mediu pentru a forma superoxid, forma reactivă a oxigenului. Complexul NADPH oxidază din celulele fagocitare normale este o enzimă care constă din cinci subunități. Atunci când aceste subunități interacționează în timpul activării celulare, se formează superoxidul, produs de reducere a oxigenului necesar pentru distrugerea agenților patogeni atât în interiorul fagozomului, cât și în afara fagocitului [5, 7]. O metodă clasică și foarte accesibilă pentru măsurarea activității NADPH oxidazei este testul cu tetrazolium nitro blue (NBT), care

infections and hyperinflammation. The most frequent among the pathogens involved in the evolution of BGC are reported: *Staphylococcus aureus*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella*, *Aspergillus*, *Candida*, *Serratia*, etc. [3, 7, 9] Hyperactivation of the transcription factor NF- $\kappa$ B and inflammasomes from phagocytes in BGC results in the long-term production of pro-inflammatory cytokines and granuloma formation, sometimes with manifestations of colitis, etc. BGC patients and female carriers of the causative gene also have a higher incidence of autoimmune diseases [6, 10].

From a genetic point of view, BGC is a heterogeneous disease, being induced by mutations in five structural genes (CYBB, CYBA, NCF1, NCF2 and NCF4), which cause a decrease in the function of phagocytes or their inability to generate a respiratory burst with the destruction of bacteria and fungi. Better known is the X-linked recessive form (XR-CGD), caused by mutation of the CYBB gene, which encodes the gp91 (phox) protein, and the autosomal recessive form (AR-CGD), caused by mutations on CYBA, NCF1, NCF2 or NCF4, which encode the protein p22 (phox), p47 (phox), p67 (phox), respectively p40 (phox) [2, 4, 11].

In the infectious focus, when the NADPH oxidase enzyme complex is activated, the contact of neutrophils with microorganisms or inflammatory mediators causes an explosion in the respiratory chain. The latter depletes the oxygen in the environment to form superoxide, the reactive form of oxygen. The NADPH oxidase complex in normal phagocytic cells is an enzyme that consists of five subunits. When these subunits interact during cellular activation, superoxide is formed, the oxygen reduction product required to destroy pathogens both inside the phagosome and outside the phagocyte [5, 7]. A classic and very accessible method for measuring NADPH oxidase activity is the nitro blue tetrazolium

detectează superoxidul [7]. În timpul reacției reagentul NBT galben deschis este redus de superoxid, formând un precipitat de formazan albastru închis în celule, care devine vizibil în frotiurile de sânge și enumerate la microscop [3]. Datorită simplității și disponibilității sale, testul NBT poate fi utilizat pentru a depista BGC în combinație cu datele anamnestice, clinice și imunologice. În condiții moderne, pentru confirmarea ulterioară a diagnosticului se utilizează consilierea genetică, diagnosticul prenatal și selecția unui donator de măduvă osoasă pentru transplant. Detectarea unei mutații generatoare de patologie se efectuează prin testare molecular-genetică care va identifica principalele gene ce cauzează BGC [2, 7].

**Scopul studiului relatat** a fost cel de a analiza și aborda complex datele probelor de laborator uzuale și a celor specifice aplicate pentru diagnosticul pacientului cu suspiciune de BCG și al membrilor familiei acestuia.

**Materiale și metode:** ca material de studiu au fost utilizate mostrele sangvine ale pacientului, părinților, fratelui și surorii pacientului, pentru analiza hemogramei, evaluarea statusului imun prin cuantificarea populațiilor și subpopulațiilor de limfocite CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>/CD56<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, a concentrației serice de imunoglobuline de clasa M, G, A și a IgE-totale, estimarea activității fagocitare a PMN, testul NBT, precum și detecția molecular-genetică a genei mutante (numai a pacientului), rezultatele urmând a fi confruntate cu manifestările clinice. Din focarele infecțioase au fost recoltate mase necrotice pentru însămânțarea microflorei cu aprecierea sensibilității la antibiotice.

**Rezultatele obținute. Descrierea cazului clinic.**

**Pacientul P.B.**, cu vârstă de 2 ani, sex masculin, suferă postnatal de piodermie, pneumonie bacteriană, osteomielite piciorului

(NBT) assay, which detects superoxide [7]. During the reaction the light yellow NBT reagent is reduced by superoxide, forming a dark blue formazan precipitate in the cells, which becomes visible in blood slides under the microscope and enumerated [3]. Due to its simplicity and availability, the NBT test can be used to detect BGC in combination with anamnestic, clinical and immunological data. In modern conditions, genetic counseling, prenatal diagnosis and selection of a bone marrow donor for transplantation are used for further confirmation of the diagnosis. The detection of a pathology-generating mutation is carried out by molecular-genetic testing that will identify the main genes that cause BGC [2, 7].

**The purpose of the related study** was to analyze and comprehensively address the data of common and specific laboratory tests applied for the diagnosis of the patient with suspected BCG and his family members.

**Materials and methods:** the blood samples of the patient, the parents, the patient's brother and sister were used as study material, for the hemogram analysis, the evaluation of the immune status by quantifying the populations and subpopulations of lymphocytes CD3<sup>+</sup>, CD4<sup>+</sup>, CD8<sup>+</sup>, CD16<sup>+</sup>/CD56<sup>+</sup>, CD19<sup>+</sup>, a the serum concentration of class M, G, A immunoglobulins and total IgE, estimation of PMN phagocytic activity, NBT test, as well as molecular-genetic detection of the mutated gene (patient only), the results to be compared with the clinical manifestations. Necrotic masses were collected from the infectious foci for seeding the microflora with the assessment of sensitivity to antibiotics.

**The results obtained. Description of the clinical case.**

**Patient P.B.**, 2 years old, male, postnatally suffers from pyoderma, bacterial pneumonia, osteomyelitis of the foot and facial bones, septicemia, acute lymphadenitis, persistently

și a oaselor faciale, de septicemie, limfadenită acută, infecție cu CMV care recidivează insistent, anemie etc. Printre agenții patogeni incriminați cauzativ sunt *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*. În baza manifestărilor clinice cu multiple recidivări ale infecției s-a emis suspiciunea de maladie granulomatoasă cronică. Pentru confirmarea diagnosticului au fost operate șiruri de cercetări care să descifreze etiologia și patogenia maladiei.

Testarea hemogramei pacientului la adresarea primară la vârsta de 6 luni (tab. 1) a constatat indici încadrabili în parametrii de referință. Indicatorii imunogramei (tab. 2) denotă doar majorarea numărului de limfocite B (CD19<sup>+</sup>) până la 2,34 x10<sup>9</sup>/l, ceea ce anunță despre o stimulare antigenică evidentă a verigii celulare B (umorale). Testarea activității fagocitare a PMN și monocitelor (tab. 3) denotă mobilitate și capacitate de ingerare a celulelor fagocitare la nivelul valorilor de referință (89% vs 63,7-90,1% și 5,63 vs 1,9–7,3). Utilizarea testului NBT pentru studiul activității enzimatică a fagocitelor a constatat absența celulelor care asigură explozia respiratorie cu distrugerea agenților patogeni. Nu are loc reducerea colorantului nitro blue tetrazolium galben deschis în formazan de culoare albastru închis.

**Tabelul 1.** Monitorizarea indicilor hemogramei pacientului cu suspiciune de BGC la diferite etape de vârstă

Indicatorii hematologici, unități de măsură	Vârsta	Valori de referință	Vârsta	Valori de referință	Vârsta	Valori de referință
	6 luni		1 an		2 ani	
Leucocite x10 <sup>9</sup> /l	<b>11,2</b>	7,0-12,0	<b>21,2</b>	7,0-12,0	<b>18,2</b>	7,0-12,0
Limfocite abs. x10 <sup>9</sup> /l	<b>6,42</b>	3,6-8,8	<b>13,8</b>	2,18-8,27	<b>8,75</b>	2,18-8,27
Monocite abs. x10 <sup>9</sup> /l	<b>0,69</b>	0,29-0,5	<b>1,99</b>	0,29-0,5	<b>1,88</b>	0,29-0,5
Neutrofile abs. x10 <sup>9</sup> /l	<b>3,75</b>	1,4-4,8	<b>4,83</b>	1,6-5,1	<b>6,55</b>	1,6-5,1
Eozinofile abs. x10 <sup>9</sup> /l	<b>0,28</b>	0,02-0,3	<b>0,53</b>	0,02-0,3	<b>1,0</b>	0,02-0,3
Eritrocite 10 <sup>12</sup> /l	<b>4,24</b>	3,8-5,1	<b>4,99</b>	3,7-5,0	<b>5,08</b>	3,7-5,0
Hb, g/l	<b>106</b>	11,0-13,5	<b>119</b>	11,0-13,5	<b>106</b>	11,0-13,5
Trombocite, x10 <sup>9</sup> /l	<b>378</b>	150-400	<b>360</b>	150-400	<b>449</b>	150-400

recurring CMV infection, anemia, etc. Among the causatively incriminated pathogens are *Staphylococcus epidermidis*, *Enterobacter aerogenes*, *Klebsiella pneumoniae*. Based on the clinical manifestations with multiple relapses of the infection, the suspicion of chronic granulomatous disease was issued. To confirm the diagnosis, a series of researches were carried out to decipher the etiology and pathogenesis of the disease.

Testing the patient's hemogram at the primary visit at the age of 6 months (tab. 1) found indices within the reference parameters. The indicators of the immunogram (tab. 2) denote only the increase in the number of B-lymphocytes (CD19<sup>+</sup>) up to 2.34 x10<sup>9</sup>/l, which announces an obvious antigenic stimulation of the B-cell (humoral) link. Testing the phagocytic activity of PMN and monocytes (tab. 3) shows mobility and ingesting capacity of phagocytic cells at the level of reference values (89% vs 63.7-90.1% and 5.63 vs 1.9–7.3). The use of the NBT test to study the enzymatic activity of phagocytes found the absence of cells that ensure the respiratory burst with the destruction of pathogens. Reduction of light yellow nitro blue tetrazolium dye to dark blue formazan does not occur.

**Tabel 1**

Monitoring the hemogram indices of the patient with suspected BGC at different age stages

Hct, %	<b>33,4</b>	34-42	<b>37,2</b>	33-39	<b>34,2</b>	33-39
--------	-------------	-------	-------------	-------	-------------	-------

Pe fundalul terapiei antibacteriene și antifungice starea pacientului s-a îmbunătățit, s-a redus și numărul de recidivări, dar la vârsta de un an, în contextul acutizării procesului infecțios cronic, se constată stimularea indicilor hematologici și imunologici (majorarea numărului de leucocite, limfocite, monocite, eozinofile). Cantitatea de limfocite T (CD3), inclusiv subpopulațiile de helpere CD4<sup>+</sup> și celule citotoxice CD8<sup>+</sup>, s-a elevat semnificativ comparativ cu valorile de referință (de 1,5-2,3 ori). Concomitent a crescut și numărul limfocitelor B - CD19<sup>+</sup> (2,55 vs 1,34 x10<sup>9</sup>/l) cu majorarea concentrației de IgA (1,26 vs 1,0 g/l).

Against the background of antibacterial and antifungal therapy, the patient's condition improved, the number of relapses also decreased, but at the age of one year, in the context of the exacerbation of the chronic infectious process, the stimulation of hematological and immunological indices (increase in the number of leukocytes, lymphocytes, monocytes, eosinophils ). The amount of T lymphocytes (CD3), including subpopulations of CD4<sup>+</sup> helper and CD8<sup>+</sup> cytotoxic cells, was significantly elevated compared to reference values (1.5-2.3 times). Simultaneously, the number of B lymphocytes - CD19<sup>+</sup> increased (2.55 vs 1.34 x10<sup>9</sup>/l) with the increase in IgA concentration (1.26 vs 1.0 g/l).

**Tabelul 2.** Monitorizarea indicatorilor imunogramei la pacientul suspect de BGC

**Tabel 2.** Monitoring of immunogram indicators in the patient suspected of BGC



Indicatorii imunologici	Vârsta 6 luni	Valori de referință	Vârsta 1 an	Valori de referință	Vârsta 2 ani	Valori de referință
Leucocite, x10 <sup>9</sup> /l	<b>11,2</b>	7,0-12,0	<b>21,2</b>	7,0-12,0	<b>18,2</b>	7,0-12,0
Limfocite, abs.	<b>6,42</b>	3,6-8,8	<b>13,8</b>	2,18-8,27	<b>8,8</b>	2,18-8,27
CD3, abs. x10 <sup>9</sup> /l	<b>3,65</b>	2,2-6,4	<b>10,08</b>	1,46-5,44	<b>5,02</b>	1,46-5,44
CD4, abs. x10 <sup>9</sup> /l	<b>2,24</b>	1,7-4,6	<b>4,67</b>	1,0-3,6	<b>2,71</b>	1,0-3,6
CD8, abs. x10 <sup>9</sup> /l	<b>1,26</b>	0,72-2,49	<b>4,96</b>	0,58-2,16	<b>2,11</b>	0,58-2,16
CD16/56, abs. x10 <sup>9</sup> /l	<b>0,25</b>	0,04-0,9	<b>0,84</b>	0,8-1,0	<b>0,74</b>	0,8-1,0
CD19, abs. x10 <sup>9</sup> /l	<b>2,34</b>	0,5-1,5	<b>2,55</b>	0,54-1,34	<b>2,77</b>	0,54-1,34
IIR (CD4/CD8)	<b>1,77</b>	1,2-3,5	<b>0,94</b>	1,0-3,0	<b>1,28</b>	1,0-3,0
IgM, g/l	<b>0,81</b>	0,15-1,73	<b>1,46</b>	0,6-1,8	<b>5,3</b>	0,6-1,8
IgG, g/l	<b>9,3</b>	3,2-12,8	<b>10,03</b>	4,6-14,6	<b>9,4</b>	4,6-14,6
IgA, g/l	<b>0,27</b>	0,09-0,72	<b>1,26</b>	0,1-1,0	<b>1,13</b>	0,1-1,0
IgE, UI/ml	<b>3,0</b>	0-30,0	<b>31,6</b>	0-40,0	<b>488</b>	0-40,0

**Tabelul 3.** Activitatea fagocitară a neutrofilelor și monocitelor la pacientul cu suspiciune de BGC

**Tabel 3.** Phagocytic activity of neutrophils and monocytes in the patient with suspected BGC

Indicatori	Activitatea fagocitară a neutrofilelor		Testul NBT spontan
	Numărul fagocitar	Indicele fagocitar	
<b>Pacient P.B.</b>	<b>89%</b> (Valori de referință 63,7 - 90,1%)	<b>5,63</b> (Valori de referință 1,9 – 7,3 un.conv.)	<b><u>Celule NBT-pozitive nu au fost depistate</u></b> (Valori de referință 0,05 - 0,15 un.conv.)

Pentru stabilirea diagnosticului s-a recurs la testarea molecular-genetică cu secvențierea a 574 de gene (Panel Congenital Immune Disorders and Cytopenia), efectuată de către compania Invitae, (SUA). Au fost constatate mai multe mutații de semnificație incertă, dar și o mutație missense c.1241C>A (p.Thr414Lys), hemizigotă, în gena CYBB localizată pe cromosomul X, care codifică glicoproteina gp91phox, asociată cu boala granulomatoasă cronică recesivă linkată X. Datele obținute au orientat emiterea diagnosticului clinic de BGC, formă X-linkată.

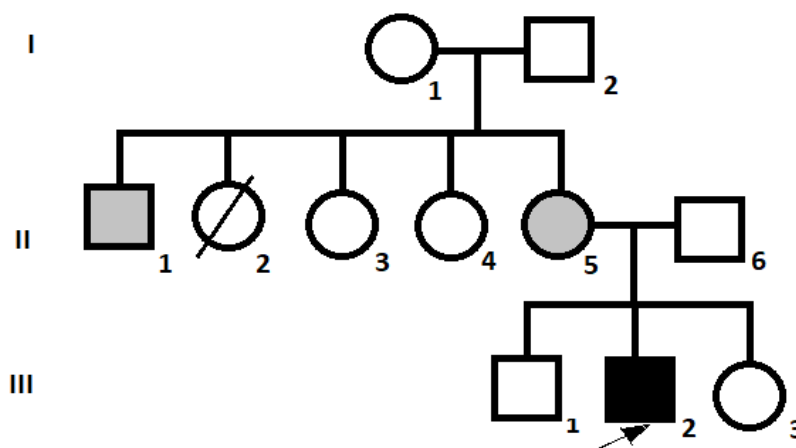
A fost inițiat controlul hematologic, imunologic și urmărită activitatea fagocitară la

To establish the diagnosis, molecular-genetic testing was used with the sequencing of 574 genes (Panel Congenital Immune Disorders and Cytopenia), performed by the company Invitae, (USA). Several mutations of uncertain significance were found, but also a missense mutation c.1241C>A (p.Thr414Lys), hemizygous, in the CYBB gene located on the X chromosome, which encodes the gp91phox glycoprotein, associated with X-linked recessive chronic granulomatous disease. The obtained data guided the issuance of the clinical diagnosis of BGC, X-linked form.

The hematological and immunological control was initiated and the phagocytic activity was followed in the patient's family members with

membrii de familie a pacientului cu diferit grad de rudenie (gradul I - mama și tata, gradul II - sora și fratele). A fost analizată anamneza familială cu referire la starea de sănătate a rudelor pacientului, fiind schițat un arbore genealogic prezentat în fig. 1.

different degrees of kinship (first degree - mother and father, second degree - sister and brother). The family anamnesis was analyzed with reference to the health status of the patient's relatives, and a genealogical tree presented in fig. 1.



**Figura 1. Anamneza familială a pacientului P.B. (III-2).** Mama pacientului (II – 5) a suportat boală renală recurentă înainte de vârsta de 14 ani, are și antecedente de tuberculoză; unchiul pacientului (II-1) a suferit în copilărie de furunculoză, piodermie recurentă; o mătușă (II-2) a decedat în copilărie din cauză nedocumentată; ceilalți membri ai familiei sunt aparent sănătoși.

**Figure 1. Family history of patient P.B. (III-2).** The patient's mother (II – 5) suffered recurrent kidney disease before the age of 14, she also has a history of tuberculosis; the patient's uncle (II-1) suffered from furunculosis, recurrent pyoderma in childhood; an aunt (II-2) died in childhood from an undocumented cause; other family members are apparently healthy.

Datele reflectate în fig. 1 invocă necesitatea testării molecular-genetice a rudelor de pe linia mamei cu aprecierea genelor caracteristice defectelor sistemului fagocitar.

The data reflected in fig. 1 invokes the need for molecular-genetic testing of relatives on the mother's side with the appreciation of the genes characteristic of phagocytic system defects.

Testarea imunologică a pacientului cu vârstă de 2 ani denotă stimularea tuturor mugurilor hematopoiezei, precum și creșterea numărului de limfocite B și a concentrației serice sangvine de IgM, IgA, IgE-totale (tabl. 1, 2).

Immunological testing of the 2-year-old patient shows stimulation of all hematopoiesis buds, as well as an increase in the number of B lymphocytes and the blood serum concentration of IgM, IgA, IgE-total (tables 1, 2).

**Tabelul 4.** Indicii hemogramei membrilor familiei pacientului

**Table 4.** Hemogram indices of the patient's family members

Indicii hematologici, unități de măsură	Pacient, 2 ani	Valori de referință	Mamă	Tată	Valori de referință	Sora, 15 ani	Fratele, 12 ani	Valori de referință
<b>Leucocite, x10<sup>9</sup>/l</b>	<b>18,2</b>	7,0-12,0	<b>5,9</b>	<b>4,8</b>	4,0-9,0	<b>5,3</b>	<b>5,4</b>	5,2-8,0
<b>Limfocite, abs,</b>	<b>8,75</b>	2,18-8,27	<b>2,1</b>	<b>2,09</b>	1,2-3,0	<b>2,15</b>	<b>2,5</b>	2,0-2,7
<b>Monocite, abs, x10<sup>9</sup>/l</b>	<b>1,88</b>	0,29-0,5	<b>0,56</b>	<b>0,63</b>	0,09-0,6	<b>0,51</b>	<b>0,8</b>	0,29-0,5
<b>Neutrofile, abs,</b>	<b>6,55</b>	1,6-5,1	<b>3,15</b>	<b>1,96</b>	2,04-5,8	<b>2,44</b>	<b>1,86</b>	2,3-4,8
<b>Eozinofile, abs,</b>	<b>1,0</b>	0,02-0,3	<b>0,08</b>	<b>0,11</b>	0,02-0,3	<b>0,19</b>	<b>0,23</b>	0,02-0,3
<b>Eritrocite, 10<sup>12</sup>/l</b>	<b>5,08</b>	3,7-5,0	<b>4,17</b>	<b>4,91</b>	4,0-5,1	<b>4,78</b>	<b>4,9</b>	4,1-5,3
<b>Hb, g/l</b>	<b>10,6</b>	11,0-13,5	<b>127</b>	<b>155</b>	132-164	<b>146</b>	<b>139</b>	120-160
<b>Trombocite, x10<sup>9</sup>/l</b>	<b>449</b>	150-400	<b>336</b>	<b>308</b>	150-400	<b>312</b>	<b>356</b>	150-400
<b>Hct, %</b>	<b>34,2</b>	33-39	<b>39,3</b>	<b>46,6</b>	35-45	<b>43,8</b>	<b>42,7</b>	35-45

**Tabelul 5.** Indicatorii statusului imun al pacientului și al membrilor familiei lui

**Tabel 5.** Indicators of the immune status of the patient and his family members

Indicatorii imunologici	Pacient, 2 ani	Valori de referință	Mama	Tata	Valori de referință	Sora, 15 ani	Fratele, 12 ani	Valori de referință
<b>Leucocite, x10<sup>9</sup>/l</b>	<b>18,2</b>	7,0-12,0	<b>5,9</b>	<b>4,8</b>	4,0-9,0	<b>5,3</b>	<b>5,4</b>	5,2-8,0
<b>Limfocite, abs, x10<sup>9</sup>/l</b>	<b>8,8</b>	2,18-8,27	<b>2,1</b>	<b>2,1</b>	1,2-3,0	<b>2,2</b>	<b>2,5</b>	2,0-2,7
<b>CD3, abs, x10<sup>9</sup>/l</b>	<b>5,02</b>	1,46-5,44	<b>1,67</b>	<b>1,39</b>	0,95-1,8	<b>1,44</b>	<b>1,62</b>	1,4-2,0
<b>CD4, abs, x10<sup>9</sup>/l</b>	<b>2,71</b>	1,0-3,6	<b>1,1</b>	<b>0,83</b>	0,57-1,1	<b>0,87</b>	<b>0,75</b>	0,7-1,1
<b>CD8, abs, x10<sup>9</sup>/l</b>	<b>2,11</b>	0,58-2,16	<b>0,54</b>	<b>0,48</b>	0,45-0,85	<b>0,51</b>	<b>0,78</b>	0,6-1,9
<b>CD16/56, abs, x10<sup>9</sup>/l</b>	<b>0,74</b>	0,8-1,0	<b>0,13</b>	<b>0,38</b>	0,18-0,42	<b>0,5</b>	<b>0,42</b>	0,1-0,5
<b>CD19, abs, x10<sup>9</sup>/l</b>	<b>2,77</b>	0,54-1,34	<b>0,28</b>	<b>0,29</b>	0,15-0,4	<b>0,15</b>	<b>0,39</b>	0,3-0,5
<b>IIR (CD4/CD8)</b>	<b>1,28</b>	1,0-3,0	<b>2,02</b>	<b>1,71</b>	1,5-2,0	<b>1,71</b>	<b>0,96</b>	1,1-1,4
<b>IgM, g/l</b>	<b>5,3</b>	0,6-1,8	<b>2,4</b>	<b>2,0</b>	0,7-3,7	<b>1,5</b>	<b>1,5</b>	0,6-2,0
<b>IgG, g/l</b>	<b>9,4</b>	4,6-14,6	<b>12,08</b>	<b>10,85</b>	7,0-16,0	<b>8,41</b>	<b>8,37</b>	9,7-20,0
<b>IgA, g/l</b>	<b>1,13</b>	0,1-1,0	<b>2,32</b>	<b>4,63</b>	0,7-4,0	<b>0,99</b>	<b>1,71</b>	1,0-2,3
<b>IgE, UI/ml</b>	<b>488</b>	0-40,0	<b>7,8</b>	<b>259</b>	0-100,0	<b>114</b>	<b>54,7</b>	0-100,0

Testarea hematologică, imunologică și a indicilor de activitate fagocitară (tab. 4, 5, 6) atestă cum că mama pacientului are cel mai minor indicator de celule NBT-pozitive, evidență care argumentează necesitatea testului molecular-genetic care să identifice un posibil portaj de gene cauzale și a unui consult genetic.

The hematological, immunological and phagocytic activity indices testing (tab. 4, 5, 6) shows that the patient's mother has the smallest indicator of NBT-positive cells, evidence that argues the need for the molecular-genetic test to identify a possible portage of causal genes and a genetic consultation.

**Tabelul 6.** Activitatea fagocitară a neutrofilelor și testul NBT estimate la pacientul respectiv și membrii familiei sale

**Tabel 6.** Neutrophil phagocytic activity and NBT assay estimated in the respective patient and his family members

Membrii familiei	Activitatea fagocitară a neutrofilelor		Testul NBT spontan Valori de referință 0,05 - 0,15 un.conv.
	Numărul fagocitar Valori de referință 63,7 - 90,1%	Indicele fagocitar Valori de referință 1,9 – 7,3 un.conv.	
Pacient P.B.	<b>89%</b>	<b>5,63</b>	<u>Celule NBT-pozitive nu au fost depistate</u>
Mama pacientului	<b>79%</b>	<b>5,66</b>	<b>0,03</b>
Tatăl pacientului	<b>72%</b>	<b>3,80</b>	<b>0,13</b>
Sora pacientului	<b>75%</b>	<b>4,50</b>	<b>0,14</b>
Fratele pacientului	<b>81%</b>	<b>4,75</b>	<b>0,09</b>

Mutațiile genei CYBB (Xp21.1-11.4) de pe cromozomul X au generat boala granulomatoasă X-linkată (X-CGD), care reprezintă aproximativ 70% din toate cazurile de această formă malativă. Datorită mutației genelor situate pe cromozomul X, aproximativ 80% dintre pacienții cu BGC sunt bărbați [5]. Ei pot moșteni gena afectată de la mama lor, care, de obicei, este sănătoasă, dar este purtătoare a genei mutante. De consemnat că mutațiile acestei gene pot apărea de novo (până la o treime din cazuri) [5, 11]. Uneori, simptomele X-CGD pot apărea și la femei (atât la purtătoarele genei afectate, cât și datorită mutațiilor produse de novo în această genă) datorită fenomenului de inactivare (lionizare) a cromozomului X unilaterală [1, 3, 6]. În cursul normal al embriogenezei, în celulele 46 XX inițial sunt activi ambii cromozomi X, iar după a 16-a zi, unul dintre cei doi cromozomi X este inactivat aleatoriu în fiecare celulă. În timpul proliferării ulterioare, fiecare celulă moștenește un cromozom X activ și unul inactiv de la predecesorul sa, astfel încât cromozomii X materni și paterni din celula fiică să își păstreze caracteristicile sale. Raportul dintre numărul de celule cu un cromozom X patern activ și numărul de celule

Mutations of the CYBB gene (Xp21.1-11.4) on the X chromosome have generated X-linked granulomatous disease (X-CGD), which accounts for approximately 70% of all cases of this disease. Due to gene mutation located on the X chromosome, approximately 80% of BGC patients are male [5]. They may inherit the affected gene from their mother, who is usually healthy but carries the mutated gene. It should be noted that mutations of this gene can occur de novo (up to a third of cases) [5, 11]. Sometimes X-CGD symptoms can also appear in women (both in carriers of the affected gene and due to mutations produced de novo in this gene) due to the phenomenon of inactivation (lyonization) of the X chromosome [1, 3, 6]. In the normal course of embryogenesis, in cells 46 XX initially both X chromosomes are active, and after the 16th day, one of the two X chromosomes is randomly inactivated in each cell. During subsequent proliferation, each cell inherits one active and one inactive X chromosome from its predecessor, so that the maternal and paternal X chromosomes in the daughter cell retain their characteristics. The ratio between the number of cells with an active paternal X chromosome and the

cu un cromozom X matern activ este controlat genetic și în normă este 50/50%. Dar, acest raport poate varia semnificativ între diferite țesuturi, deoarece celulele embrionare timpuriu lionizate sunt distribuite inegal în diferite organe, iar procesul aleatoriu de inactivare a cromozomului X continuă în timpul primei faze de diferențiere a celulelor și organelor.

Majoritatea femeilor au o distribuție destul de uniformă a două populații de celule, fiecare populație exprimând unul dintre cele două tipuri de cromozomi X parentali. Cu toate acestea, lionizarea necontrolată a fost descrisă în mod repetat atât la femeile sănătoase, cât și la pacienți, când purtătorii diferitor boli legate de X suferă de simptome tipice bolii corespunzătoare, în timp ce majoritatea cromozomilor X cu alela mutantă sunt activi, iar cromozomii cu alelele normale sunt inactivi. Purtătorii de BGC X-linkată cu lionizare distorsionată pot dezvolta, de asemenea, simptome precum lupusul discoid sau fotosensibilitatea pielii [1,6].

În cazul clinic de BGC legată de X, raportat de noi, a fost necesar să se efectueze o testare genetică moleculară suplimentară a membrilor familiei pentru a determina originea mutației (de novo sau moștenită de la mamă), mai ales că exista un istoric familial de mortalitate infantilă (sora mamei), că mama pacientului are antecedente de patologie cronică a rinichilor, tuberculoză și cel mai scăzut test NBT spontan între membrii sănătoși ai familiei. Statusul genetic al surorii pacientului este necunoscut, dar aceasta poate fi purtătoare a mutației patologice.

**Concluzii:** Examinarea clinico-anamnestică, hematologică, imunologică, screening-ul cu testul NBT și testarea molecular-genetică ulterioară a mutațiilor au constituit repere de suport pentru emiterea diagnosticului de boală granulomatoasă cronică X-linkată. Era firesc să se examineze sub acest aspect și membrii familiei pacientului, atât pentru consiliere

number of cells with an active maternal X chromosome is genetically controlled and is normally 50/50%. But, this ratio can vary significantly between different tissues, because early lyonized embryonic cells are unevenly distributed in different organs, and the random process of X-chromosome inactivation continues during the first phase of cell and organ differentiation. Most women have a fairly even distribution of two populations of cells, each population expressing one of the two types of parental X chromosomes. However, uncontrolled lyonization has been repeatedly described in both healthy women and patients, when carriers of various X-linked diseases suffer from symptoms typical of the corresponding disease, while most of the X chromosomes with the mutant allele are active, and the chromosomes with normal alleles they are inactive. Carriers of X-linked BGC with distorted lyonization may also develop symptoms such as discoid lupus or skin photosensitivity [1,6].

In the clinical case of X-linked BGC reported by us, it was necessary to perform additional molecular genetic testing of family members to determine the origin of the mutation (de novo or maternally inherited), especially since there was a family history of infant mortality (mother's sister), that the patient's mother has a history of chronic kidney disease, tuberculosis, and the lowest spontaneous NBT test among healthy family members. The genetic status of the patient's sister is unknown, but she may be a carrier of the pathological mutation.

**Conclusions:** The clinical-anamnesic, hematological, immunological examination, screening with the NBT test and the subsequent molecular-genetic testing of the mutations constituted supporting milestones for issuing the diagnosis of X-linked chronic granulomatous disease. It was natural to examine the patient's family members under

genetică cât și în vederea selecției ulterioare a tacticii de tratament.

this aspect, both for genetic counseling and for the subsequent selection of treatment tactics.

**Cuvinte-cheie:** imunodeficiență primară, boala granulomatoasă cronică, NADPH oxidaza, test NBT, gena CYBB.

**Key words:** primary immunodeficiency, chronic granulomatous disease, NADPH oxidase, NBT test, CYBB gene.

## REFERENCES

1. Anderson-Cohen M., Holland S., Kuhns D., Fleisher T., Ding L., Brenner S., Malech H., Roesler J. *Severe phenotype of chronic granulomatous disease presenting in a female with a de novo mutation in gp91-phox and a non familial, extremely skewed X chromosome inactivation.* Clin Immunol. 2003 Dec;109(3):308-17.
2. Chiriaco M., Salfa I., Di Matteo G. et al. *Chronic granulomatous disease: Clinical, molecular, and therapeutic aspects.* Pediatr Allergy Immunol. 2016 May;27(3):242-53.
3. Gummadi A., Vignesh P., Joshi V. et al. *Recent advances in chronic granulomatous disease.* Genes Dis. 2019 Jul 27;7(1):84-92.
4. Khan Taj Ali, Kalsoom Kalsoom, Asif Iqbal et al. *A novel missense mutation in the NADPH binding domain of CYBB abolishes the NADPH oxidase activity in a male patient with increased susceptibility to infections.* Microb Pathog. 2016 Nov;100:163-169.
5. Lent-Schochet D., Ishwarlal Jialal. *Chronic Granulomatous Disease.* In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023 Jan. 2022 Dec 26.
6. Marciano B. E, Zerbe C. S, Falcone E L., et al. *X-linked carriers of chronic granulomatous disease: Illness, lyonization, and stability.* J Allergy Clin Immunol. 2018 Jan;141(1):365-371.
7. Roos D., M de Boer. *Molecular diagnosis of chronic granulomatous disease.* Clin Exp Immunol. 2014 Feb;175(2):139-49.
8. Tokgöz F., Sevim T., Barış S., Aksoy E., Tokyay D., Bodur Y., Aktaş O. *Two Chronic Granulomatous Disease Diagnosed in Adult Age.* Turk Thorac J. 2016 Oct;17(4):163-167.
9. Xu Huan, Wen Tian, Shu-Juan Li et al. *Clinical and molecular features of 38 children with chronic granulomatous disease in mainland China.* Clin Immunol. 2014 Aug;141(6):633-41.
10. Yu Hsin-Hui, Yang Y., Chiang B. *Chronic Granulomatous Disease: a Comprehensive Review.* Clin Rev Allergy Immunol. 2021 Oct;61(2):101-113.
11. Zhao Q., Jing Yin, Jijun Ma et al. *De novo mutation of CYBB gene in a boy presenting as intra-abdominal infection of Burkholderia contaminans: a case report.* Ital J Pediatr. 2022 Apr 1;48(1):55.

## PRIMARE – CONSECINȚA SAU COMORBIDITATE

**Alina Murgu**  
**Universitatea de Medicina si Farmacie**  
**“Gr.T.Popa”, Iasi, Romania**

### REZUMAT

Cea mai frecventa imunodeficienta primara umorala a copilului ramane cea de imunoglobulina A (sIgAD) care insa frecvent ramane nedagnosticata fiind mult timp asimptomatica. Variabilitatea nivelului seric al Ig A incadreaza defectul in forme complete ( $IgA \leq 7$  mg/dL) sau partiale ( $IgA > 7$  mg/dL, dar  $< 2$  DS pentru vârstă) direct corelate cu expresia fenotipica clinica. Astfel 1/3 din pacienti prezinta risc crescut pentru patologii precum infectiile recurente si severe cu multirezistenta antibiotica, autoimunitatii, neoplazii, boli digestive dar si alergii. Totodata se pare ca 5% din acestia pot dezvolta in evolutie imunodeficienta comuna variabila (IDCV). Bolile alergice au fost identificate in 35-40% cazuri de sIgAD de multe ori fiind primul simptom care a condus la diagnostic. Afectarea respiratorie este cea mai frecventa avand ca expresie astmul bronic si/sau rinita alergica, dar deasemenea poate fi afectare cutanata (urticaria cronica sau dermatita atopica) sau alergii alimentare. Riscul alergic crescut in sIgAD este indus pe de o parte de alterarea imunitatii la nivelul mucoaselor cu precadere digestiva si respiratorie care devin permissive pentru invazia antigenilor infectiosi virali si/sau bacterieni dar si pentru alergeni iar pe de alta parte de perturbarile de la nivelul microbiotei intestinale. Mecanismul extrem de complex prin care sIgAD induce declansarea cascadei inflamatorii directionate fie spre pierderea recunoasterii self-ului sau spre raspuns TH2 atopic este in relatie cu pierderea semnalelor imune inhibitorii care tin de receptorul Fc $\alpha$ RI -CD89 implicat direct alaturi de IgA in mentinerea homeostaziei imune. Autorii prezinta experienta Clinicii 2 pediatrie

## CONSEQUENCE OR COMORBIDITY

**Alina Murgu**  
**University of Medicine and Pharmacy**  
**"Gr.T. Popa", Iasi, Romania**

### ABSTRACT

The most common primary humoral immunodeficiency in children remains immunoglobulin A deficiency (sIgAD), which frequently remains undiagnosed and is asymptomatic for a long time. The variability of serum Ig A levels frames the defect in complete ( $IgA \leq 7$  mg/dL) or partial ( $IgA > 7$  mg/dL, but  $< 2$  SD for age) forms directly correlated with clinical phenotypic expression. Thus 1/3 of patients are at increased risk for pathologies such as recurrent and severe infections with multi antibiotic resistance, autoimmunity, neoplasia, digestive diseases but also allergies. It also appears that 5% of them may develop evolving common variable immunodeficiency (CVID). Allergic diseases have been identified in 35-40% of sIgAD cases, often being the first symptom leading to diagnosis. Respiratory affection is the most common, with bronchial asthma and/or allergic rhinitis, but there may also be skin affection (chronic urticaria or atopic dermatitis) or food allergy. The increased allergic risk in sIgAD is induced on the one hand by altered immunity in the mucous membranes, especially the digestive and respiratory mucosa, which become permissive for the invasion of viral and/or bacterial infectious antigens and allergens, and on the other hand by disturbances in the intestinal microbiota. The highly complex mechanism by which sIgAD induces the triggering of the inflammatory cascade directed either towards loss of self-recognition or towards atopic TH2 hyperresponsiveness, is related to the loss of inhibitory immune signals related to the Fc $\alpha$ RI -CD89 receptor directly involved with IgA in the maintenance of immune homeostasis. The authors present the experience of the

intr-un studiu pe 63 pacienti cu sIgAD din care 39% au fost diagnosticati cu alergii.

In **CONCLUZIE**, asocierea sIgAD cu bolile alergice trebuie avuta in vedere la acesti pacienti pentru un management terapeutic eficient si individualizat care sa le asigure o calitate a vietii cat mai buna acestora.

**Cuvinte cheie:** imunodeficienta umorala primara IgA, alergii, copil

Paediatric Clinic 2 in a study of 63 patients with sIgAD of whom 39% were diagnosed with allergies.

In **CONCLUSION**, the association of sIgAD with allergic diseases should be considered in these patients for an effective and individualized therapeutic management to ensure a better quality of life.

**Keywords:** primary humoral immunodeficiency IgA, allergy, child

## **INVOLUȚIA TIMICĂ ȘI FENOMENUL DE REBOUND AL GLANDEI TIMUS**

**Țurcanu Tamara**

**Laboratorul de alergologie și imunologie clinică, Departamentul Pediatrie, Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”**

### **INTRODUCERE**

Timusul este un organ limfoid responsabil de producerea și maturarea celulelor T până la pubertate. Este o componentă vitală a sistemului imunitar. În perioadele de stres corporal (infecții, chimioterapie, la copiii cu malformații congenitale de cord). Timusul se poate micșora acut la 40% din volumul său inițial. În timpul fazei de recuperare poate crește înapoi la dimensiunea inițială sau chiar mai mare (cu până la 50% mai mare). Acest "efect de rebound" este cunoscut sub numele de hiperplazie de rebound timic. Este cea mai frecventă cauză a timusului mărit difuz.

### **SCOPUL STUDIULUI**

Prezentarea unui caz clinic de rebound al glandei timus la un copil cu pneumonie acută,

## **MENDELIAN SUSCEPTIBILITY TO MYCOBACTERIAL DISEASES (MSMD): CURRENT CHALLENGES IN DIAGNOSIS AND MANAGEMENT**

**Turcanu Tamara**

**Laboratory of Allergology and Clinical Immunology, Department of Pediatrics, "Nicolae Testemițanu" State University of Medicine and Pharmacy**

### **BACKGROUND**

The thymus is a lymphoid organ responsible for the production and maturation of T cells throughout life. It is a vital component of the immune system. During periods of stress (infections, chemotherapy, in children with congenital heart malformations, etc.) the thymus can acutely shrink to 40% of its initial volume. During the recovery phase it can evolve to its original size or even larger (up to 50% larger). This "rebound effect" is known as thymic rebound hyperplasia. It is the most common cause of diffusely enlarged thymus.

### **AIM OF THE STUDY**

Presentation of a clinical case of thymus gland rebound in a child with acute pneumonia,



evoluție severă și malformație congenitală de cord (stare postoperatoriu).

#### **MATERIALE ȘI METODE**

Fetiță, 24 luni, născută din 1-a sarcină, la 39 săptămâni, greutatea 3600 g, lungimea-53cm., în perioada neonatală - icter neonatal prelungit. Reacție postvaccinală severă la vârsta de 2 luni. Copil frecvent bolnav. A suportat în august 2022 intervenție chirurgicală pe cord deschis: malformație congenitală de cord, defect de sept atrial. Hipertensiune pulmonară, IC CF II NYHA. Timomegalie gr.4. S-a efectuat examenul histologic al glandei timus cu concluzia - glanda timică benignă.

#### **REZULTATE**

Internată în secția de pediatrie în stare gravă. Stabilizat diagnosticul: Bronhopneumonie acută bazală pulmon dreapta. MCC, defect de sept atrial (stare postoperatorie). Timomegalie gr.2. Radiografia cutiei toracice în dinamică - desenul pulmonar accentuat. Opacifieri pneumonice nu se vizualizează, conturul mediastinal clar. ICT-0.53. Indicii imunității celulare: CD3, CD4, CD16, IIR-CD4/CD8 - în limitele valorilor de vârstă. Indicii imunității umorale (IgM, IgG) - diminuate ușor.

#### **CONCLUZII**

Este important să existe indice de suspiciune pentru timus anormal, în special în tulburări multisistem. Hiperplazia timică reactivă "rebound" necesită diferențierea cu hiperplazia foliculară, timom. Monitorizarea în dinamică a statusului imun este indicată.

severe evolution and congenital heart malformation (postoperative condition).

#### **MATERIAL AND METHODS**

Girl, 24 months, born from the 1st pregnancy, at 39 weeks, weight 3600 g, length-53 cm, in the neonatal period - prolonged neonatal jaundice. Severe post-vaccination reaction at 2 months of age. Frequently sick child. He underwent open heart surgery in August 2022: congenital heart malformation, atrial septal defect. Pulmonary hypertension, Heart failure, functional class II NYHA. Thymomegaly gr.4. The histological examination of the thymus gland was performed with the conclusion - benign thymus gland.

#### **RESULTS**

Admitted to the pediatric ward in serious condition. The diagnosis was established: acute basal bronchopneumonia of the right lung. MCC, atrial septal defect (postoperative condition). Thymomegaly gr.2. Dynamic chest x-ray - accentuated lung pattern. Pneumonic opacifications are not visualized, the mediastinal outline is clear. ICT-0.53. Indices of cellular immunity: CD3, CD4, CD16, IIR-CD4/CD8 - within the limits of age values. Indices of humoral immunity (IgM, IgG) - slightly decreased.

#### **CONCLUSION**



**Cuvinte cheie:** copil, involuție, hiperplazie timică.

**TESTAREA MOLECULAR-  
GENETICĂ ÎN SUSȚINEREA  
DIAGNOSTICULUI CLINIC DE  
IMUNODEFICIENȚĂ PRIMARĂ**

**Andrieș Lucia, Revenco Ninel, Dolapciu Elena,  
Tănase Daniel, Barba Doina, Leurda Veronica  
Laboratorul de alergologie și imunologie  
clinică, Departamentul Pediatrie, Universitatea  
de Stat de Medicină și Farmacie “Nicolae  
Testemițanu”**

abnormal thymus, especially in multisystem disorders. Rebound thymic hyperplasia requires differentiation from follicular hyperplasia, thymoma. Dynamic monitoring of the immune status is indicated.

**Key words:** child, involution, thymic hyperplasia.

**MOLECULAR-GENETIC TESTING  
IN SUPPORT OF THE CLINICAL  
DIAGNOSIS OF PRIMARY  
IMMUNODEFICIENCY**

**Andrieș Lucia, Revenco Ninel, Dolapciu Elena,  
Tănase Daniel, Barba Doina, Leurda Veronica  
The Laboratory of Allergology and Clinical  
Immunology, Department of Pediatrics,  
Nicolae Testemițanu State University of  
Medicine and Pharmacy**

## REZUMAT

Algoritmul de diagnostic al maladiilor imunodeficitare (MID) elaborate de societățile internaționale în imunologie și utilizat în diferite țări include testarea molecular-genetică ca metodă confirmativă a imunodeficienței primare (IDP). În cadrul realizării proiectului instituțional "Elaborarea metodelor inedite de diagnostic precoce al maladiilor imunodeficitare în baza studiului clinico-imunologic și molecular-genetic al pacienților cu suspjecție de imunodeficiențe primare" am solicitat acordul fundației Jeffrey Modell (SUA) de a fi incluși în Programul Global de Secvențiere Genetică pentru imunodeficiența primară, dată fiind imposibilitatea acestei testări în cadrul instituțiilor medicale din Moldova și doar unii pacienți cu suspiciuni de MID au acces la testarea molecular-genetică în laboratoarele specializate de peste hotare. Prioritățile acestui program cu expansiune globală au fost documentate prin identificarea a peste 11000 de variante noi de IDP, prin reducerea timpului de emiteră a diagnosticului exact al patologiei (care în perioada anterioară dura 4-10 ani), iar cercetarea a 574 de gene responsabile de erori congenitale ale imunității la copii și adulți contribuie la dezvoltarea unei strategii personalizate de tratament și management și are un impact economic evident. În cadrul acestui program, în premieră pentru Republica Moldova, au fost testați (gratuit) prin secvențiere genetică de generație nouă (NGS) 16 pacienți cu suspiciune de IDP. S-a efectuat aprecierea a 574 de gene posibil implicate în geneza MID (Compania "Invitae", SUA) cu utilizarea paneelelor multigenice și secvențierea întregului exon. Mutațiile au fost identificate pe 69 de gene responsabile de patologia sistemului imunitar. Cercetarea molecular-genetică a confirmat diagnosticul clinico-imunologic în 5 cazuri: imunodeficiență autosomal recesivă combinată severă sensibilă la radiații (s-au identificat două variante patogene în gena *PRKDC*), febră mediteraneană familială autosomal recesivă (două variante patogene prezente pe gena *MEFV*), deficit de adeziune leucocitară autosomal recesivă de tip 1 (două variante patogene prezente pe gena *ITGB2*), imunodeficiența combinată severă autosomal recesivă datorată deficitului de ADN PKcs (s-au identificat două variante patogene pe

## SUMMARY

The diagnostic algorithm for primary immunodeficiency diseases (PID), developed by international immunology societies and used in various countries, includes molecular-genetic testing as a confirmatory method for primary immunodeficiency (PID). As part of the institutional project 'Development of Innovative Methods for Early Diagnosis of Primary Immunodeficiency Diseases Based on Clinical-Immunological and Molecular-Genetic Study of Patients with Suspected Primary Immunodeficiency,' we requested permission from the Jeffrey Modell Foundation (USA) to be included in the Global Genetic Sequencing Program for primary immunodeficiency. This request was made due to the inability to conduct this testing in medical institutions in Moldova, and only some patients with suspicions of PID have access to molecular-genetic testing in specialized laboratories abroad.

The priorities of this globally expanding program have been documented through the identification of over 11,000 new PID variants, reducing the time for an accurate diagnosis of the pathology (which previously took 4-10 years), and researching 574 genes responsible for congenital immune system errors in children and adults. This research contributes to the development of a personalized treatment and management strategy and has an evident economic impact.

As part of this program, 16 patients with suspected PID were tested (free of charge) using next-generation genetic sequencing (NGS), marking a first for the Republic of Moldova. An assessment of 574 genes possibly involved in the genesis of PID was carried out (by "Invitae," USA) using multigene panels and whole exon sequencing. Mutations were identified in 69 genes responsible for immune system pathology. Molecular-genetic research confirmed the clinical-immunological diagnosis in 5 cases: severe combined immunodeficiency autosomal recessive sensitive to radiation (two pathogenic variants were identified

gena *PRKDC*), sindromul Blau autosomal dominant (o variantă patogenă prezentă pe gena *NOD2*). Într-un caz, detectarea unei mutații patogene în gena *FOXP2* la un pacient adult a confirmat diagnosticul clinic al unei leziuni tiroidiene autosomal dominante rare (defect parțial de organizare a iodului). Astfel 33,3% dintre pacienții examinați au primit un diagnostic molecular genetic. S-a stabilit că nouă pacienți sunt purtători de gene recesive ale IDP, deoarece mutațiile au fost detectate într-o stare heterozigotă. Aceste informații sunt importante pentru decizia privind planificarea familială și consilierea genetică obligatorie. Concomitent au fost identificate 48 de mutații cu semnificație nedeterminată, informațiile despre acestea se acumulează la momentul actual, semnificația clinică a acestor variante polimorfe fiind studiată în diferite populații ale lumii.

In **CONCLUZIE:** testarea molecular-genetică este una dintre metodele fiabile de realizare a screening-ului neo-natal al nou-născuților.

**Cuvinte cheie:** imunodeficiența primară, testarea molecular genetică, maladii imunodeficitare

in the *PRKDC* gene), autosomal recessive familial Mediterranean fever (two pathogenic variants present on the *MEFV* gene), autosomal recessive leukocyte adhesion deficiency type 1 (two pathogenic variants present on the *ITGB2* gene), severe combined immunodeficiency autosomal recessive due to DNA PKcs deficiency (two pathogenic variants on the *PRKDC* gene), and autosomal dominant Blau syndrome (one pathogenic variant present on the *NOD2* gene). In one case, the detection of a pathogenic mutation in the *FOXP2* gene in an adult patient confirmed the clinical diagnosis of a rare autosomal dominant thyroid lesion (partial iodine organization defect).

Thus, 33.3% of the examined patients received a molecular-genetic diagnosis. It was determined that nine patients are carriers of recessive PID genes, as the mutations were detected in a heterozygous state. This information is important for family planning decisions and mandatory genetic counseling. Concurrently, 48 mutations of undetermined significance were identified, and information about them is accumulating at the moment, with the clinical significance of these polymorphic variants being studied in various populations worldwide.

In **CONCLUSION:** molecular-genetic testing is one of the reliable methods for conducting newborn neonatal screening.

**Keywords:** primary immunodeficiency, molecular genetic testing, immunodeficiency diseases.

## **COPILUL FRECVENT BOLNAV VERSUS COPILUL CU IMUNODEFICIENȚE PRIMARE – COMORBIDITĂȚI SAU CONSECINȚE**

**Iliev Albina- Mihaela<sup>1</sup>, Donos Ala<sup>2</sup>**

**<sup>1</sup>Spitalul Orășenesc Hârlău, Județul Iași,  
România<sup>1</sup>**

**<sup>2</sup>Departamentul Pediatrie<sup>2</sup>, USMF „Nicolae  
Testemițanu”, Republica Moldova**

### **REZUMAT**

Imunodeficiențele primare (IDP) sunt un grup heterogen de boli ereditare caracterizate prin existența unuia sau mai multor defecte intrinseci la nivelul sistemului imun. Se apreciază în general că, prevalența IDP este de aproximativ 1 /10 000 de indivizi. Incidența copilului frecvent bolnav variază, în rândul copiilor cu vârsta sub 5 ani fiind de până la 40 la sută din populația pediatrică.

În general, deficitul imunoglobulinelor, complementului sau celulelor fagocitare sunt însoțite de infecții recidivante cu bacterii piogene, pe când cele ale limfocitelor T determină apariția unor infecții generalizate, adesea mortale, virale sau parazitare cu microorganisme obișnuite din mediu față de care persoanele obișnuite sunt rezistente. Așa numitul copil frecvent bolnav atrage atenția medicului prin manifestările clinice, care implică criterii de diagnostic majore – frecvența crescută a infecțiilor, severitatea și recurența lor, prezența complicațiilor și/sau a unui răspuns neadecvat la tratament cât și frecvența crescută a infecțiilor cu agenți oportuniști. Din criterii moderate de diagnostic fiind asocierea patologiei cronice respiratorii, digestive, întârzieri în creștere, hepatosplenomegalie. În acest caz apare dilema dacă este un copil frecvent bolnav cu schimbări immune tranzitorii sau este IDP? În aceste situații este obligatoriu de a exclude posibilele IDP conform recomandărilor Societății Europene pentru Imunodeficiențe, care a elaborat criterii definitive, probabile și posibile pentru cele mai frecvente IDP. Conform OMS, IDP determinate genetic pot afecta una sau mai multe componente

## **THE FREQUENTLY SICK CHILD versus THE CHILD WITH PRIMARY IMMUNODEFICIENCY – COMORBIDITIES OR CONSEQUENCES**

**Iliev Albina- Mihaela<sup>1</sup>, Donos Ala<sup>2</sup>**

**<sup>1</sup> Harlau City Hospital, Iasi, Romania**

**<sup>2</sup>Paediatrics Departament, „Nicolae  
Testemitanu” SUMPh Republic of Moldova**

### **SUMMARY**

Primary immunodeficiencies (PIDs) are a heterogeneous group of hereditary diseases characterized by the existence of one or more intrinsic defects in the immune system. It is generally estimated that the prevalence of PIDs is approximately 1/10,000 individuals. The incidence of the frequently sick child varies, among children under the age of 5 being up to 40 percent of the pediatric population.

In general, deficiencies of immunoglobulins, complement, or phagocytic cells are accompanied by recurrent infections with pyogenic bacteria, while those of T lymphocytes cause generalized, often fatal, viral or parasitic infections with common environmental microorganisms to which ordinary people are resistant. The so-called frequently sick child attracts the attention of the doctor through the clinical manifestations, which involve major diagnostic criteria – the increased frequency of infections, their severity and recurrence, the presence of complications and/or an inadequate response to treatment as well as the increased frequency of infections with opportunistic agents. Moderate diagnostic criteria being the association of chronic respiratory and digestive pathology, growth delays, hepatosplenomegaly. In this case, the dilemma arises whether it is a frequently sick child with transient immune changes or is it PID? In these situations it is mandatory to exclude possible PIDs according to the recommendations of the European Society for Immunodeficiencies, which developed definitive, probable and possible criteria for the

ale sistemului imun. Această clasificare a fost modificată de Uniunea Internațională a Societăților de Imunologie acceptată și utilizată în prezent.

In **CONCLUZIE:** diagnosticul pacientului frecvent bolnav necesită excluderea unei potențiale IDP pentru un management terapeutic eficient și individualizat ca să se asigure o calitate a vieții cât mai bună acestora.

**Cuvinte cheie:** copil frecvent bolnav, imunodeficiență primară.

most frequent PIDs. According to the WHO, genetically determined PIDs can affect one or more components of the immune system. This classification was modified by the International Union of Immunological Societies currently accepted and used.

In **CONCLUSION:** the diagnosis of the frequently sick patient requires the exclusion of a potential PID for an effective and individualized therapeutic management to ensure the best possible quality of life for them.

**Keywords:** frequently sick child, primary immunodeficiency.

