

**REVISTA ROMÂNĂ DE
MEDICINĂ DE LABORATOR**

Supliment la Vol. 15, Nr. 2, Iunie 2009

Referenți științifici

- Professor Vladimir Palicka, MD, PhD
(*Univ. Hradek Kralove, Praga, Czech Republic*)
- Professor Elizabeta Topic, MD, PhD
(*Univ. Zagreb, Croatia*)
- Professor Gabor Kovacs, MD, PhD
(*Univ. Pecs, Hungary*)
- Professor László Muszbek, MD, PhD
(*Univ. Debrecen, Hungary*)
- Professor Patrice André, MD, PhD
(*Univ. Claude Bernard Lyon 1, France*)
- Dr. Viliam Lustig, PhD, FCACB
(*Univ. of Toronto, Canada*)
- Ass. Professor Connie Prosser, PhD
(*Univ. of Alberta Hospital, Edmonton, Canada*)
- Trefor Higgins, MSc, FCACB
(*Dynacare Kasper Medical Laboratories, Edmonton, Canada*)
- Ass. Prof. Manuela G. Neuman
(*Institute of Drug Research, Univ. of Toronto, Canada*)
- Alexandru Șchiopu, M.D., PhD
(*Lund University, Malmö, Sweden*)
- Prof. Univ. Dr. Mircea Cucuiu
(*UMF "Iuliu Hațieganu" Cluj*)
- Prof. Univ. Dr. Dan Colită
(*UMF „Carol Davila” București*)
- Prof. Univ. Dr. Marian Neguț
(*UMF „Carol Davila” București*)
- Prof. Univ. Dr. Eugen Carasevici
(*UMF „Gr. T. Popa” Iași*)
- Prof. Univ. Dr. Margit Șerban
(*UMF „Victor Babeș” Timișoara*)
- Prof. Univ. Dr. Hortensia Ioniță
(*UMF „Victor Babeș” Timișoara*)
- Prof. Univ. Dr. Roxana Moldovan
(*UMF „Victor Babeș” Timișoara*)
- Prof. Univ. Dr. Gheorghe Gluhovschi
(*UMF „Victor Babeș” Timișoara*)
- Prof. Univ. Dr. Ștefan Hobai
(*UMF Tg. Mureș*)
- Prof. Univ. Dr. Ioan Pascu
(*UMF Tg. Mureș*)
- Prof. Univ. Dr. Marius Sabău
(*UMF Tg. Mureș*)
- Prof. Univ. Dr. Monica Sabău
(*UMF Tg. Mureș*)
- Prof. Univ. Dr. Alexandru Șchiopu
(*UMF Tg. Mureș*)
- Prof. Univ. Dr. Angela Borda
(*UMF Tg. Mureș*)
- Prof. Univ. Dr. Galafteon Oltean
(*UMF Tg. Mureș*)
- Prof. Univ. Dr. Minodora Dobreanu
(*UMF Tg. Mureș*)
- Prof. Univ. Dr. Dan Dobreanu
(*UMF Tg. Mureș*)
- Prof. Univ. Anca Cristea
(*UMF "Iuliu Hațieganu" Cluj*)
- Prof. Univ. Dr. Olga Dorobăț
(*Institutul Național de Boli Infecțioase „Matei Balș”*)
- Prof. Univ. Dr. Simona Stolnicu
(*UMF Tg. Mureș*)
- Prof. Univ. Dr. Victor Pop
(*UMF "Iuliu Hațieganu" Cluj*)
- Conf. Univ. Dr. Adriana Colită
(*UMF „Carol Davila” București*)
- Conf. Univ. Dr. Didona Ungureanu
(*UMF „Gr. T. Popa” Iași*)
- Conf. Univ. Dr. Ileana Constantinescu
(*Institutul Clinic Fundeni*)
- Conf. Univ. Dr. Irina Codită
(*UMF „Carol Davila” București*)
- Conf. Univ. Augustin Curticăpean
(*UMF Tg. Mureș*)
- Conf. Univ. Marius Mărușteri
(*UMF Tg. Mureș*)
- Conf. Univ. Silvia Imre
(*UMF Tg. Mureș*)
- Conf. Univ. Dr. Camil Vari
(*UMF Tg. Mureș*)
- Conf. Univ. Andrei Cucuiu
(*UMF "Iuliu Hațieganu" Cluj*)
- Conf. Univ. Dr. Ioana Brudașcă
(*UMF "Iuliu Hațieganu" Cluj*)
- Conf. Univ. Maria Dronca
(*UMF "Iuliu Hațieganu" Cluj*)
- Conf. Univ. Dr. Felicia Toma
(*UMF Tg. Mureș*)
- Conf. Univ. Dr. Lilla-Katalin Lorinczi
(*UMF Tg. Mureș*)
- Conf. Univ. Dr. Lucian Pușcașiu
(*UMF Tg. Mureș*)
- Conf. Univ. Dr. Vlad Gorduza
(*UMF „Gr. T. Popa” Iași*)
- Sef Lucrări Dr. Andreea Moicean
(*UMF „Carol Davila” București*)
- Şef lucrări Ionela Pașcanu
(*UMF Tg. Mureș*)
- Asist. Univ. Dr. Gabriel Ionescu
(*UMF „Carol Davila” București*)
- Asist. Univ. Dr. Vladimir Bacărea
(*UMF Tg. Mureș*)
- Asist. Univ. Dr. Camelia Dobrea
(*UMF „Carol Davila” București*)
- Asist. Univ. Dr. Adriana Mihai
(*UMF Tg. Mureș*)
- Dr. Dan Oțelea
(*Institutul Național de Boli Infecțioase „Matei Balș”*)
- Dr. Cornel Ursaciuc
(*Institutul Național „Victor Babeș”*)
- Dr. Mariana Pațiu
(*Institutul Oncologic „Ion Chiricuță”, Cluj*)

ASOCIAȚIA LABORATOARELOR MEDICALE DIN ROMÂNIA
Aleea Barajul Uzului 2, Bl. Y 16, Sc. A, Apt. 18, Sector 3
RO-032796, BUCUREȘTI
Tel 4021 340 76 68
O.P. 60, C.P. 18., Sector 3, București
www.rrml.ro, www.almr.ro



REVISTA ROMÂNĂ DE MEDICINĂ DE LABORATOR

Publicație oficială a ASOCIAȚIEI LABORATOARELOR MEDICALE DIN ROMÂNIA

Supliment la Vol. 15, Nr. 2, Iunie 2009

Comitetul de redacție

Redactor șef
Prof. Univ. Dr. Minodora Dobreanu
(Președinte ALMR)

Redactor adjunct
Dr. Liviu Sorin Enache

Traducător
Dr. Cosmin Moldovan

Comitet redațional
Chim. Dr. Ileana Funduc
(Vicepreședinte ALMR)
Conf. Univ. Dr. Ileana Constantinescu
(Vicepreședinte ALMR)
Chim. Sorin Gîju
(Vicepreședinte ALMR)
Dr. Elena Luminița Enache
As. Univ. Dr. Anca Bacârea
As. Univ. Dr. Andrea Marta Fodor
As. Univ. Dr. Edit Székely

Creditări RRML

Thomson Reuters Scientific – ISI Web of Knowledge

Începând cu anul 2008, RRML este indexată în ISI Web of Knowledge – Web of Science - Science Citation Index Expanded (Thomson Reuters Scientific).

CNCSIS

În urma evaluării din luna decembrie 2008, RRML este recunoscută de către CNCSIS (categoria A) cu codul CNCSIS 739.

CMR

Prin adresa Nr. 3218/09.06.2008 a Departamentului Profesional - Științific al CMR, RRML a fost introdusă în Nomenclatorul Publicațiilor Medicale al CMR pentru anul 2008. Medicii abonați la această publicație sunt creditați cu 5 credite EMC.

OBBCSSR

Prin adresa Nr. 1779/28.02.2007, OBBCSSR a creditat RRML cu 7 credite EMC.

A L M R



SOCIETATEA ROMÂNĂ
DE
HEMATOLOGIE



1st Congress of the Romanian Association of Medical Laboratories

with International Participation

Under the auspices of IFCC and EFCC

24 - 27 June 2009, Tîrgu Mureş, Romania

Abstract Book

ORGANIZERS

**Romanian Association of Medical Laboratories
University of Medicine and Pharmacy Tîrgu Mureş
Romanian Society of Microbiology
Romanian Society of Hematology**

ORGANIZING COMMITTEE

Tîrgu Mureş

Minodora Dobreanu (*RAML President*)
Liviu Sorin Enache
Elena Luminiţa Enache
Andrea Márta Fodor
Anca Bacărea
Monica Badiu
Andreea Truţă
Annamaria Földes
Felicia Toma

Lilla Lörinczi
Edit Székely
Anca Mare
Adrian Man
Bianca Tudor
Ionela Paşcanu
Katalin Csép

Bucharest

Ileana Funduc (*RAML Vice-president*)
Ariadna Rădulescu

SCIENTIFIC COMMITTEE

Prof. Mircea Cucuiaru
Prof. Dan Coliţă
Prof. Marian Neguţ
Prof. Eugen Carasevici
Prof. Ştefan Hobai
Prof. Ioan Pascu
Prof. Marius Sabău
Prof. Monica Sabău
Prof. Alexandru řchiopu
Prof. Angela Borda
Prof. Klara Brânzaniuc
Prof. Galafteon Oltean
Prof. Minodora Dobreanu
Prof. Anca Cristea

Prof. Olga Dorobăt
Ass. Prof. Didona Ungureanu
Ass. Prof. Ileana Constantinescu
Ass. Prof. Irina Codită
Ass. Prof. Augustin Curticăpean
Ass. Prof. Marius Măruşteri
Ass. Prof. Silvia Imre
Ass. Prof. Camil Vari
Ass. Prof. Andrei Cucuiaru
Ass. Prof. Ioana Brudaşcă
Ass. Prof. Felicia Toma
Assistant Gabriel Ionescu
Mariana Paţiu, MD, PhD

SPONSORS

Principal Sponsors:

ABBOTT Diagnostics
NOVAINTERMED
BIOCLINICA

Major Sponsors:

CLINILAB
ROCHE Diagnostics
ROCHE Pharma
PROTON
DIAMEDIX
NOVA GROUP INVESTMENT

Official Sponsors:

BALMED
TEHNO INDUSTRIAL
AVENA MEDICA
PALMED PATRONAT
CARL ZEISS INSTRUMENTS

MEDIA PARTNER

SĂPTĂMÂNA MEDICALĂ

Table of contents

Cuprins

Table of contents.....	9
Cuprins.....	9
ABSTRACTS.....	11
REZUMATELE LUCRĂRILOR.....	11
<i>Automation and analytical techniques.....</i>	11
<i>Hematology 1.....</i>	13
<i>Hematology 2.....</i>	17
<i>Genetics.....</i>	21
<i>Haemostasis.....</i>	34
<i>Microbiology</i>	37
<i>Molecular Biology</i>	50
<i>Clinical Chemistry 1.....</i>	52
<i>Clinical Chemistry 2.....</i>	57
<i>Immunology</i>	63
<i>Posters 1. Microbiology</i>	70
<i>Posters 2. Microbiology</i>	84
<i>Posters 3. Immunology</i>	95
<i>Posters 4. Biochemistry</i>	118
Authors index.....	141
Index de autori.....	141
Information and Guidelines for Authors.....	147
Authorship responsibilities.....	153

ABSTRACTS* **REZUMATELE LUCRĂRILOR**

Automation and analytical techniques

R2. Laboratory consolidation and automation: results after two years of experience

Liszt Ferenc

Institute of Laboratory Medicine, University of Pecs, Hungary

The management of the Institute of Laboratory Medicine, the provider of clinical laboratory (clinical chemistry, hematology, hemostasis, immunology, molecular diagnostics, etc.) services of the tertiary care University Hospital has decided in 2006 to undergo the laboratory renewal procedure. Right from the start, consolidation was a key aspect of our plan to create an automated, multi-disciplinary core laboratory. The MODULAR ANALYTICS package comprises three MOD Analytics P units, three MOD Analytics E units and a full MOD PREANALYTICS (MPA) with twin centrifuges. With the installation of MPA the laboratory information system had to be renewed, to fulfill the traceability requirements from sampling through analytic to archiving. The goals of this project were to increase quality, to enhance service for clinicians with shortened turnaround time with less laboratory staff.

In the lecture, the author will discuss the phases of consolidation and automation process and major stages of the implementation of the quality assurance system (fulfilled the the requirements of ISO 15159:2007 and ISO/IEC 17025:2005 standards) and some economic point of view as well.

R3. Pitfalls in the performance and interpretation of some clinical immunological tests

Cristea Anca¹, Bene Liliana², Rahaian Rodica²

1. Iuliu Hațieganu" UMF Cluj-Napoca; 2. Clinical Emergency Hospital Cluj, Romania

We try to exemplify some potential pitfalls encountered in clinical immunology laboratory with regard to immunochemistry, cellular immunology and autoimmunity. These observations are a direct result of our experience. The main causes of errors are the quality of the sample, the quality of the reagents or both, the poor understanding of the assay and, last but not least, the modality of delivery the results to the clinicians. All these may conduct to misinterpretation of the assay and finally to misdiagnosis.

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

Pitfalls may also be due to the deficiency of external quality control at national level, for all fields of clinical immunology. We propose a management system to examine the interpretation and reporting the results of immunology laboratory tests.

Erori în executarea și interpretarea unor teste de imunologie clinică

Cristea Anca¹, Bene Liliana², Răhăian Rodica²

1. UMF "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca; 2. Spitalul Clinic Județean de Urgență Cluj

Incercăm să exemplificăm câteva din erorile care pot exista în practica laboratorului de imunologie (imunochimie, imunitate celulară, autoimunitate) și care pot afecta calitatea rezultatelor. Observațiile sunt rezultatul experienței noastre de lungă durată. Cauza principală a erorilor poate fi datorată calității probei și/sau a reactivilor, înțelegerea insuficientă a principiilor și a valorii testului, și nu în ultimul rând, a modalității de a elabora rezultatul pentru clinician. Toate acestea pot duce la o interpretare greșită a analizei și în final la un diagnostic greșit.

O mare parte din erori pot fi datorate lipsei unui control de calitate extren la nivel național pentru toate domeniile imunologiei clinice. Propunem un sistem de management pentru a examina modalitatea de raportare și interpretare a rezultatelor testelor imunologice.

R4. Inhibitors of stem cell factor binding to its receptor c-Kit - a computational study

Hobai Ștefan

Dept. of Medical Biochemistry, University of Medicine and Pharmacy Tîrgu Mureș, Romania

Stem-cell factor (SCF) is an early-acting hematopoietic cytokine which, as noncovalent homodimer, stimulates the proliferation of mast cells, melanocytes, and primitive hematopoietic progenitors. It exerts biological effects by binding to the cell surface receptor c-Kit (CD117) which induces receptor homodimerization. CD117 is encoded by the c-Kit proto-oncogene of which mutations are associated with gastrointestinal stromal tumors.

Equipment & Methods. Model building, docking experiments (Glide application), energy minimization (Impact), and molecular dynamics (Impact and MacroModel) studies were carried out using the software library Schrödinger, Suite 2008, with the graphical user interface Maestro. The dimerization surface of SCF was studied in absence and presence of some ligands acquired from the National Cancer Institute USA molecular database. It was performed by superimposition of the monomer crystal structures, acquired from Protein Data Bank under code 1SCF, with those obtained by molecular dynamics simulation. The system was relaxed by Impact application using a conjugate gradient minimization with equilibration at 300 K. Glide flexible docking procedure was applied to 22 aminoacids for each homodimer subunit selected as flexible portion. Partitioning properties at pH = 7 of ligands were estimated by the theoretical logD calculated with the MarvinSketch software to ascertain if the ligands satisfy the Lipinski's rules.

Results. It was found that approximately 855 Å² of surface area from each protomer is buried into the dimer interface.

The dimer interface is characterized by two loop regions, respectively, constituted by residues 17–26 (loop *a*) and 61–72 (loop *b*). The root mean square deviation (RMSD) computed separately onto the α carbon atoms of both loops *a* and *b* revealed that the four monomers at the interface region were

conformationally well conserved. After the crystallographic subunits A–D superimposition, the molecular dynamics run indicated the loop *b* is particularly subject to perturbation, more than *a*. A series of 8 compounds, very diverse in terms of chemical scaffolds, flexibility and lipophilicity, was selected based on the ranking score. The most hydrophobic compounds showed a major role of vdW term with respect to the electrostatic one between the attractive interaction contributions.

Conclusions. 1. The SCF dimerization negative modulation could be a selective target of prevention of haematopoietic cancer activation. 2. The study of these dimer surface binding ligands should reveal selective drugs, better than nonspecific protein-tyrosine kinase inhibitors, such as STI-571 (Gleevec, also named Imatinib).

Hematology 1

C8. Cytogenetic and molecular response after dasatinib in blastic phase chronic myeloid leukemia

Cucuijanu Andrei, Dima Delia, Petrov Ljubomir

"Ion Chiricuta" Cancer Institute, Hematology Dept, Cluj-Napoca, Romania

Chronic myeloid leukemia (CML) in blastic phase carries an adverse prognosis. Small molecule tyrosine kinase inhibitors may change the outlook in these patients. We present the case of a 62 year old female who was diagnosed in March 2006 with chronic phase, Philadelphia positive CML. She was initially treated with hydroxyurea with the achievement of a complete hematologic response (CHR) but in July 2006 the patient progressed to blastic phase. Imatinib was started at 400mg/d and CHR was obtained, but in November 2006, blastic phase CML relapsed. Imatinib 600mg/d was attempted but it was poorly tolerated, while having no significant effect. Subsequently, the patient was started on dasatinib 2 x 70mg daily with the achievement of CHR after one month. A recurrent problem was bilateral pleural effusion requiring evacuation and reduction of dasatinib to 100mg/d. Major cytogenetical remission was obtained by 3 months and complete cytogenetical remission (CCR) by 6 months. RQ-PCR, performed at 6 months showed a major molecular response (MMR). CCR and MMR were maintained at 18 and 24 months follow-up. Recurring pleural effusion, necessitating evacuation every 2-3 months, fluid retention and cataracts were the main adverse effects. This case report underscores the progress being made in recent years in the treatment of CML, even in advanced phases, due to the introduction of tyrosine kinase inhibitors.

Răspuns citogenetic și molecular după dasatinib în leucemia mieloidă cronică în fază blastică

Cucuijanu Andrei, Dima Delia, Petrov Ljubomir

"Ion Chiricuta" Cancer Institute, Hematology Dept, Cluj-Napoca, Romania

Leucemia mieloidă cronică (LMC) în fază blastică are un prognostic infișt. Introducerea recentă în practică a inhibitorilor de tirozin kinaze ar putea ameliora semnificativ prognosticul acestor pacienți. Prezentăm cazul clinic al unei paciente de 62 ani diagnosticată în martie 2006 cu LMC fază cronică Philadelphia pozitivă. A fost inițial tratată cu hydroxiuree, obținându-se un răspuns hematolo-

gic complet (RHC) dar în iulie 2006 boala a progresat spre faza blastică. S-a început tratament cu imatinib, 400mg/zi. Sub imatinib s-a obținut RHC dar în noiembrie 2006 s-a observat recidiva fazei blasticice. Creșterea dozei la 600mg/zi a fost greu tolerată, fără efect semnificativ. Ulterior, s-a inițiat tratament cu dasatinib 2 x 70mg/zi. Tratamentul a fost bine tolerat cu obținerea RHC după o lună. Efectul secundar principal a fost colecția pleurală recidivantă, necesitând repetate evacuări și reducerea dozei la 100mg/zi. Răspunsul citogenetic major a fost obținut după 3 luni iar remisiunea citogenetică completă (RCC) după 6 luni. RQ-PCR, efectuat la 6 luni a relevat un răspuns molecular major (RMM). RCC și RMM s-au menținut la bilanțul de la 18 și 24 luni. Colecția pleurală recidivantă, necesitând evacuări la 2-3 luni, edemele și cataracta au fost principalele efecte adverse ale tratamentului. Acest caz clinic subliniază progresul realizat în ultimii ani în tratamentul LGC, chiar și în cazurile avansate, datorită introducerii noilor inhibitori de tirozin kinaze.

C9. Cytogenetic analysis in malignant hematologic diseases in Tg. Mureș, Romania

Bănescu Claudia¹, Pașcanu Ionela¹, Csép Katalin¹, Benedek I.², Benedek Erzsébet², Duicu Carmen³, Butilă Todoran Anamaria¹

1. Genetics Department University of Medicine and Pharmacy Tg.Mureș, România;

2. Hematology Clinic 2 University of Medicine and Pharmacy Tg. Mureș, România;

3. Pediatric Clinic University of Medicine and Pharmacy Tg.Mureș, România

The cytogenetic analyse is an important part of the protocol of investigation of patients with hematological malignant diseases.

The karyotypes of 164 patients between ages of 2 and 76 years, 30/164 acute lymphoblastic leukemia (ALL), 28/164 acute myeloid leukemia (AML), 52/164 chronic myeloid leukemia (CML), 20/164 myelodysplastic syndrome (MDS), and 34/164 chronic lymphocytic leukemia, (CLL), were analyzed. We carried out the bone marrow and/or peripheral blood culture according to standard methods.

In our study, in ALL the most frequent chromosomal abnormality was hiperdiploidy and we found only two cases of Ph+ chromosome. The most frequent clonal karyotype alteration in AML was hiperdiploidy, detected in 50% of AML cases, while metaphases with structural abnormalities were found in 25% of cases. We report only two SMD cases with 7q deletion, while 20% of SMD patients presented aneuploidy. Ph chromosome was detected in 80% of patients with CML. The Ph chromosome frequency at the moment of diagnosis in CML was 92%. We didn't report any case with double Ph+ and we had only one case with i(17q). Clonal cytogenetic abnormalities were detected in 12 patients with CLL. An abnormal clone carrying t(7q;14q) was detected in one patient with CLL. We didn't find deletions at 13q even it is the most common genetic abnormality in CLL. In our study the most frequently observed chromosome abnormalities in CLL are numerical aberrations, mainly +21, +12 and +X.

Keywords: malignant hematologic disease, chromosomal abnormality

Analize citogenetice în hemopatiile maligne în Tg. Mureş, România

Bănescu Claudia¹, Paşcanu Ionela¹, Csép Katalin¹, Benedek I.², Benedek Erzsébet², Duicu Carmen³, Butilă Todoran Anamaria¹

1. Disciplina de Genetică - UMF Tg.Mureş, România; 2. Clinica de Hematologie 2 - UMF Tg.Mureş, România; 3. Clinica de Pediatrie - UMF Tg.Mureş, România

Analiza citogenetică face parte din protocolul de investigare a pacienților cu hemopatii maligne. Au fost investigați citogenetic 164 de pacienți, cu vîrstă cuprinsă între 2 și 76 de ani, 30/164 cu leucemie acută limfoblastică (LAL), 28/164 cu leucemie acută mieloidă (LAM), 52/164 cu leucemie mieloidă cronică (LMC), 20/164 cu sindrom mielodisplazic (SMD) și 34/164 cu leucemie limfocitară cronică (LLC). S-au efectuat culturi celulare din măduva osoasă hematogenă și/sau sânge periferic, conform metodelor standard.

In studiul nostru, cea mai frecventă anomalie cromozomială întâlnită la pacienții cu LAL a fost hiperdiploidia, doi dintre pacienții cu LAL prezentând cromozom Ph+. Cea mai frecventă anomalie cariotipică clonală în LAM a fost hiperdiploidia, evidențiată în 50% dintre cazuri, în timp ce anomaliiile structurale au fost detectate doar la 25% dintre pacienții cu LAM. Raportăm doar două cazuri de SMD cu deleție 7q, în timp ce aneuploidia a fost prezentă la 20% dintre pacienții cu SMD.

80% dintre pacienții cu LMC au prezentat cromozom Philadelphia. Frecvența cromozomului Ph în momentul diagnosticului a fost de 92%. Nu am avut nici un caz cu cromozom Ph suplimentar și doar un pacient a prezentat i(17q). Anomaliiile clonale citogenetice au fost detectate la 12 dintre pacienții cu LLC. Unul dintre pacienții cu LLC a prezentat translocatie t(7q;14q). Nu am găsit deleții 13q deși este cea mai frecventă anomalie cromozomială în LLC. Cele mai frecvente anomalii cromozomiale întâlnite la pacienții cu LLC sunt anomaliiile numerice, mai frecvente fiind +21, +12 și +X.

Cuvinte cheie: hemopatii maligne, anomalii cromozomiale

C10. Somatic activating mutations in myeloproliferative neoplasms as diagnostic and prognostic markers

Trifa Adrian P.¹, Popp Radu A.¹, Cucuijanu Andrei², Dima Delia², Petrov Ljubomir², Patiu Mariana², Militaru Mariela S.¹

1. Department of Medical Genetics, U.M.F. "Iuliu Hatieganu", Cluj-Napoca; 2. Department of Haematology, "Ion Chiricuta" Cancer Institute, Cluj-Napoca

Polycythemia vera (PV), essential thrombocythemia (ET) and primary myelofibrosis (PMF) are three typical non-BCR-ABL myeloproliferative neoplasms (MPN). Recent researches indicated that a single point somatic activating mutation in the *JAK2* (Janus kinase 2) gene, namely V617F is a crucial molecular event in most of PV cases and about half of the ET and PMF cases. Further, it has been shown that around 5-10% of the ET and PMF cases harbour somatic activating mutations in the *c-MPL* (myeloproliferative leukaemia virus oncogene) gene, notably W515L, W515K and S505N. As from the 2008 World Health Organization, mast cell disease is also a MPN, more than 80% of the affected patients harbouring a single point somatic mutation in the *c-KIT* gene, namely D816V. We present the optimization of molecular studying protocols for all of these mutations (PCR-RFLP and tetra-primer PCR for *JAK2* V617F mutation AS-PCR for *c-MPL* W515L, W515K and S505N mutations and *c-KIT*

D816V mutation), by which their investigation became available in Romania, as well. Meanwhile, we report partial results of the MPNs molecular investigated so far.

Not only these mutations have a diagnostic value, according to the 2008 WHO classification of the CMDs, but it seems that some biological and evolutive features depend on the presence of these mutations, so they may have a prognostic value, as well. As new molecular markers are discovered in haematological disorders, their evaluation must become part of the investigation protocol, in order to achieve a correct diagnosis and to provide a correct therapeutic management.

Key-words: myeloproliferative neoplasms, activating mutations, molecular tests.

Mutatii somatice activatoare in neoplasmele mieloproliferative ca markeri de diagnostic si prognostic

Trifa Adrian P.¹, Popp Radu A.¹, Cucuiaru Andrei², Dima Delia², Petrov Ljubomir², Patiu Mariana², Militaru Mariela S.¹

1. Catedra de Genetica Medicala, U.M.F. "Iuliu Hatieganu", Cluj-Napoca; 2. Clinica de Hematologie, Institutul Oncologic "Ion Chiricuta", Cluj-Napoca

Policitemia vera, trombocitemia esentiala si mielofibroza primara reprezinta trei neoplasme mieloproliferative clasice, negative pentru fuziunea *BCR-ABL*. Cercetari recente au indicat faptul ca o singura mutatie punctiforma somatica activatoare la nivelul genei *JAK2* (Janus kinase 2) reprezinta un eveniment molecular esential in majoritatea cazurilor de policitemia vera si aproximativ jumata din cazurile de trombocitemie esentiala si mielofibroza primara. Ulterior, a fost descoperit faptul ca aproximativ 5-10% din cazurile de trombocitemie esentiala si mielofibroza primara se caracterizeaza prin mutatii punctiforme somatice activatoare la nivelul genei *c-MPL* (myeloproliferative leukaemia virus oncogene), in special W515L, W515K si S505N. Conform clasificarii Organizatiei Mondiale a Sanatatii a neoplasmelor mienoide, publicata in 2008, si mastocitoza sistemica apartine acestui grup de boli, mai mult de 80% din pacientii afectati de aceasta boala prezinta o mutatie punctiforma activatoare la nivelul genei *c-KIT*, si anume D816V. Prezentam optimizarea unor protocoale de genetica moleculara utilizate pentru studiul tuturor acestor mutatii (PCR-RFLP si tetra-primer PCR pentru mutatia *JAK2* V617F, AS-PCR pentru mutatiile *c-MPL* W515L, W515K si S505N si pentru mutatia *c-KIT* D816V), prin care studiul acestora a devenit disponibil si in Romania. In acelasi timp, prezentam rezultate partiale privind detectia acestor mutatii la pacientii investigati pana in prezent. Demonstrarea acestor mutatii in cazurile de neoplasme mienoide a devenit criteriu major de diagnostic, conform ultimilor algoritmi de diagnostic ai acestor boli, publicati in 2008. De asemenea, se pare ca prezenta acestor mutatii se coreleaza cu unele particularitati biologice si evolutive ale acestor boli, putand reprezenta in acelasi timp si factori de prognostic. Pe masura ce progresele geneticii moleculare fac posibila descoperirea a noi markeri moleculari in procesele maligne hematologice, studiul lor devine parte obligatorie a planului de investigatii, pentru a asigura un diagnostic si o atitudine terapeutica corecta.

Cuvinte cheie: neoplasme mieloproliferative, mutatii activatoare, testare moleculara

Hematology 2

C11. The role of cytokines in growth and survival of myeloma cells

Ioniță Hortensia, Ioniță Ioana

University of Medicine and Pharmacy "Victor Babeș", Timișoara

Multiple myeloma (MM) is a differentiated clonal B-cell tumor comprising proliferating plasma cells. Myeloma cells are dependent for their survival and growth on cytokines.

Interleukin-6 is the most important cytokine in myeloma; is essential for the proliferation of normal plasmablastic cells and for the terminal differentiation of plasmoblast to nondividing plasma cells. In MM, IL-6 is a survival factor and does not induce terminal differentiation.

Insulin – like growth factors (IGFs) constitute a family of peptides capable to induce cell proliferation and differentiation. Both IGF-1 and -2 are mitogenic factors secreted by malignant cells. IGF-1 is a growth and survival factor for human myeloma cell lines.

Interleukin-15 induces proliferation and promotes cell survival of T and B cells, natural killer cells, and neutrophils. Expression of a functional IL-15 receptor was shown in myeloma cell lines. Blocking IL-15 in myeloma cell lines increases the rate of spontaneous apoptosis.

Interleukin-10 is a potent inducer of immunoglobulin secretion by normal plasma cells. It stimulates proliferation of primary myeloma cells and myeloma cell lines.

Hepatocyte growth factor (HGF) is a cytokine that promotes formation of osteoclasts from hematopoietic precursor cells, attracts osteoclasts to side of bone marrow resorption, and in co-culture with osteoclasts increases the level of bone resorption .

In myeloma, transforming growth factor beta (TGF-β) is produced by bone marrow stroma cells and myeloma cells. It triggers IL-6 secretion and it causes tumor cell proliferation indirectly, probably by upregulation of IL-6 secretion.

Tumor necrosis factor-α is a potent mediator of inflammation and bone resorption. It modestly triggers proliferation of myeloma cells.

Rolul citokinelor în creșterea și supraviețuirea celulelor mielomatoase

Ioniță Hortensia, Ioniță Ioana

University of Medicine and Pharmacy "Victor Babeș", Timișoara

Mielomul multiplu (MM) este o tumoră a celulelor B clonale diferențiate, inclusivând proliferarea celulelor plasmocitare. Celulele mielomatoase sunt dependente de citokine, pentru supraviețuire și creștere.

Interleukina 6 a fost considerată cea mai importantă citokină în MM; este esențială pentru proliferarea celulelor plasmoblastice normale și pentru diferențierea lor terminală de la plasmoblast la plasmocit matur. Este un factor de supraviețuire important și nu induce diferențierea terminală.

Factorul de creștere insulin-like (IGFs) constituie o familie de peptide care induc proliferarea celulară și diferențierea. IGF1 și 2, sunt factori mitogeni secretați de celulele maligne. IGF1- este un factor de supraviețuire și creștere pentru liniile celulare mielomatoase umane.

Interleukina 15 induce proliferarea și supraviețuirea celulelor T și B, celulelor NK și neutrofilelor. Expresia funcțională a receptorului IL-15 s-a demonstrat în liniile celulare mielomatoase. Blocarea IL-15 în liniile celulare mielomatoase crește rata apoptozei spontane.

Interleukina 10 este un inductor important al secreției de imunoglobulină de către plasmocitele normale. Aceasta stimulează proliferarea celulelor mielomatoase primare și liniile celulare mielomatoase.

Factorul de creștere hepatocitar (HGF) este o citokină care promovează formarea osteoclastelor din celulele hematopoietice precursoare, atrage osteoclastele la locul resorbției osului medular, iar în culturile cu osteoclaste crește nivelul resorbției osoase.

În mielom, factorul transformator al creșterii β (TGF- β) este produs de celulele stromei măduvei osoase și de celulele mielomatoase. Acesta influențează secreția de IL-6 și determină astfel, indirect, proliferarea celulară tumorală probabil prin reglarea secreției de IL-6.

Factorul de necroză tumorală este un mediator puternic la inflamației și resorbției osoase, acesta determină o proliferare modestă a celulelor mielomatoase.

R15. Pure red cell aplasia in immunosuppressed renal transplant recipients. Case report and literature review

Patiu Mariana¹, Selicean Cristina¹, Filipas Cristina¹, Nastase Violeta¹, Cucuiu Andrei²

1. "Ion Chiricuta" Cancer Institute, Hematology Dept, Cluj Napoca; 2. University of Medicine and Pharmacy "Iuliu Hațieganu" Cluj Napoca

Anaemia is an important and frequent event after renal transplant. The prevalence of anaemic syndrome in renal transplant recipients is estimated at 20-40%; distinguishing between different underlying causes of anaemia is extremely important for therapy.

The case report presents two patients who received a renal transplant at the Institute for Urology and Renal Transplant from Cluj-Napoca.

SM, 41 year old woman, with polycystic kidney disease, renal dialysis since 2004, transplant recipient in 2005 from living unrelated donor, immunosuppressive treatment. Sudden onset of anaemia in august 2008, with haemoglobin 4g/dl, clinically accompanied by an infectious syndrome. Bone marrow aspirate reveals suggestive changes for an infection with Parvovirus B19. Therapy with immunoglobulin and erythropoietin, and reduction of immunosuppression were followed by increase of haemoglobin level up to 11 g/dl.

CI, 38 year old male, hereditary lysozym amyloidosis with renal, splenic and hepatic involvement, diagnosis established at the Fundeni hospital in June 2007, transplant recipient from genetically related donor, splenectomy in April 2008 for splenic rupture. Haemoglobin level decreases progressively to 4,4 g/dl. Bone marrow aspirate reveals hypoplastic erythroid series and the presence of giant proerythroblasts suggestive for involvement of Parvovirus B19 in the pathogenesis of the anaemic syndrome.

Immunosuppressed patients infected by Parvovirus B 19 develop pure red cell aplasia with giant proerythroblasts in the bone marrow.

If modern diagnostic tools for parvovirus B 19 infection are lacking, bone marrow aspirate can yield a highly suggestive picture.

Aplazie pură a seriei eritrocitare la pacienți cu transplant renal și tratament imunosupresiv. Prezentare de caz și revizuirea datelor din literatură

Pațiu Mariana¹, Selicean Cristina¹, Filipas Cristina¹, Năstase Violeta¹, Cucuiu Andrei²

1. Institutul Oncologic "Ion Chiricuță", Departamentul Hematologie, Cluj Napoca; 2. UMF Iuliu Hațieganu Cluj Napoca

Anemia este frecvent întâlnită la pacienții cu transplant renal. Prevalența sindromului anemic la acești pacienți este estimată la 20-40%; stabilirea cauzei anemiei este extrem de importantă pentru alegerea regimului terapeutic.

Prezentăm doi pacienți transplantați renal la Institutul de Urologie și Transplant Renal Cluj-Napoca.

SM, 41 ani, sex F, cu boală polichistică renală, dializată din 2004, transplantată în 2005 cu rinichi de la donator viu, genetic neînrudit, face tratament imunosupresor.

În august 2008 se instalează brusc un sindrom anemic sever cu hemoglobina 4 g/dl în context infecțios. Aspiratul medular prezintă modificări sugestive pentru infecția cu Parvovirus B19. Terapia cu imunoglobuline, eritropoietină și reducerea imunosupresiei este urmată de creșterea nivelului hemoglobinei la 11 g/dl.

CI, 38 ani, sex M, cu amiloidoză ereditară tip lizozim, cu interesare renală, splenică și hepatică, diagnostic stabilit la Spitalul Fundeni în iunie 2007, transplantată cu rinichi de la donator genetic înrudit, splenectomizat în aprilie 2008 pentru ruptură de splină. Nivelul hemoglobinei scade progresiv la 4,4 g/dl. Aspiratul medular relevă hipoplazia seriei eritrocitare cu prezența de proeritroblasti giganți, sugestivă pentru infecția cu Parvovirus B 19.

Pacienții imunosuprași infectați cu Parvovirus B19 dezvoltă aplazie pură a seriei roșii cu progigantoblaști în maduvă.

În absența posibilităților diagnostice moderne pentru infecția cu Parvovirus B19, aspectul maduvei osoase este înalt sugestiv.

C16. Utility of CD34 and CD117 markers in management of acute myeloid leukemia

Bacârea Anca¹, Pațiu Mariana², Cucuiu Andrei², Bacârea Vladimir¹, Dorcioman Bogdana³, Oltean Galafteon¹

1. University of Medicine and Pharmacy Tg Mures, 2. "Ion Chiricuta" Cancer Institute, Cluj-Napoca, 3. Emergency Clinical Hospital Mures

Analysis panels for acute myeloid leukemia (AML) usually include CD34 and CD117. Blast cells can be distinguished from maturing myeloid cells by means of the expression of these immaturity markers and help in establishing myeloid lineage. Some blasts are CD34 and CD117 negative and thus are difficult to distinguish from more mature cells (CD34 negative monoblasts from mature monocytes). For this reason it is preferable not to distinguish blasts according to CD34 expression.

Opinions in what concerns CD34 value as prognostic factor are various. Some authors consider that a high expression of CD34 correlates with a low rate of complete remission (CR) and other authors that CD34 should not be considered a marker of poor prognosis in AML.

The aim of our study was to evaluate the frequency of these two markers' expression in our lot and their prognostic significance as single markers and in combination.

Our lot includes 59 adult patients with newly diagnosed AML at the Hematology Department of Medical Clinic I in Tg-Mures and at the Hematology Department of "Ion Chiricuta" Cancer Institute Cluj-Napoca. The inclusion criterion was: untreated patients with primary or secondary AML at the time of diagnosis, with complete investigations, between 2006 and 2008.

The frequency of CD34 expression in our lot was 76,3%. CD34 was positive on blast cells between 20% and 99% with medium of 64% and median of 68%. The frequency of CD117 expression in our lot was 75%.

Individual expression of the two markers did not influence obtaining CR and 1 year remission. We compared survival of patients CD34+ against those CD34-. Although medium of survival of CD34+ patients was 6 month versus 8 month in CD34- patients, CD34 did not significantly correlate with overall survival (OS) ($p = 0,14$). CD34+/CD117- significantly influenced survival, because these patients had significant lower survival than those CD34+ and CD117+ ($p = 0,01$).

Our study shows the diagnostic value of the studied markers, but their individual expression did not influence evolutional parameters. Analysis of CD34 and CD117 association has prognostic value.

Utilitatea markerilor CD34 și CD117 în managementul leucemiei acute mieloide

Bacârea Anca¹, Pațiu Mariana², Cucuiu Andrei², Bacârea Vladimir¹, Dorcioman Bogdana³, Oltean Galafteon¹

1. UMF Tg Mureș, 2. Institutul Oncologic „Ion Chiricuță” Cluj – Napoca, 3. Spitalul Clinic Județean de Urgență Mureș

Panelurile de analiză pentru lecemia acută mieloidă (LAM) includ markerii CD34 și CD117, mieloblaștii pot fi diferențiați de celulele mieloide în maturare prin expresia acestor markeri de imaturitate, respectiv ajută la stabilirea apartenenței la linia mieloidă. Unii blaști însă, sunt negativi pentru CD34 și CD117 și sunt greu de diferențiat de celulele mai mature (monoblaștii CD34 negativi de monocitele mature). De aceea, chiar dacă este tentant, este preferabil ca selecția blaștilor să nu se facă în funcție de CD34. Părerile în ceea ce privește valoarea prognostică a lui CD 34 sunt împărțite. Unii autori consideră că expresia înaltă a lui CD34 se coreleză cu o rată mai mică a remisiei complete (RC), iar alții că nu are vreo semnificație prognostică.

Scopul studiului nostru a fost să evaluăm frecvența expresiei celor doi markeri pe lotul studiat, semnificația lor prognostică, atât ca expresie individuală, cât și în asociere.

Lotul analizat include 59 pacienți diagnosticați în Clinica Medicală I a Spitalului Clinic Județean de Urgență Tg – Mureș și în Clinica de Hematologie a Institutului Oncologic „Ion Chiricuță” Cluj – Napoca. Criteriul de includere în studiu a fost - pacienți adulți cu LAM primare și secundare, complet investigați, diagnosticați în perioada 2006-2008.

Frecvența expresiei CD34 pe lotul studiat a fost de 76,3%. Markerul a fost pozitiv la nivelul populației blastice între 20% și 99%, cu o medie a expresiei de 64 % și o mediană de 68 %. Frecvența expresiei CD117 pe lotul studiat a fost de 75%.

Expresia individuală a celor doi markeri nu a influențat obținerea RC, nici menținerea remisiei la 1 an. Am comparat supraviețuirea pacienților cu CD34+, față de cei CD34-. Deși media timpului de

survivability of patients with CD34+ was 6 months, while for CD34-, CD34+ had a survival rate significantly lower than global survival (SG) ($p = 0,14$). The association CD34+/CD117- influenced survival statistically significant, because patients with CD34+ and CD117+ ($p = 0,01$).

The study indicates the value of diagnostic markers, regardless of individual expression, influencing the evolution parameters. Analysis of the association CD34 and CD117 has prognostic value.

Genetics

C19. Role of genetic analysis and research for rare diseases diagnosis

Puiu Maria, Stoian Monica

Dept. of Medical Genetics, „Victor Babeș” University of Medicine and Pharmacy Timișoara

A disease is considered rare if it affects less than 5/10000 of people. Most of rare diseases are genetic disorders, resulting from inherited or newly arising mutations in genes involved in the development and function of different organ systems.

The development of genetic investigations techniques from conventional cytogenetic analysis, to cytogenetic-molecular techniques and molecular investigations of the gene sequence and gene expression in different tissues, made possible the diagnosis of many genetic disorders and identified the underlying causes. The etiologic identification allows an early, accurate diagnosis and an adequate genetic counseling for the patients, as a means reducing of risk of recurrence in the family.

As specific disease syndromes are recognized and the responsible genes identified, mutations in individual families can be identified. Correlation of mutation sites with clinical information will help determine how specific gene segments encode important functional protein domains.

Families with rare disorders of known or suspected genetic basis will be enrolled. Genetic linkage studies are an important aspect of the research regarding rare diseases and will include all available family members, while gene sequence analysis will be performed on affected individuals. Subjects considered by the investigators to be appropriate for linkage studies will be invited to participate by the medical geneticists.

Animal model studies have contributed to the explosion of new knowledge. In recent years, molecular genetics has given important insights regarding pathogenesis in many disorders we can expect more advances as geneticists continue. More effective remedies are being under research, including possible treatment for the gene defect itself. Experts see many more in the future, as research in molecular genetics opens some of the "black boxes" of biology.

Keywords: rare diseases, genetic analysis, genetic research

Rolul investigațiilor genetice și al cercetării în diagnosticul bolilor rare

Puiu Maria, Stoian Monica

Dept. de Genetică Medicală, UMF „Victor Babeș” Timișoara

O boală este considerată rară dacă afectează mai puțin de 5/10000 de indivizi. Majoritatea bolilor rare sunt afecțiuni genetice, determinate de mutații transmise din generație în generație sau apărute de novo, în gene implicate în dezvoltarea sau funcționalitatea diferitelor sisteme și organe.

Dezvoltarea tehniciilor de investigare a bolilor genetice, de la tehniciile de citogenetică convențională, la cele de citogenetică moleculară, și culminând cu investigațiile moleculare la nivel de secvență genică și expresie genică în diferite țesuturi, au permis stabilirea diagnosticului multor afecțiuni genetice și identificarea mecanismelor cauzatoare. Precizarea etiologiei permite un diagnostic exact, precoce și un sfat genetic adecvat, ca mijloc de reducere a riscului de recurență a bolii în familie.

Pe măsură ce sindroame specifice sunt recunoscute și genele cauzatoare sunt precizate, este posibilă identificarea mutațiilor apărute în cadrul familiilor individuale. Corelația dintre poziția mutației în cadrul secvenței genice și aspectul clinic al bolii va permite identificarea modului de codare al unor segmente genice în diferite domenii funcționale ale proteinelor.

Familiile care au membri afectați trebuie luate în studiu. Analizele de linkaj genic reprezintă un aspect important al cercetării privind bolile rare și trebuie să includă toți membrii disponibili, dar analiza secvențierii genice va fi efectuată doar la indivizii afectați. Indivizii luati în observație pentru analiza linkajului genic vor fi contactați de medicul genetician.

Modelele de studiu pe animal au contribuit la explozia descoperirilor în domeniul geneticii moleculare. În ultimii ani, genetica moleculară a făcut posibilă descifrarea mecanismelor patogene în multe boli și se așteaptă descoperiri mai avansate pe masură ce cercetările avansează. Cercetarea vizează remedii mai eficiente pentru aceste boli, majoritatea fără tratamente specifice, incluzând posibile terapii genice.

Cercetătorii prevăd mai multe dezvăluiri de această manieră pe viitor, deoarece cercetarea în genetica moleculară deschide tot mai multe dintre „cutiile negre” ale biologiei.

Cuvinte cheie: boli rare, investigații genetice, cercetare genetică

C20. Correlations of clinical, genetic and epigenetic in Prader-Willi syndrome: model of multidisciplinary approach for the management of rare diseases in Romania

Puiu Maria¹, Stoian M.¹, Belengeanu V.¹, Cucu N.², Anton G.³, Badiu C.⁴, Dan D.⁵

1. Dept. of Medical Genetics, „Victor Babeș” University of Medicine and Pharmacy Timișoara; 2. Dept. of Epigenetics, Faculty of Biology Bucharest; 3. National Institute of Virology Bucharest; 4. National Institute of Endocrinology Bucharest; 5. Romanian Association Prader-Willi, Romanian National Alliance of Rare Diseases

Aim of the study: The aim of our study is the integration of a multidisciplinary approach for Prader-Willi syndrome, a genomic disease caused by absent expression of the paternally active genes on chromosome 15. Most patients with Prader-Willi syndrome are missing the genetic material on part of the paternal chromosome. The remaining patients frequently have two copies of the maternal chromosome 15.

Materials and Methods: The study envisages the cytogenetic and molecular genetics approaches in the syndrome diagnosis, establishing a European research network partnership. This research will allow: 1. establishment of a strategy in definition for genotypes PWS; 2. correct identification of the genetic defect; 3. detection of the variation in gene expression/gene subsequent and their regulation pathway mechanism; 4. the involvement of epigenetic factors that modulate (enhancing/decreasing) the severity of phenotypic aspects into the diagnosis protocols. The team involved in the study is multidisciplinary, comprising medical specialists, but also with regard to the habilitation aspects. In order to reach successful outcomes, cooperation between family and team members, during the phases of diagnosis and treatment must exist.

Results: PWS is associated to high mortality and morbidity, thus, this study wishes to set the ground for guidelines for early diagnosis and treatment, in order to improve the medical and social standard for affected patients with PWS. Our preliminary data show weight loss, improvements in: family's educational management, coordination of movements, self-management and a reduction of anxiety.

Conclusions: The Romanian research should be more active in the rare disease area, that's why we propose an epigenetic new European approach realized by prestigious teams. Through this new type of partnership between universities, research institutes, hospitals, nongovernmental associations of affected patients we try to redefine connections between fundamental research and the medical practice, developing a multidisciplinary investigation model for rare disease in Romania.

Keywords: PWS (Prader-Willi Syndrome), epigenetics, rare diseases

Corelații clinice-genetice-epigenetice în sindromul Prader-Willi: Model de abordare interdisciplinară a bolilor rare în România

Puiu Maria¹, Stoian M.¹, Belengeanu V.¹, Cucu N.², Anton G.³, Badiu C.⁴, Dan D.⁵

1. Dept. de Genetică Medicală, UMF „Victor Babeș” Timișoara; 2. Dept. de Epigenetică Facultatea de Biologie București; 3. Institutul Național de Virusologie București; 4. Institutul Național de Endocrinologie București; 5. Asociația Prader-Willi, România, Alianța Națională a Bolilor Rare România

Scop: Studiul propune o abordare multidisciplinară a sindromul Prader-Willi (PWS), afecțiune genetică, determinată de absența genelor cu expresie paternă de pe cromozomul 15. Majoritatea pacienților cu PWS datorează sindromul absenței unei regiuni de pe cromozomul 15. Restul pacienților prezintă două căpătări ale cromozomului 15 matern.

Material și metode: Studiul propune investigarea citogenetică și moleculară pentru diagnosticul sindromului și crearea unui parteneriat cu rețeaua europeană de cercetare. Studiul va permite: 1. stabilirea unei strategii pentru definirea genotipurilor PWS; 2. identificarea exactă a defectului genetic; 3. descifrarea variației expresiei genice/secvenței genice și căile reglatoare ale mecanismelor patogenice; 4. implicarea factorilor epigenetici care modulează severitatea tabloului clinic. Echipa implicată în această cercetare este multidisciplinară și multicentrică, iar pentru rezultate optime, pe parcursul etapelor de diagnostic și tratament, se asigură o bună colaborare între echipă și membrii familiei.

Rezultate: PWS este asociat cu mortalitate și morbiditate crescute, astfel acest studiu își propune să stabilească bazele pentru un diagnostic și tratament precoce, pentru a îmbunătăți standardul medical și social al pacientilor cu PWS. Datele preliminare relevă o scădere în greutate a pacienților

din studiu, îmbunătățirea managementului educațional al familiei, coordonarea mișcărilor, auto-control și reducerea anxietății.

Concluzii: Cercetarea românească ar trebui să fie mai vizibilă în sfera bolilor rare. În acest sens, propunem o abordare epigenetică nouă a bolii, inserată tendințelor europene de cercetare, realizată de echipe prestigioase. Prin un model nou de parteneriat între universități, institute de cercetare, spitale, asociații nonguvernamentale, vom încerca să redefinim legatura dintre cercetarea fundamentală și practica medicală, punând bazele unui model de investigare multidisciplinară pentru bolile rare din România.

Cuvinte cheie: sindrom Prader-Willi (PWS), epigenetic, boli rare

C21. Evaluations of chromosomal abnormalities diagnosed prenatally in Cluj – Napoca

Militaru Mariela¹, Popp R.A.¹, Trifa A.¹, Militaru M.², Stamatian F.³

1. Dept. of Medical Genetics, „Iuliu Hațieganu” University of Medicine and Pharmacy Cluj-Napoca; 2. Clinic of Paediatrics II, „Iuliu Hațieganu” University of Medicine and Pharmacy Cluj-Napoca; 3. Clinic of Gynecology I, „Iuliu Hațieganu” University of Medicine and Pharmacy Cluj-Napoca

Prenatal diagnosis for chromosomal disorders is performed routinely in populations since most of these disorders have severe consequences such as major malformations and mental retardation. Since advanced technologies in rapid diagnostic tests have been developed to detect common trisomies prenatally it is essential that each laboratory should evaluate their own prenatal diagnosis profile. In this study we aimed to investigate the type and proportion of chromosomal abnormalities detected in cytogenetic studies prenatally and referral indications in 684 pregnant cases in Cluj-Napoca, Romania between the period of 2002-2007. The overall chromosomal abnormality rate was found to be 49/684 (7,76%). The cytogenetic analysis with GTG banding of amniotic fluid cells revealed: trisomy 21(12 cases), trisomy 18 (7 cases), monosomy X (6 cases), trisomy 16 (1 case), trisomy 8 (1 case), trisomy 15 (1 case), robertsonian translocations (2 cases), Klinefelter syndrome (3 cases), autosomal deletions (3 cases), autosomal monosomy (2 cases), poliploidy (3 cases), chromosome marker (6 cases), trisomy X (1 case), Fra 5q31 (1 case). Cytogenetic prenatal diagnosis is a method for prevention chromosomal disorders, especially for the aneuploidy.

Keyword: amniotic fluid, G-banding, chromosomal abnormalities

Studiul cromosomilor fetali din lichidul amniotic în centrul universitar Cluj-Napoca

Militaru Mariela¹, Popp R.A.¹, Trifa A.¹, Militaru M.², Stamatian F.³

*1. Catedra de Genetică Medicală; 2. Catedra Pediatrie II; 3. Catedra Ginecologie I,
UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca*

Diagnosticul prenatal pentru bolile cromosomiale se realizează frecvent la nivel populațional de cănd majoritatea acestor boli au avut consecințe severe cum ar fi malformațiile majore și retardul mental. Odată cu dezvoltarea tehnicii rapide de diagnostic prenatal pentru majoritatea trisomilor este esențial ca fiecare laborator să-și evaluateze propriul profil în acest domeniu. Studiul de față este unul

retrospectiv, extins pe perioada 2002- 2007 și a cuprins 684 gravide cărora li s-a efectuat amniocenteza. Morfologia cromosomilor din lichidul amniotic a fost studiată folosind bandarea G. În urma analizei citogenetice au fost decelate 49 de anomalii cromosomiale, ceea ce reprezintă 7,76 % din totalul cazurilor studiate. Tipurile de modificări citogenetice au fost urmatoarele: trisomie 21 (12 cazuri), trisomie 18 (7 cazuri), monosomie X (6 cazuri), trisomie 16 (1 caz), trisomie 8 (1 caz), trisomie 15 (1 caz), translocații robertsoniene (2 cazuri), sindrom Klinefelter (3 cazuri), deleții autosomale (3 cazuri), monosomii autosomale (2 cazuri), poliploidii (3 cazuri), cromosom marker (5 cazuri), cromosom 15 bisatelită (1 caz), trisomie X (1 caz), Fra5q31 (1 caz). Se poate aprecia că diagnosticul citogenetic prenatal este o metodă eficace în profilaxia bolilor cromosomiale, în special a aneuploidiei.

Cuvinte cheie: lichid amniotic, benzi G, anomalii cromosomiale

C22. The importance of chromosomal analysis in diagnosis of plurimalformative syndromes

Gorduza Eusebiu Vlad¹, Grămescu Mihaela¹, Rusu Cristina¹, Voloșciuc Mihail², Bujoran Cornel², Ivanov Iuliu³, Braha Elena¹, Butnariu Lăcrămioara¹, Pânzariu Monica¹, Caba Lavinia¹, Popescu Roxana¹, Stoica Ortansa¹, Covic Mircea¹

1. Dept. of Medical Genetics, Laboratory of Cytogenetics, „Gr. T. Popa” University of Medicine and Pharmacy Iași, 2. „Sf. Maria” Clinical Paediatric Hospital Iași; 3. Laboratory of Immunology and Genetics, „Sf. Spiridon” Emergency Clinical Hospital Iași

Etiological diagnosis of plurimalformative syndromes imposes the chromosomal analysis. Between 2001-2008, in Cytogenetic Laboratory of UMF Iași, we realised 646 karyotypes in plurimalformative syndromes (38,29%). In cranio-facial dysmorphism (95 cases – 14,70%) we found 17 abnormal cases (17,84%): 6 deletions, 4 chromosomes with unknown supplementary material (add) 2 insertions, 2 mosaicism, 1 inversion, 1 trisomy 21 and 1 tetrasomy XXYY. In clinical indefinite plurimalformative syndromes (82 cases – 12,69%) we found 25 abnormal cases (30,48%): 7 deletions, 5 add, 4 trisomies 13, 3 trisomies 18, 3 partial trisomies, 2 trisomies 21 and 1 triploidy. At patients with recognizable plurimalformative syndromes (72,61%) we found the following: In Down syndrome, from 409 cases, 400 were confirmed (350 homogenous 21 trisomies (87,5%), 27 mosaicism trisomy 21 (6,75%), 17 trisomies 21 by Robertsonian translocations (4,25%) and 6 cases with other form of 21 trisomy (1,5%)). In other plurimalformative syndromes we identified the following: Edwards syndrome – 11 cases (6 trisomies 18 and 1 add(9)), Patau syndrome – 6 cases (3 trisomies 13) velocardiofacial syndrome - 5 cases (all normales), Prader-Willi syndrome – 5 cases (1 microscopical 15q deletion and 1 submicroscopical deletion), Wolf-Hirschhorn syndrome – 6 cases (3 microscopical 4p deletion and 2 submicroscopical deletion), Williams syndrome – 9 cases (1 microscopical 7q deletion and 1 submicroscopical deletion), X fragil syndrome – 14 cases (2 confirmed) and „cri du chat” syndrome – 4 cases (2 microscopical 5p deletions). Our study indicates the importance of classical chromosomal analysis in plurimalformative syndrome, in association with molecular cytogenetic techniques.

Keywords: chromosomal analysis, plurimalformative syndromes, chromosomal abnormalities

Importanța analizei cromosomice în diagnosticul sindroamelor plurimalformative

Gorduza Eusebiu Vlad¹, Grămescu Mihaela¹, Rusu Cristina¹, Voloșciuc Mihail², Bujoran Cornel², Ivanov Iuliu³, Braha Elena¹, Butnariu Lăcrămioara¹, Pânzariu Monica¹, Caba Lavinia¹, Popescu Roxana¹, Stoica Ortansa¹, Covic Mircea¹

1. Disciplina de Genetică Medicală, Laboratorul de Citogenetică, UMF „Gr. T. Popa” Iași; 2. Spitalul Clinic de Pediatrie „Sf. Maria” Iași; 3. Laboratorul de Imunologie și Genetică, Spitalul Clinic de Urgențe „Sf. Spiridon” Iași

Diagnosticul etiologic al sindroamelor plurimalformative necesită analiză cromosomică. În perioada 2001-2008, în Laboratorul de Citogenetică al UMF Iași au fost realizate 646 de cariotipuri în sindroame plurimalformative (38,29%). În dismorphiile cranio-faciale (95 cazuri – 14,70%) am evidențiat 17 cazuri anormale (17,84%): 6 deleții, 4 cromosomi cu material suplimentar de origine necunoscută (add) 2 inserții, 2 mozaicuri, 1 inversie, 1 trisomie 21 și o tetrasomie XXYY. În sindroamele plurimalformative nedefinite clinic (82 de cazuri – 12,69%) am găsit 25 de cazuri anormale (30,48%): 7 deleții, 5 add, 4 trisomii 13, 3 trisomii 18, 3 trisomii parțiale, 2 trisomii 21 și o triploidie. La pacienții cu sindroame plurimalformative recunoscute clinic (72,61%) am găsit următoarele date: în sindromul Down, din 409 cazuri, 400 au fost confirmate (350 de trisomii 21 omogene (87,5%), 27 de trisomii 21 în mozaic (6,75%), 17 trisomii 21 prin translocații Robertoniene (4,25%) și 6 trisomii 21 de alt tip (1,5%)); în alte sindroame plurimalformative am identificat următoarele: sindromul Edwards – 11 cazuri (6 trisomii 18 și un add (9)), sindromul Patau – 6 cazuri (3 trisomii 13), sindromul velocardiofacial - 5 cazuri (toate normale), sindromul Prader-Willi – 5 cazuri (1 deleție 15q microscopică și 1 deleție submicroscopică), sindromul Wolf-Hirschhorn – 6 cazuri (3 deleții 4p microscopice, 2 deleții submicroscopice), sindromul Williams – 9 cazuri (1 deleție 7q microscopică și 1 deleție submicroscopică), sindromul X fragil – 14 cazuri (2 confirmate) și sindromul „cri du chat” – 4 cazuri (2 deleții 5p microscopice). Studiul nostru atestă importanța analizei cromosomice clasice în sindroamele plurimalformative, eventual completată de tehnici de citogenetică moleculară.

Cuvinte cheie: analiză cromosomică, sindroame plurimalformative, anomalii cromosomice

C23. Genetic testing in hereditary haemochromatosis

Popp R.A., Trifa A.P., Crisan Tania, Farcas M., Militaru Mariela

Dept. of Medical Genetics, „Iuliu Hațieganu” University of Medicine and Pharmacy Cluj-Napoca

Hereditary haemochromatosis, one of the most frequent genetic diseases is characterized by a variable iron overload, leading finally to multisystemic damages. Its incidence is variable, reaching maximum levels in North European populations, where around 1 in 200 individuals is affected. More than 80% of the cases are associated with mutations in the HFE gene, the so-called type I, or classical hereditary haemochromatosis, while the remaining of less than 20% are caused by mutations in gene encoding other different proteins involved in iron's metabolism, the so-called type II, III and IV hereditary haemochromatosis. In case of biochemical parameters suggestive for an iron overload, genetic testing represents a valuable tool for a correct diagnosis and treatment. Despite little is known to date

in our country about the frequencies of the mutations causing iron overload, the development of genetics makes possible that genetic testing become available and meanwhile part of the diagnostic algorithms in Romania, as well. Thus, we would like to highlight the importance of the molecular investigations as part of the correct investigation protocol, available molecular tests, as well as some data regarding the distribution of some haemochromatosis-causing mutations in the Romanian population.

Keywords: hereditary haemochromatosis, mutations, molecular diagnosis.

Testarea genetică în hemocromatoza ereditară

Popp R.A., Trifa A.P., Crisan Tania, Farcas M., Militaru Mariela

Catedra de Genetică Medicală, UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca

Hemocromatoza ereditară este una din cele mai frecvente boli genetice, cu afectare multisistemă prin supraîncărcarea organismului cu fier, cu o incidență variabilă ce poate ajunge la 1 / 200 de indivizi în populațiile nord-europene. Cea mai mare parte a cazurilor de hemocromatoza sunt de tip I, mutațiile genei HFE reprezentând aproximativ 80% din totalitatea mutațiilor care determină hemocromatoza ereditară; în restul cazurilor, tulburările metabolismului fierului sunt determinate de mutații ale altor gene, determinând hemocromatoza de tip II, III sau IV. În prezența unor modificări ale parametrilor bioumorali care denotă o supraîncărcare cu fier, testarea genetică devine un factor esențial pentru diagnostic și tratament. Deși încă în prezent frecvența mutațiilor la nivelul genelor implicate în etiologia hemocromatozei ereditare este puțin cunoscută în România, în ultimii ani dezvoltarea geneticii crează premizele pentru ca testarea genetică să devină accesibilă și să se constituie în parte integrantă a algoritmului de diagnostic și în țara noastră. În acest context, dorim să subliniem importanța pe care o poate avea testele moleculare în stabilirea diagnosticului corect, teste disponibile precum și unele date vizând frecvența unor mutații în populația din România.

Cuvinte cheie: hemocromatoza ereditară, mutații, diagnostic molecular.

C24. Possibilities and challenges in the molecular diagnosis of monogenic diseases: lysosomal storage disorders

Csép Katalin¹, Drugan Cristina², Pașcanu Ionela¹, Bănescu Claudia¹, Butilă Todoran Anamaria¹

1. University of Medicine and Pharmacy Tg. Mureș – Department of Genetics, 2. University of Medicine and Pharmacy Cluj-Napoca – Department of Biochemistry

Despite the monogenic etiology, in inherited metabolic diseases, the final diagnosis is generally made by classic biochemical methods. This is the case in lysosomal storage disorders too, where the suspected clinical diagnosis is confirmed by enzyme assay carried out by fluorimetry or mass spectrometry, and DNA analysis is not mandatory for the diagnosis or initiation of the treatment.

Like in most enzymopathies, the inheritance is recessive (autosomal, except for the X-linked Fabry disease and MPS II). Patients homozygotic for the mutant gene are in fact frequently compound heterozygotes. Genetic heterogeneity is characteristic, with tens or hundreds of iso- or heteroalleles of the same gene caused by various mutation mechanisms or at different nucleotide levels. New mutations are continuously reported like the c.874G>A (p.A292T) missense mutation of the GLA gene identified in a Romanian family with Fabry disease (Spănu et al., 2007). Though the targeted identifi-

ation of common mutations of the GBA gene (N370S, L444P, R463C, 84GG, recNciI, recTL) is carried out by PCR-based techniques in the national diagnostic center, often sequencing is required done in collaboration with foreign laboratories from the shipped blood or DNA samples.

The identification of the genotype is the basis of family screening, carrier testing and prenatal diagnosis. The genotype-phenotype correlation remains inconclusive in most of the cases, though sometimes it can be used as a prognostic marker (e.g. the lack of neuronopathy in Gaucher patients homo- or heterozygous for the N370S allele).

In conclusion, the mutation analysis can contribute with valuable information to the successful management of the affected families, though it must be interpreted carefully.

Posibilitățile și dificultățile diagnosticului molecular al afecțiunilor monogenice: bolile de tezaurizare lizosomală

Csép Katalin¹, Drugan Cristina², Pașcanu Ionela¹, Bănescu Claudia¹, Butilă Todoran Anamaria¹

1. Universitatea de Medicină și Farmacie Tg. Mureș – Disciplina de Genetică,

2. Universitatea de Medicină și Farmacie Cluj-Napoca – Catedra de Biochimie

În ciuda etiologiei monogenice, în bolile metabolice ereditare diagnosticul final se stabilește în general prin metode biochimice clasice. Astfel, în cazul bolilor de tezaurizare lizosomală unde diagnosticul clinic suspectat se confirmă prin determinarea enzimatică fluorimetrică sau prin spectrometrie de masă, analiza la nivel de ADN nu este obligatorie pentru diagnostic respectiv inițierea tratamentului.

Ca în majoritatea enzimopatiilor, mecanismul de transmitere este autozomal recessiv (cu excepția bolilor Fabry și MPZ II legate de X). Frecvența pacienții considerați homozigoți recessivi sunt de fapt heterozigoți compuși. Heterogenitatea genetică este caracteristică, cu zeci sau chiar sute de izo- și heteroalele ale genei respective cauzate de mutații prin mecanisme diferite sau la alt nivel nucleotidic. În permanență se raportează mutații noi, ca de exemplu mutația cu sens greșit c.874G>A (p.A292T) a genei GLA identificată la o familie cu boala Fabry din România (Spănu et al., 2007). Deși identificarea ţintită a mutațiilor frecvente ale genei GBA (N370S, L444P, R463C, 84GG, recNciI, recTL) se realizează în centrul național de diagnostic prin metode bazate pe PCR, frecvența este necesară secvențierea în colaborare cu laboratoare din străinătate din probele de sânge sau AND trimise.

Elucidarea genotipului stă la baza screening-ului în familie, a identificării heterozigoțiilor și diagnosticului prenatal. Corelația genotip-fenotip rămâne neconcludentă în majoritatea cazurilor, dar uneori poate fi folosită ca marker prognostic (de exemplu, lipsa neuronopatiei la pacienții Gaucher homo- sau heterozigoți pentru alela N370S).

În concluzie, analiza mutațiilor contribuie cu informații valoroase la managementul eficace al familiilor afectate, deși rezultatele trebuie interpretate cu atenție.

C25. Laboratory diagnosis of lysosomal storage diseases

Drugan Cristina¹, Grigorescu-Sido Paula²

1. Dept. of Medical Biochemistry, „Iuliu Hațieganu” University of Medicine and Pharmacy Cluj-Napoca; 2. Clinic of Paediatrics I, „Iuliu Hațieganu” University of Medicine and Pharmacy Cluj-Napoca

Lysosomal storage diseases, caused by the hereditary deficiency of lysosomal proteins, mostly enzymes involved in the intracellular degradation of various substrates, are characterised by an important prevalence (1/5000 - 1/7000), when considered globally. Current biochemical diagnosis methods are based on the specific assays of various lysosomal enzymes, by fluorimetric or spectrophotometric methods. Biochemical diagnosis is followed by the identification of specific mutations for the most frequent lysosomal storage disorders. Our study aimed to identify the most prevalent lysosomal enzyme deficiencies in Romanian patients, based on biochemical and molecular assays specifically adapted to the clinical picture. Mutation analysis in Gaucher disease patients allowed the identification of genotype-phenotype correlations, in agreement with literature data, but also highlighting specific findings in our patients. Serum chitotriosidase activity was analysed as a marker of clinical evolution in Gaucher disease patients, in the context of therapeutic monitoring. This study highlights the importance of laboratory diagnosis in lysosomal storage diseases, as a key-step in the diagnosis algorithm and underlines the significance of molecular diagnosis and of continuous monitoring of biochemical markers in these highly heterogeneous disorders.

Diagnosticul de laborator în bolile lizozomale

Drugan Cristina¹, Grigorescu-Sido Paula²

1. Catedra de Biochimie Medicală, UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca; 2. Clinica Pediatrie I, UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca

Bolile lizozomale, cauzate de deficitul ereditar al unor proteine lizozomale, în majoritatea cazurilor enzime implicate în catabolismul intracelular al diferitelor substrațe, se caracterizează printr-o prevalență destul de ridicată (1/5000 - 1/7000), atunci când sunt considerate în ansamblul lor. Metodele actuale de diagnostic biochimic se bazează pe măsurarea activității diferitelor enzime lizozomale, pe baza unor determinări fluorimetrice sau spectrofotometrice. Determinările biochimice sunt completate cu identificarea mutațiilor caracteristice pentru cele mai frecvente dintre bolile lizozomale. În laboratorul nostru ne-am propus identificarea celor mai frecvente enzimopatii lizozomale la pacienții din țara noastră, pe baza unor metode biochimice și moleculare, printr-un bilanț enzimatic adaptat tabloului clinic. Analiza mutațiilor frecvente la pacienții cu boala Gaucher a permis conturarea unor corelații între genotip și fenotip, în concordanță cu datele din literatură, dar și evidențierea particularităților specifice pentru pacienții români. Activitatea chitotriozidazei serice, ca marker al evoluției clinice în boala Gaucher, a fost analizată în contextul monitorizării tratamentului de substituție enzimatică. Acest studiu demonstrează importanța diagnosticului de laborator în bolile lizozomale, ca etapă specifică în algoritmul diagnostic și evidențiază semnificația diagnosticului molecular și a monitorizării markerilor biochimici în aceste afecțiuni, caracterizate printr-o mare heterogenitate clinică.

C26. Molecular genetic alterations and their predictive values in superficial bladder cancer

Babayan A.Y.^{1,2,3}, Bashkatov S.V.⁴, Karyakin O.B.⁴, Teplov A.A.⁵, Zaletaev D.V.^{1,3}, Nemtsova M.V.^{1,3}

1. Sechenov Moscow Medical Academy, Moscow, Russian Federation; 2. Russian State Medical University, Moscow, Russian Federation; 3. Medical Genetic Research Centre, Moscow, Russian Federation; 4. Medical Radiology Research Centre, Obninsk, Russian Federation; 5. Moscow Herzen Oncological Research Institute, Moscow, Russian Federation

Conventional histopathologic and morphologic factors are widely used to predict poor prognosis in patients with superficial bladder cancer (BC) underwent transurethral resection. But this system is not able accurately predict the behavior of the most bladder tumors and need additional factors.

Our purpose was to establish associations between some genetic alterations in respect to unfavorable clinical phenotype (recurrence rate, invasion, high grade) and to determine the prognostic significance of these genetic alterations.

We have studied 108 matched samples (blood and tumor tissue) from patients with superficial BC, of which 12 patients demonstrated recurrence within one year, and 10 samples from patients with invasive BC. The panel included loss of heterozygosity at 3p14, 9p21, 9q34, p53 locus, activating mutation in 7 exon FGFR3 and RASSF1A, p16, p14, RAR β , CDH1 promoter hypermethylation. Methods: microsatellite analysis, SSCP and direct sequencing and methyl-sensitive PCR. Statistical analysis included comparison of the patients' clinical groups by Fisher's exact test, calculation of odds ratios and corresponding 95% confidence intervals.

Results: 9p21-locus deletions are significantly more frequent in primary tumors with high recurrence rate (within one year) ($p=0.049$, OR=8.70). FGFR3 mutations are associated with Ta stage ($p=0.0042$, OR=5.00). 3p14 locus deletions ($p=0.042$, OR=5.71), RAR β ($p=0.016$, OR=3.91) and p16 ($p=0.055$, OR=4.17) promoter hypermethylation are associated with high grade tumors. P53 locus deletions ($p=0.006$, OR=8.10) and p16 hypermethylation ($p=0.05$, OR=4.09) are significantly more frequent in invasive bladder tumors than in superficial tumors.

Conclusion: Revealed genetic alterations could be used as additional prognostic markers to predict tumor's behavior more accurately.

C27. Sex chromosome abnormalities – the experience of the Cytogenetic Laboratory in Tg. Mures

Pașcanu Ionela^{1,2}, Bănescu Claudia¹, Csep Katalin¹, Butilă Todoran Anamaria¹, Lazslo Anamaria², Gliga Camelia²

1. Genetics Department, University of Medicine and Pharmacy Tg Mureş, 2. Endocrinology Clinic Tg Mureş

Sex chromosomes aneuploidy and structural variants of these human chromosomes are found more frequently in the population than for autosomes, with the exception of trisomy 21. Both the numerical and structural abnormalities may occur in all cells of the body (constitutional abnormality) or may be present in only certain cells or tissues (mosaic). We analysed all the chromosomal abnormalities involving sex chromosomes found between 2005-2009 in Cytogenetic Laboratory of

UMF Tg Mures. During this period, in our laboratory, 357 karyotypes were performed. We have used the standard G banding method, on lymphocytes from peripheral blood. Structural or numerical sex chromosomes abnormalities were found in 23 cases (6.44%) of all cytogenetic results. The most frequent result was monosomy involving X chromosome (5 cases). The incidence of structural aberration of the sex chromosomes in our study was 26.08 %. A constitutional abnormality were present in 78.27%, in the rest of 21.73% a mosaic was discovered. Among these results, we found some very rare cases, with only a few similar results described in the literature, such as: 49,XXXXY; a mosaic 45,X/47,XYY or an inherited translocation involving X chromosome and an autosome. In female the most frequent clinical referral was primary amenorrhea or short stature and in man the typical clinical phenotype was infertility or hypogonadism.

Anomalii structurale și numerice ale heterozomilor – experiența Laboratorului de Citogenetică Tg Mureș

Pașcanu Ionela^{1,2}, Bănescu Claudia¹, Csep Katalin¹, Butilă Todoran Anamaria¹, Lazslo Anamaria², Gliga Camelia²

1. Disciplina de Genetică, UMF Tg Mureș, 2. Clinica de Endocrinologie Tg Mureș

Anomaliiile structurale și numerice ale heterozomilor sunt mult mai frecvente în populație în comparație cu cele care afectează autozomii, cu singura excepție a trisomiei 21. Atât aneuploidii cât și anomaliiile structurale cromozomiale pot fi prezente în toate celulele organismului (constituționale sau omogene) sau în mozaic (evidențiabile numai în anumite celule). Am luat în studiu toate modificările cromozomiale ce afectează heterozomii din cazuistica Laboratorului de Citogenetică din Tg Mureș, în perioada 2005-2009. În această perioadă s-au efectuat 357 cariotipuri, folosind tehnica clasă de bandare G, din limfocitele periferice. Anomalii structurale sau numerice afectând cromozomii sexuali au fost găsite în 23 de cazuri (6,44%) din totalul cariotipurilor efectuate. Cel mai frecvent rezultat citogenetic a fost monosomia X (5 cazuri). Incidența anomaliiilor structurale implicând cromozomul X sau Y a fost în studiul nostru de 26,08%. Modificările cromozomiale omogene au fost prezente la 78,27% din cazuri, iar la restul de 21,73% s-a evidențiat un mozaicism. În cazuistica noastră au fost prezente și cazuri extrem de rare, descrise în număr limitat în literatura de specialitate, printre care amintim: 49,XXXXY; mozaicism: 45,X/47,XYY sau o translocație implicând cromozomul X și un autozom prezentă la mai mulți membri ai unei familii. La sexul feminin examenul citogenetic a fost solicitat cel mai frecvent datorită hipostaturii sau amenoreei primare iar la sexul masculin hipogonadismul sau infertilitatea au reprezentat fenotipul predomenant.

C28. Molecular Mechanisms of Spinal Muscular Atrophy

Todoran-Butilă Anamaria^{1,2}, Pașcanu Ionela^{1,3}, Csep Katalin¹, Bănescu Claudia¹

1. Dept. of Genetics, University of Medicine and Pharmacy Târgu-Mureș; 2. Paediatric Neurology and Psychiatry Clinic Târgu-Mureș; 3. Endocrinology Clinic Târgu-Mureș

Spinal muscular atrophy is an autosomal severe neuromuscular disease characterized by degeneration of motor neurons in the spinal cord, which results in progressive proximal muscle weakness and paralysis. To date, the disease can be classified into four main categories based on severity and age of onset. Type 1 spinal muscular atrophy (Werdnig-Hoffmann) is characterized by severe, generalized

muscle weakness and hypotonia at birth or within the first 3 months. Death from respiratory failure usually occurs within the first 2 years. Children with type 2 survive beyond 4 years and are able to sit, although they cannot stand or walk unaided. Type 3 (Kugelberg-Welander) is a milder form, with onset during infancy or youth; these patients learn to walk unaided. Adult-onset spinal muscular atrophy, type 4, is less common but has also been reported, does not affect life expectancy.

Spinal muscular atrophy is caused by a mutation of the survival motor neuron gene (SMN) on chromosome 5 which exists in 2 nearly identical copies (SMN1 and SMN2). Exon 7 of SMN1 is homozygously absent in about 95% of spinal muscular atrophy patients, whereas the loss of SMN2 does not cause spinal muscular atrophy. Small mutations are found in the other 5% of affected patients. SMN1 dosage testing can be used to determine the SMN1 copy number and to detect spinal muscular atrophy carriers and affected compound heterozygotes.

There is a high mortality rate in infancy and severe morbidity in childhood. Management depends on treating or preventing complications of weakness and maintaining quality of life. Weakness may affect several organ systems: respiratory, due to restrictive lung disease; gastrointestinal, in terms of dysphagia and constipation; and orthopedic, with progressive deformities.

Keywords: spinal muscular atrophy, motor neuron, survival motor neuron (SMN)

Mecanisme moleculare ale atrofiei musculare spinale

Todoran-Butilă Anamaria^{1,2}, Pașcanu Ionela^{1,3}, Csep Katalin¹, Bănescu Claudia¹

1. Dept. de Genetică, UMF Târgu-Mureş; 2. Clinica de Neurologie Pediatrică și Psihiatrie Târgu-Mureş; 3. Clinica de Endocrinologie Târgu-Mureş

Atrofia musculară spinală este o boală autozomal recesivă care afectează neuronii motori periferici din mușchii spinării, cu apariția unui deficit motor proximal al membrelor care duce la o invaliditate ce progresează în funcție de tipul de afecțiune. Se clasifică în 4 tipuri: Tipul I - forma severă infantilă, boala Werdnig-Hoffmann, cu debut la naștere până la 3 luni, cu slabiciune musculară generalizată și mare hipotonie. Decesul poate surveni în urma complicațiilor respiratorii până la vîrstă de 2 ani. Tipul II - forma intermedieră - copiii supraviețuiesc peste vîrstă de 4 ani, mențin poziția șezând, dar nu pot merge singuri. Tipul III - Kugelberg-Welander, forma ușoară, juvenilă: copiii achiziționează mersul independent, având prognosticul cel mai bun. Tipul IV – forma adultă, cu evoluție lentă și care nu afectează speranța de viață.

Amiotrofia spinală este cauzată de mutații ale genei SMN - *survival motor neuron* – care este prezentă pe cromozomul 5. Există două gene implicate în producerea bolii (SMN1 și SMN2). Cea mai importantă este gena SMN1, în 95% din cazurile de amiotrofie spinală cauza bolii este o anumită mutație în această genă (lipsa exonului 7 din ambele copii ale genei). Gena SMN2 nu produce direct boala ci regleză severitatea ei prin numărul de copii prezente. Doar în 5% din cazuri boala se poate datora unor mutații punctiforme. Pentru ca boala să se producă e nevoie ca ambele copii ale genei SMN1 să fie mutanți (stare homozigotă), în caz contrar persoana este doar purtătoare.

Există o rată crescută de mortalitate în rândul formelor I și II în perioada de sugar și în mica copilărie. Managementul amiotrofiei spinale constă în preventarea și combaterea complicațiilor pentru a asigura pacientului o viață cât mai lungă și de o calitate cât mai bună. Din păcate, la ora actuală nu există decât tratament suportiv. Complicațiile care pot să apară sunt de tipul infecțiilor respiratorii, gastrointestinale, în special disfagia, constipația, deformări scheletice, anchiloza articulațiilor.

Cuvinte cheie: atrofie musculară spinală, neuron motor, gena de supraviețuire a neuronului motor (SMN).

C29. Iasi Medical Genetics Center's experience concerning diagnosis and management of mentally retarded patients

Rusu Cristina¹, Negură Lucian², Ivanov Iuliu², Voloșciuc Mihail¹, Gorduza Vlad², Covic Mircea¹

1. Medical Genetics Centre, "Sf Maria" Children's Hospital, Iasi, Romania; 2. Immunology and Genetics Lab, Specialty Outpatient Unit, "Sfântul Spiridon" Hospital, Iasi, Romania

Mental retardation (MR) is a frequent category of pathology, affecting 3% of the general population. Causes are very different and vary according to MR severity. Baseline intellectual development and mild MR are mainly due to social causes, whereas moderate and severe forms of MR have mainly genetic determinism. Genetic causes of MR include chromosomal abnormalities, monogenic disorders (especially X-linked mental retardation with the most frequent form, Fragile X Syndrome), as well as multifactorial causes. We present the protocol introduced in Iasi Medical Genetics Centre for the evaluation of children and families with MR. The protocol includes the following sequence: recording of anamnestic data, complete physical examination and application of diagnostic scores. Selected cases follow sequential genetic testing (karyotype; antiFMRP test for Fragile X Syndrome screening and PCR test to confirm the diagnosis; MLPA test to screen for subtelomeric rearrangements (as cause of non-specific MR) and microdeletions and FISH test to confirm identified anomalies. The protocol includes both management of the patient and the family. Optimization and economic efficiency of the protocol is discussed. Finally, future directions to extend evaluation of MR patients, adequate to the situation existent in Romania, are presented.

Experiența Centrului de Genetică Medicală Iași privind diagnosticul și managementul pacenților cu retard mintal

Rusu Cristina¹, Negură Lucian², Ivanov Iuliu², Voloșciuc Mihail¹, Gorduza Vlad², Covic Mircea¹

1. Cabinetul de Anomalii Congenitale și Boli Genetice, Spitalul de Copii "Sf Maria", Iași; 2. Laboratorul de Imunologie și Genetică, Ambulatorul de Specialitate al Spitalului "Sfântul Spiridon", Iași

Retardul mintal (RM) este o categorie frecventă de patologie, afectând 3% din populația generală. Cauzele sunt foarte diferite și variază în funcție de severitatea RM. Intelectul liminar și RM ușor au frecvență cauze sociale, spre deosebire de RM moderat și sever unde determinismul genetic este preponderent. Cauzele genetice de RM includ anomalii cromozomiale, boli monogenice (în special retardul mintal legat de X), dar și cauze multifactoriale. Prezentăm protocolul introdus în Centrul de Genetică Medicală Iași pentru evaluarea copiilor și familiilor cu retard mintal. Protocolul include înregistrarea datelor anamnestice, examenul clinic complet și aplicarea de scoruri de diagnostic. La cazurile selectate se aplică testarea genetică secvențială (cariotip; test antiFMRP pentru screeningul pacenților cu Sindrom X fragil și test PCR pentru confirmarea diagnosticului; test MLPA pentru screeningul reanjamentelor subtelomerice și al microdelețiilor și test FISH pentru confirmarea anomaliei respective). Protocolul include managementul pacientului, dar și al familiei. Este discutată optimizarea, precum și eficiența economică a acestui protocol. În final sunt prezentate direcțiile viitoare de extindere a evaluării pacenților cu RM, adecvat situației existente în România.

Haemostasis

R31. An update of the laboratory diagnosis of inherited thrombophilia; difficulties and new possibilities

Bereczky Z¹, Bagoly Z¹, Puskás A², Muszbek L¹

1. Clinical Research Center, University of Debrecen, Medical and Health Science Center, Debrecen, Hungary, 2. Medical and Pharmaceutical University of Târgu Mureş, 2nd Department of Medicine

Major causes of inherited thrombophilia are antithrombin III (AT-III), protein C (PC), protein S (PS) deficiencies, activated protein C (APC) resistance caused by factor V (FV) Leiden mutation, and prothrombin 20210A allele. Elevated FVIII activity, elevated homocysteine level and lipoprotein(a) are considered as minor contributors. As combined thrombophilia is frequently found in the background of deep vein thrombosis (DVT) and pulmonary embolism (PE) occurring at relatively young age, or at repeated occasions, or when DVT occurs at unusual site, it is of high importance to determine the whole thrombophilia panel.

The first line tests for the diagnosis of AT-III and PC deficiencies are functional tests, determination of antigen levels are only required for classification. For the determination of AT-III deficiency a chromogenic tests based on the inhibition of activated FX (FXa), rather than tests based on the inhibition of thrombin, are recommended. For first line PC assay the clotting test is superior to the chromogenic one. It is of high importance to exclude acquired, transient deficiencies, which frequently requires repeated investigation after 1-3 month. The reference intervals for AT-III and PC functional tests are 80-120% and 70-140%, respectively. A significant problem with AT-III and PC assays is the considerable overlapping of the activities measured in healthy individuals and in patients heterozygous for these deficiencies. As the diagnosis has important (sometimes life-long) consequences on the duration of anticoagulant therapy and on the life style of the patient, in the case of borderline values we perform sequencing of AT-III or PC genes to prove or exclude the presence of thrombophilia.

The diagnosis of PS deficiency represents special diagnostic difficulty. The recommended functional assay is a clotting test, however FV Leiden mutation in a number of cases interferes with this assay. As FV Leiden mutation frequently occurs in the Central-eastern European populations (its prevalence is 10% in Hungary), this is a serious problem. For this reason, determination of both PS activity and free PS antigen at the same time is recommended. If both PS activity and free antigen are low then the diagnosis is type I PS deficiency. However, if low activity and normal antigen levels are measured, which would normally indicate type II PS deficiency, this diagnosis can be accepted only in the absence of Leiden mutation. If Leiden mutation is present the only remaining resource is sequencing the PS gene. Unfortunately, there is a pseudogene, which has 97% sequence identity with the PS gene and makes the molecular genetic diagnostics of PS deficiency rather difficult. We have designed a sequencing method that eliminates the problem caused by the pseudogene, and established that in a high percentage of patients diagnosed with type II PS deficiency, the decreased PS activity is due to interference by FV Leiden mutation and these patients are exempt of PS deficiency. We tested 14 phenotypically type II PS deficient patients who had Leiden mutation and none of them had genetic defect in the PS gene. Another important point is that due to the significant decrease of PS level during pregnancy, the deficiency cannot be diagnosed in pregnant women.

The molecular genetic diagnosis of FV Leiden mutation and prothrombin 20210A allele is well established. Here the question is, how the functional APC resistance test performs. Such test is available for laboratories that do not have the facility to perform molecular genetic tests. Besides, the functional test can detect very rare cases of APC resistance not due to FV Leiden mutation. We found that the specificity of an appropriate functional APC resistance assay with well established cut-off value is excellent and can detect practically 100% of Leiden mutants. Pseudohomozygous (hemizygous) patients represent a special rare group of FV Leiden mutation. These patients are heterozygous for FV deficiency and have only a single FV allele with Leiden mutation. The risk of these patients for thromboembolic events corresponds to the risk of patients possessing the homozygous form of Leiden mutation.

R32. Aspirin resistance and its laboratory diagnostics

Muszbek L. Kovács E, Bereczky Z

*Clinical Research Center, University of Debrecen, Medical and Health Science Center,
Debrecen, Hungary*

Acetylsalicylic acid (ASA; Aspirin) has been used in human therapy since 1899 and it was introduced in the prevention of atherothrombotic complication in the middle of the last century. By inhibiting platelet function, low dose Aspirin prevention decreases the occurrence of myocardial infarction by 34% and that of stroke by 25%. Its main effect is the acetylation of a serine residue (Ser529) in the cyclooxygenase (COX) 1 enzyme. This way it prevents the access of arachidonic acid (AA) to the active site of the enzyme and blocks the formation of cyclic endoperoxides, consequently the formation of the highly effective platelet activating compound, thromboxane A₂ (TXA₂). It is a clinical observation that in part of the patients ASA is not able to prevent the onset of acute thromboembolic complications. A number of laboratory tests have been developed to identify individuals resistant to the effect of ASA. Detection of ASA resistance has a significant impact on the course of therapy and it also has health economic implications.

In theory there are three different types of ASA resistance:

- Chemical resistance; the lack of acetylation at Ser529 of COX1 in platelets.
- Laboratory resistance; the lack of the detection of ASA effect by a laboratory method.
- Clinical resistance; the ineffectiveness of ASA to prevent acute atherothrombotic complication in a patient.

No laboratory method is available to detect the chemical resistance and clinical resistance can be established only retrospectively. Thus, the measurement of laboratory resistance remains the only tool to detect the ineffectiveness of ASA. However, there are several problems with measuring laboratory ASA resistance. Various laboratory methods give widely different results and the occurrence of ASA resistance, as estimated by different methods, varies between 5-30%. There has not been a reference method to which different methods used for testing ASA resistance can be compared to establish their validity. Finally, there is no large scale prospective study that compares clinical and resistance measured by laboratory methods.

We developed a so called reference method for the determination of ASA resistance, which is too cumbersome for everyday laboratory use, but closely relates to chemical resistance and suitable for testing the validity of routine laboratory methods in establishing ASA resistance. The principle of the reference method is the measurement of the inactive metabolite of TXA₂ (TXB₂) formed in platelet rich

plasma following platelet activation by AA. In this assay the measurement of TXB₂ by ELISA is preceded by the solid phase separation of TXB₂ from AA present in the assay mixture in huge amount. Using this method we evaluated the validity of the following laboratory methods commonly used for the detection of ASA resistance: platelet aggregation induced by ADP, epinephrine, collagen and AA, platelet secretion induced by the same agents and detected by bioluminescence measurement of released ATP, PFA-100 closure time and Verify Now Aspirin test. ADP, epinephrine and collagen aggregation gave high percentage of false positive results and they are not recommended for testing ASA resistance. AA-induced aggregation and secretion as well as the Verify Now Aspirin test performed with the highest validity rate. It will be important to explore clinical resistance in a prospective study and compare it with the laboratory resistance determined by the best performing tests.

R33. Anticoagulant mechanisms in the postoperative state

Brudașcă Ioana¹, Cucuiu Mircea¹, Colhon D.M.²

1. University of Medicine and Pharmacy Iuliu Hațieganu Cluj Napoca; 2. Central Laboratory, County Clinical and Emergency Hospital Cluj

Protein C (PC) and its cofactor protein S (PS), as well as antithrombin III (AT III) are potent physiological anticoagulant mechanisms. As thrombotic events are known to be a major complication of the surgical procedures, we studied the behavior of these anticoagulant mechanisms in surgical patients. PC:Ag level was significantly decreased ($63,3 \pm 4,2$, $p < 0,001$) in 29 critically - ill surgical patients when compared to 32 healthy control subjects. When compared to 10 controls subjects, PS:Ag was also significantly decreased ($59,2 \pm 4,96$, $p < 0,01$) in 12 surgical patients in critical condition. In a group of 16 critically ill surgical patients AT III activity was at the inferior limit of normal values ($83\% \pm 2,5$, $p < 0,001$), when compared to 22 healthy control subjects. Decreased levels of PC and PS:Ag can be explained by the switch of the hepatic protein synthesis during the acute phase reaction developing in critically ill surgical patients towards the increased production of acute phase proteins, while reducing the secretion of PC and PS, cholinesterase and albumin. The less important decrease of AT III can be explained by the fact that it is synthesized not only in the liver but also by the endothelial cells. These observations emphasize the risk for thrombosis in postoperative states and stress the importance of a thorough investigation of hemostasis in surgical patients.

Comportarea unor mecanisme anticoagulante la pacienți în stare postoperatorie

Brudașcă Ioana¹, Cucuiu Mircea¹, Colhon D.M.²

1. UMF Iuliu Hațieganu Cluj Napoca; 2. Laborator Central Spitalul Clinic Județean de Urgență Cluj

Proteina C (PC) și cofactorul ei, proteina S (PS), precum și antitrombina III (AT III) reprezintă mecanisme anticoagulante fizioligice importante. Întrucât evenimentele trombotice reprezintă o complicație majoră a intervențiilor chirurgicale, am studiat comportamentul acestor mecanisme anticoagulante la pacienți chirurgicali în stare postoperatorie. Nivelul PC:Ag a fost semnificativ scăzut ($63,3 \pm 4,2$, $p < 0,001$) la 29 pacienți chirurgicali în stare critică comparativ cu un lot martor de 32 de subiecți. PS:Ag a fost de asemenea scăzut semnificativ ($59,2 \pm 4,96$, $p < 0,01$) la 12 pacienți chirurgicali în stare

critică. Într-un grup de 16 pacienți chirurgicali în stare critică, activitatea AT III s-a situat la limita inferioară a normalului ($83\% \pm 2,5$, $p < 0,001$), comparativ cu lotul de 22 subiecți de control. Nivelele scăzute de PC și PS:Ag s-ar putea explica prin comutarea proteosintesei hepatică în cadrul reacției de fază acută spre producția de proteine de fază acută, cu scăderea sintezei de PC, PS, albumină și colinesterază. Scăderea mai puțin marcată a activității AT III s-ar explica prin producerea ei nu doar de către ficat ci și de către celulele endoteliale. Aceste observații subliniază riscul apariției trombozei în starea postoperatorie și necesitatea unui bilanț mai aprofundat al hemostazei în aceste cazuri.

Microbiology

R35. Serological investigations in communicable diseases. Limits and perspectives

Neguț M., Rafila A., Ionescu G.

“Carol Davila” University of Medicine and Pharmacy Bucharest

The scope of serological investigations has been extended, inevitably, to emergent etiologies, because of the clinical interest for a correct etiologic diagnostic, as well as the epidemiologic concern for public health.

Though the conventional methods for serological diagnostic are widely used, the world-wide trend is automatization, using large capacity equipments based on the principles of existing methods or on new principles and technologies, including nanotechnology.

Consequently, the diagnostic will be concentrated in large laboratories, with the needed logistics for rapid transportation and reception of a huge volume of samples and for result transmission, which is nowadays solved by means of internet and secure data transmission.

Worth mentioning are the efforts and the competition between the providers of equipments and reagents concerning the shortening of the interval between „research only” and „in vitro diagnostic”, concurrently with the improvement of the performances (sensitivity, specificity, predictive values), imposed by the implementation of quality management systems. There are still some limits concerning the reagents and technologies in use, the small number of cases (for instance when dealing with rare diseases), the lack of control panels and of intercomparation schemes.

Another direction is that of developing tests for rapid diagnostic, useful for both screening and emergency situations, including bioaggression.

Yet, an acceptable compromise must be found between the high costs of new technologies and the limited funds assigned to public health.

Determinările serologice în bolile transmisibile. Limite și perspective

Neguț M., Rafila A., Ionescu G.

Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila” București

Sfera de aplicabilitate a determinărilor serologice s-a extins inevitabil și asupra etiologilor emergente, atât datorită interesului clinic pentru un diagnostic etiologic corect cât și a celui epidemiologic pentru sănătatea publică.

Deși la noi sunt încă larg utilizate metodologiile convenționale de diagnostic serologic, tendința pe plan mondial este de automatizare, folosind echipamente de mare capacitate, bazate pe principiile metodelor existente sau pe principii și tehnologii noi, inclusiv nanotehnologii.

Consecința va fi concentrarea diagnosticului în laboratoare mari, cu logistica necesară pentru transportul rapid și receptia unui volum mare de probe și pentru comunicarea la distanță a rezultatelor, problemă rezolvabilă astăzi datorită internetului și mijloacelor de transmitere securizată a datelor.

Se remarcă eforturile și concurența acerbă între producătorii de echipamente și reactivi de diagnostic, de reducere a timpului de la stadiul de dispozitive „research only” la cel de ‘in vitro diagnostic”, concomitent cu îmbunătățirea performanțelor (sensibilitate, specificitate, valori predictive), cerințe determinate de introducerea sistemelor de management al calității. Există însă limitări legate de materialele și tehnologiile folosite, de numărul mic de cazuri (vezi bolile rare), de lipsa panelurilor de control și a schemelor de intercomparare.

O altă direcție de acțiune este cea de dezvoltare a unor teste de diagnostic rapid, utile atât pentru screening cât și în situații de urgență inclusiv de bioagresiune.

Rămâne însă de găsit un compromis acceptabil între costurile ridicate ale noilor tehnologii și resursele limitate alocate sănătății publice.

C36. Congenital syphilis – guidelines for laboratory diagnosis

Ionescu D., Ionescu G., Băncescu A.

INCDMI “Cantacuzino”

University of Medicine and Pharmacy “Carol Davila” Bucharest

According to ECDC report/2008 România had a highest notification rate for syphilis in 1996, with 26.2 cases per 100.000.

This high syphilis morbidity figure has a direct impact on congenital syphilis incidence. Congenital treponemal infection continues to produce an adverse outcome of pregnancy with frequent fetal and neonatal death.

The main obstacle in the prevention activity is the inefficiency of the surveillance system to target the groups of pregnant women with high prevalence of syphilis.

The leading factor accounting for the failure to prevent congenital infection is the lack of prenatal care. So the antenatal syphilis screening (VDRL, TPHA) and treatment is the most valuable tool for prevention or elimination of congenital syphilis.

The methodology for laboratory diagnosis of congenital syphilis is considered related to several possible scenarios.

Sifilisul congenital - principiile diagnosticului de laborator

Ionescu D., Ionescu G., Băncescu A.

INCDMI “Cantacuzino”

Universitatea de Medicină și Farmacie “Carol Davila” București

România ocupă primul loc în Europa privind infecția sifilitică, cu 5661 cazuri confirmate în 1996, adică 26.2 cazuri la 100.000 locuitori, cifra cu influență directă asupra incidenței sifilisului

congenital. Acesta formă clinică rămâne în continuare o importantă cauză de morbiditate infantilă și chiar mortalitate fetală și neonatală.

Obstacolul major care frânează activitatea preventivă este incapacitatea sistemului de supraveghere de a identifica femeile infectate, deoarece grupurile de risc din care fac parte (adolescente, necăsatorite, prostituate, consumatoare de droguri) sunt greu accesibile pentru depistare și tratament.

Screening-ul înainte de sarcină sau în primul trimestru și cel târziu în trimestrul al doilea, (VDRL/RPR,TPHA) și instituirea imediată a tratamentului penicilinic reprezintă o strategie de departe cost-efectivă.

Cu tot tratamentul, la aproximativ 14% dintre gravide se înregistrează fie moarte fetală, fie nașterea de copii cu sifilis congenital.

În România, funcționează un Program de supraveghere al ITS, dar aplicarea lui în practică nu are eficiență dorită (eludarea semnelor clinice, necunoașterea antecedentelor materne, subtilitățile tehnice ale diagnosticului, lipsa de comunicare etc.), motiv pentru care valorile reale ale morbidității sifilisului, în general și a celui congenital, în special, continuă să nu se suprapună pe cifrele raportate.

C37. Antibody avidity testing and its significance in laboratory diagnosis

Nășcuțiu Alexandra – Maria

"Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy / NIRDMI Cantacuzino, Bucharest

Traditional serological testing (testing for IgM and IgG antibodies titre) can trigger some problems of interpretation, especially when IgM values are positive. A positive titre for IgM antibodies does not necessarily mean a primo-infection upon testing. It might be the expression of an acute on-going infection (reactivation of previous infection or reinfection), but might be a sign of cross-reaction or of non-specific polyclonal stimulation of the immune system. When IgG antibodies are present in the serum, the avidity index might be calculated, which might establish the moment when the infection was first acquired. The method consists in testing the same serum twice, once by adding a buffer containing a denaturant agent (urea, diethylamine etc) which disrupts the bonds established by low avidity antibodies. The test is important especially when evaluating the immune status of pregnant women in their first trimester of pregnancy, which tested positive for IgM antibodies against a series of potentially teratogenic germs (rubella virus, cytomegalovirus, *Toxoplasma gondii*). The avidity test might as well be useful when IgM values are negative due to their very short persistence in the serum or due to a high detection threshold. Beside this avidity test kits used for establishing the moment of acquisition of teratogenic infections, other avidity tests are available which can complete the serological profile of infections with HIV, hepatitis, Epstein Barr or West Nile viruses, with *Borellia burgdorferi* or with *Fasciola hepatica*, *Schistosoma* spp. or those of some auto-immune diseases.

Testul de aviditate - semnificații în diagnosticul de laborator

Nășcuțiu Alexandra - Maria

"Carol Davila" / INCMDI Cantacuzino București

Testarea serologică tradițională (determinarea titrului anticorpilor IgM și IgG) poate ridica unele probleme de interpretare, cu precădere în situațiile în care valoarea anticorpilor IgM este pozitivă. Un titru pozitiv pentru IgM nu semnifică obligatoriu o primo-infecție în momentul testării. Poate fi ex-

presia unei infecții acute, în desfășurare (a unei reactivări sau a unei reinfecții), dar poate apărea și urmare a unei reacții încrucișate sau a unei stimulări policlonale nespecifice a sistemului imun. În cazul în care anticorpii de clasă IgG sunt prezenti în ser poate fi calculat indicele de aviditate care poate situa în timp momentul primo-infecției. Cu cât indicele de aviditate este mai scăzut, cu atât primo-infecția este mai recentă. Metoda presupune testarea aceluiasi ser în dublu, una din testări făcându-se prin adăugarea unui tampon ce conține un agent denaturant (uree, dietilamină) ce rupe legăturile stabilite de anticorpii de joasă aviditate. Testul are importanță deosebită cu precădere în evaluarea statusului imun al gravidelor aflate în primul trimestru de sarcină, diagnosticată cu anticorpi de clasă IgM prezenti împotriva unor germeni potențial teratogeni (virusul ruberolos, citomegalovirusul, *Toxoplasma gondii*). De asemenea testul de aviditate poate fi util și atunci când valoarea IgM este negativă datorită persistenței foarte scurte în ser sau datorită unui prag de detecție prea crescut. Pe lângă trusele de aviditate folosite pentru datarea acestor infecții teratogene, sunt disponibile și teste de aviditate care pot completa profilul serologic al infecțiilor cu virusuri HIV, hepatice, Epstein-Barr sau West Nile, cu *Borellia burgdorferi* sau *Fasciola hepatica*, *Schistosoma* spp. sau al unor boli auto-imune.

R38. Antimicrobial susceptibility testing – new recommendations and implications for the clinical laboratory and public health system

Codiță Irina

NIRDMI "Cantacuzino"

Though practiced since decades, Antimicrobial Susceptibility Testing (AST) remains the cornerstone of a bacteriology laboratory.

We are confronted not only with increasing demands in respect of ensuring the test parameters, but also with an alert moving and changing of standards, rules, breakpoints and requirements.

On our knowledge, most of Romanian laboratories used to work according to the CLSI (formerly NCCLS – U.S.A.) standard and few of them according to the CA-SFM (Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie).

EUCAST (European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing) is the European regulatory body for AST standardization, affiliated to the ESCMID (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases) since 2002 and organized now by ESCMID, ECDC (European Centre for Disease Control) and national breakpoint committees. Since 2006, EUCAST is publishing normative documents to be used in the European clinical laboratories.

We are discussing some issues linked with the EUCAST recommendations regarding:

- clinical and microbiological/epidemiological antimicrobial resistance definition
- EUCAST breakpoints for different antimicrobial/microorganism combinations
- developing the disc diffusion European standard, forecasted for the end of the 2009
- antimicrobial susceptibility testing by automated methods

These new rules are requiring local and national reactions, in order to ensure accurate and compatible results at the European level.

We have to keep in mind that behind the immediate value of these results, which is recovered from adjusting the therapeutic approach in case of first intention, empirical treatment failure, AST results are representing a public thesaurus of inestimable value for grounding antimicrobials consumption policy at local, national and European level.

Testarea sensibilității la antibiotice – noi recomandări și implicații în laboratorul clinic și sănătatea publică

Codiță Irina

INCDMI "Cantacuzino"

Deși se practică de mai multe zeci de ani, testarea sensibilității la antibiotice (TSA) rămâne proba de încercare într-un laborator de bacteriologie.

Suntem confruntați nu numai cu cerințe mereu noi în ceea ce privește asigurarea parametrilor de testare, dar și cu o dinamică alertă a standardelor, regulilor, punctelor de ruptură și altor parametri.

După cunoștințele noastre, majoritatea laboratoarelor din România lucrează conform standardului CLSI (Clinical Laboratory Standards Institute), fost NCCLS-USA (National Committee for Clinical Laboratory Standards - SUA) și numai câteva conform standardului CA – SFM (Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie).

EUCAST (European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing) este forul metodologic european pentru standardizarea TSA, afiliat ESCMID (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases) din 2002 și organizat în prezent de ESCMID, ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control) și comitetele naționale pentru puncte de ruptură. Din 2006, EUCAST publică documente metodologice cu valoare normativă la nivel european.

Sunt discutate o serie de aspecte cuprinse în recomandările EUCAST cu privire la:

- definiția sensibilității la antibiotice din punct de vedere clinic și din punct de vedere microbiologic sau epidemiologic
- punctele de ruptură stabilite de EUCAST pentru diverse combinații antibiotic/microorganism
- dezvoltarea standardului european pentru metoda difuzimetrică, previzionată pentru sfârșitul anului 2009
- testarea sensibilității la antibiotice prin metode automatizate

Aceste noi reglementări necesită reacții la nivel local și național, în scopul obținerii unor rezultate corecte și compatibile la nivel european.

Nu trebuie uitat faptul că dincolo de valoarea imediată a acestor rezultate, care se regăsește în posibilitatea de ajustare a schemei terapeutice pentru cazurile de eșec al terapiei de prima intenție, rezultatele TSA reprezintă un tezaur public de mare valoare pentru fundamentarea politicilor de consum al antibioticelor la nivel local, național și european.

C39. Biorisk management – a new approach

Ionescu G.¹, Neguț M.², Rafila A.²

1. INCDMI Cantacuzino; 2. University of Medicine and Pharmacy "Carol Davila" Bucharest

Ensuring biosecurity and biosafety in laboratories which handle pathogens or materials contaminated with them, was of interest to national authorities and international organizations who have such concerns, in last years.

The trend has imposed especially after events in the United States in 2001 and brought public attention to the risk of bioterrorist attacks.

In addition to the classical measures concerning the two concepts, which are particularly the responsibilities of the management of these laboratories and of each worker, has crystallized the concept of biorisk management which required a systematic approach, worldwide.

Starting from the WHO guide “Biorisk management Laboratory biosecurity guidance”, which drew large lines of action, had occurred quickly the need for standardization in this field in a uniform and consistent manner, according with other management systems of an organization.

Following Deming PDCA model applied to quality and environment management systems, according to the ISO 900x family of standards, ISO 17025 and ISO 15189 (standards for accreditation of laboratories), CEN, European standardisation body, has developed the standard CWA 15793:2008.

Bringing Romania to European Union standards we considered useful to know of these provisions by all medical specialists, laboratory specialists in particular.

The paper presents the main concepts and steps to be taken, responsibilities in implementing and tracking their implementation, as derived from the document noted.

Managementul bioriscului – o nouă abordare

Ionescu G.¹, Neguț M.², Rafila A.²

1. INCDMI Cantacuzino; 2. Universitatea de Medicină și Farmacie Carol Davila București

Asigurarea biosiguranței și biosecurității laboratoarelor în care se manevrează microorganisme patogene sau materiale contaminate cu acestea a intrat în ultimii ani în sfera de interes a autorităților naționale și a organizațiilor internaționale ce au acest tip de preocupări. Tendința s-a impus mai ales după evenimentele petrecute în Statele Unite în 2001 și care au adus în atenția opiniei publice riscul producării de atacuri bioterroriste.

Pe lângă măsurile clasice care fac obiectul celor două noțiuni, și care stau în special în responsabilitatea managementului acestor laboratoare dar și al fiecărui lucrător, s-a cristalizat conceptul de management al bioriscului care a necesitat o tratare sistematică, pe plan mondial.

Plecându-se de la ghidul OMS care a trasat direcțiile mari de acțiune, a apărut rapid și necesitatea standardizării în acest domeniu, într-o abordare unitară și în concordanță cu celealte sisteme de management ale unei organizații. Urmând modelul Deming PDCA, aplicat la sistemele de management al calității și mediului, în conformitate cu familia de standarde ISO 900x, dar și cu standardele de acreditare ale laboratoarelor ISO 17025, 15189, organismul european de standardizare, CEN, a elaborat standardul CWA 15793: 2008.

Prin prisma alinierii României la standardele Uniunii Europene am considerat utilă cunoașterea acestor prevederi de întreg corpul medical și specialiștii din laboratoarele noastre medicale în special.

Lucrarea prezintă conceptele principale și măsurile care trebuie luate, responsabilitățile în aplicarea și urmărirea aplicării lor, aşa cum decurg din documentul amintit.

C40. Characterization of the nosocomial and community-associated MRSA isolates in Hungary 2001-2008

Ungvári Erika, Tóth Ákos, Hajbel-Vékony Gabriella, Gacs Mária, Pászti Judit

National Center for Epidemiology, Department of Phage Typing and Molecular Epidemiology, Department of Bacteriology

Objectives: According to the National Bacteriological Surveillance the proportion of invasive MRSA isolates had risen from 4.7% in 2001 to 24.7% in 2008 in Hungary. The aim of the study was to overview the molecular typing results of the nosocomial and community-ac-

quired MRSA strains received by the National Center for Epidemiology between 2001 and 2008.

Methods: A total of 608 MRSA isolates (534 from nosocomial outbreak investigation and invasive infections; 74 as suspicious to be community-acquired MRSA (CA-MRSA)) were typed by *Sma*I macrorestriction PFGE. All putative CA-MRSA isolates were tested by PCR for the presence of Panton-Valentine leucocidin (PVL) genes. PVL-positive CA-MRSA isolates were characterised by staphylococcal cassette chromosome *mec* (SCC*mec*) type and *spa* type. Multilocus sequence typing (MLST) was performed on representative isolates from each PFGE type.

Results: More than 80% of the isolates belonged to 4 predominant PFGE types. Type A and C strains (n=238) belonged to the sequence type 5 (ST5) and carried SCC*mec* II. Type B strains (n=102) belong to the ST228-MRSA-I clone. Type D strains (n=122) were identical to the EMRSA-15 clone (ST22-MRSA-IV). Among putative CA-MRSA isolates 23 were PVL positive and harboured SCC*mec* IV, out of which 17 isolates showed closely related PFGE pattern and belonged to the ST80. The remaining 6 isolates belonged to three genotypes, ST8-MRSA-IV, ST30-MRSA-IV and ST37-MRSA-IV.

Conclusion: Our results showed that 3 epidemic MRSA clones have spread in the Hungarian hospitals in the study period. The PVL-positive CA-MRSA strains belonged to four different clones with a predominance of the ST80-MRSA-IV clone.

C41. *Staphylococcus aureus* involved in bacteraemia in an emergency university hospital

Székely Edit^{1,2}, Lőrinczi Lilla¹, Bilca Doina Veronica², Földes Annamária², Voidăzean Septimiu³

1. Department of Microbiology, University of Medicine and Pharmacy, Tg. Mures;

2. Central Medical Laboratory, Mureş County Emergency Clinical Hospital;

3. Department of Epidemiology and Preventive Medicine, University of Medicine and Pharmacy, Tg. Mures

Culture confirmed *S. aureus* bacteremia cases were evaluated during a 3 year period in an emergency university hospital. Incidence and blood culturing rates, patient and strain characteristics were retrospectively analyzed from our laboratory's database. Clonal relations of methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) strains were established by analyzing patterns of macrorestriction fragments of the bacterial genome using PFGE (pulsed field gel electrophoresis).

In the period between 2005 and 2007 incidence rate of *S. aureus* bacteremia was 8 (6,5-9,5, CI 95%)/100000 hospital bed-days (BD), while that of MRSA was 5 (4-6, CI 95%)/100000 BD. Blood culturing rate increased steadily from an average of 1,86 (1,48-2,26, CI 95%)/1000 BD in 2005 to 2,92 (2,48-3,34, IC 95%) /1000 BD in 2007 ($p<0,001$). The median age of patients with MRSA infections was not significantly different from those with methicillin-susceptible *S. aureus* infections (52 vs 46 years, $p=0,19$). In case of MRSA strains, isolation from blood culture was associated with significantly longer hospital stay prior sampling compared to methicillin-susceptible strains (17 vs 5 days, $p<0,001$). Methicillin-resistance was present in 70% of 69 *S. aureus* strains. No resistance to glycopeptides was detected by available testing methods. High level of susceptibility of MRSA strains was noted to linezolid (100%), trimethoprim-sulfamethoxazol (96%) and chloramphenicol (97%). Other classes of

antibiotics were far less active against MRSA and multiresistance was present in 94% of strains. Out of 44 typed MRSA strains 41 belonged to the same clonal cluster.

Although there was a constant increase in blood culturing rate during the study period, it still remained at a very low level which could have interfered with the correct evaluation of the incidence rate of culture confirmed *S. aureus* bacteremia. MRSA bacteremia occurred after the first week of hospitalization. The clonal relatedness of invasive strains highlighted their common hospital origin.

Bacteriemii cauzate de *Staphylococcus aureus* într-un spital clinic județean de urgență

Székely Edit^{1,2}, Lőrinczi Lilla¹, Bilca Doina Veronica², Földes Annamária², Voidăzean Septimiu¹

1. Disciplina de Microbiologie, Universitatea de Medicină și Farmacie, Tg. Mureș;
2. Laboratorul de Analize Medicale Centrale, Spitalul Clinic Județean de Urgență, Tg. Mureș;
3. Disciplina de Epidemiologie și Medicină Preventivă, Universitatea de Medicină și Farmacie, Tg. Mureș

S-au analizat cazuri de bacteriemie confirmate bacteriologic cauzate de *S. aureus* pe o perioadă de 3 ani într-un spital clinic județean de urgență.

Rata incidenței, rata recoltării hemoculturilor, caracteristicile pacienților și a tulpinilor izolate s-au studiat retrospectiv din baza de date a laboratorului. Relațiile clonale existente între tulpinile MRSA s-au stabilit prin analiza fragmentelor de macrorestricție ale genomului bacterian prin metoda PFGE (pulsed field gel electrophoresis).

În perioada 2005-2007 rata incidenței bacteriemii cauzate de *S. aureus* a fost de 8 (6,5-9,5, CI 95%)/100000 paturi-zile de spitalizare (PZ) iar cea a bacteriemii cauzate de MRSA 5 (4-6, CI 95%)/100000 PZ. Rata recoltării hemoculturilor a crescut în această perioadă de la o medie de 1,86 (1,48-2,26 CI 95%)/1000 PZ în 2005 la 2,92 (2,48-3,34, IC 95%)/1000 PZ în 2007 ($p<0,001$). Vârsta medie a pacienților cu infecții datorate tulpinilor meticilino-sensibile nu a fost semnificativ diferită de cea a pacienților cu infecții MRSA (46 vs 52 ani, $p=0,19$). Izolarea tulpinilor MRSA din hemocultură a fost precedată de spitalizare de durată mai lungă decât în cazul tulpinilor meticilino-sensibile (17 vs 5 zile, $p<0,001$). Dintr-un număr total de 69 tulpi 70% au fost meticilino-rezistente. Nu s-a detectat rezistență față de glicopeptide prin metodele utilizate. S-a notat sensibilitatea tulpinilor MRSA față de linezolid (100%), trimetoprim-sulfametoxazol (96%) și cloramfenicol (97%). Celelalte clase de antibiotice au fost mai puțin active față de MRSA iar multirezistența a fost întâlnită la 94% dintre tulpi. Din 44 de tulpi tipizate, 41 au aparținut aceluiași grup clonal.

Desi rata recoltării hemoculturilor a crescut pe durata celor trei ani, aceasta a rămas la un nivel redus ceea ce poate interfera cu evaluarea corectă a ratei de incidență a bacteriemii cauzate bacteriologic. Bacteremii datorate MRSA au apărut în general pe durata celei de a doua săptămâni de spitalizare. Relațiile clonale existente între izolatele MRSA subliniază sursa comună spitalicească a lor.

C42. Bacterial ethiology and drug resistance pattern of bacteria isolated from blood cultures

Man A.; Szekely Edit; Mare Anca; Toma Felicia

Microbiology Departement, University of Medicine and Pharmacy Tg.Mureş

Purpose: The evaluation of the etiology of bacteraemic associated diseases in Emergency County Hospital of Tg. Mureş (ECH) and the antibiotic susceptibility of the isolated germs from blood cultures in 2008.

Materials and methods: There were processed 497 positive blood cultures from patients admitted in ECH during 2008. Only one sample from each patient has been considered. The isolated germs were identified and tested for antibiotic susceptibility following standard protocols.

Results: The following bacterial species were identified: coagulase-negative staphylococci (CNS) (50%), *Staphylococcus aureus* (9%), *E. coli* (9%), Enterococcus spp. (7%), Acinetobacter spp. (6%), Pseudomonas spp. (4%), other species (24%). As the blood culture was obtained in only one sample and the diagnostic criteria for CNS involvement in bacteremia could not be followed, there is no relevance regarding the isolated CNS. 55% of *S. aureus* strains were methicillin-resistant (MRSA). The MRSA were isolated mainly from intensive care units – ICUs (87%) and surgical departments (57%). The staphylococci remain sensitive to phenicols, cotrimoxazole, glycopeptides and linezolid (100%); regarding the resistance spectrum, a significant statistical difference was noticed between ICU and medical departments (multi-resistant strains in ICU). From enterobacteria, the majority (42%) was represented by *E. coli* (42%), Enterobacter spp. (19%), Klebsiella spp. (17%), others (22%). The enterobacteria are resistant to ampicillin (88%) and sensible to carbapenems (100%).

Conclusion: The most common bacteria isolated from blood cultures were staphylococci and enterobacteria. In ICUs and in medical units, where invasive procedures are frequently applied, the most incriminated pathogen is methicillin-resistant *Staphylococcus*. The isolation frequency of multi-resistant germs is high.

Etiologia bacteriană și farmacorezistența germenilor izolați din hemoculturi

Man A.; Szekely Edit; Mare Anca; Toma Felicia

Disciplina de Microbiologie, Universitatea de Medicină și Farmacie Tg. Mureș

Scop: Evaluarea etiologiei bacteriene a afecțiunilor asociate cu bacteriemie din Spitalul Clinic Județean de Urgență Tg. Mureș (SCJ) și evaluarea sensibilității la antibiotice a germenilor izolați din hemoculturi în anul 2008.

Material și metodă: Au fost analizate 497 hemoculturi pozitive recoltate de la pacienți internați în SCJ în perioada anului 2008. S-a analizat un singur izolat de la același pacient. Germenii izolați au fost identificați și testați față de antibiotice conform metodelor standard.

Rezultate: S-au identificat următorii germenii: stafilococi coagulazo-negativi (SCN) (50%), *Staphylococcus aureus* (9%), *E. coli* (9%), Enterococcus spp. (7%), Acinetobacter spp. (6%), Pseudomonas spp. (4%), alte specii (24%). În cazul SCN nu se cunoaște ponderea izolatelor relevante, deoarece în lipsa recoltării seturilor duble de hemocultură nu s-au putut urmări criteriile diagnostice pentru implicarea acestora în bacteriemii. În cazul tulpinilor de *S. aureus*, 55% au fost meticilino-rezistente (MRSA). Tulpinile MRSA au fost identificate preponderent din secțiile cu profil de terapie intensivă (87%) și chirurgical (57%). Stafilococii și-au păstrat sensibilitatea față de fenicoli, cotrimoxazol, gli-

copeptide și linezolid (100%), evidențiindu-se o diferență semnificativ statistică între spectrul de rezistență din secțiile ATI și medicale (multirezistență în secțiile ATI). Dintre enterobacterii predomină *E. coli* (42%), Enterobacter spp. (19%), Klebsiella spp. (17%), altele (22%). Enterobacteriile prezintă rezistență la ampicilină (88%) și sensibilitate la carbapeneme (100%).

Concluzii: principalele bacterii izolate din hemoculturi sunt stafilococii și enterobacteriile. În secțiile cu profil de terapie intensivă și în care se efectuează proceduri invazive sunt frecvente infecțiile cu stafilococi rezistenți la meticilină. Frecvența izolării germenilor multirezistenți este crescută.

C43. Posterior mitral valve endocarditis accompanied by bacteraemia with *Granulicatella adiacens*. A Case Report

Földes Annamária¹, Oprea Mihaela², Bilca Doina-Veronica¹, Farkas László Attila^{3,4}, Székely Edit^{1,5}, Străut Monica²

1. Dept. of Microbiology, Central Clinical Laboratory, Mureș Districtual Emergency Hospital Clinics; 2. Dept. of Molecular Microbiology, INCDMI "Cantacuzino" Bucharest; 3. Clinic of Cardiovascular Rehabilitation Târgu-Mureş; 4. Dept. of Medical Semiology, University of Medicine and Pharmacy Târgu-Mureş; 5. Dept. of Microbiology, University of Medicine and Pharmacy Târgu-Mureş

Granulicatella species, formerly known as nutritionally variant streptococci (NVS) are rarely implicated in infective endocarditis (IE).

We report the case of a 65-year-old woman with ischemic cardiopathy and mitral valve insufficiency who developed endocarditis. She accused progressive dyspnea and two weeks prior to admission developed vesperal fever (38–39° C) without chills and sweating.

Transoesophageal echocardiography revealed a vegetation established on the ventricular face of posterior mitral valve. *G. adiacens* was recovered in pure culture from five sets of consecutive blood cultures collected before antibiotic treatment. The phenotypic identification was based on morphological characteristics, special cultural requirements (satellitism, capnophilia, anaerobic atmosphere) and Vitek 2 Compact System. Molecular identification was performed by 16S rDNA gene sequence analysis. The resulting sequence was compared to sequences from National Center for Biotechnology Information (NCBI) on-line database and was confirmed as *G. adiacens*.

The patient was successfully treated intravenously with ceftriaxone and gentamycin.

The conventional diagnosis of a *G. adiacens* infection relies on the bacterian polymorphism in Gram-stained smear, the discrepancy between direct smear result and the difficulty of growth using standard techniques, in association with cultural dimorphism.

This case emphasises the importance of bacteriologic identification of *G. adiacens* and rapid initiation of an adequate antibiotic therapy.

Acknowledgment: This work was supported by a CNCSIS grant Nr. 42-119-3/01.10.2008.

Keywords: *Granulicatella adiacens*, nutritionally variant streptococci (NVS), satellitism, infective endocarditis

Endocardită valvulară mitrală posterioară însoțită de bacteriemie cu *Granulicatella adiacens*. Prezentare de caz

Földes Annamária¹, Oprea Mihaela², Bilca Doina-Veronica¹, Farkas László Attila^{3,4}, Székely Edit^{1,5}, Străuț Monica²

1. Dept. de Microbiologie, Laboratorul Clinic Central, Spitalul Clinic Județean de Urgență Mureș; 2. Laboratorul de Microbiologie Moleculară, INCMDI "Cantacuzino" București; 3. Clinica de Recuperare Cardiovasculară Târgu-Mureș; 4. Disciplina de Semiologie Medicală, UMF Târgu-Mureș; 5. Disciplina de Microbiologie, UMF Târgu-Mureș

Speciile de *Granulicatella* cunoscute și sub denumirea de streptococi deficienți nutritiv sunt foarte rar implicate în etiologia endocarditei infecțioase (EI).

Redăm cazul pacientei F.V. de 65 ani care pe fondul unei cardiopatii ischemice dilataitive cu insuficiență mitrală a dezvoltat endocardită bacteriană. Pacienta a acuzat agravarea progresivă a dispneei, iar cu două săptămâni anterior momentului internării a prezentat ascensiuni febrile vesperale (38 – 39° C) neacompaniate de frisoane și transpirații.

Ecocardiografia transesofagiană a evidențiat o vegetație pe fața ventriculară a valvei mitrale posterioare. Din cinci seturi succesive de hemoculturi recoltate înaintea instituirii tratamentului antibiotic s-a izolat în cultură pură *G. adiacens*. Identificarea fenotipică s-a realizat pe baza caracteristicilor morfologice macro- și microscopice, a condițiilor speciale de cultivare (satelitism, capnofilie, anaerobioză) și în mod automat cu Vitek 2 Compact System. Identificarea moleculară s-a realizat prin secvențierea genei ADNr 16S. Secvența obținută a fost comparată cu secvențe existente în baza de date on-line a National Center for Biotechnology Information (NCBI), confirmându-se apartenența la specia *G. adiacens*.

Pacienta a evoluat favorabil sub tratament intravenos cu ceftriaxon și gentamicină.

În diagnosticarea convențională a unei infecții cu *G. adiacens* trebuie ținut cont de: polimorfismul bacterian din frotul colorat Gram, discrepanța între rezultatul frotiului direct și dificultatea obținerii unei culturi bacteriene prin procedee uzuale, în asociere cu dimorfismul cultural.

Cazul prezentat subliniază importanța identificării bacteriologice a *G. adiacens* coroborată cu instituirea precoce a unei antibioterapii adecvate.

Prezentul studiu s-a realizat în cadrul grantului CNCSIS "Parteneriate în Domeniile Prioritare" Nr. 42-119-3/01.10.2008.

Cuvinte cheie: *Granulicatella adiacens*, streptococi deficienți nutritiv, satelitism, endocardită infecțioasă

C44. Implication of *Clostridium difficile* in the aetiology of hospital acquired diarrhoea

Mare Anca¹; Szekely Edit¹; Man A.¹; Toma Felicia¹; Bilcă Doina²

*1. Microbiology Departement, University of Medicine and Pharmacy Tg.Mureș;
2. Department of Microbiology, Central Laboratory, Emergency Clinical Hospital Tg. Mureș*

Purpose: The evaluation of *Clostridium difficile* (*C. difficile*) involvement in the aetiology of hospital acquired diarrhoea.

Material and method: During 01.11.2008 – 29.02.2009, in the Microbiology Laboratory from Mureş Emergency County Hospital, there were analysed 170 samples of stools. These samples were processed according to the laboratory's protocol for isolation of pathogenic bacteria from stool (this protocol does not include routine testing for *C. difficile* infection). From the 170 samples of stools, there were selected 22 diarrhoeic samples which were suggestive for *C. difficile* associated disease. These samples were analysed on MiniVidas system for the presence of *C. difficile* toxins A and B, at the Department of Microbiology within University of Medicine and Pharmacy Târgu-Mureş. The positive samples were cultivated on *C. difficile* agar and incubated in anaerobic atmosphere. The identification of *C. difficile* was based on the microscopic morphological characters, the colonies' aspect and the latex agglutination test.

Results: After processing the 170 samples according to the laboratory's protocol, there were identified 3 positive samples (one pathogenic strain of *Escherichia coli*, one of *Salmonella* spp. and one of *Shigella boydii*), representing 1.76%. The low percentage of positive samples can be explained by the hospital's profile, which does not include the Department of Infectious Diseases. From the 22 diarrhoeic stools that were selected, 5 were positive for *C. difficile* (22.7%).

Conclusions: The detection of *C. difficile* as an aetiological agent in hospital acquired diarrhoea sustains the importance of routine testing for this species. The rigorous selection of the stool samples has an important role in equilibrating the costs and the efficiency for this diagnostic.

Implicarea *Clostridium difficile* în etiologia diareei intraspitalicești

Mare Anca¹; Szekely Edit¹; Man A.¹; Toma Felicia¹; Bilcă Doina²

1. Disciplina de Microbiologie, Universitatea de Medicină și Farmacie Tg.Mureș;
2. Laboratorul de Analize Medicale Centrale, Departamentul de Microbiologie, Spitalul Clinic Județean de Urgență Tg. Mureș

Scop: Evaluarea implicării infecției cauzate de *Clostridium difficile* în etiologia diareii acute intraspitalicești.

Material și metodă: În perioada 01.11.2008 – 29.02.2009, în cadrul Laboratorului de Microbiologie al Spitalului Clinic Județean de Urgență Mureș, s-au analizat 170 probe de materii fecale. Acestea au fost prelucrate conform protocolului de coprocultură al laboratorului (acesta nu include testarea de rutină pentru *C. difficile*). Din cele 170 de probe de materii fecale, au fost selectate 22 scaune diareice care corespundea criteriilor ce sugerează implicarea etiologică a *C. difficile*. Aceste probe au fost analizate pentru prezența toxinelor A și B produse de *C. difficile* cu ajutorul sistemului MiniVidas, la Disciplina de Microbiologie din cadrul Universității de Medicină și Farmacie Târgu Mureș. Probele pozitive pentru toxine au fost cultivate în anaerobioză pe mediul *C. difficile* agar. Identificarea s-a făcut pe baza caracterelor morfotinctoriale, a caracterelor de cultură și a latexaglutinării.

Rezultate: În urma prelucrării celor 170 de probe prin protocolul coproculturii s-au identificat 3 probe pozitive (o tulipă patogenă de *Escherichia coli*, una de *Salmonella* spp. și una de *Shigella boydii*), reprezentând un procent de 1,76%. Procentul scăzut al pozitivării coproculturilor poate fi explicat prin profilul spitalului, care nu include secția de boli infecțioase. Din cele 22 scaune diareice selectate, 5 au fost pozitive pentru *C. difficile* (22,7%).

Concluzii: Detectarea implicării *C. difficile* în etiologia diareii intraspitalicești susține importanța diagnosticării de rutină a acestei specii. Un rol important în echilibrarea raportului cost /eficiență al acestui diagnostic îl are selectarea riguroasă a probelor care se testează.

C45. The etiology profile and the antibiotic susceptibility pattern of the urinary tract infections in hospitalized and community patients

Nicolescu Ş.¹, Tucra R.¹, Vitan A.¹, Anghel G.¹, Gherase C.², Tăbîrcă N.²

1. Medical Analysis Laboratory Almina Trading S.R.L., Târgovişte; 2. Clinical Laboratory of the District Emergency Hospital, Târgovişte

Objective: The purpose of this study was to determine and compare the bacterial etiology and the sensitivity to antibiotics of the urinary tract infections detected in hospitalized patients and in outpatients.

Materials and methods: We have included in the study 941 bacterial strains isolated from patients hospitalized in the District Emergency Hospital - Târgovişte, and 281 strains isolated from community patients investigated at the Medical Analysis Laboratory Almina Trading s.r.l. - Târgovişte. The isolates were obtained from the urinary specimens collected between January 1 and December 31, 2008. The strains obtained in the Medical Analysis Laboratory Almina were isolated, identified and tested for the antibiotic susceptibility using the conventional methods. The methods used in the Clinical Laboratory of the District Hospital were combined, conventional and automated (the microbiology analyzer: Vitek - Biomerieux).

Results: The most frequently isolated specie was in both cases *Escherichia coli*, with an incidence of 69% in hospitalized patients and 73% in outpatients, followed at distance by *Klebsiella* spp. - 20% in hospitalized patients and 13% in non-hospitalized ones. The antibiotic sensitivity pattern was also similar, the closest results being obtained at Ceftazidime (92% in hospitalized patients and 88% in outpatients), Gentamycin (95% versus 90%), Norfloxacin ((88% versus 93%), and Ciprofloxacin (82% versus 80%).

Conclusion: *Escherichia coli* is still the most frequent bacterial agent responsible for urinary tract infections, in both hospitalized and community patients. The incidence of the infection with *E. coli* and its antibiotic susceptibility were very similar in the two groups of patients involved in this study.

Profilul etiologic și spectrul sensibilității la antibiotice al infecțiilor urinare la pacienții spitalizați și la cei investigați în ambulator

Nicolescu Ş.¹, Tucra R.¹, Vitan A.¹, Anghel G.¹, Gherase C², Tăbîrcă N.²

1. Laboratorul de Analize Medicale al S.C. Almina Trading S.R.L. - Târgovişte;
2. Laboratorul Clinic al Spitalului Județean de Urgență - Târgovişte

Obiectiv: Studiul de față a fost realizat cu scopul de a determina și compara profilul etiologic și sensibilitatea la antibiotice în infecțiile urinare depistate la pacienții spitalizați și la cei investigați în ambulator.

Materiale și metode: Au fost incluse în studiu 941 de tulpi bacteriene izolate de la pacienții internați în Spitalul Clinic Județean Târgoviște, și 281 de tulpi izolate de la pacienții investigați în Laboratorul de Analize Medicale Almina, Târgoviște. Tulpinile au fost obținute din uroculturile recoltate în perioada 1 ianuarie - 31 decembrie 2008.

Metodele de lucru folosite la izolare, identificarea și testarea sensibilității la antibiotice a tulpinilor bacteriene au fost cele convenționale în Laboratorul Almina, în timp ce în Laboratorul Clinic

al Spitalului Județean s-au folosit metode combinate, convenționale și automate (analizor de bacteriologie Vitek - Biomerieux).

Rezultate: Specia microbiană izolată cel mai frecvent a fost în ambele grupuri de studiu *Escherichia coli*, având o incidență de 69% la bolnavii internați și de 73% la cei investigați în ambulator, urmată la distanță de *Klebsiella* spp. - 20% la pacienții spitalizați și 13% la cei din ambulator. Își analiza spectrului sensibilității la antibiotice a relevat similarități, rezultatele cele mai apropiate înregistrându-se la Ceftazidim (92% la pacienții spitalizați și 88% la cei investigați în laborator), Gentamicina (95%, respectiv 90%), Norfloxacin (88%, respectiv 93%) și Ciprofloxacin (82 %, respectiv 80%).

Concluzie: *Escherichia coli* este în continuare specia bacteriană cea mai frecvent implicată în etiologia infecțiilor urinare, atât în cazul pacienților spitalizați cât și la cei investigați în ambulator.

Incidența infecției urinare cu *E. coli* și sensibilitatea sa la antibiotice au înregistrat valori foarte apropiate în ambele eșantioane de pacienți inclusi în studiu.

Molecular Biology

R47. HCV RNA monitoring in patients undergoing antiviral therapy. Is it a correlation between the results obtained between Roche Amplicor and Roche TaqMan methods?

Neuman Manuela

In Vitro Drug Safety and BioTechnology Laboratory, Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, University of Toronto, Toronto, ON, Canada

Background: There has been considerable progress in antiviral therapy for hepatitis C since 1989 when six months of interferon monotherapy was shown first to be effective in normalizing serum alanine aminotransferase (ALT) levels in a proportion of patients with chronic non-A, non-B hepatitis, known as viral hepatitis C (HCV). However, once the hepatitis C virus was identified, it became apparent that only a small proportion of these patients cleared virus after treatment. Extending the course of treatment to a year doubled the rate of viral clearance. More impressively, the addition of the oral nucleoside ribavirin to the interferon regimen dramatically increased the durable viral clearance rate compared to interferon alone. However, the initial studies of the combination of interferon and ribavirin found that viral genotype had a significant impact on interferon sensitivity and treatment response. Indeed, in patients infected with genotype 2 or 3 the sustained viral response (SVR) was the same whether they received 6 or 12 months of treatment. Thereafter, the duration of therapy was modified according to the genotype of the infecting virus. This tailoring of therapy continued as pegylation of the parent interferon drug extended its half-life, allowing greater exposure to the drug despite less frequent dosing. When combined with ribavirin, pegylated interferons increased the SVR to more than 50%. Treatment was further customized with the concept of stopping rules that modified treatment based the viral response, or rather the lack of response, during the initial weeks of treatment. Failure to reduce the HCV RNA level by at least 2 logs after the first 3 months of treatment (early viral response; EVR) predicted treatment failure and justified discontinuation of therapy.

Therefore to distinguish between the different methods to determine HCV-RNA and their sensitivity is essential in monitoring the antiviral therapies.

C48. CD4 cell count and viral load evolution in patients with immunological and virological discordant response to HAART therapy

Fodor Márta Andrea¹, Dobreanu Minodora¹, Sabău Monica², Chiriac Carmen³, Tilea Brandusa³, Kezdi Iringo³, Georgescu Anca³, Urcan Rodica³, Garbovan Cristina³, Incze Andrea³, Moldovan Andreea³

1. Dept. of Clinical Biochemistry – Molecular Biology Laboratory, University of Medicine and Pharmacy, Tîrgu Mureş, 2. University of Medicine and Pharmacy, Tîrgu Mureş, Dept. Epidemiology, 3. Infectious Diseases Clinic, Tîrgu Mureş

The goals of antiretroviral therapy in HIV infection are: reduction of plasma HIV - RNA levels, immune reconstitution (regarded as the increase of the number of CD4 cells) and a favorable clinical outcome.

The aim of the study was to compare the evolution of CD4, CD8 cell count, CD4/CD8 cell ratio and the viral load in immunologically (I-V+) and virologically (I+V-) discordant responder groups, with those seen in complete responder (I+V+) and non responder (I-V-) groups.

Material: The study was performed in Tg. Mures Infectious Diseases Clinic, on 144 HIV infected patients, 7 - 42 years old, receiving antiretroviral therapy.

Method: Patients were classified in four groups, according to their CD4 and HIV RNA response to antiretroviral treatment: responders (I+V+), nonresponders (I-V-), immunologically discordant responders (I-V+) and virologically discordant responders (I-V+). We compared the variation of CD4, CD8 cell count, CD4/CD8 cell ratio and the viral load in the four groups, using the t-student test .

Results: We found statistically significant differences between the initial and final CD4 cell count within the groups, between the final CD8 cell count in I-V- and I+V- groups and the CD4/CD8 cell ratio in I-V- and I+V+ groups. No statistically significant difference was found between the initial values of viral load.

Conclusions: The immunologically discordant response (I-V+) seems to be associated with initial elevated CD4 cell count. The virological discordant response (I+V-) seems to be associated with the initial low CD4 cell and final elevated CD8 cell. The complete nonresponse (I-V-) seems to be associated with initial elevated CD4 cell, final low CD8 cell count and low CD4/CD8 cell ratio. The complete response (I+V+) seems to be associated with the initial low CD4 cell and final elevated CD4/CD8 cell ratio.

Aspecte ale evoluției numărului de limfocite CD4 și a încărcăturii virale la pacienți cu infecție HIV/SIDA sub tratament HAART

Fodor Márta Andrea¹, Dobreanu Minodora¹, Sabău Monica², Chiriac Carmen³, Tilea Brandusa³, Kezdi Iringo³, Georgescu Anca³, Urcan Rodica³, Garbovan Cristina³, Incze Andrea³, Moldovan Andreea³

1. UMF Tg. Mureş, Disc. Biochimie clinică – Laboratorul de Biologie Moleculară; 2. UMF Tg. Mureş, Disc. de Epidemiologie; 3. Clinica de Boli Infecțioase, Tîrgu Mureş

Scopul administrării tratamentului antiretroviral în infecția cu HIV este reducerea nivelelor plasmatic ale ARN HIV plasmatic, reconstrucția imună (creșterea numărului limfocitelor CD4) și obținerea unei evoluții clinice favorabile.

Scop: Compararea loturilor cu răspuns discordant virusologic (I+V-) și imunologic (I-V+) din punct de vedere al evoluției numărului de limfocite CD4, CD8 și a raportului CD4/CD8, cu loturile cu răspuns optim la tratament (I+V+), respectiv eșec terapeutic (I-V-).

Material: am prelucrat datele a 144 de pacienți cu infecție HIV/SIDA aflați în evidență Centrului Regional de Monitorizare al Infecției HIV/SIDA Mureș, aflați sub tratament antiretroviral.

Metodă: Am împărțit pacienții în următoarele patru loturi: lotul cu răspuns discordant imunologic (I-V+), răspuns discordant virusologic (I+V-), lotul cu eșec terapeutic (I-V-) și lotul cu răspuns optim la tratament (I+V+). Am urmărit evoluția numărului de limfocite CD4, CD8 și a încărcăturii virale în determinate la începutul, respectiv la sfârșitul perioadei studiate, comparând prin testul t-student, valorile obținute la cele patru loturi.

Rezultate: am găsit diferență semnificativă statistic între numărul inițial și final al limfocitelor CD4 la cele patru loturi, numărul final de limfocite CD8 la loturile I-V- și I+V- și variația raportului CD4/CD8 la loturile I-V- și I+V+. Nu am găsit diferență semnificativă statistic între valoarea încărcăturii virale inițiale la cele patru loturi.

Concluzii: Răspunsul discordant imunologic (I-V+) se asociază cu CD4 inițial crescut. Răspunsul discordant virusologic (I+V-) se asociază cu CD4 inițial relativ scăzut, CD8 final crescut. Eșecul terapeutic se asociază cu CD4 inițial relativ crescut, CD8 final scăzut și raport CD4/CD8 scăzut. Răspunsul optim la tratament se asociază cu CD4 inițial relativ scăzut și raport CD4/CD8 crescut.

Clinical Chemistry 1

R51. Biological and functional investigations of the renin-angiotensin-aldosterone system in hypertension

Bricca Giampiero

Exploration Fonctionnelle Endocrinienne et Métabolique, Centre de Biologie Nord, Hôpital de la Croix-Rousse; INSERM ERI22, EA4173 : Agressions Vasculaires – Réponses Tissulaires, Université Claude Bernard Lyon 1; Université de Lyon, France

The biological investigations in hypertension aim at detecting end-organ damage and identifying curable causes of hypertension or at least to unravel physiopathological mechanisms underlying specific therapeutic approaches. Aside from catecholamines and phaeochromocytoma, the biological and functional analysis of the renin angiotensin aldosterone system are required to identify the most common as well as the rarest forms of hypertension. In view of the very high reactivity to a large variety of environmental and genetic factors, the interpretation of the biological data and the strategy of the choice of functional tests, through activation or inhibition at the different levels of regulation, should follow strict normalization and prospective evaluation. A set of simple rules for the measurement and the interpretation will be discussed.

R53. Emerging Risk Markers and Novel Targets for Cardiovascular Prevention

Blaton V.

KU-Leuven and Department Clinical Chemistry, Brugge, Belgium

Atherosclerosis, the major risk for coronary heart disease events, is no longer considered as a lipid disorder. It is a process of dynamic interactions, where Cytokines ↑, Cell Adhesion Molecules and Acute Phase proteins (hs-CRP and SAA) are key players in the CV-events.

Multiple risk factors management is a critical area in cardiovascular prevention and therapy. Aim is to offer integrated view of the new approaches now prevailing which include combined control of lipid disorders, hypertension, thrombosis, diabetes and the increasing use of polytherapy to reduce global cardiovascular risk.

The recent findings on inflammatory processes involved in atherosclerosis development provide important links between risk factors and the mechanisms of atherosclerosis. Thus research interest has increasingly focused on inflammatory biomarkers as a means of predicting the risk of future clinical events. Indeed elevated plasma levels of soluble intercellular adhesion molecules or C-reactive protein (hs CRP and SAA) has been shown to represent inflammatory markers of future cardiovascular risk. The acute phase response (APR) can impair the anti-inflammatory functions of high density lipoproteins (HDL particles). HDL-C is highly inversely related to the degree of stenosis, directly to the acute phase proteins SAA and hs-CRP and inversely to the pro-inflammatory cytokines, which can be followed by the ratio of IL 6/ IL 10. The clinical and preventive aspects of hs-CRP have to be considered.

Epidemiological studies have identified low-density lipoproteins (LDL) and high-density lipoproteins (HDL) as independent risk factors that modulate cardiovascular disease (CVD) risk. Low HDL is often present in high risk patients with CVD. Other lines of evidence suggest that raising HDL would reduce the risk of CV-events. Infusion of apoA-I/phospholipids complexes was associated with regression of arterial lesions, over expression of human apoA-I in transgenic animals protects against diet induced and genetically determined atherosclerosis. These combined results support the concept that raising HDL may represent a therapeutically target for prevention of CV events. Thus, an understanding of

HDL metabolism is critical to explaining why increased HDL is protective. Understanding of how HDL protects against CVD is still incomplete, there is evidence that supports at least three major atheroprotective mechanisms of HDL. HDL mediated efflux of cholesterol from cholesterol-loaded macrophages is a well established anti-atherogenic function of HDL

Low-density lipoproteins (LDLs) are susceptible to structural modifications by oxidation, particularly the small dense LDL particles. Oxidized LDL (oxLDL) formation in the subendothelial space of the arterial wall is a key initiating step in atherosclerosis because it contributes to foam cell generation, endothelial dysfunction, and inflammatory processes. In the last decade, immunoassays were developed using monoclonal antibodies against oxidation-dependent epitopes of LDL which made it possible to directly measure oxLDL in the circulation. Increased circulating oxLDL concentrations have been related to cardiovascular disease in some studies, although not always independently after adjustment of classical lipid markers. The Asklepios Study, investigating 2524 healthy middle-aged subjects, showed that circulating oxLDL is affected by many biological and lifestyle factors, as well as (generalized) subclinical atherosclerosis.

Multidisciplinary efforts can effectively alter patient behaviour and modify risk factors. In order to achieve these objectives, there is an urgent need for updating and harmonizing laboratory reports of lipid analyses in concordance with the European guidelines.

R54. Inflammation and atherosclerotic plaque vulnerability

Dobreanu Minodora

Department of Clinical Biochemistry, University of Medicine and Pharmacy Tîrgu Mureș

Despite a lot of progress, atherosclerotic cardiovascular disease still represents killer number one in the western world and is starting to have increased impact in developing countries. Most of the cardiovascular events that are caused by atherosclerosis, such as acute myocardial infarction or stroke, are the result of a transition of so-called stable atherosclerotic plaques to vulnerable plaques. The critical role of plaque composition rather than plaque size or stenosis severity is important for plaque vulnerability. The phenotype of the plaque predisposed to rupture has several distinctive features: a large lipid core composed of oxidized lipids, free and esterified cholesterol, thin fibrous cap, many inflammatory cells (monocyte derived macrophages, activated T cells, dendritic cells and mast cells), fewer intimal smooth muscle cells and increased neovascularity. The lipid core is intense thrombogenic due to direct platelet activation and impregnation with active tissue factor.

Current clinical risk profiling algorithms, such as the Framingham and Procam risk scores, have predictive value in the assessment of the 10 year risk. However, the challenge remains to identify those patients with a very high risk of suffering from myocardial infarction in the coming months. The transition of stable atherosclerotic plaques to vulnerable plaques is typically heralded by inflammation. The ability to identify atherosclerotic plaques that are prone to rupture, may provide a major step forward in the recognition of patients that have a high risk of developing acute myocardial infarction. Apoptosis is linked to all of these features of plaque vulnerability, and may, therefore, provide uniquely useful targets for the identification of plaque vulnerability. Molecular imaging may help identify plaque inflammation and apoptosis of inflammatory cells, which are obligatory components of the plaque instability. Development of apoptosis imaging technologies may allow in the near future to identify patients with critical cardiovascular risks, to treat myocardial infarction in its imminent, instead of its evident phase.

Plaque stabilization represents a novel challenge in atherosclerosis management and is considered to be more important than regression.

Inflamația și placa de aterom instabilă

Dobreanu Minodora

Disciplina de Biochimie Clinică, Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș

În ciuda a numeroase progrese, boala cardiovasculară aterosclerotă reprezintă principala cauză de deces în țările vestice și începe să aibă un impact tot mai mare în țările în curs de dezvoltare. Cele mai multe evenimente cardiovasculare cu substrat aterosclerotice (cum ar fi infarctul de miocard sau accidentul vascular cerebral) sunt rezultatul tranzitiei plăcilor stabili spre starea de plăci vulnerabile. Un rol critic în vulnerabilitatea plăcii de aterom îl are mai degrabă compoziția acesteia, decât dimensiunea sau severitatea stenozei. Fenotipul plăcii predispuș la ruptură se caracterizează prin: miez lipidic abundant alcătuit din lipide oxidați, colesterol liber și esterificat, capișon fibros subțire, numeroase celule inflamatorii (macrofage, limfocite T activate, celule dendritice și mastocite), puține celule muscu-

lare netede și o neovascularizație bine reprezentată. Miezul lipidic este intens trombogenic, datorită efectului activator direct asupra plachetelor, precum și impregnării cu factor tisular activ.

În calcularea profilului de risc clinic se utilizează actualmente scorurile de risc Framingham și Procam, care oferă valoarea predictivă pe 10 ani. Provocarea rămâne însă aceea de a identifica acei pacienți cu un risc foarte crescut de a face un infarct miocardic acut în lunile următoare. Tranziția plăcii de aterom din stare stabilă în aceea de placă vulnerabilă este cauzată de inflamație. Capacitatea de a identifica acele plăci în pericol de a se rupe, ar putea fi un pas înainte în recunoașterea pacienților cu risc crescut de a dezvolta infarct miocardic acut. Evidențierea apoptozei celulelor inflamatorii din placa de aterom ar putea fi modul de identificare a plăcilor vulnerabile. În viitorul apropiat, tehnologiile imagistice moleculare ar putea evidenția inflamația și apoptoza celulelor inflamatorii (componente obligatorii ale plăcii instabile) chiar la nivel coronar, permitând identificarea pacienților cu risc cardiovascular critic, tratarea infarctului de miocard pe cale să se producă și nu pe acela deja constituit.

Stabilizarea plăcilor aterosclerotice reprezintă o provocare în abordarea terapeutică a acestei patologii, fiind considerată mai importantă decât regresia.

R55. Lipid-driven inflammatory monocytes accelerate the development of transplant arteriosclerosis

Schiopu Alexandru, Nadig Satish, Wood Kathryn J.

Transplantation Research Immunology Group, Nuffield Department of Surgery, John Radcliffe Hospital, Oxford University, United Kingdom

Introduction. Transplant arteriosclerosis (TA), defined as diffuse intimal hyperplasia in the arteries of transplanted organs, is one of the main pathological processes leading to chronic allograft rejection. Several studies have identified plasma cholesterol as the most important non-immunologic risk factor for chronic rejection in heart and kidney recipients, but the underlying mechanisms are still unknown.

Materials and methods. We have studied the influence of lipid environment on the development of transplant arteriosclerosis in a fully mismatched arterial interposition graft model. CBA ($H2^k$) arterial grafts were transplanted into the abdominal aorta of hyperlipidemic C57Bl/6 ($H2^b$) ApoE $^{-/-}$ mice kept on normal diet or on a high-fat diet. Normolipidemic wild-type C57Bl/6 recipients served as controls. The arterial grafts were harvested 21 days after transplantation and we assessed the extent of transplant arteriosclerosis, cellular and lipid infiltration into the neointima, as well as plasma cholesterol levels. Graft recruitment of inflammatory GR hi and steady-state GR1 lo monocytes was tracked using a fluorescent bead labelling technique.

Results. TA development was accelerated almost 3 times in CBA vessels transplanted into the hyperlipidemic ApoE $^{-/-}$ mice on a high fat diet compared to the wild-type recipients ($59.6 \pm 13\%$ versus $23.2 \pm 10.5\%$, $P < 0.01$). The Oil Red O lipid staining revealed an intense diffuse lipid infiltration throughout the neointima in the ApoE $^{-/-}$ recipients, whereas the lesions developed in wild-type C57Bl/6 mice presented only minimal lipid content. We found an intense macrophage foam cell staining in the arteries transplanted into the hyperlipidemic mice, with no significant increase in the presence of T cells into the grafts. There was a direct correlation between macrophage infiltration, plasma cholesterol levels and lesion extent. The inflammatory GR hi monocytes were recruited to the lesions to a much higher extent than their GR1 lo counterparts in both mouse strains. The increase in plasma cholesterol levels preferentially increased GR hi monocytes recruitment.

Conclusion. Our study further highlights the importance of post-transplant lipid management in all solid organ recipients. We show that lipids exacerbate the development of transplant arteriosclerosis in a dose-dependent manner and heavily infiltrate the newly formed neointimal layer. Our study identifies the accelerated recruitment of inflammatory GR^{hi} monocytes as the main link between plasma cholesterol and the development of chronic vascular rejection. Future dissection of these mechanisms might offer additional therapeutic targets for improvement of long-term allograft survival.

Lipidele plasmaticice accelereaza dezvoltarea arteriosclerozei de transplant prin intermediul recrutarii de monocite inflamatorii in peretele arterial

Schiopu Alexandru, Nadig Satisch, Wood Kathryn J.

Transplantation Research Immunology Group, Nuffield Department of Surgery, John Radcliffe Hospital, Oxford University, United Kingdom

Introducere. Arterioscleroza de transplant, definita ca o hiperplazie intimala difusa dezvoltata in arterele grafturilor solide post-transplant, este unul dintre cele mai importante procese patologice responsabile pentru inducerea rejetului cronic. Mai multe studii au identificat nivelul colesterolului plasmatic ca fiind principalul factor de risc asociat cu rejetul cronic in transplantul de inima si rinichi dar mecanismele patologice sunt in momentul de fata necunoscute.

Material si metoda. Am studiat influenta mediului lipidic asupra dezvoltarii arteriosclerozei de transplant intr-un model de transpozitie arteriala complet alogeneic. Grafturi arteriale preluate de la soareci CBA (cu antigene de histocompatibilitate H2^k) au fost transplantate in aorta abdominala a mai multor grupuri de soareci hiperlipidemici C57Bl/6 (H2^b) ApoE^{-/-} tinuti pe dieta normala sau dieta bogata in lipide. Am folosit ca si grup de control soareci normolipidemici C57Bl/6 wild-type. Grafturile arteriale au fost colectate 21 de zile mai tarziu. Am masurat in aceste grafturi atat nivelul de arterioscleroza cat si infiltratul celular si lipidic din neointima si nivelul de cholesterol plasmatic. Utilizand o tehnica de marcare cu particule de latex flourescente am urmarit de asemenea recrutarea la nivelul graftului a celor 2 populatii de monocite, inflamatorii (GR1^{hi}) si patrulante (GR1^{lo}).

Rezultate. Dezvoltarea arteriosclerozei de transplant a fost accelerata de aproape 3 ori in grafturile transplantate in recipientii hiperlipidemici in comparatie cu cei normolipidemici ($59.6 \pm 13\%$ fata de $23.2 \pm 10.5\%$, $P < 0.01$). Colorarea lipidelor intra-tisulare cu Oil Red O a aratat o infiltrare intensa in neointima vaselor transplantate in recipienti ApoE^{-/-} comparativ cu infiltrare minima in recipientii wild-type. In arterele transplantate in recipientii hiperlipidemici a fost gasita existenta unui infiltrat extins de celule spumoase derive din macrofage, dar recrutarea de celule T nu a fost crescuta. De asemenea am evideniat existenta unei corelatii directe intre intensitatea infiltratului macrofagic, marimea leziunilor si nivelul de colesterol plasmatic. Monocitele inflamatorii GR^{hi} au fost recrutate in interiorul grafturilor cu o rata mult mai mare decat monocitele GR1^{lo} in ambele grupuri de recipienti. Cresterea nivelului colesterolului plasmatic a accelerat in mod preferential recrutarea de monocite GR^{hi}.

Concluzii. Studiul nostru evidentiaza importanta tratamentului hiperlipidemiei in toti recipientii de organe solide. Am aratat ca lipidele infiltreaza stratul neointimal format si exacerbeaza dezvoltarea arteriosclerozei de transplant intr-o maniera dependenta de nivelul plasmatic. Rezultatele acestui studiu sugereaza ca recrutarea accelerata de monocite inflamatorii constituie veriga de legatura intre nivelul colesterolului plasmatic si dezvoltarea rejetului cronic. Clarificarea in detaliu a acestor mecanisme ar putea oferi noi tinte terapeutice in vederea prelungirii supravietuirii pe termen lung a grafturilor solide.

Clinical Chemistry 2

R57. HbA1c: A brief overview

Higgins Trefor

Dept.of Clinical Chemistry, DynaLifeDx, Edmonton, Canada

HbA1c has become the test of choice for monitoring glycemic control in individuals with diabetes mellitus. Recommendations for analytical performance, reporting and clinical usage have been published including the setting of a HbA1c <7% as a therapeutic target. It is well established that HbA1c values are influenced by a number of variables including red cell survival and the presence of hemoglobin variants. Recent work demonstrates that HbA1c values are influenced by age, race, season, temperature change and smoking. HbA1c has recently been suggested as a screen for diabetes mellitus. In this presentation the effect of variables on HbA1c values, the difference in HbA1c reporting recommendations and the use of HbA1c as a screening test for diabetes mellitus will be described.

R58. High Performance Liquid Chromatography (HPLC) for Hemoglobin A1c determination in human whole blood

Beaulieu Yves

Bio-Rad Laboratories (Canada) Ltd, Clinical Diagnostics Group

Diabetes is a self-managed disease. It is rampant and escalating into a healthcare crisis. Glycated hemoglobin is an indicator of the metabolic control of the diabetic, the patient's long-term compliance to treatment.

Bio-Rad is at the forefront of diabetes care helping clinicians monitor A1c in their patients. The speaker will discuss in layman's terms the analysis of A1c by High Performance Liquid Chromatography, a technique that is widely used. There will be discussed some of the advantages of HPLC over immunological methods, the fact that it also provides additional information about hemoglobinopathies. The presentation will also cover Bio-Rad's line of instruments that can fulfill the needs of hospitals and clinics of any size.

C59. Identification of enhanced risk-groups regarding complications in diabetic patients

Nemes-Nagy Enikő¹, Al-Aissa Zahra², Kirizs Róbert², Dobreaunu Minodora³, Higgins Trefor⁴

1. Medical Biochemistry Dept, University of Medicine and Pharmacy, Tîrgu Mureş; 2. University of Medicine and Pharmacy, Tîrgu Mureş, medical student; 3. Dept. of Clinical Biochemistry and Laboratory, University of Medicine and Pharmacy, Tîrgu Mureş; 4. DynaLifeDx (formerly Dynacare-Kasper Medical Laboratories), Edmonton, Canada

Introduction: Diabetes mellitus is a chronic disease of the entire organism. Glycated haemoglobin (HbA1c) is an important parameter used to evaluate the efficacy of the treatment. **The aim of the study** is to evaluate carbohydrate metabolic balance in different groups of type 1 and type 2

diabetic patients. **Materials and methods:** HbA1c values were determined at the Central Laboratory of the County Emergency Clinical Hospital in TîrguMureş using the Variant Hemoglobin Testing System (Bio-Rad) analyzer ($n = 3520$). Diabetic patients were selected in groups depending on their age, gender, environment, body weight, type of the disease and modality of treatment. **Results:** In type 1 diabetic patients (especially in teenagers) optimal metabolic balance is harder to achieve compared with type 2 diabetic adults ($p=0,0008$). In infants under 10 of age HbA1c average value is significantly lower compared with elder children ($p<0,005$). 26% of diabetic adults suffer from LADA (latent autoimmune diabetes in adults). Patients from urban environment present significantly smaller HbA1c values compared with rural patients ($p<0,05$). Younger obese diabetics have significantly higher HbA1c values compared with elder obese diabetic patients ($p<0,05$). We didn't notice significant differences between HbA1c values in type 2 diabetic patients treated with oral antidiabetic drugs compared with those treated with insulin ($p=0,31$). **Conclusions:** Based on the results obtained we identified some groups of diabetic patients which require special attention to prevent complications of the disease (type 1 diabetic teenagers, diabetics from rural environment, young obese patients). Appropriate medical education, healthy lifestyle, determination of glycaemic profile every day and consequently adjusting insulin doses, together with measurement of HbA1c values 3-4 times every year could have a benefic influence on carbohydrate metabolic balance in these groups of diabetic patients presenting increased HbA1c values.

Identificarea unor subgrupe cu risc ridicat de complicații în cadrul pacienților diabetici

Nemes-Nagy Enikő¹, Al-Aissa Zahra², Kirizs Róbert², Dobreașu Minodora³, Higgins Trefor⁴

*1. Disciplina de Biochimie Medicală, UMF Tîrgu Mureş; 2. UMF Tîrgu Mureş, student MG;
3. Disciplina de Biochimie Clinică și Laborator, UMF Tîrgu Mureş; 4. DynaLifeDx (anterior Dynacare-Kasper Medical Laboratories), Edmonton, Canada*

Introducere: Diabetul zaharat este o boală a întregului organism, cu evoluție cronică. Hemoglobina glicată (HbA1c) este un parametru de bază pentru evaluarea eficacității tratamentului. **Scopul lucrării** este urmărirea echilibrului metabolic glucidic la diferite grupuri din cadrul pacienților cu diabet zaharat de tip 1 și 2. **Material și metodă:** Valorile de HbA1c au fost determinate în cadrul Laboratorului Central al Spitalului Clinic Județean de Urgență Tîrgu Mureş cu analizorul Variant Hemoglobin Testing System (Bio-Rad). Diabeticii ($n = 3520$) au fost repartizați în subgrupe în funcție de vîrstă, sex, mediu de proveniență, masă corporală, tipul bolii și modalitatea de tratament. **Rezultate:** La pacienții cu diabet zaharat de tip 1 (în special la adolescenți) este mai dificil de realizat echilibrul metabolic optim comparativ cu adulții cu diabet de tip 2 ($p=0,0008$). La copiii sub 10 ani media HbA1c este semnificativ mai scăzută comparativ cu cei peste această vîrstă ($p<0,005$). 26% dintre diabeticii adulți suferă de forma LADA. Pacienții provenind din mediul urban au valori de HbA1c semnificativ mai mici decât cei din mediul rural ($p<0,05$). Dintre diabeticii obezi cei tineri prezintă valori semnificativ mai ridicate de HbA1c ($p<0,05$). Echilibrul metabolic glucidic nu prezintă diferențe semnificative între subgrupurile tratate cu antidiabetice orale respectiv cele de insulinonecesitanți ($p=0,31$). **Concluzii:** Cu ajutorul dozării HbA1c se conturează o subpopulație de pacienți diabetici care necesită atenție sporită în vederea prevenirii complicațiilor (adolescenți cu diabet de tip 1, diabetici din mediul rural, pacienți tineri cu obezitate). Educația sanitară corespunzătoare, modul de viață sănătos,

urmărirea zilnică a profilului glicemic cu adaptarea dozelor de insulină și determinarea periodică a HbA1c (de 3-4 ori pe an) ar putea influența benefic echilibrul metabolic glucidic la aceste subgrupe de diabetici cu risc sporit.

C60. Paraoxonase 1: relationships with disease and activities/ concentration evaluation

Dronca Maria¹, Crăciun Elena Cristina², Micle Otilia³

1. Medical Biochemistry Dept., Faculty of Medicine, „Iuliu Hațieganu” University of Medicine and Pharmacy Cluj-Napoca, Romania; 2. Dept. of Pharmaceutical Biochemistry and Clinical Laboratory, Faculty of Pharmacy, „Iuliu Hațieganu” University of Medicine and Pharmacy Cluj-Napoca, Romania; 3. Microbiology-Histology Dept., Faculty of Medicine and Pharmacy, Oradea, Romania

Paraoxonase 1 (PON1), an HDL-associated esterase/lactonase, is involved in the detoxification of organophosphates and protection against oxidative stress. Alteration of the serum PON1 level has been reported in a variety of diseases involving oxidative stress. These include cardiovascular disease, chronic liver impairment, metabolic syndrome, chronic renal failure, and some neurodevelopment and neurodegenerative diseases such as autism and Alzheimer's disease. Therefore, increased knowledge of PON1's physiological significance and involvement in human pathology is now of critical importance. We review the state-of-the-art regarding PON1 physiological function, relationships with disease, and methodology used to assay its activities and concentration.

Paraoxonaza 1: patologii asociate și evaluarea activităților/ concentrației

Dronca Maria¹, Crăciun Elena Cristina², Micle Otilia³

1. Catedra de Biochimie Medicală, Facultatea de Medicină, UMF “Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca, România; 2. Catedra de Biochimie Farmaceutică și Laborator Clinic, Facultatea de Farmacie, UMF “Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca, România; 3. Catedra de Microbiologie-Histologie, Facultatea de Medicină și Farmacie, Oradea, România

Paraoxonaza 1 (PON1), o esterază/lactonază asociată HDL, este implicată în detoxificarea organofosforicelor și protecția împotriva stresului oxidativ. Alterarea nivelului seric al PON1 a fost asociată cu numeroase boli care implică stresul oxidativ. Acestea includ boala cardiovasculară, insuficiența hepatică cronică, sindromul metabolic, insuficiența renală cronică, și unele boli de neurodezvoltare și neurodegenerative de tipul autismului și bolii Alzheimer. De aceea, îmbogățirea cunoștințelor privind semnificația fiziologică a acestei enzime și implicarea ei în patologia umană este în prezent de importanță critică. În studiul de față ne-am propus să trecem în revistă informațiile la zi privind funcția fiziologică, patologii asociate și metodologia utilizată pentru determinarea activităților și concentrației paraoxonazei 1.

C61. Methods for oxidative stress evaluation: implications in diabetology

Nemes-Nagy Enikő¹, Balogh-Sămărghițan Victor¹, Kósa Beáta², Zöld Gizella², Czédula András², Jákó Zsuzsanna², Sánta Dóra^{3,4}, Crăciun Elena-Cristina⁵, Dobreașu Minodora⁶

1. Medical Biochemistry Dept, University of Medicine and Pharmacy, TîrguMureş; 2. University of Medicine and Pharmacy, TîrguMureş, medical student; 3. „Santa” Polyclinic, Târgu Mureş, General Practitioner; 4. University of Medicine and Pharmacy, TîrguMureş, student (Nutrition and Dietetics); 5. Dept. of Pharmaceutical Biochemistry and Clinical Laboratory, University of Medicine and Pharmacy „Iuliu Hațieganu”, Cluj Napoca; 6 Dept. of Clinical Biochemistry and Laboratory, University of Medicine and Pharmacy, TîrguMureş

Introduction: Reactive oxygen species are involved in development and aggravation of several diseases, such as diabetes mellitus. **The aim of the study** is to compare results obtained with six methods used to evaluate oxidative stress in diabetic and non-diabetic patients. **Materials and methods:** We used three methods to determine malondialdehyde concentration, final product of lipoperoxidation, Bioxytech LPO 586 reagent kit, and two methods based on the reaction with thiobarbituric acid. Results were evaluated using the Beckman DU-68 photometer. The activities of two antioxidant enzymes, superoxide dismutase and glutathion peroxidase were determined with the analyzer Cobas Mira Plus. To evaluate cutaneous antioxidant status we used a biophotonic scanner showing the carotenoid score. **Results:** Malondialdehyde concentration determined by these three methods correlated well, diabetics presenting significantly higher values than non-diabetic control patients. In the majority of diabetics we found physiological values of antioxidant enzyme activities. Carotenoid score was significantly smaller in diabetic patients compared with control people ($p<0,05$). **Conclusions:** Dosage of lipoperoxidation products is a more appropriate method to evaluate oxidative stress compared with determination of antioxidant enzyme's activity. The carotenoid score of the skin is a modern, non-invasive method to determine the level of protective antioxidants and to evaluate the intensity of oxidative stress.

Metode de evaluare a stresului oxidativ: implicații în domeniul diabetologiei

Nemes-Nagy Enikő¹, Balogh-Sămărghițan Victor¹, Kósa Beáta², Zöld Gizella², Czédula András², Jákó Zsuzsanna², Sánta Dóra^{3,4}, Crăciun Elena-Cristina⁵, Dobreașu Minodora⁶

1. Disciplina de Biochimie Medicală, UMF TîrguMureş; 2. UMF TîrguMureş, student MG; 3. Cabinet Medicină de Familie, Polyclinica „Santa”, TîrguMureş; 4. UMF TîrguMureş studentă (Nutriție și Dietetică); 5. Disciplina de Biochimie Farmaceutică și Laborator Clinic, Facultatea de Farmacie, UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca. 6. Disciplina de Biochimie Clinică și Laborator, UMF TîrguMureş

Introducere: Speciile reactive ale oxigenului intervin în apariția și agravarea a numeroase stări patologice printre care se numără și diabetul zaharat. **Scopul lucrării** este compararea rezultatelor obținute prin șase metode care servesc la evaluarea stresului oxidativ la pacienți diabetici și nediabetici. **Material și metodă:** Pentru dozarea malondialdehidei, produs final al lipoperoxidării, am utilizat trei metode: setul de reactivi Bioxytech LPO 586, respectiv două metode care se bazează pe reacția cu acid tiobarbituric. Rezultatele au fost citite cu fotometrul Beckman DU-68. Dintre enzimele antioxidantă am determinat activitatea superoxid-dismutazei și glutation peroxidazei cu analizorul Cobas Mira Plus. În

vederea evaluării statusului antioxidant la nivel cutanat am utilizat un scanner biofotonic care determină indicele carotenoizilor. **Rezultate:** Concentrațiile de malondialdehidă determinate prin cele trei metode arată o bună corelație, diabeticii prezintând valori semnificativ mai ridicate decât lotul control nedabetic. Majoritatea pacienților diabetici au avut valori fizioleice la dozarea enzimelor antioxidantă. Indicele carotenoizilor a fost semnificativ mai mică la diabetici față de lotul control ($p<0,05$). **Concluzii:** Dozarea produșilor de lipoperoxidare este o metodă mai potrivită pentru evaluarea stresului oxidativ comparativ cu analiza activității enzimelor antioxidantă. Determinarea indicelui carotenoizilor din piele este o metodă modernă, neinvazivă pentru evaluarea nivelului antioxidantilor protectori, prin care putem aprecia intensitatea stresului oxidativ.

C62. Gas-Chromatographic analysis of fatty acids from human serum

Ionescu I.¹, Pintilie G. Sofia², David G.³, Dancescu M.³, Oprea Malina⁴

1. Laboratory of Gas-Chromatography, „Dr.Horia Radu” National Centre for Neuromuscular Diseases, Vâlcele, Covasna County, Romania; 2. Dept. of Biochemistry and Human Nutrition, Faculty of Food Products Technology, Banat’s University of Agricultural Science and Veterinary Medicine, Timișoara; 3. Dept. of Neurosurgery, „Queen Maria” Emergency Military Hospital Brașov; 4. West Medical Center Brașov

Due to their versatility and resolution, chromatographic separations of complex mixtures of biologicals are used for many purposes in academia and industry. If anything, recent developments in the life sciences have increased the interest and need for chromatography be it for quality control, proteomics or the downstream processing of the high value products of modern biotechnology. However, the many “challenges” of present day chromatography and especially of the HPLC of biomacromolecules such as proteins, are also present in the mind of any practitioner. Fatty acids are essential for human health; they are required in the body to make important compounds, such as the prostaglandins, leukotrienes and thromboxans, which control many important physiological processes. Fatty acids are present in food as either saturated or unsaturated molecules and, usually, as part of triglycerides. The properties and biological action of the fatty acids differ greatly, depending on what group they belong to.

The aim of the present paper was to present our results concerning the composition in the fatty acids of human serum. Samples were organized in function of age of subjects.

Keywords: fatty acids, gas-chromatographic analysis, human serum

Analize gaz–cromatografice ale acizilor grași din serul uman

Ionescu I.¹, Pintilie G. Sofia², David G.³, Dancescu M.³, Oprea Malina⁴

1. Laboratorul Gaz-Cromatografie, Centrul Național de Patologie Neuro-Musculară „Dr. Horia Radu”, Vâlcele, jud. Covasna, România; 2. Dept. de Biochimie și Nutriție Umană, Facultatea de Tehnologia Produselor Agroalimentare, Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară a Banatului, Timișoara; 3. Dept. Neurochirurgie, Spitalul de Urgență „Regina Maria” Brașov; 4. Centrul Medical Vest Brașov

Datorită varietății și rezoluției, separările cromatografice de amestecuri complexe biologice sunt folosite în multe scopuri în studiile industriale și academice. Oricum dezvoltările recente ale științelor

vieții au intensificat cerința folosirii cromatografiei în controlul calității, proteomica proceselor sau fluxurilor de procesare ale produșilor de interes din biotehnologiile moderne. Totuși, există încă multe "provocări" ale cromatografiei de azi în special ale HPLC biomacromoleculelor (e.g. proteine). Acizii grași sunt esențiali pentru sănătatea umană, sunt necesari pentru ca organismul să "fabrice" compuși importanți, cum ar fi prostaglandine, leucotriene și tromboxani, care controlează multe procese fiziologice. Acizii grași sunt prezenti în alimente ca molecule saturate sau nesaturate și, uzual, ca parte a trigliceridelor. Proprietățile și acțiunea biologică a acizilor grași diferă considerabil, depinzând de grupa apartinătoare.

Scopul acestui studiu este acela de a prezenta rezultatele noastre referitoare la compoziția acizilor grași în serul uman. Probele au fost grupate în funcție de vârstă subiecților.

Cuvinte cheie: acizi grași, analiză gaz-cromatografică, ser uman

C63. Artificial neural network using in prediction of urinary calculus component with Fourier Transform Infrared analysis

Pintilie Georgeta Sofia¹, Ionescu Iulian², Zaharie Daniela³, Dragan Petru⁴

1. Dept. of Biochemistry and Human Nutrition, Faculty of Food Products Technology, Banat's University of Agricultural Science and Veterinary Medicine Timișoara; 2. Laboratory of Gas-Chromatography, National Centre for Neuromuscular Diseases „Dr.Horia Radu”, Vâlcele, Covasna County, Romania; 3. Dept.of Computer Science, Faculty of Mathematics and Computer Science, University of Vest Timișoara; 4. Clinic of Urology, „Victor Babeș” University of Medicine and Pharmacy Timișoara

The Fourier Transform Infrared (FT-IR) spectroscopy is one of suitable experimental tools for analysis of urinary calculi constituents. Though, interpretation of infrared spectra for quantifying urinary calculus constituents in mixtures is difficult, requiring expert knowledge by trained technicians. The develop of automated methods for determining the composition of uroconcrements is very important since it can facilitate the determination of the factor which influence the occurrence of calculi in urinary tract and perhaps aid the prevention of their recurrence. We develop a new FT-IR method for urinary calculus analysis. This method uses a computer library and an artificial neural network (ANN) for spectral interpretation. Recent study have shown that more than 80% of the analyzed of urinary calculi from Banat Region of Romania in our laboratory were mainly composed of calcium oxalate (whewellite and weddellite) and/or their mixtures with carbonate apatite, struvite, brushite and uric acid. Then, the focus of this work was development of methods for analysis of urinary calculi composed of these substaces.

The library was prepared from pure substance of these constituents, and 188 mixtures (binary and ternary of components). The ANN was trained and validated with 72 similar mixtures and tested with 62 calculi. The discrepancies between calculated and prediction mass fractions of constituents were in range acceptable for use. We conclude that neural network is promising tools for quantitative determination of urinary calculus composition and for other related types of analyses in the clinical laboratory.

Keywords: ANN, calculi, chemical composition, urolithiasis, FT-IR spectroscopy

Folosirea rețelelor neuronale articiale în analizele infraroșu cu Transformata Fourier în predicția compoziției calculilor urinari

Pintilie Georgeta Sofia¹, Ionescu Iulian², Zaharie Daniela³, Dragan Petru⁴

1. Dept. de Biochimie și Nutriție Umană, Facultatea de Tehnologia Produselor Agroalimentare, Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară a Banatului Timișoara; 2. Laboratorul Gaz-Cromatografie, Centrul Național de Patologie Neuro-Musculară „Dr. Horia Radu”, Vâlcele, jud. Covasna, România; 3. Dept. Informatică, Facultatea de Matematică și Informatică, Universitatea de Vest Timișoara; 4. Clinica de Urologie, UMF „Victor Babeș” Timișoara

Spectroscopia infraroșu cu Transformată Fourier (FT-IR) este una din metodele corespunzătoare pentru analiza compoziției calculilor urinari. Totuși, interpretarea spectrelor pentru o cuantificare a constituenților calculilor mici (formați din mai mulți constituenți) este dificilă și necesită cunoștințele unui expert în această tehnică. Dezvoltarea unor metode automate pentru determinarea compoziției uroconcrementelor (calculilor urinari) este foarte importantă deoarece poate facilita determinarea factorilor care influențează apariția calculilor în tractul urinar și poate ajuta la prevenirea acestei recurențe. Noi am dezvoltat o nouă metodă FT-IR pentru analiza calculilor urinari. Această metodă folosește o bibliotecă de date și o rețea neuronală artificială (ANN) pentru interpretarea spectrală. Studiile recente au arătat că mai mult de 80% dintre calculii analizați proveniți din regiunea Banat a României, din laboratoarele noastre, sunt în principal constituși din oxalat de calciu (whewellite and weddellite) și/sau amestecul acestuia cu carbonatapatite, struvite, brushite și acid uric. De aceea, acest studiu s-a concentrat pe dezvoltarea de metode de analiză a compoziției calculilor urinari compuși din aceste substanțe. Biblioteca de date a fost dezvoltată din substanțele pure ale acestor constituenți și din 188 de amestecuri (binare și ternare ale acestor constituenți). Rețelele neuronale artificiale au fost antrenate și validate cu 82 de amestecuri similare și testate cu 62 calculi. Discrepanța dintre masele fracționate ale constituenților calculate și cele prezise au fost în domeniul acceptabil pentru folosire. Noi am concluzionat că rețelele neuronale sunt instrumente de perspectivă pentru determinările cantitative ale compoziției calculilor urinari și pentru alte tipuri înrudite de analiză în laboratorul clinic.

Cuvinte cheie: ANN, calculi, compoziție chimică, urolitiază, spectroscopie FT-IR

Immunology

R64. Overview on serum/plasma proteome

Funduc Illeana

Proteomic analysis separates, identifies and characterizes proteins and studies their interactions with other proteins. Plasma or serum is a very precious source for proteomic research because it is a rich source of proteins, being easy to obtain from patients. The two most abundant proteins in human serum, albumin and immunoglobulin G (together account for approximately 73% of the total protein concentration) make the discovery of low abundance proteins difficult. Therefore, by depleting albumin and immunoglobulin G, one would anticipate the ability to detect low abundance proteins more easily and discover useful human serum/plasma protein biomarkers. The traditional approach has been

the use of two-dimensional polyacrylamide gel electrophoresis for protein detection, followed by mass spectrometry for their identification. As a high quality alternative, further the gel-free liquid chromatography or other different variants of column or capillary chromatography have been developed; these used after trypsin-digested peptides and prior to mass spectrometry analysis. The progress of the proteomic analysis provides the better knowledge of plasma or serum proteins as potential biomarkers in several diseases. By comparing the different protein expression profiles between normal and diseased plasma/serum samples, valuable information about the process of pathogenesis can be obtained.

Considerații generale privind proteomul seric/ plasmatic

Funduc Ileana

Analiza proteomică separă, identifică și caracterizează proteinele, și studiază interacțiile lor cu alte proteine. Plasma sau serul este o foarte prețioasă sursă pentru cercetarea proteomului deoarece este bogată în proteine și se obține ușor de la pacienți. Cele mai abundente proteine din serul uman, albmina și imunoglobulina G (împreună reprezentând aproximativ 73% din concentrația totală de proteine) fac dificilă descoperirea proteinelor de abundență redusă. În consecință, prin depleția albuminei și a imunoglobulinei G se anticipează mult mai ușor posibilitatea detectării proteinelor de abundență redusă și se pot descoperi biomarkerii serici/plasmatici utili. Abordările tradiționale au folosit electroforeza bidimensională în gel de poliacrilamidă pentru detectarea proteinelor, urmată de spectrometrie de masă pentru identificarea lor. Ca o alternativă superioară, ulterior s-au dezvoltat cromatografia lichidă în gel sau alte variante diferite de cromatografie de colană sau capilară; acestea s-au folosit după digestia cu tripsină a peptidelor și înaintea spectrometriei de masă. Progresul analizei proteomice permite o mai bună cunoaștere a proteinelor serice sau plasmatic ca biomarkeri potențiali ai unor boli. Comparând diferențele expresiei ale profilelor proteice în ser/plasmă normală și patologică se pot obține informații importante asupra procesului de patogeneză.

R65. Immune components in colorectal cancer microenvironment

Carasevici Eugen

Immunology and Genetics Laboratory, Gr. T. Popa University of Medicine and Pharmacy, St. Spiridon Clinic Hospital, Iasi

The main aim of colon cancer management is to cure the disease. The therapeutic tools dedicated to this are surgery, chemotherapy, molecular targeted therapy, and radiotherapy. The therapeutic planning need to be adapted to the following criteria: biological complexity of the tumor tissue, clinical stage of the disease, personalized scheduling of chemotherapy regimen and combination with molecular targeted therapy.

The colonic tissue is a very complex structure consisting of many cell types with different specialized cell repertoire and functions.

There are four principal epithelial cell lineages in the colonic tract each displaying variations in morphology and function in relation to their location: colonocytes, mucin secreting cells known as goblet cells, enteroneuroendocrine cells which function in peptide hormone secretion, and Paneth cells which contain large apical secretory granules and express specific proteins including lysozyme, tumor necrosis factor and the antibacterial cryptin molecules.

Under normal circumstances the epithelial cell lineages of the intestinal tract undergo constant turnover, with complete self renewal every 2 – 7 days.

Besides the epithelial cell lineages, the intestinal tissue include the most extensive and complex part of the immune system called gut-associated lymphoid tissue (GALT). Structurally GALT is divided in two compartments: a) organized GALT, inductive site for intestinal immune responses – formed by isolated lymphoid follicles, associated lymphoid follicles or Payer's patches, and mesenteric lymph nodes; and b) diffuse GALT effectors of the immune response – formed by lymphocyte populations interspersed among epithelial cells, or intestinal lamina propria.

The immune intestinal system functionally includes the clonal progenitors of three major events of organ development: the embryo-fetal phase that generates tolerance to the epithelial self structure, commensal bacterial colonization at birth, and active postnatal responses to non-self structures. A colorectal tumor develops on this background of receptors and cellular signals that create the tissue microenvironment.

The fact that the life span of intestinal epithelial cells is shorter than the time required for malignant transformation is an indication that the cryptic stem self-renewing cell is the target of genetic alteration eventually leading to a monoclonal origin of the tumor.

Tumor cells, tumor stroma, cells of the immune system influence the induction and behavior of anti-tumor response. The inflammatory infiltrate, more manifest at the invasion front, can induce tolerance or enhance growth even in the presence of specific T lymphocytes.

The colon, which is a tolerogenic organ, can stimulate during the carcinogenesis a deviated microenvironment, recalling a distorted organogenesis, protective for tumor tissue development, including also, for example, an extramedullary hematopoiesis of fetal type.

Componente imune in micromediul cancerului colorectal

Carasevici Eugen

*Laboratorul de Imunologie si Genetica, Universitatea de Medicina si Farmacie Gr. T. Popa,
Spitalul Clinic Sf. Spiridon Iasi*

Obiectivul principal al tratamentului in cancerul colorectal este vindecarea bolii. Mijloacele terapeutice pentru atingerea acestui obiectiv sunt chirurgia, chimioterapia, terapia moleculara tintita si radioterapia. Planul terapeutic trebuie adaptat urmatoarelor criterii: complexitatea biologica a tesutului tumoral, stadiul clinic al bolii, personalizarea schemelor de chimio terapie si combinarea cu terapiile cu tinta moleculara.

Tesutul colonic este o structura foarte complexa formata din numeroase tipuri celulare diferențiate pe un repertoriu functional cu specializari variate.

In tractul colonic exista 4 linii celulare epiteliale principale cu morfologie si functie dependenta de locul unde sunt pozitionate: colonocitele , celule secretante de mucina “goblet”, celule enteroneuroendocrine secretante de hormoni peptidici si celule Paneth, care contin granule apicale secretorii si exprima molecule specifice, inclusiv lizozim, TNF si criptine antibacteriene. Turnoverul liniilor epiteliale in conditii normale, cu o autoreinoire completa, este de 2-7 zile.

Pe langa liniile epiteliale, tesutul intestinal include o componenta vasta si complexa a sistemului imun numita tesut limfoid asociat intestinului (GALT). Structural GALT este alcătuit din doua componente: a) GALT organizat, situs de inducere a raspunsurilor imune intestinale - format din foliculi limfoizi izolati, foliculi limfoizi asociati (placi Payer) si ganglioni mezenterici; si b) GALT efector difuz - format din populatii limfocitare raspandite printre celulele epiteliale , sau lamina propria intestinala.

Sistemul imun intestinal contine functional urmasii clonali a trei evenimente majore din dezvoltarea organului: perioada embrio-fetala generatoare a tolerantei fata de structura epiteliala self, popулarea cu comensali la nastere, si raspunsurile active postnatale fata de structuri nonself. Tumorile colonului se dezvolta pe acest fundal de receptori si mesaje celulare, care creeaza micromediul tisular.

Faptul ca durata de viata a celulelor epiteliale intestinale este mai scurta decat timpul necesar inducerii transformarii maligne reprezinta un indiciu ca tinta alterarilor genice este celula intestinala perpetua, stem, din cripte, leziunile induse fiind probabil monoclonale la origine.

Celulele tumorale, stroma tumorala, celulele sistemului imun influenteaza inductia si comportamentul raspunsului antitumoral. Infiltratul inflamator, mai pronuntat la frontul de invazie, poate, chiar in prezenta unor limfocite T activate specifice, induce toleranta, sau facilitarea cresterii. Colonul, considerat un organ tolerogenic, poate stimula in cursul carcinogenezei un micromediu deviat, amintind de organogeneza, protectiv pentru dezvoltare, schitand chiar prin prezena eritroblastelor, sau normoblastelor cu hemoglobina fetala o hematopoeza extramedulara de tip fetal.

C66. Comparative study of cytokine expression in inflammatory bowel diseases by multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) and quantitative real-time PCR

**Iancu C.B., Iancu D., Constantinescu C., Talpes V., Neagu E., Constantinescu A.,
Girbea G., Trandafir C., Gologan S., Diculescu M., Barbarii L.**

National Institute of Legal Medicine "Mina Minovici", Bucureşti

Introduction: The two main forms of inflammatory bowel diseases (IBD), Crohn disease (CD) and ulcerative colitis (UC), are characterized by an abnormal inflammatory response of the intestinal mucosa. Previously reported studies indicated that there is a close correlation between the expression of cytokines and disease severity.

MLPA is a recently developed method which allows the concomitant analysis of about 40 different molecules of nucleic acids.

Aim: Our study aimed to investigate the usefulness of the MLPA method for the investigation of local expression of a subset of cytokines in the colonic mucosa of IBD patients.

Method: 102 patients (62 BC and 40 UC) were included in our study. Biopsy samples from apparently normal and affected intestinal mucosa were used for total RNA extraction using the RNeasy kit (Qiagen). Reverse-transcription and MLPA assay was performed using the kit SALSA R009 (MRC Holland). The amplicons were separated by capillary electrophoresis and the results were normalised and analysed using an Excel spreadsheet. The overrepresented mRNAs were selected to be further investigated by quantitative real-time PCR in individual gene expression assays.

Results: MLPA revealed an increased expression of interleukins 1 beta, 6, 8 and 12 (IL12), in the samples derived from affected mucosa. Quantitative real-time PCR were consistent with the MLPA results.

Conclusion: MLPA is a fast, reliable and cost-effective method for the screening of inflammatory gene expression profile. However, for the highly expressed genes, real-time PCR is necessary to precisely evaluate the expression level of the genes.

Studiul comparativ prin MLPA (Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification) si real-time PCR al profilului de expresie al citokinelor in bolile inflamatorii intestinale

Iancu C.B., Iancu D., Constantinescu C., Talpes V., Neagu E., Constantinescu A., Girbea G., Trandafir C., Gologan S., Diculescu M., Barbarii L.

Institutul Național de Medicină Legală "Mina Minovici", București

Introducere: Cele doua forme principale de boli inflamatorii intestinale (IBD), boala Crohn (CD) si rectocolita ulcero-hemoragica (UC), se caracterizeaza printr-un raspuns inflamator anomal al mucoasei intestinale. Studiile publicate anterior au aratat ca exista o stransa corelatie intre expresia genelor cytokinelor si severitatea bolii.

MLPA este o metoda recent descoperita care permite analiza concomitenta a unui numar de 40 de molecule diferite de acizi nucleici.

Scop: Studiul nostru a urmarit evaluarea utilitatii MLPA in investigarea expresiei unui set de citokine la nivelul mucoasei colonice a pacientilor cu IBD.

Metoda: Au fost investigati 102 pacienti (62 cu CD si 40 cu UC). Din fragmentele bioptice prelevate de la nivelul mucoasei afectate si din tesut aparent normal s-a extras ARN total cu ajutorul kitului RNeasy (Qiagen). Revers-transcriptia si testul MLPA s-au efectuat cu ajutorul kitului SALSA R009 (MRC Holland). Ampliconii au fost separati prin electroforeza capilara iar rezultatele au fost normalizate si analizate intr-un fisier Excel. ARNm exprimati in cantitate crescuta au fost selectati pentru a fi investigati in continuare prin real-time PCR.

Rezultate: Testul MLPA a evideniat o expresie crescuta a interleukinelor 1 beta, 6, 8 si 12 la nivelul mucoasei afectate. Rezultatele MLPA au fost confirmate de cele obtinute la cuantificarea prin real-time PCR.

Concluzie: MLPA este o metoda rapida si robusta de screening al expresiei genelor inflamatorii, avand in acelasi timp un bun raport cost/eficienta. Genele cu nivel de expresie mult crescut necesita investigare suplimentara prin real-time PCR pentru cuantificarea precisa a ARNm.

C67. The Bethesda System - Standardization in reporting cervical cytology

Radulescu Ariadna

Clinical Institute Fundeni, Bucuresti

As of late, more and more women are being diagnosed with uterine cervix cancer. Through cytological means of investigation, with quick, time- and material economic and easy to approach methods, the cancer can be easily discovered in an incipient stage and can offer the physician information about the lesions in the genital area.

From the first records (1928 – A Babes and 1933 G. Papanicolaou) and up to now the prelevation and coloration techniques, terminology and classification systems kept improving.

The Bethesda system, as a cytodiagnostic method of reporting cervico-vaginal cancer, was introduced in 1991 and 2001 in order to standardize the means of identifying and researching the disease, helping the gynecologist in establishing the right course of treatment. The Bethesda system has two main parts: evaluation of specimen adequacy and general characterization.

It is classified into three:

- normal limits
- benign cell alteration which may imply also infection, including typical repair and reactive cellular changes
- epithelial and glandular cell anomalies which comprise dysplasia (pre-cancerous) and neoplasia (cancerous)

False negative results are more frequent than false positive results. These controversies are related to more parameters like technical quality, but they can be minimized.

In order to be correct, the screening must be standardized, must have an output, a high sensitivity, without underestimating borderline lesions, which can be more severe than the overestimated ones. The purpose of the Papanicolaou test is to reduce the number of patients with an indecisive result and the risk of having a high degree intraepithelial lesion.

Sistemul Bethesda – Standardizare în raportarea citologiei cervico-vaginale

Rădulescu Ariadna

Institutul Clinic Fundeni, Bucureşti

În ultima perioadă se cunoaște o creștere a numărului de persoane care suferă de cancer al colului uterin. Prin metode citologice de investigare, metode rapide, cu economie de timp și materiale, usor abordabile, se poate depista în fază incipientă această afecțiune, punând la îndemâna clinicianului informații asupra leziunilor din sfera genitală.

De la primele semnalări (1928 – A. Babeș și 1933 – G. Papanicolaou) și până în prezent, tehniciile de prelevare, de colorare, terminologia și sistemul de clasificare s-au tot îmbunătățit.

Sistemul Bethesda – ca sistem de raportare a citodiagnosticului cervico-vaginal a fost propus în 1989, îmbunătățit în 1991 și 2001, pentru a uniformiza modul de a identifica și a face cunoscută boala, ajutând ginecologul în stabilirea terapiei.

Sistemul Bethesda cuprinde două părți: gradul de adecvare a frotiului și caracterizarea generală.

Clasificarea cuprinde trei părți:

- în limite normale
- modificări celulare benigne, care cuprind infecții, modificări reparative și reacționale
- anomalii ale celulelor epiteliale și neoplazii (precanceroase și canceroase)

Rezultatele false negative sunt mai frecvente decât cele false pozitive. Aceste discordanțe sunt legate de mai mulți parametri, calitatea tehnică, dar se pot diminua.

Pentru ca screening-ul să fie valoros trebuie să fie standardizat, să aibă randament, sensibilitate înaltă, să nu subestimeze leziunile borderline, care sunt mai grave decât cele de supraestimare.

Scopul testului Papanicolaou este de a diminua numărul pacientelor cu scor neconcludent și risc de a avea o leziune intraepitelială de grad înalt.

C68. Experimental investigation of the most suitable osteoblast-differentiation media for human adult stem cells

Tomuleasa Ciprian^{1,2}, Sorițău Olga², Pall Emöke³, Foris Vasile^{1,2}, Lung Valentin¹, Piciu Doina¹

1. "Iuliu Hațieganu" University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca, Romania;
2. Laboratory of Experimental Radiotherapy and Stem Cell Culture, "Prof. Dr. Ion Chiricuță"
Oncology Institute, Cluj-Napoca; 3. Department of Animal Reproduction, University of
Veterinary Medicine and Agricultural Sciences, Cluj-Napoca

Introduction. Stem cell research is a rapidly expanding area of investigation with the ultimate goal to prevent, diagnose and treat various human diseases. By using the most specific culture medium and thus activating certain intercellular signaling pathways, adult stem cells become osteoblasts. This study challenges current protocols by comparing the proliferation effects of different growth factors thought to influence bone genesis.

Material and Methods. Adult stem cells isolated from the human bone marrow and osteoblasts isolated from human patella bone are used. Before starting differentiation protocols we identified specific surface markers for stem cells (SSEA-4, CD29, CD105, Oct 3/4, Nanog and SOX2) and osteoblasts (Osteopontin and Osteonectin). We investigate the proliferation (MTT assay), the intensity of the mineralization process by histology stainings (Alizarin Red S, Alcian Blue and von Kossa) and the presence of alkaline phosphatase in 3 cell culture models: undifferentiated stem cells, predifferentiated stem cells on Matrigel substrate and osteoblastic cells. Cells were cultured in simple osteogenic media and complex medias, supplemented with growth factors: Transforming Growth Factor β , Bone Morphogenic Protein-2, basic Fibroblast Growth Factor, Insulin Growth Factor, Epidermal Growth Factor and comercial serum-free Promocell media for osteoblasts. For the controls we used DMEM/F12 with FCS, L-Glutamine and antibiotics.

Results. The MTT assay revealed that stem cell proliferation is most stimulated by IGF and serum-free Promocell media. The most intensive proliferation response was to IGF in all 3 cell culture models, but osteoblasts show the highest sensitivity. Stem cells precultivated on matrigel substrate were more sensitive to FGF, IGF, and EGF. Cells cultured in medias with IGF and EGF have intense Anti-Alkaline Phosphatase staining.

Conclusion. The isolation of human stem cells offers the promise of a remarkable array of novel therapeutics through tissue regeneration and repair, from orthopedics to plastic and reconstructive surgery.

Investigarea experimentală a celui mai eficient mediu de diferențiere osteoblastică pentru celulele stem adulte

Tomuleasa Ciprian^{1,2}, Sorițău Olga², Pall Emöke³, Foris Vasile^{1,2}, Lung Valentin¹, Piciu Doina¹

1. "Iuliu Hațieganu" University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca, Romania;
2. Laboratory of Experimental Radiotherapy and Stem Cell Culture, "Prof. Dr. Ion Chiricuță" Oncology Institute, Cluj-Napoca; 3. Department of Animal Reproduction, University of Veterinary Medicine and Agricultural Sciences, Cluj-Napoca

Introducere. Cercetarea celulelor stem reprezintă un domeniu medical în continuă expansiune, cu scopul suprem de a preveni, diagnostica și trata diferite afecțiuni considerate a fi incurabile. Folosind cel mai potrivit mediu de diferențiere și activând anumite semnale intercelulare, celulele stem se pot diferenția în osteoblaști mineralizați. Acest studiu completează protocoalele curente prin compararea efectelor proliferative ale diferenților factori de creștere posibil implicați în osteogeneză.

Materiale și Metode. Sunt folosite celule stem adulte izolate din maduva osoasă și osteoblaști izolați din patella umană. Înainte de diferențiere, am identificat markeri de suprafață specifici celulelor stem (SSEA-4, CD29, CD105, Oct 3/4, Nanog și SOX2) ori osteoblaștilor (Osteopontin și Osteonectin). Am investigat rata proliferării (testul MTT), intensitatea mineralizării prin colorații histologice (Alizarin red S, Alcian blue și von Kossa) și prezența izoenzimei fosfataza alcalină utilizând trei linii de celule stem: celule nediferențiate, celule prediferențiate pe substrat de Matrigel și osteoblaști. Celulele sunt cultivate atât în mediu osteogenic simplu cât și complex, suplimentat cu Transforming Growth Factor β, Bone Morphogenic Protein-2, basic Fibroblast Growth Factor, Insulin Growth Factor, Epidermal Growth Factor și mediu comercial serum-free Promocell. Pentru control, am utilizat DMEM/F12 cu FCS, L-Glutamină și antibiotice.

Rezultate. Testul MTT demonstrează că rata proliferării este cel mai mult stimulată de IGF și mediu Promocell iar celulele sunt cel mai sensitive la acțiunea IGF în cazul tuturor liniilor. Cei mai sensibili sunt osteoblaștii. Celulele stem precultivate pe Matrigel sunt mai sensibile la acțiunea FGF, IGF și EGF. Celulele cultivate cu IGF și EGF prezintă colorația fosfataza alcalină cea mai intensă.

Concluzii. Izolarea celulelor stem umane ne oferă premisele unei remarcabile game de opțiuni terapeutice prin intermediul ingineriei tisulare, cu aplicații de la ortopedie la chirurgia plastică și reconstructivă.

Posters 1. Microbiology

P1. Tap water as a potential source of nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* infections in an intensive care unit

Barna Zsófia¹, Antmann Katalin², Pászti Judit³, Németh Melinda², Bánfi Renáta¹, Varga Márta¹

1. National Institute for Environmental Health – Budapest, Hungary; 2. Semmelweis University – Budapest, Hungary; 3. National Institute for Epidemiology – Budapest, Hungary

P. aeruginosa is a frequent cause of nosocomial infections in intensive care units. The water distribution system, tap and shower points of use may often serve as reservoirs for pseudomonads.

The aim of the present study was to assess the effect of point-of-use filters on

- (1) *P. aeruginosa* counts in tap water
- (2) incidence of *Pseudomonas* spp. infections in an ICU

(3) incidence of clinical and environmental *Pseudomonas* spp. strains, in order to provide evidence for water-related infection.

The study was carried out in a 12 bed intensive care unit of a Hungarian hospital. Point-of-use filters were applied to all water outlets for 2 x 2 weeks. Tap water was sampled weekly before, during and after the use of the filters. Environmental *P. aeruginosa* strains were isolated from tap water and compared to clinical isolates.

Strains: 13 clinical and 101 and environmental strains;

Methods: sero-, phage-and pyocin typing, PFGE;

Three of five tap outlets were found to be initially colonized by *P. aeruginosa*. Application of the point-of-use filters eliminated *P. aeruginosa* as well as other waterborne bacteria from the tap water during the two weeks of usage.

There were no new clinical cases of *Pseudomonas* infections identified during the use of the filters, whereas an average of 6 cases/month was recorded during the preceding 2 years.

Environmental isolates clustered into two groups by all of the employed typing methods; serotypes O1 and O10 were discerned. PFGE profiles of the clinical isolates showed high (>90%) similarity to the environmental strains.

In conclusion, typing results supported the hypothesis that tap water and/or taps are likely reservoirs of infective strains. Point-of-use filters were found to be effective means for the infection control of pseudomonads.

In conclusion, typing results supported the hypothesis that tap water and/or taps are likely reservoirs of infective strains. Point-of-use filters were found to be effective means for the infection control of pseudomonads.

P2. Gram-positive germs isolated from urocultures in ambulatory and wards with surgical risk

Berceanu Văduva Delia, Muntean Delia, Velimirovici Dana, Rădulescu Matilda,
Berceanu Văduva M., Dugăeșescu Dorina, Stângă Livia, Pîrvan Ramona, Popa Mihaela,
Moldovan Roxana

"Victor Babeș" University of Medicine and Pharmacy, Timișoara

Objectives: We propose a comparative study of sensitivity to antibiotics of gram-positive germs isolated in urocultures from patients in ambulatory and two wards with surgical risk (urology and obstetrics-gynecology), and also to establish the resistance phenotypes of these strains.

Material and method: 28 *S. aureus* strains were studied, 24 strains of negative-coagulase *Staphylococcus* (SCN), 23 *Streptococcus agalactiae* strains, 1 *Streptococcus anginosus* strain and 48 *Enterococcus* spp. strains. The isolated strains came from 4398 urocultures (1889 – ambulatory, 1871 – urology, 629 - obstetrics-gynecology).

Testing of antibiotic sensitivity was performed through Kirby-Bauer disk-diffusion method, with automatic phenotyping (Osiris Evolution system).

Results: In ambulatory, the wild phenotype was predominant in all isolated strains (33.33% *S. aureus*, 50% SCN, 100% *Streptococcus agalactiae*, 60% Enterococcus spp.). In the urology ward, the following multiresistant strains were isolated: 9 MRSA strains (47.36%), 1 MRSE strain (100%), 1 VRE strain (4.34%). In the obstetrics-gynecology ward, 7 strains showed multiple antibiotic resistance: 4 MRSA strains (66.66%), 2 MRSE strains (50%), 1 VRE strain (6.66%).

Conclusions: Multiresistant strains were isolated in hospital environment, which can be explained by the improper use of antibiotics, the instrumental approach of the urinary tract, and the existence of risk factors in the patients admitted in the above-mentioned wards. Enforcement of efficient nosocomial infection control measures is advisable, as well as a policy for rational antibiotic use.

Germenii Gram-pozitivi izolați din uroculturi provenite din ambulator și secții cu risc chirurgical

Berceanu Văduva Delia, Muntean Delia, Velimirovici Dana, Rădulescu Matilda,
Berceanu Văduva M., Dugăeșescu Dorina, Stângă Livia, Pîrvan Ramona, Popa Mihaela,
Moldovan Roxana

Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara

Obiective: Ne-am propus să realizăm un studiu comparativ al sensibilității la antibiotice a germenilor Gram-pozitivi izolați din uroculturi provenite de la pacienți din ambulator și din două secții cu risc chirurgical (urologie și obstetrică-ginecologie) și totodată să stabilim fenotipurile de rezistență în care se încadrează aceste tulpieni.

Material și metodă: S-au luat în studiu 28 tulpieni de *S. aureus*, 24 tulpieni de stafilococ co-agulazo-negativ (SCN), 23 tulpieni de *Streptococcus agalactiae*, 1 tulpină de *Streptococcus anginosus* și 48 tulpieni de Enterococcus spp.

Tulpienile izolate au provenit dintr-un număr de 4398 uroculturi (1889 – ambulator, 1871 – urologie, 629 - obstetrică-ginecologie).

Testarea sensibilității la antibiotice s-a realizat prin metoda difuzimetrică Kirby-Bauer, iar încadrarea în fenotipuri de rezistență a tulpienilor izolate s-a realizat cu ajutorul analizorului Osiris Evolution.

Rezultate: În ambulator, la toate tulpienile izolate a predominat fenotipul sensibil (33,33% *S. aureus*, 50% SCN, 100% *Streptococcus agalactiae*, 60% Enterococcus spp.).

În secția de urologie s-au izolat următoarele tulpieni multirezistente la antibiotice: 9 tulpieni MRSA (47,36%), 1 tulpină MRSE (100%), 1 tulpină VRE (4,34%).

Din secția obstetrică-ginecologie 7 tulpieni au prezentat multirezistență la antibiotice: 4 tulpieni MRSA (66,66%), 2 tulpieni MRSE (50%), 1 tulpină VRE (6,66%).

Concluzii: Tulpienile multirezistente au fost izolate din mediul spitalicesc, fapt explicitat prin utilizarea necorespunzătoare a antibioticelor, prin abordarea instrumentală a căilor urinare și existența unor factori de risc la pacienții internați în secțiile luate în studiu. Se impune instituirea unor măsuri eficace de control ale infecțiilor nosocomiale și introducerea unor politici de utilizare rațională a antibioticelor.

P3. Bacterial species involved in urinary tract infections in outpatients

Micle Otilia¹, Popa Daniela¹, Mortan Ramona², Apati Estera², Teaha Monica¹

1. Faculty of Medicine and Pharmacy of Oradea, Microbiology-Histology Department;
2. Bioclinica Laboratory of Oradea

Objective. The aim of this study was to establish the bacterial etiology in urinary tract infections in outpatients of different age.

Material and methods. Between september 2008 – march 2009 in a private laboratory of Oradea were done a number of 757 urocultures with the purpose to establish UTI diagnosis. Collected samples were inoculated on Urichrom media using calibrated loop-direct streak method. In each positive uroculture, specific methods of identification, AST through the Kirby-Bauer disc diffusion method and Vitek 2 system for identification and evaluation of resistance to antibiotics were used.

Results. From all samples taken, 202 (26,68%) were positive, in 97% of these monobacterial etiology was involved. UTI occurred in 166 cases (82,18%) in women and in 36 cases (17,82%) in men. The distribution by age groups is the following: 43 cases (21,28%) in patients up to 20 years, 62 cases (30,70%) in patients between 21 and 40 years, 58 cases (28,71%) in patients between 41 and 60 years, and the rest of 39 cases (19,30%) in patients over 61 years. First place is occupied by species from Enterobacteriaceae family: *Escherichia coli* was isolated in 117 cases (57,92%); *Klebsiella pneumoniae* in 17 cases (8,41%); *Proteus mirabilis* in 4 cases (2 %); *Klebsiella oxytoca* in 3 cases (1,48%); *Enterobacter aerogenes* in 2 cases (1 %) and *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae* in one case each (0,5 %). Other etiological agents involved in UTI, in order of their frequency are: *Enterococcus faecalis* in 29 cases (14,35%); *Streptococcus agalactiae* in 12 cases (5,94%); *Pseudomonas aeruginosa* in 4 cases (2 %); *Staphylococcus saprophyticus* in 3 cases (1,48%); *Staphylococcus aureus* in one case (0,5 %).

Conclusions. Bacterial infections of the urinary tract most commonly affect women, and age groups between 21-40 and 41–60 years. It has been found a wide variety of bacteria involved in UTI, first place is occupied by *Escherichia coli*, followed by *Enterococcus faecalis* and *Klebsiella pneumoniae*.

Genuri și specii bacteriene implicate în etiologia infecțiilor tractului urinar la pacienți din ambulator

Micle Otilia¹, Popa Daniela¹, Mortan Ramona², Apati Estera², Teaha Monica¹

1. Facultatea de Medicină și Farmacie din Oradea, Catedra Microbiologie-Histologie;
2. Laboratorul Bioclinica din Oradea

Obiectiv. Studiul de față urmărește stabilirea etiologiei bacteriene în cazul infecțiilor tractului urinar apărute la diferite grupe de vîrstă.

Material și metode. În perioada septembrie 2008 – martie 2009 în cadrul unui laborator privat din Oradea au fost efectuate un număr de 757 uroculturi, în vederea stabilirii diagnosticului de infecție urinară. Probele recoltate au fost însământate pe mediul cromogen Urichrom, folosind metoda ansei calibrate. Pentru fiecare urocultură pozitivă s-au utilizat metodele specifice de identificare și testare a sensibilității la antibiotice prin metoda difuzimetrică Kirby-Bauer, respectiv sistemul de identificare și evaluare a rezistenței la antibiotice Vitek 2 Biomerieux.

Rezultate. Din totalul uroculturilor efectuate, 202 (26,68%) au fost pozitive, în 97% dintre acestea fiind stabilită etiologia monobacteriană. Infecțiile urinare au survenit în 166 cazuri (82,18%) la femei, respectiv în 36 cazuri (17,82%) la bărbați. Repartiția pe grupe de vârstă este următoarea: 43 de cazuri (21,28%) la pacienții sub 20 de ani, 62 de cazuri (30,70%) la pacienții între 21 și 40 de ani, 58 de cazuri (28,71%) la pacienții între 41 și 60 de ani, respectiv 39 de cazuri (19,30%) la pacienții de peste 61 de ani. Primul loc în producerea ITU este ocupat de specii aparținând familiei Enterobacteriaceae, astfel: *Escherichia coli* s-a izolat în 117 cazuri (57,92%); *Klebsiella pneumoniae* în 17 cazuri (8,41%); *Proteus mirabilis* în 4 cazuri (2 %); *Klebsiella oxytoca* în 3 cazuri (1,48%); *Enterobacter aerogenes* în 2 cazuri (1 %), iar speciile *Proteus vulgaris*, *Morganella morganii*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter cloacae* în câte un caz fiecare (0,5 %). Alți agenți etiologici ai ITU au fost, în ordinea frecvenței implicării lor: *Enterococcus faecalis* în 29 de cazuri (14,35%); *Streptococcus agalactiae* în 12 cazuri (5,94%); *Pseudomonas aeruginosa* în 4 cazuri (2 %); *Staphylococcus saprophyticus* în 3 cazuri (1,48%) și *Staphylococcus aureus* într-un caz (0,5 %).

Concluzii. Infecțiile bacteriene de tract urinar afectează mai ales sexul feminin, cel mai frecvent implicate fiind grupele de vârstă cuprinse între 21 și 40 de ani, respectiv 41 și 60 de ani, în proporții relativ egale. Se constată o mare diversitate de specii bacteriene implicate în etiologia ITU, primul loc fiind ocupat de *Escherichia coli*, urmată de *Enterococcus faecalis* și *Klebsiella pneumoniae*.

P4. Bacteriological control and self-control in a city hospital from North-Western Romania

Teaha Monica, Popa Daniela, Pelea Diana

Microbiology-Histology Department, Faculty of Medicine and Pharmacy, University of Oradea

Nosocomial infections remain a reality in the contemporary period. Prevention in the field of nosocomial infections is a permanent action which starts with the design and construction of medical facilities and continues with daily control-self control.

Laboratory tests represent the most objective and accurate epidemiological survey method.

The study was performed in a municipal hospital in north-western Romania by examining the conditions of hygiene and sanitation and by bacteriological examination of aeromicroflora, surface, sterilized instruments, hands of medical staff.

The results demand a reassessment of hospital functional circuits, correct disinfection techniques and providing an optimal level of health education for both medical staff and patients.

Controlul și autocontrolul bacteriologic într-un spital municipal din nord-vestul României

Teaha Monica, Popa Daniela, Pelea Diana

Catedra Microbiologie-Histologie, Facultatea de Medicină și Farmacie, Universitatea din Oradea

Infecțiile nosocomiale rămân o realitate în epoca contemporană. Prevenția în infecțiile nosocomiale este o acțiune cu caracter permanent, care începe cu proiectarea și execuția unei unități medico-sanitare și continuă cu controlul – autocontrolul zilnic.

Determinările de laborator constituie cea mai obiectivă și exactă metodă de supraveghere epidemiologică.

Studiul s-a realizat într-un spital municipal din nord-vestul țării, prin inventarierea condițiilor igienico-sanitare și examenul bacteriologic al aeromicroflorei, al florei de pe suprafețe, de pe instrumentele sterilizate, precum și de pe mâinile personalului medical.

Rezultatele obținute impun o reevaluare a circuitelor din spital, efectuarea corectă a dezinfecției și asigurarea unui nivel de educație sanitară optim pentru personal și bolnavi.

P5. Immune, viral and resistance mutations after 48 months of HAART therapy in HIV/AIDS patients

Țilea Brîndușa¹, Chiriac Carmen¹, Dobreanu Minodora², Fodor Andrea²

1. First Infectious Disease Clinic, University of Medicine and Pharmacy Tîrgu Mureș;
2. Dept. Of Clinical Biochemistry, Molecular Biology Laboratory, University of Medicine and Pharmacy Tîrgu Mureș

Background: Assessment of HAART (Highly Active Antiretroviral Therapy) efficiency therapy in treatment or pre-treated HIV seropositive patients.

Methods: A number of 45 HIV patients A₃-C₃ stage, during a median follow-up period of 48 months (2005, January, 10 – 2009, January, 30) who received HAART therapy: 2NRTI+PI; NRTI+NNRTI+PI; NRTI+2PI; containing as PI: Lopinavir/Ritonavir(LPV/r), were assessed immunological, viral, and resistance mutations identification in HIV/AIDS Dept. of Infectious Disease Clinic Tîrgu-Mureș. Genotypic assays were performed in National Institute of Infectious Diseases “Prof. Dr. Matei Balș”, Bucharest and the interpretation was made on the ANRS 2006 algorithm.

Results: The patient's age was between 13-17; there were 51% males and 49% females. The therapeutic formulas were: 2NRTI+LPV/r (89% pts), NRTI+NNRTI+LPV/r (7% pts), NRTI+PI+LPV/r (4% pts). At the end of the study 51% patients had an undetectable viral load (HIV-RNA copies below 400/ml), 56% patients had CD4 count>500 cells/mm³. Major and secondary resistance mutations of viral proteases were found in 22% patients. The most frequent side-effects noticed were: hypercholesterolemia (33% pts.), diarrhea (18% pts.), hypertriglyceridemia (11% pts.).

Conclusions: HAART regimens used had a great efficiency at pre-treated patients with an evident immunological restoration and an important viral suppression.

Aspecte imunologice, virusologice, mutații de rezistență după 48 de luni de terapie HAART la pacienții cu HIV/SIDA

Țilea Brîndușa¹, Chiriac Carmen¹, Dobreanu Minodora², Fodor Andrea²

1. Clinica Boli Infecțioase 1, Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș; 2. Disciplina de Biochimie Clinică, Laboratorul de Biologie Moleculară, Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș

Obiective: Evaluarea și monitorizarea eficacității terapiei HAART (Highly Active Antiretroviral Therapy) la pacienții seropozitivi HIV pretratați.

Material și metodă: S-au urmărit imunologic, virusologic dar și identificarea unor mutații de rezistență ale PT-HIV1 subtipul F, la 45 de pacienți cu infecție HIV/SIDA încadrați în stadiile A₃-C₃ de

boală, care au beneficiat de următoarele formule de terapie antiretrovirală: 2INRT+IP; INRT+INNRT+IP; INRT+2IP; conținând ca inhibitor de protează (IP) Lopinavir/Ritonavir (LPV/r). Monitorizarea s-a efectuat la Clinica Boli Infecțioase 1, Compartimentul HIV/SIDA pe o perioadă de 48 de luni (10 ianuarie 2005 – 30 ianuarie 2009). Genotiparea a fost realizată la Institutul Național de Boli Infecțioase "Prof. Dr. Matei Balș", București, iar interpretarea rezultatelor s-a efectuat în baza algoritmului ANRS 2006.

Rezultate: Vârsta pacienților studiați a fost cuprinsă între 13 - 17 ani, 51% de sex masculin, 49% sex feminin. Formulele terapeutice utilizate au fost: 2INRT+Lpv/r în 89% din cazuri, INRT+INNRT+Lpv/r în 7% din cazuri; INRT+IP+Lpv/r în 4% din cazuri. La finalul studiului 51% din pacienți au prezentat o încărcătură virală nedetectabilă ($HIV-ARN < 400$ copii/ml), 56% din pacienți un număr de limfocite T $CD4 > 500$ celule/mm³. Mutări majore și secundare de rezistență ale proteazei virale au fost constatate la 22% din pacienți. Cele mai frecvente efecte adverse au fost: hipercolesterolemie (33%), diaree (18%), hipertrigliceridemie (11%).

Concluzii: Terapia HAART administrată pacienților pretrăiți pe termen lung a fost eficientă rezultând o restaurare imunologică evidentă și o supresie virală importantă.

P6. Dosage of the arylsulphatase A enzyme's seric activity in HIV seropositive patients

Kastal Timea¹, Zaharia-Kézdi Iringó², Balogh-Sămărghițan V.³, Fazakas Zita³

1. Student at the University of Medicine and Pharmacy, Tg Mures; 2. Department of Infectious diseases - University of Medicine and Pharmacy, Tg. Mures; 3- Department of Biochemistry- University of Medicine and Pharmacy, Tg. Mures

Several psychical diseases can occur in HIV infected patients. Anxiety symptoms and major anxiety diseases occur frequently. Psychical diseases can be caused directly by HIV, opportunistic infections, metabolic disorders and treatment. Madness associated with the immunodeficiency syndrome and other psychical diseases occur at a rate of 10 % in the initial phase, 70 % as the illness progresses and abnormalities can be noticed in 90% of the patients in case of autopsy of the central nervous system. We can notice the low level of arylsulphatase A (ASA) in case of children and adult patients with neuropsychiatric diseases. The ASA catalyzes the cerebrozid-3-sulphate hydrolysis, a substance which is found in high concentration in myeline constituting 3-4% of the total membrane lipids. The low level of ASA enzyme activity frequent in adults with different psychical diseases, suggests that people can have sulphatase deficiency without any symptoms, the behavioral and functional problems in case of these patients may be related to sulphatase deficiency.

The purpose of the paper is to determine the ASA enzyme's seric activity in HIV seropositive patients.

Material and method: we included in the study 51 patients from the Clinical Hospital of Infectious Diseases in Târgu Mures. We determined the ASA's activity through spectrophotometry. The method of enzyme dosage is based on a 4 -hour-long hydrolysis of the ASA enzyme on 4-nitrocatechol sulphate substratum.

Results: In case of healthy patients the ASA activity is between 30-130 nmol/ml serum/4 hour, in case of unhealthy patients the average enzyme activity is $0,1318 \pm 0,085$ nmol/ml serum/4 hour. According to our study the unhealthy patients have a very low enzyme activity, not even the maximum value of the enzyme (ASA= 0,368 nmol/ml serum/4 hours) reaches the minimum value of normal ASA

activity. Based on the dramatical decrease of the enzyme's seric activity we can conclude that the ASA enzyme might play a role in the HIV infected patients' neuropathology.

Dozarea activității serice al enzimei arilsulfataza A la pacienți seropozitivi HIV

Kastal Timea¹, Zaharia-Kézdi Iringó², Balogh-Sămărghițan V.³, Fazakas Zita³

1. UMF Tg. Mureș, student MG VI; 2. UMF Tg. Mureș, Disciplina de Boli Infecțioase;

3. UMF Tg. Mureș, Disciplina de Biochimie

Mai multe boli psihice au fost raportate la indivizi infectați cu virusul imunodeficienței umane (HIV). Simptomele de anxietate și boli anchioase majore apar frecvent la acești pacienți. Bolile psihice pot fi cauzate de HIV, infecții oportuniste, dezorganizare metabolică sau de tratament. Demența asociată cu sindromul imunodeficienței dobândite (SIDA) și alte boli psihice sunt prezente la 10% din pacienți în fază inițială, 70% în cursul bolii, iar 90% prezintă anormalități la autopsia sistemului nervos central. Se raportează nivelul scăzut al enzimei arilsulfatază A (ASA) la copii și adulți cu boli neuropsihiatriche. Arilsulfataza A catalizează hidroliza cerebrozid-3-sulfatului, substanță care se găsește în concentrație crescută în mielină, constituind 3-4 % din totalul lipidelor membranare. Prezența nivelului scăzut al activității enzimatice ASA la un număr reprezentativ la adulți, cu diferite manifestări psihiatriche, sugerează că acești pacienți pot fi purtători asimptomatici ai defectului sulfatazei; tulburările comportamentale și funcționale la acești pacienți pot fi corelate cu deficitul sulfatazei.

Scopul lucrării este determinarea activității serice a enzimei ASA la pacienți HIV seropozitivi.

Material și metodă. Au fost inclusi în studiu 51 bolnavi internați la Spitalul de Boli Infecțioase din Târgu Mureș. S-a determinat activitatea arilsulfatazei A prin metoda spectrofotometrică. Metoda dozării enzimatice se bazează pe reacția de hidroliză a 4-nitrocatechol-sulfatului catalizată de arilsulfataza A.

Rezultate: In cazul indivizilor sănătoși activitatea ASA este cuprinsă între 30-130 nmol/ml ser/4 ore, iar în cazul bolnavilor activitatea medie a enzimei este $0,1318 \pm 0,085$ nmol/ml ser/4 ore. Conform studiului nostru bolnavii au activitatea enzimatică foarte scăzută, nici valorile maxime constatate (ASA= 0,368 nmol/ml ser/4 ore) neatingând valoarea minimă a activității ASA normală.

Având în vedere această scădere marcantă a activității serice a enzimei, putem trage **concluzia**, că ASA ar putea juca un rol important în neuropatogeneză, la pacienți infectați cu HIV.

P7. The prevalence of mycotic infections in allergic patients with ENT pathology

Rădulescu Matilda¹, Licker Monica¹, Moldovan Roxana¹, Bădițoiu Luminița¹, Adămuț Marcela¹, Berceanu Văduva Delia¹, Crăciunescu Mihaela¹, Muntean Delia¹, Popa Mihaela¹, Poenaru Mărioara²

1. University of Medicine and Pharmacy Timișoara; 2. Clinical Municipal Hospital Timișoara

Purpose: The study is part of PNII- 41-011/2007 project and its objective is to assess the distribution of fungi species in samples collected from allergic patients with ENT pathology and antifungal sensitivity tests results, between 1.01.2008-15.03.2009.

Material and method: Samples (pharyngeal and nasal swabs, ears/surgical site/parotid secretions) have been collected from patients in hospital environment and ambulatory. Fungi identification was performed using both API Candida (BioMerieux) and Candifast systems susceptibility tests were performed by classical disk-diffusion method and on Candifast galeries.

Results: From the total number of 402 collected samples, we isolated 62 fungi strains. The succession of species distribution was: *C. albicans* 69,35%, *A. niger* 8,06%, *C. tropicalis* 6,45%, *C. famata* and *C. parapsilosis* 3,22 %, followed by *C. lusitaniae*, *C. flavus* 1,61%, etc. Most *C. albicans* strains were resistant to Amphotericin B and 5 Fluorocytosine.

Conclusions: *C. albicans* represents the most isolated fungi species. The majority of *C. albicans* strains were resistant to Amphotericin B and 5 Fluorocytosine. Both identification systems have a similar performance, but in terms of susceptibility testing, Candifast system performances are superior.

Prevalența infecțiilor fungice la pacientul alergic cu patologie ORL

Rădulescu Matilda¹, Licker Monica¹, Moldovan Roxana¹, Bădițoiu Luminița¹, Adămuț Marcela¹, Berceanu Văduva Delia¹, Crăciunescu Mihaela¹, Muntean Delia¹, Popa Mihaela¹, Poenaru Mărioara²

1. Universitatea de Medicină și Farmacie Timișoara; 2. Spitalul Clinic Municipal Timișoara

Obiectiv: Studiul face parte din proiectul PNII Nr. 41-011/2007 și are ca obiectiv evaluarea distribuției speciilor de fungi din produse patologice ale pacienților alergici din sfera ORL și testarea sensibilității lor la preparate antifungice, în perioada 1.01.2008-15.03.2009.

Material și metodă: Produsele patologice (exsudate faringiene, nazale, secrete otice / de plagă / parotidă) au fost prelevate de la pacienți spitalizați sau din ambulatoriu. Identificarea fungilor s-a efectuat în paralel pe API Candida (BioMerieux) și galerii Candifast, iar teste de sensibilitate prin metoda difuzimetrică clasică și galerii Candifast.

Rezultate: Din totalul de 402 probe recoltate în perioada mai sus menționată, am izolat un număr de 62 de fungi. Ordinea distribuției speciilor a fost: *C. albicans* 69,35%, *A. niger* 8,06%, *C. tropicalis* 6,45%, *C. famata* și *C. parapsilosis* 3,22%, urmate de *C. lusitaniae*, *C. flavus* 1,61%, etc. Majoritatea tulpinilor de *C. albicans* au fost rezistente la Amphotericină B, precum și la 5 Fluorocitozină.

Concluzii: *C. albicans* reprezintă specia fungică cea mai frecvent izolată în rândul pacienților investigați. Majoritatea tulpinilor de *C. albicans* au fost rezistente la Amphotericină B, precum și la 5 Fluorocitozină. Ambele sisteme de identificare utilizate au fost la fel de performante, dar performanța testelor de sensibilitate a fost mai bună pe galeriile Candifast decât prin metoda difuzimetrică clasică.

P8. The prevalence of indoor fungi from residences of adult patients with or without allergy history

Moldovan Roxana^{1,2}, Licker Monica^{1,2}, Stanoiev J.², Adămuț Marcela¹, Berceanu Văduva Delia¹, Crăciunescu Mihaela¹, Muntean Delia¹, Rădulescu Matilda¹, Bălăceanu Alina¹, Panaitescu Carmen¹

1. University of Medicine and Pharmacy Timișoara; 2. Institute of Public Health Timișoara

Aim: The study is part of PNII- 41-011/2007 project and has as objective the identification of indoor fungi from a group of adult alergic patients comparatively with a group of non-alergic adult patients residences, over a period of one year (January 1st 2008 - January 31st 2009).

Methods: We evaluated by clinical, functional and microbiological point of view a group of 36 adult alergic patients with asthma and/or alergic rhinitis, selected by the medical staff of the Alergology department of Infectious Diseases Clinical Hospital "Victor Babeș" Timișoara) according to GINA (Global Initiative for Asthma) guidelines for asthma and ARIA (Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma) guidelines for rhinitis. We have also considered a group of 15 non-allergic patients. We have collected air samples from all the 51 peoples residences, in view of indoor fungi identification. We used M.A.Q.S (Microbiological air quality sampler - Oxoid) analyzer and Sabouraud Chloramphenicol agar (Bio-rad). After an incubation for 48-72 h (at most 4-5 days), at 37°C, fungi identification was confirmed by microscopical examination from culture.

Results: From the total number of 134 samples provided from all those 36 alergic patients residences, 75 (from 22 residences) were positive. In the control group, 36 samples (12 residences) from a total number of 70 colected samples were positive.

Conclusions: The percentage of residences where fungi have been isolated is similar in both groups. The predominant strains have been represented by Aspergillus spp. (*A. flavus*, *A. niger*, *A. fumigatus*).

Prevalenta fungilor interiori din locuințele subiecților adulți cu sau fără istoric de alergie

Moldovan Roxana^{1,2}, Licker Monica^{1,2}, Stanoiev J.², Adămuț Marcela¹, Berceanu Văduva Delia¹, Crăciunescu Mihaela¹, Muntean Delia¹, Rădulescu Matilda¹, Bălăceanu Alina¹, Panaitescu Carmen¹

1.Universitatea de Medicină și Farmacie Timișoara; 2. Institutul de Sănătate Publică Timișoara

Obiective: Studiul face parte din proiectul PNII- Nr. 41-011/2007 și are ca obiectiv identificarea fungilor indoor din locuințele pacienților adulți alergici, comparativ cu un lot de adulți nealergici, pe o perioadă de un an (1 ianuarie2008 - 31 ianuarie 2009).

Material și metodă: A fost evaluat clinico-functional și microbiologic un eșantion format din 36 pacienți alergici adulți cu astm bronsic și/sau rinită alergică, selecționați de către colectivul serviciului de alergologie din cadrul Spitalului Clinic de Boli Infectioase și Pneumoftiziologie „Victor Babeș” Timișoara, pe baza criteriilor impuse de ghidurile internaționale GINA (Global Initiative for Asthma) pentru astm și ARIA (Allergic Rhinitis and its Impact on Asthma) pentru rinită alergică. De asemenea a fost constituit un eșantion martor de 15 persoane nealergice. S-au recoltat probe de aerofloră din

locuințele tuturor celor 51 persoane pentru izolarea fungilor indoor. Am utilizat în acest scop mediul de cultură Sabouraud Chloramphenicol agar (Bio-rad) și analizorul M.A.Q.S (Microbiological air quality sampler - Oxoid). După incubarea la 37°C, timp de 48-72 h (până la 4-5 zile), identificarea fungilor proveniți din aerosoli a fost confirmată prin examen microscopic din cultură, pe preparate lamă-lamelă.

Rezultate: Din totalul de 134 probe provenite din locuințele celor 36 pacienți alergici, 75 (provenite din 22 locuințe) au fost pozitive. În eșantionul martor s-au pozitivat 36 probe (din 12 locuințe) dintr-un total de 70 recoltate.

Concluzii: Procentul locuințelor din care s-au izolat mucegaiuri este asemănător în cele două eșantioane. În ambele loturi au predominat tulpinile de *Aspergillus* spp. în defavoarea altor genuri (*A. flavus*, *A. niger*, *A. fumigatus*).

P9. *Enterococcus cecorum* septicemia at a patient with liver cirrhosis

Olteanu C., Marin Carmen, Elefterescu Mărioara, Todor Mihaela

Academic Emergency Hospital Sibiu

Enterococcus cecorum, one of the 30 species of the genus *Enterococcus*, was first described in 1983 as *Streptococcus cecorum*. Since then, it has been identified as part of the intestinal floras of various animals. In contrast to the common presence of *E. cecorum* in animals, human infections associated with *E. cecorum* have been rarely reported, with only four cases described in the English literature (1996 to 2003).

Phenotypically, *E. cecorum* is often described as more *Streptococcus* - like than other *Enterococcus* species, meaning it prefers incubation in atmospheric conditions with CO₂ enrichment, fails to grow on *Enterococcus*-selective medium and in 6.5% NaCl, and grows poorly on bile-esculin agar.

In the four cases of human infections, the isolates were identified by whole-cell protein analysis, cellular fatty acid analysis, 16S rRNA gene sequencing, and/or tRNA gene PCR and capillary electrophoresis in addition to the use of conventional phenotypic tests.

In this article, we describe the case of a 59-year-old man with a long history of alcohol abuse, liver cirrhosis with parenchymal and vascular decompensation, which seems to be a major underlying disease predisposing patients to *E. cecorum* infections. Two blood cultures (aerobic and anaerobic, Bactec-Becton Dickinson type) were collected in the Emergency Room, which later revealed the presence of *E. cecorum*. Blood culture isolate was a gram-positive, non-spore-forming coccus arranged in chains.

In the identification process, the Vitek 2 Compact System was used, with Gram-positive cards (GP). Antimicrobial susceptibility testing (on 554 AST Gram-positive cards) could not be validated precisely because of the phenotypicall similarity with *Streptococcus* more than other *Enterococcus* species. It is also known that Vitek 2 Compact System performs antimicrobial susceptibility testing only for *Streptococcus agalactiae*.

Therefore, the patient received an empirical treatment with Ciprofloxacin.

For typification, the blood cultures were sent to The Streptococcus, Enterococcus and Meningococcus National Reference Center, "Cantacuzino" I.N.C.D.M.I. Bucharest.

Septicemia cu *Enterococcus cecorum* la un pacient cu ciroză hepatică

Olteanu C., Marin Carmen, Elefterescu Mărioara, Todor Mihaela

Spitalul Clinic Județean de Urgență Sibiu

Enterococcus cecorum, una din cele 30 de specii din genul Enterococcus, a fost prima dată descrisă în 1983 ca și *Streptococcus cecorum*. De atunci, a fost descrisă ca și componentă al florei intestinale la diverse animale. În contrast cu prezența comună a *Enterococcus cecorum* la animale, infecțiile umane cu acest microorganism au fost rar raportate, cu doar 4 cazuri descrise în literatura engleză de specialitate (1996-2003).

Din punct de vedere fenotipic, *Enterococcus cecorum* a fost adesea descris ca fiind mai degrabă asemănător cu specii de *Streptococcus*, decât cu cele de *Enterococcus*, pentru că: preferă incubația în atmosferă imbogățită cu 5% CO₂, nu crește pe medii selective pentru enterococi și pe medii cu 6,5% NaCl și crește slab pe bilă-esculină agar.

În cele patru cazuri, microorganismul a fost identificat pe baza analizei proteinelor celulare, analiza acizilor grași celulares, analiza sevențială a 16SrARN și/sau reacția de polimerizare în lanț a tARN și electroforeza capilară, complementar folosirii testelor fenotipice convenționale.

Lucrarea abordează cazul unui bărbat de 59 ani cu istoric indelungat de abuz de alcool, ciroză hepatică decompensată vascular și parenchimatos, care pare a fi afecțiunea majoră predispozantă pentru infecția cu *Enterococcus cecorum*. S-au recoltat două hemoculturi (aerobic și anaerobic) tip Bactec-Becton Dickinson în unitatea de primiri urgențe, din care ulterior s-a izolat și identificat *Enterococcus cecorum*. Hemoculturile au arătat cocci Gram pozitivi, nesporulați, dispuși în lanțuri.

Pentru identificare s-a folosit sistemul automat Vitek 2 Compact, carduri pentru Gram pozitivi (GP). Antibioograma pe card AST 554 pentru Gram pozitivi, nu a putut fi validată tocmai datorită asemănării fenotipice cu Streptococul, decât cu alte specii de enterococ, știut fiind faptul că analizorul Vitek 2 Compact nu efectuează antibiogramă decât pentru specia de *Streptococcus agalactiae*. Așadar, bolnavul a fost tratat empiric cu ciprofloxacină.

Pentru tipizare flacoanele de hemocultură au fost trimise la I.N.C.D.M.I. "Cantacuzino" București, Centrul Național de Referință pentru Streptococi, Enterococi și Meningococi.

P10. Etiological aspects regarding infectious complications after aortic valve replacement

Rada Maria, Velimirovici Dana, Berceanu Văduva Delia, Drăgan Simona, Berceanu Văduva M., Cobzariu I.F., Rădulescu Matilda, Arambasa Alexandra, Mancaș Silvia

University of Medicine and Pharmacy „Victor Babeș“ Timișoara

Objectives: to establish the occurrence of germs involved in the early infectious complications in the valvular patients after aortic valve replacement with mechanical or biological valve prosthesis.

Material and method: the study included 76 postoperative valvular patients (44 men and 32 women) from the Cardiovascular Rehabilitation Clinic Timisoara, after two weeks from the aortic valve replacement. The average age of the patients was 62±7, with a predominant degenerative etiology (53,94%).

Results and discussion: infectious complications were present in 15,78% of the patients, the most frequent being respiratory, 33,33% (especially in the patients with preexistent respiratory patho-

logy), and also wound infections (33,33%), followed by urinary tract infections. *Staphylococcus aureus* was the main germ involved in the etiology of the respiratory, ENT and wound infections (50%). Other Gram-positive cocci were also isolated - *Streptococcus pneumoniae* (8.33%) and *Streptococcus pyogenes* (8.33%), etiology factors of respiratory infections. From the gram-negative germs, enterobacteria (*Escherichia coli* and *Proteus mirabilis*) were isolated in the urinary tract infections, and *Pseudomonas aeruginosa* was isolated in wound infections. *E. coli* was the main germ in the etiology of urinary infections (16,66%).

Conclusions: infectious complications are rather frequent in the early postoperative phase, especially in debilitated patients (elderly, diabetics, obese), and their presence influenced the short-term result of rehabilitation. The most frequent etiological agent involved in their occurrence was *Staphylococcus aureus*, piogenic bacteria capable of producing infections in various parts of the body.

Aspecte etiologice privind complicațiile infecțioase post-înlocuire valvulară aortică

Rada Maria, Velimirovici Dana, Berceanu Văduva Delia, Drăgan Simona, Berceanu Văduva M., Cobzariu I.F., Rădulescu Matilda, Arambăsa Alexandra, Mancaș Silvia

Universitatea de Medicină și Farmacie „Victor Babeș“ Timișoara

Scopul lucrării: a fost să se stabilească incidența germenilor implicați în apariția complicațiilor infecțioase precoce, la pacienții valvulari post-înlocuire valvulară aortică cu proteze valvulare mecanice sau biologice.

Material și metodă: au fost inclusi în studiu un număr de 76 pacienți valvulari operați (44 bărbați și 32 femei) internați în Clinica de Recuperare Cardiovasculară Timișoara, în medie la două săptămâni post-înlocuire valvulară aortică. Vârsta medie a pacienților a fost de 62 ± 7 ani, predominant etiologia degenerativă (53.94%).

Rezultate și discuții: complicațiile infecțioase au fost prezente la 15.78% din pacienți, cele mai frecvente fiind cele respiratorii 33.33% (predominant la cei cu patologie respiratorie preexistentă), precum și cele de plagă (33.33%), urmate de infecțiile tractului urinar. *Staphylococcus aureus* a fost principalul germe implicat în etiologia infecțiilor respiratorii, ORL, precum și a infecțiilor de plagă (50%). S-au mai izolați și alți coci gram-pozițiivi - *Streptococcus pneumoniae* (8.33%) și *Streptococcus pyogenes* (8.33%), factori etiologici ai infecțiilor respiratorii. Dintre germenii gram-negativi, enterobacteriile (*Escherichia coli* și *Proteus mirabilis*) s-au izolați din infecțiile de tract urinar, iar bacilul piocianic (*Pseudomonas aeruginosa*) a fost izolaț din infecțiile de plagă. *E. coli* a fost principalul germe întâlnit în etiologia infecțiilor urinare (16,66%).

Concluzii: complicațiile infecțioase sunt relativ frecvent întâlnite în faza postoperatorie precoce, în special la persoanele tarate (bătrâni, diabetici, obezi), iar prezența acestora a influențat rezultatul pe termen scurt al recuperării. Cel mai frecvent agent etiologic implicat în apariția acestora a fost *Staphylococcus aureus*, bacterie piogenă capabilă de a produce infecții cu diverse localizări în organism.

P11. Incidența infestației cu *Giardia lamblia* și corelații cu tabloul sanguin

Zdrîncă Mihaela¹, Moș Ioana², Drăgan Ana-Maria²

1. Facultatea de Medicină și Farmacie Oradea – Catedra Farmacologie; 2. Facultatea de Medicină și Farmacie Oradea – Catedra Microbiologie – Histologie

Introducere: *Giardia lamblia* este un protozoar care produce giardioză, boală cu o frecvență ridicată atât în rândurile populației infantile cât și ale celei adulte. Boala se transmite prin chisturi, prin apă, alimente contaminate sau interpersonal. Diagnosticul corect presupune o bună cunoaștere a semnelor clinice și a datelor de laborator.

Obiective: În această lucrare s-a studiat incidența infestației cu *Giardia lamblia* la un număr de 667 copii cu vârste cuprinse între 1 - 18 ani internați la Spitalul Clinic de Neurologie și Psihiatrie Oradea, în perioada iunie 2007 - iulie 2008. S-a urmărit deasemenea prezența eozinofiliei, anemieei, creșterea vitezei de sedimentare a hematiilor și stabilirea unei corelații între aceastea și infestația cu *Giardia lamblia*. Au fost excluși cei care prezintau sindroame alergice, afecțiuni inflamatorii acute și sindroame anemice de etiologie cunoscută.

Material și metodă: S-au efectuat hemoleucograme cu analizorul automat Pentra 60, examenul coproparazitologic cu soluție lugol și s-a determinat viteza de sedimentare a hematiilor prin metoda Westergreen.

Rezultate: Studiul a evidențiat un număr de 146 de copii infestați dintre care un procent de 37% (54 cazuri) au prezentat eozinofilie, 6,84% (10 copii cu vârste între 15-18 ani) au prezentat limfocitoză, iar viteza de sedimentare a hematiilor a fost crescută în 32,9% din cazuri (48 de copii). Anemia (Hb mai mică de 11 g/dl) a fost întâlnită în 15,1 % din cazuri (22 copii).

Concluzii: Eozinofilia din lambliază este una dintre cele mai controversate probleme. Unii autori confirmă existența eozinofiliei în cursul lambliazei, dar pentru alții protozoarele patogene (printre care și *Giardia lamblia*) nu produc eozinofilie. Studiul nostru a evidențiat prezența eozinofiliei la un procent de copii infestați cu *Giardia lamblia* care nu prezintau alte afecțiuni posibil corelate cu eozinofilie.

The incidence of giardiasis and correlation with blood cells parameters

Zdrîncă Mihaela¹, Moș Ioana², Drăgan Ana-Maria²

1. Faculty of Medicine and Pharmacy Oradea, Pharmacology Department; 2. Faculty of Medicine and Pharmacy Oradea, Microbiology-Histology Department

Introduction: *Giardia lamblia* is a protozoan parasite that causes giardiasis, a disease with high frequency in infants as well as adults. The disease is transmitted by cysts in water, contaminated food or interpersonal. A correct diagnosis requires a good knowledge of clinical signs and laboratory data.

Aims: In this study we analyzed the incidence of *Giardia lamblia* infestation in a number of 667 children aged 1-18 years hospitalized at the Clinical Hospital of Neurology and Psychiatry Oradea, during June 2007 - July 2008. Eosinophilia, anemia, increased sedimentation rate of red blood cells and correlation between these modified parameters with *Giardia lamblia* infestation was monitored. Patients with allergic syndromes, inflammatory diseases and syndromes, acute anemia of unknown etiology were excluded.

Material and method: Full blood counts were determined using the hematological analyzer Pentra 60, microscopic examination of the stool was performed with lugol solution and the rate of sedimentation of red blood cells was determined by Westergreen method.

Results: Study results showed a total of 146 infested children, out of which a percentage of 37% (54 cases) had eosinophilia, 6.84% (10 children aged 15-18 years) had limfocytosis and sedimentation rate of red blood cells was increased in 32.9% of cases (48 children). Anemia (hemoglobin less than 11 g/dl) was seen in 15.1% of cases (22 children).

Conclusions: Eosinophilia is one of the most controversial issues. Some authors confirm the existence of eosinophilia during lambliasis, but according to others pathogenic protozoa, including *Giardia lamblia*, do not cause eosinophilia. Our study revealed the presence of eosinophilia in children infested with *Giardia lamblia*, which had no other illnesses possibly linked to eosinophilia.

Posters 2. Microbiology

P12. Antimicrobial resistance of nonfermentative Gram-negative bacilli isolated from clinical specimens

Dorobat Olga Mihaela, Badicu I., Talapan D., Tenea C., Rafila A., Botea S., Popoiu M.

National Institute of Infectious Diseases Prof. Dr. Matei Balș

Objectives: To evaluate the resistance of nonfermentative Gram-negative bacilli.

Methods: A total of 295 non-duplicated strains: 159 *Pseudomonas aeruginosa*, 101 *Acinetobacter baumannii*, 23 *Stenotrophomonas maltophilia*, 12 *Achromobacter xylosoxidans* isolated in 2008 were tested for antimicrobial susceptibility in automatic systems Vitek 2 C, MicroScan and with Etest, according with CLSI 2008. Etest for the screening of MBL producers was used for *P. aeruginosa*.

Results: *P. aeruginosa* showed resistance for almost all antibiotics: impenem 35%, meropenem and aztreonam 37%, piperacillin/tazobactam 38%, amikacin 40%, ceftazidime and tobramycin 47%, cefepime 48%, gentamicin 52%. For ciprofloxacin and levofloxacin resistance rate was 55% respectively 49%. Only 1.8% was resistant to colistin. The isolates from blood, pleural fluid and catheter, from ICU were more resistant: 87% to imipenem, meropenem, ceftazidime, amikacin and tobramycin and all the isolates were resistant to cefepime, gentamicin and quinolones. Etest detected phenotypically MBL producer *P. aeruginosa* for 54% from 35 strains. Resistance of *A. baumannii* was: tobramycin 23%, tetracycline 54%, ampicillin/sulbactam 67%. For other antibiotics resistance rate was higher than 68%. There was no *A. baumannii* strain resistant to colistin. Clinical isolates from ICU were more resistant for the majority of the antibiotics, with differences up to 40%. *S. maltophilia* was resistant 8% to trimethoprim/sulfamethoxazol and levofloxacin and 30% to tetracycline. All strains *A. xylosoxidans* were resistant to gentamicin, tobramycin and aztreonam.

Conclusions: Relatively high level of resistance was observed for all nonfermentative Gram-negative bacteria. For *P. aeruginosa* and *A. baumannii* only colistin is with low resistance. Continued antimicrobial resistance surveillance and infection control measure should be taking to minimize the emergence and spread of resistance.

Rezistența la antibiotice a bacililor Gram-negativi izolați din prelevele clinice

Dorobăț Olga Mihaela, Bădicuț I., Tălăpan D., Tenea C., Rafila A., Botea S., Popoiu M.

Institutul Național de Boli Infecțioase Prof. Dr. Matei Balș

Obiectiv: Evaluarea rezistenței bacililor Gram-negativi nefermentativi.

Metode: Au fost testate 295 tulpieni izolate în 2008: 159 *Pseudomonas aeruginosa*, 101 *Acinetobacter baumannii*, 23 *Stenotrophomonas maltophilia*, 12 *Achromobacter xylosoxidans* pentru rezistența la antibiotice în sistemele automate Vitek 2 C, MicroScan și cu Etest, conform CLSI 2008. S-au utilizat benzi Etest pentru screeningul *P. aeruginosa* producător de MBL.

Rezultate: *P. aeruginosa* a fost rezistent la aproape toate antibioticele: impenem 35%, meropenem și aztreonam 37%, piperacilină/tazobactam 38%, amikacină 40%, ceftazidim și tobramicină 47%, cefepim 48%, gentamicină 52%. Pentru ciprofloxacină și levofloxacină rezistența a fost 55% respectiv 49%. Numai 1,8% *P. aeruginosa* este rezistent la colistin. Izolatele din hemoculturi, lichid pleural și cateter, din ATI au fost mai rezistente: 87% la imipenem, meropenem, ceftazidim, amikacină și tobramicină; toate izolatele au fost rezistente la cefepim, gentamicină și quinolone. Au fost decelate fenotipic 54% *P. aeruginosa* producătoare de MBL din 35 testate. Rezistența *A. baumannii* a fost: tobramicină 23%, tetraciclină 54%, ampicilină/sulbactam 67%. Pentru celelalte antibiotice rezistența a fost mai mare de 68%. Nu s-a decelat rezistență la colistin pentru *A. baumannii*. Tulpienile izolate din ATI sunt mult mai rezistente la majoritatea antibioticelor, cu o diferență până la 40%. *S. maltophilia* a fost rezistent 8% la trimethoprim/sulfamethoxazol și levofloxacină, 30% la tetraciclină. Toate tulpienile de *A. xylosoxidans* sunt rezistente la gentamicină, tobramicină și aztreonam.

Concluzii: S-a observat un nivel relativ ridicat a rezistenței la bacteriile Gram-negative nefermentative. Pentru *P. aeruginosa* și *A. baumannii* numai la colistin rezistența este scăzută. Pentru a reduce posibilitățile de emergență și răspândire a rezistenței este necesară o supraveghere continuă și măsuri de control.

P13. The antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from nosocomial infections

Adămuț Marcela, Licker Monica, Dragomirescu Liliana, Muntean Delia, Berceanu Văduva Delia, Popa Mihaela, Piluț Ciprian, Pîrvan Ramona, Rădulescu Matilda, Modovan Roxana

Microbiology Department, University of Medicine and Pharmacy "Victor Babeș" Timișoara

The aim of the study was to determine the antibiotic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from nosocomial infections.

In a period of one year (January-December 2008) we collected 8440 samples from patients hospitalized in Clinical Emergency County Hospital Timișoara.

Identification of the germs was performed by the API system (BioMerieux) and susceptibility tests were performed by disk-diffusion test (CLSI standards). For detecting the antibiotic resistance we used ticarcillin, ticarcillin/clavulanic acid, piperacillin, piperacillin/tazobactam, ceftazidime, cefepime, aztreonam, imipenem, gentamicin, tobramycin, netilmicin, amikacin, norfloxacin, pefloxacin, levofloxacin and ciprofloxacin.

From 8440 samples we isolated 130 *Pseudomonas aeruginosa* strains, from which 24 were ESBL producing strains. The percentage of quinolone and aminoglycosides resistant isolates was 43.84% for quinolones and 60% for aminoglycosides. We observed the maintenance of natural sensitivity to all antibiotics in 25.38% (33 strains) from all the strains we have studied.

The high prevalence of antibiotic resistance *Pseudomonas aeruginosa* strains is explained by prolonged antibiotic therapy of patients with invasive diagnostic and therapeutic procedures.

Rezistența la chimioterapice antiinfecțioase a tulpinilor de *Pseudomonas aeruginosa* izolate din infecții nosocomiale

Adămuț Marcela, Licker Monica, Dragomirescu Liliana, Muntean Delia, Berceanu Văduva Delia, Popa Mihaela, Piluț Ciprian, Pîrvan Ramona, Rădulescu Matilda, Moldovan Roxana

Disciplina de Microbiologie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara

Scopul acestui studiu a fost determinarea rezistenței la antibiotice a tulpinilor de *Pseudomonas aeruginosa* izolate din infecții nosocomiale.

Timp de un an (ianuarie - decembrie 2008) am prelevat 8440 produse patologice de la pacienți internați la Spitalul Clinic de Urgență Județean Timișoara.

Identificarea germenilor s-a realizat cu ajutorul sistemului API (BioMerieux) și testarea sensibilității germenilor la chimioterapice antiinfecțioase prin metoda difuzimetrică (conform standardelor CLSI).

Pentru determinarea rezistenței la antibiotice am utilizat: ticarcilină, ticarcilină/ac. clavulanic, piperacilină, piperacilină/tazobactam, ceftazidim, cefepim, aztreonam, imipenem, gentamicină, tobramicină, netilmicină, amikacină, norfloxacin, pefloxacin, levofloxacin, ciprofloxacin.

Din 8440 produse patologice am izolat 130 tulpi de *Pseudomonas aeruginosa*, dintre acestea 24 au fost producătoare de BLSE.

Procentul tulpinilor rezistente la quinolone și aminoglicozide a fost 43,84% pentru quinolone și 60% pentru aminoglicozide.

Am observat menținerea sensibilității naturale, pentru toate antibioticele testate, la 25,38% (33 tulpi) din tulpinele studiate.

Procentul mare de tulpi de *Pseudomonas aeruginosa* rezistente la antibiotice poate fi explicat prin terapia de lungă durată cu antibiotice a pacienților supuși procedurilor invazive efectuate în scop diagnostic și terapeutic.

P14. Acquired resistance phenotypes of *Klebsiella* spp. isolated from newborn and premature units

Crăciunescu Mihaela, Licker Monica, Popa Mihaela, Berceanu-Văduva Delia, Dugăeșescu Dorina, Hogea Elena, Muntean Delia, Horhat F., Piluț C., Moldovan Roxana

Microbiology Department, University of Medicine and Pharmacy "Victor Babeș" Timișoara

In the period 01.12.2008 – 31.02.2009, there were harvested 724 bacteriological samples from new born and premature, hospitalized in "Dr. Dumitru Popescu" Hospital Timișoara. From the 724

probes harvested we isolated a number of 384 bacteria strains with nosocomial potential and the rest were sterile (142 from new-born and 192 from premature). The identification was made in Clinical Microbiology Laboratory of the Hospital mentioned above. Antimicrobial susceptibility test were made using both: disk diffusion (Kirby-Bauer method) and agar dilution tests (API TEST). From the 385 bacterial strains with nosocomial potential we isolated a number of 92 *Klebsiella* spp., from which 18 were isolated from new-born, and the rest of 74 strains of *Klebsiella* spp. from the premature unit. From the 18 *Klebsiella* spp. isolated in newborn: 13 strains were represented by *Klebsiella pneumoniae* and 5 by *Klebsiella oxytoca*. From 74 strains of *Klebsiella* spp. isolated in premature, 60 strains are *Klebsiella pneumoniae* and 14 strains are *Klebsiella oxytoca*. The sensibility of *Klebsiella* spp. was tested using the methods above mentioned with the purpose of framing the strains in resistance phenotypes. From the 92 strains of *Klebsiella* spp. 42 was *Klebsiella pneumoniae* presenting ESBL phenotype, associated with aminoglycosides resistance. We have also identified 5 strains of *Klebsiella oxytoca* with PASE resistance phenotype associated with trimethoprim-sulphamethoxazol resistance.

Fenotipuri de rezistență ale tulpinilor de *Klebsiella* spp. izolate într-o secție de nou născuți și prematuri

**Crăciunescu Mihaela, Licker Monica, Popa Mihaela, Berceanu-Văduva Delia,
Dugăeșescu Dorina, Hoga Elena, Muntean Delia, Horhat F., Piluț C., Moldovan Roxana**

*Disciplina de Microbiologie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș"
Timișoara*

În perioada 01.12. 2008 – 31.02.2009 au fost recolțate 724 produse patologice de la nou născuți și prematuri spitalizați în Clinica „Dr. Dumitru Popescu” din Timișoara. Din cele 724 de probe am izolat 384 tulpieni bacteriene cu potențial nosocomial, restul probelor au fost sterile (142 probe din secția de nou născuți și 192 din secția prematuri). Identificarea și testarea sensibilității la chimioterapice s-a efectuat în laboratorul de bacteriologie al spitalului. Antibioograma s-a efectuat atât prin metoda difuzimetrică Kirby-Bauer cât și prin metoda diluțiilor folosind galeriile API TEST. Din cele 385 de tulpieni cu potențial nosocomial, 92 au fost *Klebsiella* spp., din care 18 tulpieni din secția de nou-născuți, iar restul de 74 tulpieni din secția de prematuri. Din cele 18 tulpieni *Klebsiella* spp., izolate în secția de nou-născuți 13 tulpieni au fost *Klebsiella pneumoniae* și 5 *Klebsiella oxytoca*. În secția de prematuri au fost izolate 74 tulpieni, din care 60 au fost reprezentate de *Klebsiella pneumoniae*, iar 14, de *Klebsiella oxytoca*. În urma testării sensibilității prin metodele menționate anterior, tulpinile de *Klebsiella* spp. au fost încadrate în fenotipuri de rezistență. Din cele 92 tulpieni de *Klebsiella* spp., 42 au fost *Klebsiella pneumoniae* încadrate în fenotipul producător de BLSE asociat cu rezistență la aminoglicozide. Au fost identificate și 5 tulpieni de *Klebsiella oxytoca* producătoare de penicilinază care au asociat rezistență la trimetoprim-sulfametoxazol.

P15. Antibiotic resistance of strains isolated from ear secretions

Popa Daniela¹, Micle Otilia¹, Apati Estera², Mortan Ramona², Marusca Patricia¹, Negrean Rodica¹

1. Faculty of Medicine and Pharmacy of Oradea; 2. Bioclinica Laboratory of Oradea

The aim of this study was to establish the microbial etiology of external otitis and to determine the degree of resistance to antibiotics of these germs.

Material and methods. The study included 78 ear secretions collected in outpatients from 1 to 42 years, by ENT specialists and sent to the laboratory to specify microbial etiology. Samples were inoculated on the following media: blood-agar, AABTL, Chapman, Sabouraud. In positive cultures specific biochemical tests had been performed, in the end undergoing antibiotic and antifungal tests through the Kirby-Bauer disc diffusion method.

Results. Of all examined ear secretions, 69,23% were positive (54 cases), 48 of these cases had bacterial etiology, and in 6 cases fungi were involved. The main pathogens isolated were *Staphylococcus aureus* in 17 cases (35,41%) and *Pseudomonas aeruginosa* in 12 cases (25%). Other bacterial species involved in external otitis were: *Proteus mirabilis*, coagulase-negative staphylococci, streptococci in 3 cases each (6,25%); *Klebsiella pneumoniae* and other Gram negative rods in 2 cases each (4,16%). In the remaining 6 cases (12,5%) multibacterial etiology was identified.

Resistance of *Staphylococcus aureus* to penicillin 88,32% and erythromycin 64,70% was high, for coagulase-negative staphylococci to penicillin and clindamycin was also increased (66,66% each). Staphylococci had been found to be highly sensitive to oxacillin 94,11% and ciprofloxacin 88,23%, all staphylococcus strains were susceptible to vancomycin. *Pseudomonas aeruginosa* strains showed resistance to trimethoprim-sulfametoxazol over 80% and *Proteus mirabilis* strains, over 60%, to tetracycline and imipenem.

Conclusions. Microbial external otitis in children and young adults had, in most cases, monobacterial etiology. The main microbial agent involved was *Staphylococcus aureus*, closely followed by *Pseudomonas aeruginosa*.

Spectrul de rezistență a bacteriilor izolate din secreții otice

Popa Daniela¹, Micle Otilia¹, Apati Estera², Mortan Ramona², Marusca Patricia¹, Negrean Rodica¹

1. Facultatea de Medicină și Farmacie din Oradea; 2. Laboratorul Bioclinica din Oradea

Obiectivul acestui studiu este stabilirea etiologiei microbiene a otitelor externe, precum și determinarea gradului de rezistență a acestor bacterii la antibiotice.

Material și metode. Studiul cuprinde 78 de secrete otice recoltate la pacienți din ambulator, cu vârstă între 1 și 42 de ani, de către medicul specialist ORL și trimise la laborator pentru precizarea etiologiei microbiene. Probele au fost însământate pe următoarele medii de cultură: geloză-sânghe, AABTL, Chapman și Sabouraud. Pentru culturile pozitive au fost efectuate teste biochimice specifice, în vederea identificării germenilor, în final efectuându-se antibiograma, respectiv antifungigrama, prin metoda difuzimetrică Kirby-Bauer.

Rezultate. Din totalul secreteilor otice examineate, 69,23% au fost pozitive (54 cazuri), dintre care 48 de cazuri de etiologie bacteriană și 6 cazuri de etiologie micotică. Principalii agenți patogeni izolați au fost: *Staphylococcus aureus* în 17 cazuri (35,41%) și *Pseudomonas aeruginosa* în 12 cazuri

(25%). Alte specii bacteriene implicate în producerea otitelor externe au fost: *Proteus mirabilis*, stafilococi coagulazo-negativi, streptococi în 3 cazuri fiecare (6,25%), precum și *Klebsiella pneumoniae* și alți bacili Gram-negativi în 2 cazuri fiecare (4,16%). În restul de 6 cazuri (12,5%) s-a evidențiat etiologia pluribacteriană.

Rezistența tulpinilor de *Staphylococcus aureus* este crescută la penicilină 88,23% și eritromicină 64,70%, iar a tulpinilor de stafilococi coagulazo-negativi, la penicilină și clindamicină 66,66% fiecare. S-a constatat sensibilitatea crescută a stafilococilor la oxacilină 94,11% și ciprofloxacin 88,23%, toate tulpinile de stafilococi au fost sensibile la vancomicină. Tulpinile de *Pseudomonas aeruginosa* prezintă rezistență de peste 80% la trimetoprim-sulfametoxazol, iar cele de *Proteus mirabilis*, de peste 60%, la tetraciclină și imipenem.

Concluzii. Otitele externe microbiene la copil și adultul Tânăr sunt în majoritatea cazurilor de etiologie monobacteriană. Principalul agent etiologic implicat este *Staphylococcus aureus*, urmat îndeaproape de *Pseudomonas aeruginosa*.

P16. The study of acquired antimicrobial resistance of some uropathogens

Popa Mihaela, Licker Monica, Muntean Delia, Berceanu – Văduva Delia, Crăciunescu Mihaela, Hogea Elena, Adămuț Marcela, Rădulescu Matilda, Șerban D., Moldovan Roxana

Microbiology Department - University of Medicine and Pharmacy "Victor Babeș" Timișoara

Background: The urinary tract is one of the most frequent sites where the bacterial infections are localized. These infections occur at every age and more often among women. According to Roberts, 10-15 % of women deal with these urinary tract infections (UTI) at least once in their lifetime, 6 % of the adult women develop UTI every year.

Methods: 94 bacterial strains have been studied, taken from 400 urocultures, collected from hospitalized patients (Urology Department of Timisoara County Hospital) and outpatients. Identification (API system) and sensitivity tests have been performed at the UMFT's Microbiology Laboratory.

Results: The Urology Department results are the following: 176 from 239 urocultures have been sterile, the rest of them being positive, with 63 isolated bacterial strains. A preponderence of *E. coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains has been noticed.

For *E. coli* strains we identified the following phenotypes: susceptible 4.16%, trimethoprim-sulfamethoxazol resistant (SXT) 8.33%, penicillinase producing strains with associated SXT resistance 29.16%, extended-spectrum beta-lactamases producers associated with aminoglycoside, fluoroquinolone and SXT resistance 33.33%, fluoroquinolone resistant 8.33%, penicillinase producers associated with fluoroquinolone and SXT resistance 4.16%, penicillinase producers associated with fluoroquinolone resistance 8.33%, penicillinase producers 4.16%.

Conclusion: The hospital strains are dangerous as they have the species' highest pathogenic characteristics and, at the same time, are multidrug resistant (MDR). In general, they are the R factor bearing species: *Pseudomonas* spp., *Proteus* spp., *Klebsiella* spp. and *Escherichia coli*.

Studiul rezistenței dobândite la chimioterapice antiinfectioase a unor germeni izolați din uroculturi

**Popa Mihaela, Licker Monica, Muntean Delia, Berceanu – Văduva Delia, Crăciunescu
Mihaela, Hogea Elena, Adămuț Marcela, Rădulescu Matilda, Șerban D., Moldovan
Roxana**

Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara-Disciplina de Microbiologie

Introducere: Tractul urinar reprezintă unul dintre cele mai frecvente localizări ale infecțiilor bacteriene, ce afectează toate vîrstele, predominând la sexul feminin. Roberts apreciază că 10-15% dintre femei sunt confruntate cu infecțiile tractului urinar (ITU) cel puțin o dată în viață, 6% din femeile adulte dezvoltă ITU anual.

Metodă: Au fost luate în studiu un număr de 94 tulpieni bacteriene, izolate din 400 uroculturi provenite de la pacienți internați în secția Urologie a Spitalului Clinic Județean Timișoara, precum și de la pacienți din ambulator. Identificările (cu ajutorul sistemului API) și testeile de sensibilitate la chimioterapice s-au efectuat în cadrul Laboratorului Disciplinei de Microbiologie al U.M.F. Timișoara.

Rezultate: Pentru secția Urologie a Spitalului Județean Timișoara rezultatele sunt următoarele: din cele 239 uroculturi efectuate 176 au fost sterile, izolându-se 63 tulpieni microbiene. S-a constatat predominanța tulpinilor de *E. coli* și *Klebsiella pneumoniae*.

Pentru tulpinile de *E. coli* repartitia fenotipurilor a fost următoarea: sensibil 4,16%, rezistent la biseptol (SXT) 8,33%, producător de penicilinază asociind rezistență la SXT 29,16%, producător de β-lactamază cu spectru extins asociind rezistență la aminoglicozide, fluoroquinolone și SXT 33,33%, rezistent la fluoroquinolone 8,33%, producător de penicilinază, asociind rezistență la fluoroquinolone și SXT 4,16%, producător de penicilinază, asociind rezistență la fluoroquinolone 8,33%, producător de penicilinază 4,16%.

Concluzii: Tulpinile periculoase de spital sunt acelea care au patogenitatea maximă caracteristică speciei, fiind totodată multirezistente la antibiotice. Ele aparțin în general speciilor purtătoare de factor R: *Pseudomonas* spp., *Proteus* spp., *Klebsiella* spp. și *Escherichia coli*.

P17. Patterns of resistance to antibiotics of some *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from urocultures

**Berceanu Văduva Delia, Muntean Delia, Licker Monica, Velimirovici Dana, Crăciunescu
Mihaela, Adămuț Marcela, Rada Maria, Simona Drăgan, Șerban D., Moldovan Roxana**

"Victor Babeș" University of Medicine and Pharmacy, Timișoara

Objectives: Although *E. coli* is the main etiological agent of urinary infections, *Klebsiella pneumoniae* is frequently isolated in urocultures. It is encountered in both uncomplicated and complicated, recurrent infections, and also following catheterization or other instrumental manoeuvres of the urinary tract.

We propose a comparative study of the resistance to antibiotics of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from urocultures from ambulatory and two surgical wards (urology and obstetrics-gynecology), and also to establish the resistance phenotypes of these strains.

Since *Klebsiella* spp. is first among enterobacteria regarding the production of extended spectrum beta-lactamase (ESBL), we studied the occurrence of ESBL strains.

Material and methods: 83 *Klebsiella pneumoniae* strains, isolated from 3289 urine cultures were studied. Germ identification was performed with the API system, and testing antibiotic sensitivity was performed through Kirby-Bauer disk-diffusion test, with automatic phenotyping (Osiris Evolution system).

In order to highlight ESBL strains, the synergy test was also used.

Results: From 3289 urine cultures, 1100 were positive (431 - ambulatory, 462 - urology and 207 - obstetrics-gynecology). From the positive urocultures, 183 *Klebsiella pneumoniae* strains were isolated: 36 (8.35%) in ambulatory, 119 (25.75%) in urology and 28 (13.52%) in obstetrics-gynecology.

In the strains isolated from hospital environment, the ESBL phenotype was predominant (urology – 68.06%, obstetrics-gynecology – 28.57%), while in the ambulatory the wild phenotype was predominant (69.44%).

Conclusions: A continuous increase of the resistance of the *Klebsiella pneumoniae* strains to a series of antimicrobial agents was observed, especially in hospital environment.

Pattern-uri de rezistență la antibiotice ale unor tulpini de *Klebsiella pneumoniae* izolate din uroculturi

Berceanu Văduva Delia, Muntean Delia, Licker Monica, Velimirovici Dana, Crăciunescu Mihaela, Adămuț Marcela, Rada Maria, Simona Drăgan, Șerban D., Moldovan Roxana

Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara

Obiective: Deși *E. coli* este principalul agent etiologic al infecțiilor urinare, *Klebsiella pneumoniae* se izolează frecvent din uroculturi. Se întâlnește atât în infecțiile necomplicate, cât și în cele complicate și recidivante, precum și după cateterizări sau manevre instrumentale ale aparatului urinar.

Ne-am propus un studiu comparativ al sensibilității la antibiotice a tulpinilor de *Klebsiella pneumoniae* izolate din uroculturi provenite din ambulator și din două secții cu profil chirurgical (urologie și obstetrică-ginecologie) și totodată să stabilim fenotipurile de rezistență în care se încadrează aceste tulpi.

Deoarece *Klebsiella* spp. se situează pe locul întâi între eterobacterii în ceea ce privește producerea de beta-lactamaze cu spectru extins (BLSE), am studiat incidența tulpinilor BLSE.

Material și metodă: S-au studiat 83 tulpi *Klebsiella pneumoniae* izolate din 3289 uroculturi. Identificarea germenilor s-a realizat cu ajutorul sistemului API, iar testarea sensibilității la antibiotice s-a realizat prin metoda difuzimetrică Kirby-Bauer, cu fenotipare automată prin sistemul Osiris Evolution.

Pentru evidențierea tulpinilor BLSE s-a utilizat și testul de sinergie.

Rezultate: Din 3289 uroculturi recoltate, 1100 au fost pozitive (431 - ambulator, 462 - urologie și 207 - obstetrică-ginecologie).

Din uroculturile pozitive au fost izolate 183 tulpi de *Klebsiella pneumoniae*: 36 (8,35%) din ambulator, 119 (25,75%) din urologie și 28 (13,52%) din obstetrică-ginecologie.

La tulpinile izolate din mediul spitalicesc a predominat fenotipul BLSE (urologie - 68,06%, obstetrică-ginecologie - 28,57%), iar în ambulator a predominat fenotipul sensibil (69,44%).

Concluzii: S-a constatat o scădere continuă a sensibilității tulpinilor de *Klebsiella pneumoniae*, la o serie de agenți antimicrobieni, în special în mediul spitalicesc.

P18. Antimicrobial resistance in community acquired *Escherichia coli* urinary isolates

Muntean Delia, Licker Monica, Berceanu Văduva Delia, Hoga Elena, Popa Mihaela, Adămuț Marcela, Dugășescu Dorina, Zugravu Roxana, Pîrvan Ramona, Moldovan Roxana

Microbiology Department - University of Medicine and Pharmacy "Victor Babeș" Timișoara

Background: *E. coli* is the commonest cause of acute urinary tract infection. Antibiotic treatment is usually empirical, relying on susceptibility data from local surveillance studies. The aim of our study was to determine the prevalence of *E. coli* strains, isolated from community acquired urinary tract infections, and their resistance patterns, over a period of one year (January - December 2008) in three clinical microbiology laboratories from Timișoara.

Methods: Identification of germs was performed on API system and susceptibility tests by Kirby-Bauer technique (CLSI standards). Antimicrobial susceptibility to ampicillin, amoxicillin-clavulanate, cefuroxime, ceftazidime, gentamicin, ciprofloxacin, trimethoprim-sulfamethoxazol and nitrofurantoin was determined for 1250 *E. coli* urinary isolates obtained from outpatients in Timișoara. For extended spectrum beta-lactamases producing germs we also used disk synergy tests (study of a synergy between an amoxicillin-clavulanate and cefotaxime, cefuroxime, ceftazidime, aztreonam).

Results: Nitrofurantoin was the most active agent (99,12% susceptible), followed by ceftazidime (96,4% susceptible) and gentamicin (89,6% susceptible). High rates of resistance to ampicillin (61,6%), trimethoprim-sulfamethoxazol (41,6%) and amoxicillin-clavulanate (34,4%) were observed in these isolates. Production of extended spectrum beta-lactamase was observed in 3,6% of isolates.

Rezistența la antibiotice a tulpinilor de *Escherichia coli* izolate în infecții urinare comunitare

Muntean Delia, Licker Monica, Berceanu Văduva Delia, Hoga Elena, Popa Mihaela, Adămuț Marcela, Dugășescu Dorina, Zugravu Roxana, Pîrvan Ramona, Moldovan Roxana

Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara - Disciplina de Microbiologie

Introducere: *E. coli* este microorganismul cel mai frecvent implicat în etiologia infecțiilor urinare acute. Frecvent, în tratamentul acestor infecții sunt utilizate antibiotice prescrise empiric pe baza rezultatelor unor studii statistice efectuate în timp, în zona geografică respectivă. În acest studiu am urmărit determinarea prevalenței și rezistenței tulpinilor de *E. coli* izolate în infecțiile urinare comunitare în anul 2008 (ianuarie – decembrie), în trei laboratoare de microbiologie clinică din Timișoara.

Metodă: Identificarea germenilor s-a realizat cu ajutorul sistemului API, iar testarea sensibilității la antibiotice prin tehnica Kirby-Bauer conform standardului CLSI. Pentru toate cele 1250 tulpieni de *E. coli* izolate de la pacienții cu infecții urinare din ambulatoriu, am testat sensibilitatea la ampicilină, amoxicilină - acid clavulanic, cefuroxim, ceftazidim, gentamicină, ciprofloxacin, trimetoprim-sulfametoazol și nitrofurantoin. Pentru tulpinile secretoare de beta - lactamaze cu spectru extins am efectuat suplimentar testul de sinergie între amoxicilină-acid clavulanic și cefotaxim, cefuroxim, ceftazidim, aztreonam.

Rezultate: Nitrofurantoinul a fost chimioterapeuticul cel mai activ (sensibilitate 99,12%), urmat de ceftazidim (sensibilitate 96,4%) și gentamicină (sensibilitate 89,6%). La tulpinile izolate am observat rezistență crescută față de ampicilină (61,6%), trimetoprim-sulfametoaxazol (41,6%) și amoxicilină-acid clavulanic (34,4%). Un procent de 3,6% din tulpi au fost confirmate pentru producerea de beta-lactamaze cu spectru extins.

Concluzii: Procentul tulpinilor rezistente la ampicilină și trimetoprim-sulfametoaxazol, principalele chimioterapice utilizate în tratamentul infecțiilor urinare, a fost extrem de mare, fapt ce impune restrângerea prescrierii lor empirice.

P19. Quinolone resistant strains isolated from the intensive care unit

Muntean Delia, Licker Monica, Berceanu Văduva Delia, Crăciunescu Mihaela, Dragomirescu Liliana, Horhat F., Rădulescu Matilda, Piluț C., Șerban D., Moldovan Roxana

Microbiology Department-University of Medicine and Pharmacy "Victor Babeș" Timișoara

Aims: The aim of the study was to determine the quinolone resistance of strains with nosocomial potential, isolated from patients hospitalized in the Intensive Care Unit (ICU).

Methods: Identification of germs was performed by the API system (BioMerieux) and susceptibility tests by disk-diffusion tests (CLSI standards). For detecting the quinolone resistance, we used nalidixic acid, pefloxacin, norfloxacin, ofloxacin and ciprofloxacin. We categorized these strains according to their phenotypic patterns.

Results: In our study undertaken over a period of six months (June - November 2008), from 680 samples (bronchoalveolar fluids, wound secretions, urines, blood samples, etc.) we isolated 760 microbial strains with nosocomial potential, out of which 130 were *E. coli*, 290 *Klebsiella pneumoniae*, 170 *S. aureus*, 60 *Pseudomonas aeruginosa*, 40 *Acinetobacter baumannii*, etc. Phenotype I, with natural sensibility maintained to quinolones was observed in 28,95% from all the strains we have studied. We observed the predominance of IV phenotypes, with cross resistance to all quinolones (538 strains). The percentage of quinolone resistant isolates showing resistance to two or more antibiotics was 71,05% (540 strains: 90 *E. coli*, 180 *Klebsiella pneumoniae*, 150 *S. aureus*, 20 *Pseudomonas aeruginosa*, 30 *Acinetobacter baumannii*, etc).

Conclusions: The high number of quinolone resistant germs imposes a rational policy in prescribing these antibiotics in hospitals.

Rezistență la quinolone a unor tulpini izolate dintr-o secție de terapie intensivă

Muntean Delia, Licker Monica, Berceanu Văduva Delia, Crăciunescu Mihaela, Dragomirescu Liliana, Horhat F., Rădulescu Matilda, Piluț C., Șerban D., Moldovan Roxana

Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara - Disciplina de Microbiologie

Scop: În acest studiu am urmărit determinarea rezistenței la quinolone pentru tulpinile cu potențial nosocomial izolate de la pacienții unei Secții de Terapie Intensivă (ATI).

Metode: Identificarea germenilor s-a realizat cu ajutorul sistemului API, iar testarea sensibilității la antibiotice prin tehnica Kirby-Bauer conform standardului CLSI. Pentru determinarea fenotipurilor de rezistență la quinolone am testat sensibilitatea la acid nalidixic, pefloxacin, norfloxacin, ofloxacin și ciprofloxacin.

Rezultate: Timp de 6 luni (iunie - noiembrie 2008) au fost prelevate 680 de produse patologice (aspirate bronșice, secreții de plăgă, urini, sânge, etc.) izolându-se 760 tulpini microbiene cu potențial nosocomial, dintre acestea 130 fiind reprezentate de *E. coli*, 290 *Klebsiella pneumoniae*, 170 *S. aureus*, 60 *Pseudomonas aeruginosa*, 40 *Acinetobacter baumannii*, etc. Fenotipul I, cu sensibilitatea naturală față de quinolone păstrată, a fost întâlnit la 28,95% din tulpinile studiate. Am constatat predominanța fenotipului IV, cu rezistență încrucișată între toate quinolonele (538 de tulpi). Procentul tulpinilor rezistente la două sau mai multe din quinolonele testate a fost de 71,05% (540 tulpi: 90 *E. coli*, 180 *Klebsiella pneumoniae*, 150 *S. aureus*, 20 *Pseudomonas aeruginosa*, 30 *Acinetobacter baumannii*, etc).

Concluzii: Numărul ridicat de tulpi rezistente la quinolone impune o politică rațională de prescriere a acestor antibiotice în spitale.

P20. Preliminary study regarding multidrug resistance in germs isolated from intensive care units

Licker Monica^{1,2}, Muntean Delia¹, Bădițoiu Luminița^{1,2}, Dragomirescu Liliana^{1,3}, Horhat F.^{1,3}, Hoga Elena¹, Chicin Grațiana², Stanoiev J.², Brânzeu Cristina³, Moldovan Roxana^{1,2}

1. University of Medicine and Pharmacy „Victor Babes” Timișoara; 2. Institute of Public Health Timișoara; 3. Clinical Emergency County Hospital Timișoara

Objectives: The study is part of PNII- Nr. 42121/2008 project and has as objective the identification of multidrug resistant germs (MDR) from intensive care units (ICUs).

Methods: We have evaluated samples collected from patients hospitalized in ICUs from Timișoara and Arad clinical hospitals, in the period of January-March 2009. Identification, antimicrobial susceptibility tests and phenotyping were performed at the Microbiology Department of University of Medicine and Pharmacy „Victor Babeș” Timișoara, using the VITEK 2 compact (BioMerieux) analyzer. ESBL production was also assessed by disk synergy (CLSI standards).

Results: We studied a selection of 99 bacterial strains, collected from the mentioned ICUs, out of which 52 were included in the MDR group considered in our study: ESBL producing enterobacteria (22 strains of *E. coli*, 17 *Klebsiella pneumoniae*, 1 *Klebsiella ornithinolytica*, 1 *Enterobacter aerogenes*, 1 *Serratia rubidaea*), carbapeneme resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* (4 strains) and methicillin resistant *S. aureus* (6 strains). These germs were isolated especially from bronchial aspirates, urine samples and purulent secretions.

Conclusions: Multidrug resistance, as well as the continuous increase of several phenotypes' prevalence is an alarming worldwide phenomenon for modern medicine which is struggling with the decrease of therapeutical options and the reduced discovery rate for new antimicrobials. The aim of this project is to help the introduction of molecular models for screening and monitoring of multidrug resistance in the South-Western part of Romania.

Studiu preliminar privind multirezistența germenilor izolați din secții de terapie intensivă

Licker Monica^{1,2}, Muntean Delia¹, Bădițoiu Luminița^{1,2}, Dragomirescu Liliana^{1,3}, Horhat F.^{1,3}, Hoga Elena¹, Chicin Grațiana², Stanoiev J.², Brânzeu Cristina³, Moldovan Roxana^{1,2}

1. Universitatea de Medicina și Farmacie „Victor Babeș” Timișoara; 2. Institutul de Sănătate Publică Timișoara; 3. Spitalul Clinic Județean de Urgență Timișoara

Obiective: Studiul face parte din proiectul PNII- Nr. 42121/2008 și are ca obiectiv identificarea tulpinilor bacteriene multirezistente la antibiotice (MDR) din secțiile de terapie intensivă (ATI).

Material și metode: Au fost analizate produse patologice care au provenit de la pacienți internați în secțiile ATI ale unor Spitale Clinice din Timișoara și Arad, în perioada ianuarie-martie 2009. Identificarea germenilor, testarea sensibilității la chimioterapice antiinfețioase și încadrarea germenilor în fenotipuri de rezistență s-au realizat la sediul disciplinei de Microbiologie a UMF „Victor Babeș” Timișoara, cu ajutorul analizorului VITEK 2 compact (BioMerieux). Pentru încadrarea enterobacteriilor în fenotipul producător de beta-lactamaze cu spectru extins (BLSE) am efectuat și testul sinergiei (standard CLSI).

Rezultate: Am luat în studiu o selecție de 99 tulpi izolate din secțiile mai sus menționate, din care 52 s-au încadrat în categoria MDR avute în vedere în proiectul nostru: tulpi de enterobacterii secretoare de BLSE (22 tulpi de *E. coli*, 17 *Klebsiella pneumoniae*, 1 *Klebsiella ornithinolytica*, 1 *Enterobacter aerogenes*, 1 *Serratia rubidaea*), *Pseudomonas aeruginosa* și *Acinetobacter baumannii* rezistente la carbapeneme (4 tulpi) și *S. aureus* meticilino-rezistent (6 tulpi). Germenii au fost izolați mai ales din aspirate bronșice, uroculturi, secrete de plagă.

Concluzii: Multirezistența bacteriană, ca și prevalențele în continuă creștere pentru unele fenotipuri, reprezintă un fenomen universal, deosebit de îngrijorător pentru medicina actuală, confruntată cu diminuarea opțiunilor terapeutice și cu reducerea ritmului de fabricare a unor noi antibiotice. Prin actualul proiect ne propunem să contribuim la implementarea metodelor moleculare în screening-ul și monitorizarea multirezistenței bacteriene în partea de Sud-Vest a României.

Posters 3. Immunology

P21. Interconnection between clinical findings and HLA classes at patients with psoriatic arthritis in Republic of Moldova

Russu Eugeniu, Babiuc Constantin, Muset Gheorghe, Sali Vera

Republic of Moldova

Objective: The aim of this study was to analyze the clinical manifestation of psoriatic arthritis and associations with human leukocyte antigens (HLA-antigens) and to identify the markers for aggressive joint disease. **Method:** Ninety nine patients with psoriatic arthritis with defined joint disease were examined clinically, radiologically, and with laboratory-based analyses. The classification and the diagnosis of the disease have been based on CASPAR criteria. **Results:** We have found a high preval-

ence of HLA-B7, B17, B27, B37 and HLA-A2, A3, A7 and A29 which were increased in comparison with controls ($p=0.012$, $pc=0.024$, $RRf=3.1$), but the strongest predictive factors for an aggressive disease among patients with polyarthritis and axial disease of psoriatic arthritis, in a multiple logistic analysis and polifactorial correlation, were HLA-A3, A29, B27, B37; a significant linkage ($p=0.0001$, $RRf=2.9$) was found. **Conclusion:** The prevalence of inflammatory joint manifestations, such as polyarthritis, axial disease and mutilate arthritis was high among patients with psoriatic arthritis in Republic of Moldova. There were several strong association between HLA-antigens (B7, B17, B27, B37, A2, A3, A7, A29) and psoriatic arthritis. The strongest predictive factors for an aggressive disease among patients with polyarthritis and axial disease of psoriatic arthritis, were HLA-A3, A29, B27, B37 with a significant linkage ($p = 0.0001$, $RRf = 2.9$).

Conexiunile dintre tabloul clinic al artritei psoriazice și clasele HLA la pacienții din Republica Moldova

Russu Eugeniu, Babiuc Constantin, Muset Gheorghe, Sali Vera

Republica Moldova

Obiective: Scopul studiului a fost de a efectua identificarea markerilor agresivității bolii prin depistarea interconexiunii dintre clasele HLA și formele clinice de artrită psoriazică. **Metode:** au fost studiați 99 pacienți cu artrită psoriazică prin examinare clinică și paraclinică. Diagnosticul a fost stabilit pe baza criteriilor CASPAR. **Rezultate:** s-a depistat o prevalență înaltă a HLA-B7, B17, B27, B37 și HLA-A2, A3, A7 și A29 care au fost crescute în comparație cu lotul de control ($p=0.012$, $pc=0.024$, $RRf=3.1$), însă corelarea cea mai puternică între agresivitatea bolii și formele: poliarticulară și axială, ale artritei psoriazice, au prezentat determinantele HLA-A3, A29, B27, B37, pentru care s-a determinat o legătură puternică ($p=0.0001$, $RRf=2.9$). **Concluzii:** Sunt mai multe locuri de corelare puternică între artrita psoriazică și clasele HLA (B7, B17, B27, B37, A2, A3, A7, A29). S-au depistat factori predictivi pentru o evoluție severă a artritei psoriazice, ce coreleză ferm cu agresivitatea bolii, ele fiind HLA-A3, A29, B27, B37 cu un linkage manifest ($p=0.0001$, $RRf = 2.9$).

P22. Evaluation of the role of interleukin 13 in psoriatic arthritis versus rheumatoid arthritis

Ciaci Camelia¹, Gligor Ramona¹, Puschita Maria¹, Gurban Camelia², Crasnic Ioan

1. Faculty of Medicine, Pharmacy and Dental Medicine, „Vasile Goldiș” Western University, Arad, Romania; 2. University of Medicine and Pharmacy, Timișoara

Introduction: In our study we evaluated the blood and synovial liquid concentration of interleukin 13 (IL-13), a cytokine with important role in bone destruction limitation that occurs in psoriatic arthritis. **Material and methods:** Our study was made on two patient groups. **Group 1** consisting of 27 patients diagnosed with psoriatic arthritis based on CASPAR criteria, **group 2** consisting of 21 patients diagnosed with rheumatoid arthritis, based on ARA criteria and the **control group** (healthy patients). Interleukin 13 was determined by the ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbant Assay). **Results and discussion:** In the case of the psoriatic arthritis group, the serum concentration of interleukin 13 was not much increased, but statistically significant as compared to the control group ($p_1 < 0.01$ - S), while in the case of the rheumatoid arthritis group, the serum concentration of interleukin 13 is higher

than in healthy patients ($p_2 < 0.002$ - ES, statistically intensive significant). Regarding the interleukin 13 concentration in the synovial liquid, we observed that the difference between the value of this cytokine in psoriatic arthritis and rheumatoid arthritis patients is not very high, as compared to its blood value. **Conclusions:** Our study proves the presence of significant differences regarding the interleukin 13 profile in the serum and synovial liquid of the patients suffering from psoriatic arthritis, as compared to healthy patients and patients suffering from rheumatoid arthritis. In this way, our study shows that the pattern of local or systemic production of interleukin 13 can influence the clinical image of arthritis with the apparition of psoriatic arthritis or rheumatoid arthritis, respectively. This shows the presence of different pathogenetic mechanisms implicated in inflammatory articular diseases. **Keywords:** psoriatic arthritis, rheumatoid arthritis, interleukin 13, antiinflammatory cytokines.

Importanța determinării interleukinei 13 în artrita psoriazică comparativ cu artrita reumatoidă

Ciacli Camelia¹, Gligor Ramona¹, Pușchiță Maria¹, Gurban Camelia², Crâsnic Ioan¹

1. Facultatea de Medicină, Farmacie și Medicină Dentară, Universitatea de Vest "Vasile Goldiș", Arad; 2. UMF, Timișoara

Introducere: În studiul nostru am evaluat concentrația sangvină și la nivelul lichidului sinovial a interleukinei 13 (IL-13), citokină cu rol important în limitarea distrucției osoase care are loc în artrita psoriazică. **Material si metode:** Studiul nostru a fost efectuat pe trei loturi de pacienți. **Lotul 1** alcătuit din 27 pacienți diagnosticati cu artrită psoriazică pe baza criteriilor CASPAR, **lotul 2** alcătuit din 21 pacienți diagnosticati cu artrită reumatoidă pe baza criteriilor ARA și **lotul martor** (subiecți sănătoși).

Interleukina 13 a fost determinată prin tehnica imunoenzimatică de tip sandwich ELISA (Enzyme Linked Immuno Sorbant Assay). **Rezultate și discuții:** La lotul cu artrită psoriazică, concentrația serică a interleukinei 13 nu este mult crescută, dar totuși semnificativă statistic comparativ cu lotul martor ($p_1 < 0.01$ - S, semnificativ statistic), în timp ce la lotul cu artrită reumatoidă concentrația serică a interleukinei 13 este mult mai mare decât la martorii sănătoși ($p_2 < 0.002$ - ES, intens semnificativ statistic). În ceea ce privește concentrația interleukinei 13 la nivelul lichidului sinovial am constatat că diferența dintre valoarea acestei citokine la pacienții cu artrită psoriazică și artrită reumatoidă nu este foarte mare, spre deosebire de valoarea sangvină a acestora. **Concluzii:** Studiul nostru demonstrează existența unor diferențe semnificative în ceea ce privește profilul interleukinei 13 din serul și din lichidul sinovial al pacienților cu artrită psoriazică, comparativ cu martorii sănătoși și cu pacienții cu artrită reumatoidă. Astfel, studiul nostru ilustrează că pattern-ul producției locale sau sistemice a interleukinei 13 poate influența tabloul clinic al unei artrite cu apariția artritei psoriazice, respectiv a celei reumatoide, ceea ce reflectă existența unor mecanisme patogenetice diferite implicate în bolile articulare inflamatorii. **Cuvinte cheie:** artrita psoriazică, artrita reumatoidă, interleukina 13, citokine antiinflamatorii.

P23. The importance of qualitative determination of antinuclear antibodies in the diagnosis of collagen diseases**Vîlceanu Ioana¹, Iancu D.²***1. Dept.of Microbiology, Faculty of Medicine and Pharmacy Oradea; 2.Military Hospital Oradea*

Purpose:to establish the importance of using qualitative analysis of antinuclear antibodies (ANA) in conjunction with other laboratory determinations and clinical examinations in the diagnosis of collagen diseases. **Material and method:** study of a group of 60 patients diagnosed with diseases of collagen: 24 with systemic lupus erythematosus (SLE), 18 with rheumatoid arthritis (RA), 8 with sclerodermia, 7 with Sjogren syndrome (SS) and 3 with mixed connective tissue disease (MCTD); there were performed qualitative determinations ANA for a parallel group of 60 subjects on which there was no suspicion of collagen disease. There were conducted qualitative ANA determinations using ELISA method-type sandwich. **Results:** Qualitative analysis of ANA was positive in 24 (100%) cases of SLE, 6 (33.3%) cases of RA, 4 (50%) cases of sclerodermia, 4 (57.1%) cases of SS, 2 (66.6%) cases of MCTD. Determinations made on the paralel lot had positive results in 3 (5%) of subjects, one in the age of 37 years and 2 patients of 67 and 69 years respectively. **Conclusions:** The qualitative determination of ANA provides substantial aid in diagnosis of collagen diseases. It can appear positive results in healthy people but in a small percentage (5%), with a higher incidence in the elderly.

Importanța determinării calitative a anticorpilor antinucleari în diagnosticul bolilor de colagen**Vîlceanu Ioana¹, Iancu D.²***1. Catedra de Microbiologie, Facultatea de Medicină și Farmacie, Oradea; 2. Spitalul Clinic Militar, Oradea*

Scop: stabilirea importanței utilizării analizei calitative a anticorpilor antinucleari (ANA), coroborat cu alte determinări paraclinice și examene clinice în diagnosticul bolilor de colagen. **Material și metodă:** s-a studiat un lot de 60 pacienți diagnosticăți cu boli de colagen dintre care: 24 cu lupus eritematos sistemic (LES), 18 cu poliartrită reumatoidă (PR), 8 cu sclerodermie, 7 cu sindrom Sjogren (SS) și 3 cu boala mixtă de țesut conjunctiv; s-au efectuat determinări calitative ANA și la un lot paralel de 60 subiecți la care nu exista suspiciune de boală de colagen. S-au efectuat determinări calitative ANA prin metoda ELISA de tip sandwich. **Rezultate:** analiza calitativă a ANA a avut rezultate pozitive în 24 (100%) din cazurile de LES, 6 (33,3%) din cazurile de PR, 4 (50%) din cazurile de sclerodermie, 4 (57,1%) din cazurile de SS, 2 (66,6%) din cazurile de boală mixtă de țesut conjunctiv. Determinările efectuate pe lotul paralel au avut rezultate pozitive la 3(5%) din subiecți, dintre care unul în vîrstă de 37 de ani și 2 pacienți de 67 și respectiv 69 ani. **Concluzii:** determinarea calitativă a ANA oferă un ajutor substanțial în stabilirea diagnosticului bolilor de colagen. S-au obținut rezultate pozitive și la persoane sănatoase dar într-un procent mic (5%), cu o incidentă mai mare la persoanele vîrstnice.

P24. The impact of HLA-B*5701 typing on HIV treatment using Abacavir

Dican Lucia¹, Fischer G.F.², Faé Ingrid²

1. Dept.of Medical Biochemistry – University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca, Romania; 2. Dept. for Blood Group Serology - Medical University, Vienna, Austria

Abacavir (ABC) is a nucleoside analogue and part of the standard HIV combination therapy. ABC treatment results in a life threatening hypersensitivity reaction (HSR) in 5-8% of patients. A strong association between the HSR and the presence of the HLA-B*5701 allele has been shown, the B*5701 allele being part of a B57-DR7-DQ3 haplotype in most cases. We studied the impact of HLA-B*5701 typing on the prescription rate and ABC-treatment cessations. HLA-B low resolution typing was performed in 307 patients who have been treated with ABC in our unit between 09/1998 and 04/2008. 161 patients with treatment start before 08/2005 were typed retrospectively; the other 145 were typed prospectively. The HLA-B*57 patients were further typed by nucleotide sequencing of HLA-B and low resolution typing of DRB1 and DQB1 alleles. Twenty - four patients were typed HLA-B*57, 19 of them being B*5701. In 12 of the patients, additionally DRB1*07 and DQB1*03 alleles were found. The prescription rate before prospective HLA typing was 20 per year; afterwards it went up to 88 per year. Five patients (3.4 %) of the prospective group discontinued ABC treatment within 42 days after treatment start versus 21 patients (13%) in the retrospective group. In the prospective group no HSR was observed, while in the retrospective group eight cases have been observed. The association of HSR and HLA-B*5701 was confirmed. Three patients having the HLA-B*5703 allele did not show signs of HSR when exposed to the drug. In conclusion HLA-B*5701 typing prior to treatment start decreased the rate of HSR. Consequently, the prescription rate was raised and the premature ABC termination rate was reduced.

Impactul tipizării HLA-B*5701 asupra tratamentului HIV cu Abacavir

Dican Lucia¹, Fischer G.F.², Faé Ingrid²

1. Catedra de Biochimie Medicală – UMF , Cluj-Napoca, România; 2. Departamentul Serologie – Universitatea de Medicină, Viena, Austria

Abacavirul (ABC) este un analog nucleosidic care face parte din terapia combinată antiretrovirală pentru tratamentul adulților infectați cu Virusul Imunodeficienței Umane (HIV). Tratamentul cu ABC conduce la o reacție de hipersensibilitate (RHS) care amenință viața a 5-8% pacienți. S-a demonstrat o puternică asociere între RHS și prezența aleii HLA-B*5701, alela B*5701 făcând parte din haplotipul B57-DR7-DQ3 în majoritatea cazurilor. Noi am studiat impactul tipizării HLA-B*5701 asupra nivelului de prescripție și a întreruperii tratamentului cu ABC. Am realizat tipizarea HLA-B de rezoluție joasă la 307 pacienți care au fost tratați cu ABC. Un număr de 161 pacienți a căror tratament a fost inițiat înainte de 08/2005 au fost tipizați retrospectiv; ceilalți 146 pacienți au fost tipizați prospectiv. Pacienții HLA-B*57 au fost tipizați prin secvențiere nucleotidică HLA-B și prin tipizare de rezoluție joasă pentru alelele DRB1 și DQB1. 19 pacienți au fost pozitivi pentru B*5701. La 12 pacienți am detectat în plus alelele DRB1*07 și DQB1*03. Nivelul anual al prescrierii înaintea tipizării prospective HLA era 20; apoi a crescut la 88. Cinci pacienți (3,4%) din grupul prospectiv au întrerupt tratamentul cu ABC după 42 zile de la debutul tratamentului față de 21 pacienți (13%) aparținând grupului retrospectiv. În grupul prospectiv, nu s-a detectat RHS, în timp ce în grupul retrospectiv, am observat opt cazuri de RHS. Asocierea între RHS și HLA-B*5701 a fost confirmată. Trei pacienți având alela

HLA-B*5703 nu au prezentat semnele RHS când au fost expuși la medicament. În concluzie, tipizarea HLA-B*5701 înaintea începerii tratamentului a redus rata RHS. În consecință, rata de prescripție a crescut și rata de oprire prematură a tratamentului cu ABC a fost redusă.

P25. Analysis of the correlation between autism and (GATA)n microsatellite on the 5'flanking region of the AVPR1A gene

Dobre Michaela¹, Duță-Cornescu Georgiana², Simon-Gruiță Alexandra², Constantin Nicoleta², Stoian Veronica²

1. Faculty of Medicine and Pharmacy, "Dunărea de Jos" University, Galați; 2. Faculty of Biology, University of Bucharest

Objective: The neuron-anatomic distribution of the arginine-vasopresin receptor 1A and the subsequent amount of arginine-vasopresin influences attachment and social behavior, thereby demanding research on the correlation between AVPR1A gene and autism spectrum disorders (ASD). ASD seriously impair intellectual development, bring about behavioral imbalances and often overlap with mental retardation. **Methods:** The study was case-control type and involved three groups: 32 patients diagnosed with mental retardation (MR), 19 patients suffering from ASD and 196 subjects with normally developed intellects as a control group. DNA was isolated from white blood cells, under informed consent from authorized caretakers. The (GATA)n microsatellite, located on the 5'UTR of the AVPR1A gene, was analyzed by PCR – PAGE technique, and the results were interrogated using population genetic specific programs. **Results:** 9 alleles associated to the microsatellite sequence previously amplified and designated A to I were identified. The allele frequencies calculated for each group shown that allele A is missing on ASD patients ($f(A)=0$), comparing to MR patients and control ($f(A)=0.031$ and 0.013 respectively) Also, the frequency of allele D is higher on ASD and MR group (0.368 and 0.328) comparative to the control group (0.281). Concerning the genotype frequencies, the homozygous genotypes EE and HH are well represented in controls, but are absent in both patient groups. **Conclusions:** The observed and expected data match in a satisfactory manner, and suggest that all three groups are in a state of genetic balance.

Analiza corelației între autism și microsatelitul (GATA)n din regiunea 5'flancatoare a genei AVPR1A

Dobre Michaela¹, Duță-Cornescu Georgiana², Simon-Gruiță Alexandra², Constantin Nicoleta², Stoian Veronica²

1. Facultatea de Medicină și Farmacie, Universitatea „Dunărea de Jos”, Galați; 2. Facultatea de Biologie, Universitatea din București

Obiectiv: Distribuția receptorului 1A pentru arginin-vasopresină și cantitatea de arginin-vasopresină influențează atașamentul și comportamentul social, justificând oportunitatea studiului corelației între gena AVPR1A și tulburările din spectrul autismului (TSA) caracterizate prin dezechilibru comportamental ce interferă adeseori cu retardul mental (RM). **Metode:** Studiu de tip caz-control a implicat trei grupuri: 32 de pacienți diagnosticați cu RM, 19 pacienți cu diagnostice de TSA și 196 de subiecți normali din punct de vedere al dezvoltării intelectuale, care au servit drept control. ADN-ul a fost izolat din limfocite din sânge, în urma semnării consimțământului informat de către per-

soanele autorizate. Microsatelitul (GATA)n din regiunea 5'UTR a genei AVPR1A a fost analizat prin tehnica PCR-PAGE, rezultatele fiind interpretate prin programe specifice pentru genetica populațiilor. **Rezultate:** Au fost identificate 9 alele asociate cu sevența microsatelitică amplificată cărora le-au fost atribuite denumiri de la A la I. În urma calculării frecvenței alelice pentru fiecare din cele trei grupuri s-a constatat că alela A lipsește la pacienții cu TSA ($f(A)=0$) în comparație cu grupul RM și grupul mărtor ($f(A)=0.031$ respectiv 0.013). De asemenea, frecvența alelei D este mai ridicată în TSA și RM (0,368 și 0,328) comparativ cu grupul de control (0,281). În ceea ce privește frecvența genotipurilor, genotipurile homozigote EE și HH sunt bine reprezentate în grupul de control dar lipsesc din ambele grupe de pacienți. **Concluzii:** Există o bună corelație între valorile observate și cele așteptate ce sugerează că populația luată în studiu (atât pe grupuri cât și ca întreg) este în echilibru genetic.

P26. Detection of large mutations by multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA)

Iancu D., Talpeș V., Neagu E., Iancu C.B., Constantinescu C., Gîrbea G., Constantinescu A., Găiculescu M., Barbarii L.

National Institute of Legal Medicine "Mina Minovici", București

Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification assay (MLPA) is a semiquantitative PCR-based method which allows the analysis of over 40 DNA sequences in one single reaction tube. Since its discovery in 2002 MLPA became the method of choice for the mutation screen of a large number of genes. During the past four years we performed MLPA testing for patients affected by a large spectrum of diseases like: Duchenne muscular dystrophy (348 patients), non-syndromic mental retardation (271 patients) and familial hypercholesterolemia (165 cases). All tests were part of our research projects. We analyzed DNA samples extracted from whole blood obtained from affected patients after informed consent. MLPA was performed with specific MLPA kits (MRC Holland). In Duchenne muscular dystrophy (DMD) cases we identified large mutations in 80% of samples. Most of these mutations were deletions (85%) of one or more exons and about 15% were duplications. In 9% of the mental retardation cases a subtelomeric rearrangement was discovered by MLPA. On the contrary, in familial hypercholesterolemia cases, only one large deletion was discovered. This finding was explained by the high number of point mutations in LDLR gene that may escape MLPA analysis. **Conclusions:** MLPA is a rapid, robust and cost-effective method, very useful in large mutations detection. It is particularly valuable for the mutation detection in large genes, where alternative PCR-based methods are costly and laborious. Point mutations are usually missed in MLPA analysis and require other methods (sequencing) for confirmation.

Detectarea mutațiilor majore prin metoda MLPA (Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification)

Iancu D., Talpeș V., Neagu E., Iancu C.B., Constantinescu C., Gîrbea G., Constantinescu A., Găiculescu M., Barbarii L.

Institutul Național de Medicină Legală "Mina Minovici" București

MLPA este o metodă semicuantitativă bazată pe reacția PCR care permite analiza concomitentă a peste 40 fragmente ADN într-o singură reacție. De la descoperirea sa în 2002, MLPA a devenit metoda

de elecție pentru screening-ul mutațiilor într-un număr mare de gene. În ultimii patru ani s-au realizat în laboratorul nostru teste MLPA pentru pacienți afectați de boli precum: distrofia musculară Duchenne (348 pacienți), retard mental non-sindromic (271 cazuri), hipercolesterolemia familială (165 cazuri). Probele analizate au constat în ADN extras din sânge integral prelevat de la pacienți după obținerea consimțământului informat. Testul MLPA a fost realizat utilizând kituri specifice fiecărei patologii investigate (MRC Holland). Au fost identificate mutații majore în 80% din cazurile de distrofie musculară Duchenne (DMD). Dintre acestea, 85% au fost deleții iar 15% dupicații. Dintre cazurile de retard mental 9% au prezentat rearanjări ale regiunilor subtelomerice care au putut fi identificate prin MLPA. În schimb, în cazul hipercolesterolemiei familiale, a fost identificată o singură mutație majoră, fapt explicat de frecvența mai mare a mutațiilor punctiforme ale genei LDLR, care nu sunt evidențiate de testul MLPA. **Concluzii:** MLPA este o metodă rapidă, robustă și cu un bun raport cost/eficiență, foarte utilă pentru detectarea mutațiilor majore, mai ales la nivelul genelor de dimensiuni mari a căror investigare prin metodele clasice bazate pe PCR ar fi extrem de costisitoare și laborioasă. Dezavantajul metodei constă în scăparea mutațiilor punctiforme a căror evidențiere ar necesita aplicarea altor metode (ex. secvențierea).

P27. Comparison of methods used for the detection of Aspirin resistance in healthy volunteers

Kovács EG, Bereczky Z, Haramura G, Tóth E, Venczellák M, Muszbek L

Clinical Research Center, University of Debrecen, Medical and Health Science Center

Aim: The laboratory methods used for monitoring the effect of Aspirin (ASA) show poor correlation. Due to methodological differences the frequency of ASA resistance among patients varies between 5 and 30%. Our aim was to compare a number of laboratory methods used for the detection of ASA resistance to a reference method established in our laboratory and identify the most suitable ones.

Materials and methods: Our reference method is based on the quantification of thromboxane B₂ (TXB₂), a stable metabolite of thromboxane A₂, formed after activation of platelets in platelet rich plasma by arachidonic acid (AA). PFA-100 closure time, Verify Now Aspirin Assay, platelet aggregation and secretion induced by collagen, epinephrine, ADP and AA were determined in 48 healthy volunteers on 100 mg/day ASA therapy. Samples were collected before, 1 and 7 days after the first dose.

Results: The effect of ASA was sensitively detected by the reference method and no resistant person was found. The median of TXB₂ concentration was 28,131 pg/mL (interquartile range: 19,931-37,666 pg/mL) before treatment and decreased significantly after 7 days on ASA (median: 399 pg/mL, interquartile range: 321-507 pg/mL). The results obtained by the Verify Now Aspirin Assay and AA aggregation/secretion were in good concordance with the results of the reference method. All other tests presented variable results and poor correlation with the reference method. **Conclusion:** The results suggest that the most appropriate routine laboratory methods for monitoring ASA therapy are the Verify Now Aspirin Assay and the platelet aggregation/secretion induced by AA.

Comparația metodelor folosite pentru detectarea rezistenței la Aspirină pe voluntari sănătoși

Kovács E.G., Bereczky Z., Haramura G., Tóth E., Venczellák M., Muszbek L.

Universitatea din Debrecen, Centrul de Științe Medicale și de Sănătate, Centrul de Cercetări Clinice

Scopul lucrării: Conform datelor din literatură, la terapia cu Aspirină aplicată profilactic evenimentelor trombotice 5-30% dintre pacienți sunt rezistenți. Metodele de laborator folosite la urmărirea efectului Aspirinei coreleză slab, neexistând metodă de referință corespunzătoare. Scopul nostru a fost identificarea metodelor aplicabile cu eficacitate maximă prin comparația metodelor folosibile pentru urmărire și prin asemănarea acestora cu o metodă de referință prelucrată de noi.

Materiale și metode: Metoda noastră de referință se bazează pe o determinare imunologică care după inducția trombocitelor cu acidul arahidonic (AA) detectează produsul stabil al tromboxanului A₂, tromboxanul B₂ (TXB₂). Pe lângă aplicarea acestei metode, am determinat timpul de închidere PFA-100, am efectuat Verify Now Aspirin Assay, examinările agregării și secreției plachetare la agoniștii AA, colagen, ADP și epinefrină la 48 de voluntari sănătoși, luând Aspirină 100 mg/zi, înaintea primei doze, după 1 și 7 zile. **Rezultate:** Am constatat că metoda de referință indică în mod sensibil și sigur inhibiția ciclooxygenazei (COX) de către Aspirină și conform datelor literaturii, tabletă de Aspirină filmată nu produce blocaj total COX într-o zi. Cu metoda de referință n-am găsit persoană rezistentă, mediana concentrațiilor TXB₂ fiind 399 pg/mL (regiunea interqvartilă: 321-507 pg/mL) în ziua 7, scăzut semnificativ față de valorile preterapeutice (median 28131 pg/mL, regiunea interqvartilă: 19931-37666 pg/mL). Verify Now Aspirin Assay, agregarea și secreția plachetară la AA au corelat totalmente cu metoda de referință, celelalte metode producând rezultate variate. **Concluzii:** Conform rezultatelor obținute, dintre metodele studiate: Verify Now Aspirin Assay, examinările agregării și secreției plachetare la AA sunt cele mai potrivite pentru urmărirea aspirinorezistenței.

P28. D-Dimers value in the diagnostic algorithm of venous thromboembolism

Lighezan Rodica¹, Olariu Rareș², Nistor Elena², Nicola Doina², Păunescu Iulieta², Bonte Diana Camelia³, Lighezan Daniel Florin⁴

1. Histology Dept. of the "Victor Babeș" Medicine and Pharmacy University, Timișoara; 2. Clinical Laboratory of the County Hospital, Timișoara; 3. Biochemistry Dept., "Victor Babeș" University of Medicine and Pharmacy, Timișoara, Romania; 4. Cardiology Clinic of the County Hospital, Timișoara

Introduction: D-dimers are formed only through blood clotting. A variety of different qualitative and semi-quantifiable assays are available, with different diagnostic performances. **Aim:** To assess the relation between the D-dimers value and the presence of deep vein thrombosis, or pulmonary embolism using a rapid immunoturbidimetric method. **Material and methods:** The D-dimers concentration was assessed in 39 patients' venous whole blood using a rapid assay (Roche CARDIAC D-Dimer) generating a positive/negative result (with D-dimer levels above and below a cut-off = 0.5 µg/ml). The following parameters were also measured in all patients on admission: CRP, fibrinogen, complete blood count. **Results:** Between 39 cases, 16 patients (41%) showed normal D-dimer level (<0.5

µg/ml), while 59% of patients had values between 0.6-3.3 µg/ml. The final diagnosis was confirmed by ultrasonography and pulmonary scintigraphy. No thrombosis was present in patients with D Dimers lower than the cut-off, but not all the patients with higher D-Dimers levels had VTE or pulmonary embolism. **Discussions:** An increase in d-Dimer levels may indicate the presence of an abnormally high level of fibrin degradation products due to the activation of fibrinolysis, but d-Dimers also can be increased by other factors such as infection, malignancies, inflammation, or pregnancy. **Conclusion:** D-dimers assessment allowed us to rule out the diagnosis of deep vein thrombosis in a number of cases but we also founded elevated DD concentrations in other clinical conditions.

Valoarea D-Dimerilor în algoritmul diagnostic al tromboembolismului venos

Lighezan Rodica¹, Olariu Rareş², Nistor Elena², Nicola Doina², Păunescu Iulieta², Bonte Diana Camelia³, Lighezan Daniel Florin⁴

1. Departamentul de Histologie al Universității de Medicină și Farmacie "Victor Babeș", Timișoara; 2. Laboratorul Clinic al Spitalului Municipal, Timișoara; 3. Departamentul de Biochimie al Universității de Medicină și Farmacie "Victor Babeș", Timișoara; 4. Clinica de Cardiologie a Spitalului Municipal, Timișoara

Introducere: D-dimerii (DD) sunt fragmente desprinse în urma fibrinolizei secundare care are loc sub influența plasminei. Există numeroase teste calitative și semicuantitative cu performanțe diagnostice diferite. **Scop:** De a stabili rolul D-Dimerelor în diagnosticul pacienților cu afecțiuni ce predispus la hipercoagulabilitate și tromboembolie folosind o metodă rapidă imunoturbidimetrică. **Material si metodă:** au fost investigați 39 pacienți folosind o metodă rapidă din sânge integral (Roche CARDIAC D-Dimer) cu valoare de cutt off de 0,5 µg/ml. În plus au fost determinați pentru fiecare pacient CRP, fibrinogen, și hemoleucograma. **Rezultate:** dintre pacienți 41% (n=16) au avut nivele ale D-Dimerelor sub 0,5 µg/ml, considerată valoare de cutt off, în vreme ce 59% din pacienți au avut valori cuprinse între 0,6-3,3 µg/ml. Diagnosticul de tromboembolism a fost confirmat prin ecografie și scintigrafie pulmonară. Nu au fost prezente tromboze la nici un pacient cu valori ale DD sub valoarea de cutt-off, dar în schimb valori crescute ale DD au fost evidențiate și la pacienți care nu prezintau tromboze venoase sau embolie pulmonară. **Discuții:** Un nivel crescut al DD poate indica prezența activării fibrinolizei pe un tromb gata format, dar în același timp există și alte condiții patologice, altele decât tromboza, însotite de nivele crescute ale DD ca de exemplu: infecțiile, neoplaziile, inflamația sau sarcina. **Concluzii:** Determinarea DD ne-a permis excluderea trombozelor venoase la aproape jumătate din pacienții studiați, dar am obsevat creșterea DD și în alte stări patologice decât tromboza.

P29. The value of the NBT test in the study of the phagocytic reaction in workers exposed to chrome derivatives

László Annamária, Pașcanu Ionela, Fazakas Zita, Șchiopu A.

University of Medicine And Pharmacy, Tîrgu Mureş

Chrome is included in the category of chemical substances with a modulator action on the immune system and a cancerogen effect as well. A decrease of T_H lymphocytes and an increase of T_C lymphocytes and of circulatory immune complexes were noticed in workers exposed to chrome during

their work. These modifications were correlated with the length of working time and the degree by which the maximum concentration of chrome was exceeded. The values of the immunoglobulins and of the complement were normal. Others experienced an increase in the concentration of the immunoglobulin isotypes. There are few references in literature about the effect of the chrome on the neutrophil granulocytes function. It is known that these cells are involved in the nonspecific defence of the body. The research was carried on 30 persons, both sexes, aged 29-64 and the exposure to chrome ranging between 2-37 years. Among them, 15 had been treated with Edetamin while 15 had not been treated. In the group of untreated persons, in 40% of the cases an insignificant decrease of the NBT-index (11.50%) was noticed while in 60% there was an increase of the index with (42.72%), the average value being (14.43%). The presence of the chrome in adequate dose increases the percentage of the NBT-positive test, underlying the stimulation of the neutrophil granulocytes' phagocytic capacity. The treatment with Edetamin decreases the NBT-positive test significantly.

Valoarea testului NBT în studiul reacției fagocitare la muncitorii expuși derivătilor de crom

László Annamária, Pașcanu Ionela, Fazakas Zita, Șchiopu A.

UMF Tîrgu Mureș

Cromul este inclus în categoria substanțelor chimice cu acțiune modulatoare asupra sistemului imun, având și efecte cancerigene. La muncitorii expuși profesional la crom s-a constatat scădere a limfocitelor T_H , creșterea limfocitelor T_C și a complexelor imune circulante, modificări care au fost corelate cu vechimea stagiu lui de muncă, respectiv cu nivelul depășirii concentrației maxime admise a cromului. Valorile imunoglobulinelor și ale complementului au fost normale. Dimpotrivă, la alții s-a observat creșterea concentrației izotipurilor de imunoglobuline. În literatură se fac puține referiri privind efectul cromului asupra funcției granulocitelor neutrofile. Ori, este știut că aceste celule sunt implicate în apărarea nespecifică a organismului. Cercetările au fost efectuate pe 30 de subiecți de ambele sexe, în vîrstă de 29-64 de ani, și cu expunere profesională la crom între 2-37 ani dintre care 15 nefratați, iar 15 tratați cu Edetamin. În lotul celor nefratați, la 40% din cazuri s-a constatat o scădere nesemnificativă a indicelui NBT (11.50%), iar la 60% o creștere semnificativă a indicelui (42.72%) față de valoarea medie normală de 14.43%. Prezența cromului în doză adecvată crește procentajul testului NBT-pozitiv, marcând stimularea capacitatei fagocitante a granulocitelor neutrofile. Tratamentul cu Edetamin scade semnificativ testul NBT-pozitiv.

P30. The values of inflammatory parameters in patients with infected wounds

Moș Ioana¹, Burtă Olivia Ligia¹, Zdrîncă Mihaela², Pelea Diana¹, Teaha Monica¹

1. Microbiology - Histology Dept., Faculty of Medicine and Pharmacy Oradea; 2. Pharmacology Dept., Faculty of Medicine and Pharmacy, Oradea

Introduction: inflammatory blood samples having a low cost advantage, along with other clinical and laboratory tests, are an important indicator in monitoring infection. **Objectives:** The aim of the study was to track the changes of inflammatory parameters (number of leucocytes, the sedimentation rate of red blood, C reactive protein) according to the clinical appearance, the type of wound and skin

infection type caused by one or many bacterial germs. **Material:** The study included 164 patients with infected wounds (surgical wounds, trauma wounds, burns and skin ulcers). Patients were initially evaluated for tracking clinical signs and symptoms of infection. Also, each patient was collected from wound secretions to determine the type of infection and blood samples for determination of inflammatory parameters. **Results:** Depending on the wound, the results were the following: C reactive protein was increased in 81.7% of cases with a high prevalence in burns and surgical wounds; increased number of leucocytes was present in 25.6% of cases, sedimentation rate of red blood cells registered high values in all types of wounds, the highest being in burns and surgical wounds. Regarding the type of infection, C reactive protein only presented significant variations. **Conclusions:** The usual inflammatory parameters present variations depending on the type of wound and type of infection, the most faithful indicator being C reactive protein.

Valorile parametrilor inflamatori la pacienții cu plăgi infectate

Moș Ioana¹, Burtă Olivia Ligia¹, Zdrîncă Mihaela², Pelea Diana¹, Teaha Monica¹

1. Catedra Microbiologie – Histologie, Facultatea de Medicină și Farmacie, Oradea; 2. Catedra de Farmacologi, Facultatea de Medicină și Farmacie, Oradea

Introducere: Probele sanguine inflamatorii având avantajul unui cost redus, alături de alte teste clinice și paraclinice, reprezintă un indicator important în monitorizarea infecției. **Obiective:** Scopul studiului a fost urmărirea variației parametrilor inflamatori (număr de leucocite, viteza de sedimentare a hematiilor, proteină C reactivă) în funcție de aspectul clinic, tipul de plagă cutanată și tipul de infecție (mono sau pluribacteriană). **Material:** Studiul a cuprins 164 de pacienți cu plăgi infectate (plăgi chirurgicale, plăgi traumaticе, arsuri și ulcere cutanate). Pacienții au fost inițial evaluati clinic pentru urmărirea semnelor și simptomelor de infecție. De asemenea, fiecărui pacient i s-au recoltat secreții din plagă pentru stabilirea tipului de infecție și probe de sânge pentru determinarea parametrilor inflamatori. **Rezultate:** În funcție de tipul de plagă s-au constatat următoarele: proteina C reactivă a prezentat valori crescute în 81,7% din cazuri, cu o prevalență ridicată în arsuri și plăgi chirurgicale; leucocitoza a fost prezentă în 25,6% din cazuri; viteza de sedimentare a hematiilor a înregistrat valori crescute în toate tipurile de plăgi, cele mai ridicate fiind în arsuri și plăgi chirurgicale. În ceea ce privește tipul de infecție doar proteina C reactivă a prezentat variații semnificative. **Concluzii:** Parametrii inflamatori uzuali prezintă variații în funcție de tipul de plagă și tipul infecției, cel mai fidel indicator fiind proteina C reactivă.

P31. Immun-inflammatory correlations in the coronary artery disease

Sfrijan Felicia¹, Golieeanu Madalina², Mihala Adrian¹, Gotia Smaranda³, Gotia Laura³, Puschita Maria⁴, Ciacli Camelia⁴, Gurban Camelia¹

1. Biochemistry Dept., "Victor Babeș" University of Medicine and Pharmacy, Timișoara, Romania; 2. Individual Medical Center, Galați, Romania; 3. Physiology Dept., "Victor Babeș" University of Medicine and Pharmacy Timișoara, Romania; 4. Cardiology Dept., Faculty of Medicine, Pharmacy and Dental Medicine, „Vasile Goldiș" Western University, Arad, Romania

Objective: This study was conducted to correlate the serum level of proinflammatory cytokines IL-1 α , IL-6, TNF α and IL-12 in patients with coronary atherosclerosis, to estimate the proportion of immune-inflammatory answer and Th1 prevalent feature in coronary artery disease and to test the hypothesis that the serum level of cytokines is a common predictor of plaque destabilization. **Material and methods:** Samples were obtained from patients with acute myocardial infarction-AMI (70), stable angina-SA (50) and from healthy subjects (40). ELISA assay was used for quantification of serum levels of cytokines. **Results:** Patients with AMI had significantly grown serum levels of IL-1 α ($p<0.01$), IL-6 ($p<0.05$), TNF α ($p<0.001$) and IL-12 ($p<0.05$) compared with the healthy group. There is an intense positive correlation in AMI group between this cytokines. The SA group differentiates from the healthy group only through grown serum levels of TNF α ($p<0.001$) and IL-12 ($p<0.05$). **Conclusions:** Grown levels of proinflammatory cytokines IL-12 and TNF α confirm the fact that the inflammatory reaction appears precocious in atherosclerotic lesion and influences the progress and the stability of plaque. Cytokines IL-1 α , IL-6, TNF α and IL-12 could be indicators for the prediction of the cardiac risk. **Key words:** proinflammatory cytokines, IL-1 α , IL-6, TNF α , IL-12, atherosclerosis, cardiac risk.

Corelații imun-inflamatorii în boala coronariană

Sfrijan Felicia¹, Golieeanu Madalina², Mihala Adrian¹, Gotia Smaranda³, Gotia Laura³, Puschita Maria⁴, Ciacli Camelia⁴, Gurban Camelia¹

1. Catedra de Biochimie, UMF "Victor Babeș", Timișoara, România; 2. Cabinet Medical Individual, Galați, România; 3. Catedra de Fiziologie, UMF "Victor Babeș", Timișoara, România; 4. Catedra de Cardiologie, Facultatea de Medicină, Farmacie și Medicină Dentară, Universitatea de Vest "Vasile Goldiș", Arad, România

Scop: Acest studiu a avut ca scop analiza corelațiilor dintre concentrațiile serice ale citokinelor proinflamatoare IL-1 α , IL-6, TNF α și IL-12 la pacienții cu ateroscleroză coronariană, aprecierea răspunsului imun-inflamator în boala coronariană și verificarea ipotezei potrivit căreia citokinele pot fi utilizate ca indicatori ai instabilității plăcii aterosclerotice. **Material și metode:** Probele au fost obținute de la pacienți cu infarct miocardic acut-IMA (70), angină stabilă-AS (50) și de la martori (40). Pentru determinarea concentrațiilor serice ale citokinelor s-a folosit metoda imunoenzimatică (ELISA). **Rezultate:** Comparativ cu lotul martor, pacienții cu IMA au prezentat concentrații serice semnificativ crescute ale IL-1 α ($p<0.01$), IL-6 ($p<0.05$), TNF α ($p<0.001$) și IL-12 ($p<0.05$). Există corelații intens pozitive în grupul IMA între aceste cytokine. Diferențe semnificative statistic între grupul AS și martori sunt numai în ce privește TNF α ($p<0.001$) și IL-12 ($p<0.05$). **Concluzii:** Concentrațiile serice cres-

cute ale citokinelor IL-12 și TNF α confirmă faptul că inflamația apare precoce în leziunile aterosclerotice și influențează progresia și stabilitatea plăcii. Citokinele IL-1 α , IL-6, TNF α și IL-12 pot fi utilizate ca indicatori ai riscului cardiovascular. **Cuvinte cheie:** citokine proinflamatorii, IL-1 α , IL-6, TNF α , IL-12, ateroscleroză, risc cardiovascular.

P32. Interferon - Gamma Inducing factor – biomarker of atherosclerotic plaque instability

Sfrijan Felicia¹, Golieanu Madalina², Mihala Adrian¹, Gotia Smaranda³, Gotia Laura³, Puschita Maria⁴, Ciaci Camelia⁴, Gurban Camelia¹

1. Biochemistry Dept., "Victor Babeș" University of Medicine and Pharmacy, Timișoara, Romania; 2. Individual Medical Center, Galați, Romania; 3. Physiology Dept., "Victor Babeș" University of Medicine and Pharmacy Timișoara, Romania; 4. Cardiology Dept., Faculty of Medicine, Pharmacy and Dental Medicine, „Vasile Goldiș" Western University, Arad, Romania

Objective: This study was conducted to analyze the circulating level of Interferon-gamma inducing factor in patients with acute myocardial infarction (AMI), unstable angina (UA), stable angina (SA), and to estimate the proportion of immune-inflammatory answer and Th1 prevalent feature in coronary artery disease. **Material and methods:** Samples were obtained from patients with acute myocardial infarction (70), unstable angina (40), stable angina (50) and from control subjects (40). ELISA assay was used for quantification of serum levels of Interferon-gamma inducing factor. **Results:** Compared with the control group (0.89 ± 0.15 pg/ml), the levels of Interferon-gamma inducing factor were significantly higher in the all groups of patients (AMI - 5.87 ± 1.20 pg/ml, $p < 0.05$; IA - 3.82 ± 0.70 pg/ml, $p < 0.05$; SA - 2.54 ± 0.44 pg/ml, $p < 0.05$). There were no statistically significant differences in the concentration of Interferon-gamma inducing factor among the angina groups ($p > 0.05$). **Conclusions:** The concentrations of Interferon-gamma inducing factor were significantly higher in the coronary artery disease groups. These results were related to the Th1 inflammatory responses in atherosclerosis and suggest that Interferon-gamma inducing factor is involved both, in initial stages of development of coronary atherosclerosis and in circumstance of plaque destabilization. **Key words:** Interferon-gamma inducing factor, atherosclerosis, coronary artery disease, and inflammation.

Factorul inductor de interferon gamma – biomarker al instabilității plăcii aterosclerotice

Sfrijan Felicia¹, Golieanu Madalina², Mihala Adrian¹, Gotia Smaranda³, Gotia Laura³, Puschita Maria⁴, Ciaci Camelia⁴, Gurban Camelia¹

1. Catedra de Biochimie, UMF "Victor Babeș", Timișoara, România; 2. Cabinet Medical Individual, Galați, România; 3. Catedra de Fiziologie, UMF "Victor Babeș", Timișoara, România; 4. Catedra de Cardiologie, Facultatea de Medicină, Farmacie și Medicină Dentară, Universitatea de Vest "Vasile Goldiș", Arad, România

Scop: Acest studiu a avut ca scop evaluarea concentrațiilor serice ale Factorului inductor de interferon gamma la pacienții cu infarct miocardic acut (IMA), angină instabilă (AIS), angină stabilă (AS), estimarea răspunsului inflamator și prevalența Th1 în boala coronariană. **Material și metode:**

Probele au fost obținute de la pacienți cu IMA (70), AIS (40), AS (50) și de la martori (40). Pentru determinarea concentrațiilor serice ale Factorului inductor de interferon gamma s-a folosit metoda imunoenzimatică (ELISA). **Rezultate:** Comparativ cu lotul martor (0.89 ± 0.15 pg/ml), concentrațiile serice ale Factorului inductor de interferon gamma au fost semnificativ mai mari la toate loturile de pacienți (IMA - 5.87 ± 1.20 pg/ml, $p < 0.05$; AIS - 3.82 ± 0.70 pg/ml, $p < 0.05$; AS - 2.54 ± 0.44 pg/ml, $p < 0.05$). Nu există diferențe semnificative statistic între concentrațiile serice ale Factorului inductor de interferon gamma ale celor două loturi de angine ($p > 0.05$). **Concluzii:** Concentrațiile serice ale Factorului inductor de interferon gamma au fost semnificativ crescute la toți pacienții cu boală coronariană. Acest rezultat este sugestiv pentru prevalența Th1 din inflamația aterosclerotă și sugerează implicarea Factorului inductor de interferon gamma în toate stadiile evolutive ale aterosclerozei. **Cuvinte cheie:** factorul inductor de interferon gamma, ateroscleroză, boala coronariană, inflamație.

P33. Immunohistochemical markers in thyroid lesions and their differential diagnoses: utility of CK19, HBME1 combined with galectin 3 immunostaining

Cornianu Marioara, Golu Ioana, Amzar Daniela, Lazureanu Codruta, Costi Simona, Faur Alexandra, Zosin Ioana

„Victor Babeș” University of Medicine and Pharmacy Timișoara

Background: The histopathological distinction between some types of different thyroid tumors can be difficult even for experienced pathologists. The aim of our work was to study immunohistochemical expression of cytokeratin19 (CK19), galectin-3 (Gal-3) and HBME-1 in thyroid lesions and to assess their usefulness as markers in the differential diagnoses of thyroid nodules.

Material and methods: Formalin-fixed paraffin-embedded tissues from 42 patients with thyroid tumors (18 PTC, 5 FTC, 4 TUMP, 12 FA, 2 papillary hyperplasia), were processed using DAKO En Vision method. After the examination of multiple microscopic fields, the results were expressed semi-quantitatively, according to the estimated percentage of positive tumor cells.

Results: The immunoreaction for CK19 and HBME showed mainly a cytoplasmatic staining pattern. Positive and diffuse immunoreaction was noticed in most of the PTC followed by FTC. PTC metastases also presented an intense positive immunoreaction. 7/12 FA were negative for HBME-1 (75%), and the positive ones presented a weak and focal immunoreaction. In the present study 94% of PTC showed positive immunoreaction with diffuse and moderate pattern (2+), in the cytoplasm and, sometimes, nucleus for galectin 3. Diffuse and weak to moderate cytoplasmatic Gal-3 immunoexpression was noticed in 60% of FTC (3 out of 5 cases). Gal-3 was not expressed in 10/12 FA. The expression rates of the three markers between benign lesions and malignant lesions were statistically significant.

Conclusions: These results indicate that some individual antibodies or a panel of antibodies combined with histopathological analysis can be useful in separating follicular adenoma (FA) from follicular variant of papillary thyroid carcinoma (PTC).

Markerii imunohistochimici în leziunile tiroidiene și diagnosticul lor diferențial: utilitatea imunoreacției CK19, HBME1combinată cu galectina 3

**Cornianu Marioara, Golu Ioana, Amzar Daniela, Lazureanu Codruta, Costi Simona,
Faur Alexandra, Zosin Ioana**

UMF „Victor Babeș” Timișoara

Scopul: Diferentierea histopatologică a tumorilor tiroidiene poate fi dificilă și pentru anatomopatologi cu experiență. În acest studiu am evaluat expresia markerilor imunohistochimici citokeratina 19 (CK19), galectina 3, HBME1 în leziunile tiroidiene și utilitatea acestora în diagnosticul diferențial al nodulilor tiroidieni.

Material și metode: Secțiuni seriate incluse în parafină de la 42 de cazuri de tumori tiroidiene (18 CTP, 3 CTF, 4 TPMI, 12 AF, 2 hiperplazii papilare) au fost analizate prin metoda Dako EnVisson. După examinarea microscopică, rezultatele au fost exprimate semicantitativ, potrivit procentului de celule tumorale pozitive.

Rezultate: Imunoreacția CK19 și HBME1 a evidențiat în principal un pattern de colorare citoplasmatic. Imunoreacția pozitivă și difuză (moderat/intensă) s-a observat în majoritatea CTP, urmată de CTF. De asemenea, imunoreacție pozitivă intensă au prezentat și metastazele din CTP. 7/12 AF au fost negative pentru HBME-1 (75%), iar cele pozitive au avut o imunoreacție slabă și focală.

În studiul nostru, 94% din CTP au prezentat imunoreacție pozitivă difuză și moderată (2+), citoplasmatică și ocazional nucleară pentru galectina 3. În CTF, imunoexpresia Gal-3 a fost de 60% (3 din 5 cazuri). Gal-3 nu s-a exprimat în majoritatea AF, doar 2 din cele 12 cazuri au prezentat o imunoreacție focală (1+).

Intensitatea imunoreacției în noduli benigni versus maligni a prezentat diferențe semnificative statistic, pentru toți cei trei markeri studiați.

Concluzie: Utilizarea acestui panel de markeri și coroborarea rezultatelor obținute cu diagnosticul morfopatologic a indicat o bună valoare diagnostică în diferențiere adenoamelor foliculare de CTPVF.

P34. GSTP1 hypermethylation, a biomarker in the molecular diagnosis of prostate cancer

Dumache Raluca¹, Puiu Maria¹, Bumbăcila Bogdan¹, Anton Gabriela², Cucu Natalia³

1. University of Medicine and Pharmacy "Victor Babeș", Timișoara, România; 2. National Institute of Virology, Bucharest, Romania; 3. Faculty of Biology, University of Bucharest, Romania

Introduction: Prostate cancer is the most frequently diagnosed cancer in the male population and the second leading cause of cancer mortality among men. GSTP1 hypermethylation occurs during carcinogenesis and is considered to be a major event of prostate carcinogenesis. **Materials and methods:** For our study we used tissue and blood samples from 27 patients with the histologically diagnosis of PCa, Gleason score 4 to 7, and 24 patients with the diagnosis of BPH. Patients' age enrolled in our study was 50 to 80 years, and the total PSA values were in a range of 4 to 42 ng/ml. We used the methylation-specific PCR (MSP) methods to detect the GSTP1 hypermethylation in prostate cancer samples. **Results:** GSTP1 promoter hypermethylation was detected in 25 from 27 prostate cancer

samples (92.6%), but it was not detected in samples from patients with benign prostatic hyperplasia.

Conclusion: GSTP1 hypermethylation distinguishes between prostate cancer and benign prostatic hyperplasia and it can be used as a biomarker for prostate cancer screening and early diagnosis.

Keywords: prostate cancer (PCa), benign prostatic hyperplasia (BPH), PSA (prostate specific antigen), glutathione-S-transferase P1 (GSTP1), methylation-specific PCR (MSP).

Hipermetilarea GSTP1, un biomarker în diagnosticul molecular al cancerului de prostată

Dumache Raluca¹, Puiu Maria¹, Bumbăcila Bogdan¹, Anton Gabriela², Cucu Natalia³

1. UMF „Victor Babeș“, Timișoara, România; 2. Institutul Național de Virusologie, București, România; 3. Facultatea de Biologie, Universitatea din București, România;

Introducere: Cancerul de prostată este cel mai frecvent tip de cancer diagnosticat în rândul bărbaților și reprezintă a doua cauză a mortalității în rândul acestora. Hipermetilarea GSTP1 apare în cursul carcinogenezei și reprezintă o etapă importantă în cursul carcinogenezei prostatei. **Material și metode:**

Pentru acest studiu, am folosit probe de sânge și țesut de la un număr de 27 pacienți cu diagnosticul histopatologic de adenocarcinom de prostată, scor Gleason 4-6, și un număr de 24 pacienți cu diagnosticul de hiperplazie benignă de prostată. Vârsta pacienților este între 50-80 ani, pacienții având valori ale PSA total cuprinse între 4-42 ng/ml. Pentru determinarea hipermetilării GSTP1 în produsele biologice am folosit metoda metilării specifice PCR. **Rezultate:** Hipermetilarea GSTP1 a fost detectată în 25 din cele 27 de probe de la pacienții cu CaP (92.6%), dar nu a fost detectată în nici una dintre probele pacienților cu HBP. **Concluzie:** Hipermetilarea GSTP1 poate fi folosită ca biomarker în screeningul CaP și diagnosticarea în stadiu incipient al acestei boli. **Cuvinte cheie:** cancer de prostată (CaP), hiperplazie benignă de prostată (HBP), glutation-S-transferaza P1 (GSTP1), metilare specifică PCR (MSP); antigen specific prostatic (PSA).

P35. Detection of CD24 gene in prostate cancer tissue samples

Dumache Raluca¹, Puiu Maria¹, Kaycsa Adriana¹, Șerban C.¹, Anton Gabriela²

1. „Victor Babeș” University of Medicine and Pharmacy Timișoara; 2. National Institute of Virusology Bucharest

Introduction: Knowledge about molecular alterations in prostate cancer have been increasing over the past years, due to the new discoveries in molecular genetics.

In our study we want to detect by qRT-PCR method, the expression of CD24 gene in prostate cancer tissue and compare it with the benign prostatic hyperplastic tissue.

Material and methods: We collected using needle biopsy tissue samples from 15 patients diagnosed with prostate cancer, with Gleason score 4-7, and total PSA levels between 12-38 ng /ml, and 18 patients diagnosed with benign prostatic hyperplasia, total PSA levels between 4-10 ng/ml.

Results: Over expression of CD24 gene was observed in prostate cancer tissue samples. CD24 gene could be considered a useful biomarker in the detection of prostate cancer from prostate tissue samples.

Keywords: qRT-PCR (quantitative real-time PCR), PCa (prostate cancer), BPH (benign prostatic hyperplasia), CD24 gene, PSA (prostate specific antigen)

Determinarea expresiei genei CD24 în țesutul prostatic malign

Dumache Raluca¹, Puiu Maria¹, Kaycsa Adriana¹, Șerban C.¹, Anton Gabriela²

1. UMF „Victor Babeș” Timișoara; 2. Institutul Național de Virusologie București

Introducere: În ultimii ani noile descoperiri în domeniul geneticii moleculare au adus informații despre alterările moleculare care apar în cancerul de prostată.

În studiul nostru dorim să determinăm folosind metoda RT-PCR cantitativă, expresia genei CD24 în țesutul prostatic malign, comparativ cu cea din țesutul prostatic benign.

Material și metode: Prin puncție biopsie prostatică am obținut țesut prostatic de la 15 pacienți diagnosticați cu cancer de prostată, scor Gleason 4-7, PSA total între 12-38 ng/ml, și 18 pacienți diagnosticatați cu hipertrofie benignă de prostată, și nivelul PSA total între 4-10 ng/ml.

Rezultate: Gena CD24 a fost supraexprimată doar în cazul pacienților cu cancer de prostată. Gena CD24 ar putea fi considerată un biomarker util în diagnosticarea cancerului de prostată din țesutul prostatic.

Cuvinte cheie: Cancer de prostată, gena CD24, PSA (antigen specific prostatic), HBP (hipertrofie benignă de prostată)

P36. Malignant transformation of the epithelial component in Warthin's tumor

Faur Alexandra¹, Lazăr Elena¹, Cornianu Marioara¹, Dema Alis¹, Lăzureanu Codruța¹, Costi Simona¹, Gurban Camelia Vidiță²

1. Dept. of Pathology, „Victor Babeș” University of Medicine and Pharmacy Timișoara; 2. Dept. of Biochemistry, „Victor Babeș” University of Medicine and Pharmacy Timișoara

In 1929, pathologist Aldred Warthin described for the first time the tumor papillary cystadenoma lymphomatosum - since then it was known especially as Warthin tumor. Warthin tumor is a benign salivary neoplasm occurring mainly in the parotid gland, with an epithelial component and a lymphoid stroma. However, rarely, either the epithelial or the lymphoid component of Warthin tumor can undergo malignant transformation. Malignant transformation of the lymphoid component is relatively common but the epithelial malignancy is very rare.

The aim: We present a rare case with *in situ* carcinoma and squamous metaplasia arising in a Warthin tumor of a parotid gland in a 79-year-old man and the differential diagnosis to be considered for this case.

Material and methods: Formalin-fixed paraffin-embedded tissue samples were cut at 4µm and stained using hematoxilin and eosin (HE). For the immunohistochemical evaluation we have used monoclonal antibodies against cytokeratin (CK) (MNF 116, Dako) and epithelial membrane antigen (EMA)(E29, Dako) with EnVision (K5007, Dako) visualisation system.

Results: On HE stain, Warthin tumor was composed of papillary cystic structures lined by a bilayered oncocytic epithelium and lymphoid stroma and areas with squamous metaplasia and *in situ* carcinoma. Immunohistochemically, the benign squamous metaplastic areas and the *in situ* carcinoma were positive at EMA and CK.

Conclusion: The epithelial malignancy was labeled with CK and EMA. The main differential diagnosis in this case must be made with an invasive squamous carcinoma and metastasis from such primary carcinoma of another site.

Malignizarea componentei epiteliale în tumora Warthin

Faur Alexandra¹, Lazăr Elena¹, Cornianu Marioara¹, Dema Alis¹, Lăzureanu Codruța¹, Costi Simona¹, Gurban Camelia Vidița²

1. Disciplina de Morfopatologie, UMF „Victor Babeș” Timișoara; 2. Disciplina de Biochimie, UMF „Victor Babeș” Timișoara

Patologul Aldred Warthin descrie pentru prima dată în 1929, o formațiune tumorală, pe care o denumește papillary cystadenoma lymphomatosum - de atunci, această tumoră este cunoscută mai ales ca tumora Warthin. Tumora Warthin este o neoplazie benignă a glandelor salivare care interesează în principal glanda parotidă, fiind alcătuită dintr-o componentă epitelială și o stromă limfoidă. Cazurile cu malignizare a componentei stromale limfoide sunt întâlnite mai frecvent, pe când tumorile Warthin malignizate pe linie epitelială sunt neobișnuite.

Scop: Prezentăm cazul unui pacient de 79 de ani cu tumoră Warthin cu metaplasie scuamoasă, pe care s-a dezvoltat un carcinom *in situ*, discutând și diagnosticul diferențial care se impune în asemenea situații.

Material și metode: Fragmentele tisulare au fost fixate în formol, incluse în parafină, secționate la o grosime de 4µm și colorate cu hematoxilină și eozină (HE). Pentru evaluarea imunohistochimică am utilizat anticorpuri monoclonali: citokeratină (CK) (MNF 116, Dako) și antigenul membranar epitelial (EMA) (E29, Dako), folosind sistemul de vizualizare EnVision (K5007, Dako).

Rezultate: pe colorația HE tumora Warthin este alcătuită din structuri chistice papilare mărginite de un strat epitelial dublu de oncoci și o stromă limfoidă. Asociat, sunt prezente zone de carcinom *in situ* și metaplasie scuamoasă. Imunohistochimic, ariile benigne cu metaplasie scuamoasă și cele de carcinom *in situ* au fost pozitive la CK și EMA.

Concluzii: diagnosticul de neoplazie de origine epitelială a fost stabilit imunohistochimic prin pozitivarea la CK și EMA. Diagnosticul diferențial se impune cu un carcinom scuamocelular invaziv sau metastazele parotidiene ale unui asemenea carcinom.

P37. Left ventricular hypertrophy induced by aortic constriction in rats – electrical and mechanical findings

Scridon Alina, Dobrea Dan, Perian Marcel, Serban Răzvan C.

Department of Physiology, University of Medicine and Pharmacy and Emergency Institute of Cardiovascular Diseases and Transplant, Adults Cardiology Clinic I, Targu Mures, Romania

Background: As response to a large variety of stimuli the myocardium adapts through the hypertrophy of individual muscle cells. The mechanisms involved in pathological left ventricular hypertrophy (LVH) are far from clear.

Aim of the study: The purpose of this study was to evaluate the electrical and mechanical changes associated with pathological LVH.

Material and methods: Thirty Wistar rats were randomly assigned into two groups: control group (CONT) and the group with aortic constriction (PATH). For PATH, the aorta was isolated above the origin of renal arteries, a needle of 0.6gauge was placed longitudinally and the aorta was reduced to the dimensions of the needle. Cardiac weight, LV weight/body weight ratio and histological measurement of myocytes were used to confirm the presence of LVH. Action potential duration to 90, 75, 50 and 25% of complete repolarization (APD) and the velocity of depolarization ($\Delta p/\Delta t$) were measured as electrical parameters, and peak tension (PT), time to peak tension (TPT) and time to half relaxation (T1/2R) as mechanical parameters. To investigate the possible role of excitation-contraction coupling alteration in pathological LVH we compared simultaneously recorded mechanical and electrical activity of normal and hypertrophied muscles.

Results: For PATH the criteria for LVH were fulfilled. The APD recorded from PATH rats was substantially longer than that recorded from CONT. The AP prolongation was based especially on the prolongation of repolarization (APD90 increased by 81.6%, $p<0.0001$). PATH also showed a significant increase in PT, TPT and T1/2R ($p<0.0001$).

PARAMETER	CONT	PATH
APD90 (msec)	75.44±1.03	136.98±0.44
APD75 (msec)	45.44±0.67	78.11±0.45
APD50 (msec)	21.12±0.61	26.06±0.59
APD25 (msec)	13.02±0.83	14.41±0.38
$\Delta p/\Delta t$ (V/sec)	15.49±0.62	13.61±0.23
PT (μN)	485.6±2.28	880.06±1.66
TPT (msec)	87.96±2.30	105.02±0.21
T1/2R (msec)	126.02±2.76	220.06±1.43

Electrical and mechanical parameters measurements

There was as significant correlation between APD75, APD50 and all three parameters of contraction for CONT and only with TPT and T1/2R for PATH.

Conclusions: The APD prolongation based on the prolongation of repolarization in PATH could explain cardiac arrhythmias noticed in patients with pathological LVH. The fact that PATH showed a significant correlation between only two parameters of contraction and APD suggests that this state may develop alterations in electro-mechanical coupling.

Hipertrofia ventriculară stângă indusă prin constrictie de aortă – modificări ale fenomenelor electrice și mecanice

Scridon Alina, Dobreanu Dan, Perian Marcel, Șerban Răzvan C.

Disciplina de Fiziologie, Universitatea de Medicină și Farmacie și Institutul de Urgență de Boli Cardiovasculare și Transplant, Clinica Cardiologie I Adulți, Târgu Mureș, România

Introducere: Ca răspuns la o largă varietate de stimuli miocardul se adaptează necesităților crescute prin hipertrofia miocitelor. Mecanismele implicate în hipertrofia ventriculară stângă (HVS) patologică sunt departe de a fi complet elucidate.

Scopul studiului: A fost acela de a evalua modificările fenomenelor electrice și mecanice asociate HVS patologice.

Material și metodă: Treizeci de șobolani Wistar au fost distribuiți în două grupuri: grupul control (CONT) și grupul cu constrictie aortică (PATH). În cazul PATH, aorta a fost izolată deasupra emergenței arterelor renale, un ac de 0,6gauge a fost plasat longitudinal, iar aorta a fost redusă la dimensiunile acelui. Masa cardiacă, raportul masă VS/masă corporală și o serie de măsurători histologice ale miocitelor au fost utilizate pentru a confirma dezvoltarea HVS. Ca parametrii electrii au fost măsurați durata potențialului de acțiune până la atingerea a 90, 75, 50 și 25% din repolarizarea completă (APD) precum și viteza depolarizării ($\Delta p/\Delta t$), iar ca parametrii mecanici amplitudinea maximă a contracției (PT), timpul până la atingerea amplitudinii maxime a contracției (TPT) și timpul până la jumătatea relaxării (T1/2R). Pentru a investiga posibilul rol al alterării cuplului excitație-contractie, am comparat activitatea mecanică și electrică, înregistrate simultan la mușchii papilari normali și hipertrofați.

Rezultate: Pentru PATH au fost îndeplinite criteriile de HVS. APD înregistrată pentru PATH a fost semnificativ mai mare decât cea înregistrată pentru CONT. Alungirea AP s-a bazat mai ales pe alungirea repolarizării (APD90 a crescut cu 81,6%, $p<0,0001$). Pentru PATH am obținut deosemenea alungirea semnificativă a PT, TPT și T1/2R ($p<0,0001$).

PARAMETRU	CONT	PATH
APD90 (msec)	75,44±1,03	136,98±0,44
APD75 (msec)	45,44±0,67	78,11±0,45
APD50 (msec)	21,12±0,61	26,06±0,59
APD25 (msec)	13,02±0,83	14,41±0,38
$\Delta p/\Delta T$ (V/sec)	15,49±0,62	13,61±0,23
PT (μN)	485,6±2,28	880,06±1,66
TPT (msec)	87,96±2,30	105,02±0,21
T1/2R (msec)	126,02±2,76	220,06±1,43

Parametrii electrii și mecanici

Pentru CONT am obținut o corelație semnificativă între APD75, APD50 și toți cei trei parametri ai contractiei, în timp ce PATH a prezentat o corelație semnificativă a APD doar cu TPT și T1/2R.

Concluzii: Alungirea APD bazată pe alungirea repolarizării la PATH ar putea explica apariția aritmiiilor cardiace observate la pacienții cu HVS patologică. Faptul că PATH a prezentat o corelație

semnificativă între doar doi parametrii ai contractiei și APD sugerează faptul că această stare s-ar putea însoții de alterări ale cuplului electro-contractil.

P38. Biobanking

Saizu Ana Magdalena¹, Gheoca Roxana²

1. Timișoara Districtual Emergency Hospital Clinics; 2. Timișoara County Emergency Hospital Clinics

Biobanks are organised collections of biologic samples and associated data, which are gathered, stored and processed, with a scientific purpose.

The term “biobank” is relatively new, being mentioned for the first time in PubMed in 1996, but its frequency increased after 2000.

The number of biobanks is up to few hundred millions and is rapidly and continuously growing.

At first, each biobank was a support for a research program which had a certain disease as a theme and required the study of only one type of tissue. To reduce the costs, today, biobanks are collecting many types of biologic material and data.

The biobank must secure the confidentiality of the donor's information. These are personal, familial or social details, which have the potential to discriminate or stigmatise the person.

A biobank is a link between two elements. On one side, there are the donors, sick or healthy individuals, on the other, there are the scientists who are researching, starting from the donors samples.

With the development of the biotechnologies and medical research, the role of the biobanks is becoming greater and more important. This is raising some issues, one of them being the management.

Owing to the increasing interest in medical research and the benefic results concerning the health, it is imperative to find practical solutions to the problems associated with the management of a biobank: the protection of the researchers integrity, as well as the guarantee of the confidentiality of the data which brings the information.

Biobănci

Saizu Ana Magdalena¹, Gheoca Roxana²

1. Spitalul Clinic Municipal de Urgență Timișoara; 2. Spitalul Clinic Județean de Urgență Timișoara

Biobăncile sunt colecții organizate de probe biologice și de date asociate acestora care sunt colectate, stocate și procesate în scop științific.

Termenul de biobancă este relativ nou, el a apărut pentru prima dată în PubMed în 1996, dar frecvența sa a început să crească după 2000.

Numărul acestora se ridică la câteva sute de milioane și crește în continuu și rapid.

La început fiecare biobancă era un suport pentru un program de cercetare care avea ca temă o anumită boală și necesita studiul numai a unui anumit țesut. Pentru a reduce costurile, astăzi, biobăncile colectează mai multe tipuri de materiale biologice și date.

Biobanca trebuie să asigure confidențialitatea datelor donorului. Aceste date sunt de natură personală, familială sau socială și au potențialul de a discrimina și stigmatiza persoana.

O biobancă este o legatură între două medii. Pe de o parte sunt donatorii, fie ei bolnavi sau indivizi sănătoși, pe de cealaltă parte sunt oamenii de știință care fac cercetări plecând de la aceste probe.

O dată cu dezvoltarea biotecnologiilor și a cercetării medicale devine tot mai mare și mai important rolul biobăncilor. Acestea ridică la rândul lor o serie de probleme. Una dintre ele este managementul.

O dată cu creșterea interesului în cercetarea medicală și a rezultatelor benefice care decurg de aici asupra sănătății, este imperativ a găsi soluții practice la problemele asociate managementului unei biobănci: protejarea integrității cercetătorilor la fel de bine ca și garantarea confidențialității datelor celor care aduc informația.

P39. E-health

Saizu Ana Magdalena¹, Gheoca Roxana²

1. Timișoara Districtual Emergency Hospital Clinics; 2. Timișoara County Emergency Hospital Clinics

Information Technology is everywhere around us. It is the one that developed the concept of e-health.

This new system must not be considered as the saving answer which will repair the medical system. Information and communication can only be tools in the process of rehabilitation of the medical system.

E-health is nothing more than digital transformation of the medical practice, the highest class of the medical industry. This way, even in the medical world, the Internet is becoming the last frontier.

Electronic resources of medical data are useful when they are accessible. Using these resources means having the capacity to read, to use a computer, to search for information, to understand the medical data, and to apply it in the context.

But all these are not enough. An understanding of science is needed. One must know how to find that information, which will be the ground of a decision, in a multitude of information.

The necessary information, which e-health offers, must be understood, processed, and then used in the process of making an informed decision.

The benefits and risks of e-health are unclear for the patients, and for the doctors as well. It is expected that e-health will be an important part of preventing diseases, in making a medical decision and in the management of chronic illnesses.

The modern patient is interested in his health, is asking for medical information and wants to be a part of making the medical decision, all these increasing the development of e-health.

E-Sănătate

Saizu Ana Magdalena¹, Gheoca Roxana²

1. Spitalul Clinic Municipal de Urgență Timișoara; 2. Spitalul Clinic Județean de Urgență Timișoara

Tehnologia informației este peste tot în jurul nostru. Ea este cea care a dezvoltat conceptul de e-health.

Acest nou sistem apărut nu trebuie privit ca soluția salvatoare care va repara sistemul medical. Informația și comunicarea pot fi doar o unealtă în procesul de reabilitare a sistemului medical.

E-health nu este nimic mai mult decât transformarea digitală a practicăi medicale, latura cea mai elitistă a industriei medicale. Internetul devine astfel și în domeniul medical ultima frontieră.

Resursele electronice de informații medicale sunt folosite atunci când ai acces la ele. A folosi aceste resurse necesită să ai capacitatea de a citi, de a folosi un computer, de a căuta informații, de a înțelege informația medicală și a pune-o în context.

Dar toate acestea nu sunt de ajuns. Este necesară o înțelegere a științei. Trebuie să știi să găsești acea informație, care să fie baza unei decizii, într-o multitudine de informații.

Informația de care ai nevoie și pe care e-health îți oferă, trebuie să fie înțeleasă, procesată și apoi folosită în procesul de luare a unei decizii informate.

Beneficiile și risurile e-health-ului sunt neclare atât pentru pacienți cât și pentru medici. Se așteaptă ca e-health-ul să aibă un cuvânt important de spus în prevenția bolilor, în alegerea unei decizii medicale și în managementul bolilor cronice.

Pacientul modern e interesat de sănătatea sa, cere informație medicală, vrea să participe la decizia medicală, toate acestea nu fac decât să accentueze și mai mult dezvoltarea e-health-ului.

Posters 4. Biochemistry

P40. Clinico-biological screening of a diabetic juvenile population in order to assess markers of periodontal injury

Foia Liliana¹, Ungureanu Didona¹, Dimitriu Cristina¹, Toma Vasilica², Zlei Mihaela³, Anisiei Ecaterina³, Filip Florina⁴

1. Dept. of Biochemistry, University of Medicine and Pharmacy "Gr. T. Popa", Iași; 2. Dept. of Pedodontics, University of Medicine and Pharmacy "Gr. T. Popa", Iași; 3. Dept. of Immunology and Genetics, University Clinic Hospital "Sf. Spiridon", Iași; 4. Dept. of Family Medicine, University of Medicine and Pharmacy "Gr. T. Popa", Iași

Introduction: Over the last years, there has been an emerging interest in the close relationship between diabetes mellitus (DM) – and oral health. In this view, the present study intended to scan the activity of periodontal disease (PD) in a juvenile population with DM, through the monitoring of soluble chemical mediators in the gingival crevicular fluid (GCF) and clinical index evaluation. **Materials and methods:** Clinical (periodontal status) and laboratory investigations examining the interrelation between DM and PD were performed upon 48, systemically healthy (n=24) and insulin-dependent diabetic (n=24) children and teenagers, both with various degrees of periodontal alteration. Triggered by the hyperglycemic status of the diabetic patient, the synergistic inflammatory reactions modulated by some released chemical mediators are probably the final cause of periodontal area destruction. Investigation of the local (GCF) and systemic expression of the interleukin 1 β and tumor necrotic factor - TNF α has been achieved by flow cytometry protocols. **Results:** The present study allowed identification of some real immuno-biochemical disequilibrium in the diabetes - periodontal tissue injury. Correlations between apoptotic potential of some cytokines with multivariable analysis suggest that clinical attachment loss in diabetic individuals could be, at least partly attributed to higher levels of TNF α and IL-1 β (pattern that has been evoked both at the periodontal and systemic level). **Conclusions:** Considering the increasing evidence that there is a bidirectional relationship between DM and PD, recognition and therapeutic manipulation of the immune system by targeted modulation of some specific cytokines could be one of the premises in the diabetic child and teenager standard care. **Key words:** dia-

betes mellitus, periodontal disease, children and teenagers, gingival fluid, interleukin 1 β , tumor necrotic factor α .

Screening clinico-biologic într-o populație Tânără cu diabet zaharat pentru determinarea unor markeri de afectare parodontală

Foia Liliana¹, Ungureanu Didona¹, Dimitriu Cristina¹, Toma Vasilica², Zlei Mihaela³, Anisiei Ecaterina³, Filip Florina⁴

1. Dept. de Biochimie, UMF "Gr. T. Popa", Iași; 2. Dept. de Pedodonție, UMF "Gr. T. Popa", Iași; 3. Dept. de Imunologie și Genetică, Spitalul Clinic Universitar "Sf. Spiridon", Iași; 4. Dept. de Medicină de Familie, UMF "Gr. T. Popa", Iași

Introducere: În ultimii ani se înregistrează un interes deosebit în aprecierea relației binomiale dintre diabetul zaharat (DZ) și sănătatea orală. În studiul de față ne-am propus investigarea statusului parodontal la o populație Tânără cu DZ, prin monitorizarea clinică și imunobiochimică (la nivel sistemic și local). **Material și metodă:** Examenul clinic (aprecierea statusului parodontal) și investigațiile de laborator (în sangele periferic, și local în fluidul gingival - GCF) au fost realizate pe două loturi (48 copii și adolescenți), 24 fără afectare sistemică și 24 cu DZ, ambele cu variate grade de alterare parodontală. Investigarea locală și sistemică a răspunsului imuno-inflamator generat în contextul diabetic, a vizat dozarea interleukinei 1 β (IL-1 β) și a factorului de necroză tumorală (TNF α), prin tehnici de flowcitometrie. **Rezultate:** Studiul de față permite evaluarea dezechilibrului imunobiochimic generat de afectarea țesutului parodontal în contextul bolii diabetice. Corelațiile între potențialul apoptotic al unora dintre citokine în cadrul analizei multivariabile sugerează că pierderea de atașament clinic la copiii și adolescenții cu DZ, poate fi, cel puțin în parte, atribuită nivelului crescut de TNF α și IL-1 β (aspect regăsit atât la nivel sistemic cât și local). **Concluzii:** Având în vedere confirmarea prin studiul markerilor imunobiochimici la nivelul GCF, a interrelației DZ - boala parodontală (BP), putem concluziona că recunoașterea și manipularea terapeutică a sistemului imun, prin modularea țintită a unor citokine specifice, poate constitui una din premizele standardului de îngrijire la copilul și adolescentul diabetic. **Cuvinte cheie:** diabet zaharat, boală parodontală, copil și adolescent, fluid gingival, interleukina 1 β , factorul de necroză tumorală.

P41. Markers of bone turnover in postmenopausal osteoporosis

Gurban Camelia¹, Gotia Smaranda², Gotia Laura², Savescu Iasmina³, Ciacli Camelia⁴, Puschita Maria⁴, Erdelean V.⁵, Sfrijan Felicia¹

1. Biochemistry Dept., "Victor Babeș" University of Medicine and Pharmacy, Timișoara, Romania; 2. Physiology Dept., "Victor Babeș" University of Medicine and Pharmacy, Timișoara, Romania; 3. TST-SHS Dept., "Banat" University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, Timișoara, Romania; 4. Immunology Dept., Faculty of Medicine, Pharmacy and Dental Medicine, „Vasile Goldiș" Western University, Arad, Romania; 5. Municipal Clinical Hospital, Clinical Laboratory Department, Timișoara, Romania

Aim: The aim of this study was to determine the serum levels of soluble receptor activator of nuclear factor-kB ligand (sRANKL), osteoprotegerin (OPG), bone alkaline phosphatase (BAP), osteo-

calcitonin (OC) and estradiol (E2) in the process of bone turnover of postmenopausal women with osteoporosis. **Material and methods:** The study was performed on two groups of patients with postmenopausal osteoporosis, with different degrees of estrogenic deprivation: the group I (below 15 years of estrogenic deprivation) and the group II (over 15 years of estrogenic deprivation), compared with a control group (postmenopausal women without osteoporosis). The serum levels of the enunciated markers were measured by ELISA technique. The bone mineral density evaluation was made using DEXA methods with the assessment of T score (sT spine). **Results:** The serum levels of sRANKL are significantly higher in postmenopausal women with osteoporosis and demonstrating osteoclastogenesis activation versus postmenopausal women without osteoporosis. The serum levels of OPG and OC in postmenopausal women with osteoporosis were increased in group I, attesting the osteoblastic activation, and decreased in group II, secondary to the stimulation of osteoblastic apoptosis. The serum levels of BAP in postmenopausal women with osteoporosis were increased in group I and II, demonstrating the osteoblastic activation. The serum levels of E2 are significantly lower in both groups, demonstrating a decreased function of estrogen receptor ER α and ER β , expressed by osteoblasts. **Conclusions:** This unbalance is producing a decrease of bone formation and an increase of bone resorting, being favorable to bone demineralization. **Key words:** bone markers, bone turnover.

Markeri ai turnover-ului osos din osteoporoză postmenopauzală

Gurban Camelia¹, Gotia Smaranda², Gotia Laura², Savescu Iasmina³, Ciacli Camelia⁴, Puschita Maria⁴, Erdelean V.⁵, Sfrijan Felicia¹

1. Catedra de Biochimie, UMF "Victor Babeș", Timișoara, România; 2. Catedra de Fiziologie, UMF "Victor Babeș", Timișoara, România; 3. Catedra TST-SHS, Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară a Banatului, Timișoara, România; 4. Catedra de Imunologie, Facultatea de Medicină, Farmacie și Medicină Dentară, Universitatea de Vest "Vasile Goldiș", Arad, România; 5. Laboratorul Clinic de Analize, Spitalul Clinic Municipal, Timișoara, România

Scopul: Scopul acestui studiu este determinarea nivelelor serice ale ligand-ului solubil al receptorului activator al factorului nuclear kB (sRANKL), osteoprotegerina (OPG), fosfataza alcalină specifică osului (BAP), osteocalcina (OC) și estradiol (E2) implicați în turnover-ul osos din osteoporoză postmenopauzală. **Materiale și metode:** Studiul a fost efectuat pe 2 loturi de paciente cu osteoporoză postmenopauzală (în funcție de perioada de deprivare estrogenică): grupul I (mai puțin de 15 ani deprivare estrogenică) și grupul II 2 (mai mult de 15 ani deprivare estrogenică), comparativ cu un lot martor (paciente la menopauza fără osteoporoză). Nivelele serice ale acestor markeri s-au determinat prin tehnica imunoenzimatică ELISA. Densitatea minerală osoasă se evaluează utilizând metoda DEXA, cu măsurarea scor-ului T la nivel vertebral (sT spine). **Rezultate:** Nivelele serice ale sRANKL au fost semnificativ ridicate în osteoporoză postmenopauzală și demonstrează activarea osteoclastogenezei, comparativ cu femeile în postmenopauză fără osteoporoză. În osteoporoză postmenopauzală nivalele serice ale OPG și OC sunt crescute (grupul I) demonstrând activarea osteoblastelor și sunt scăzute (grupul II) demonstrând stimularea apoptozei osteoblastelor. Nivelele serice crescute ale BAP demonstrează activarea osteoblastelor în osteoporoză postmenopauzală (grupul I și II), prin creșterea turnover-ului osos. Nivelele serice ale E2 au fost semnificativ scăzute la ambele grupuri și demonstrează reducerea activității receptorilor estrogenici ERα și ERβ, exprimați la nivel osteoblastic. **Concluzii:** Acest dezechilibru produce o reducere a formării osoase și o creștere a resorbției osoase, favorizând astfel demineralizarea osoasă. **Cuvinte cheie:** markeri osoși, turnover-ul osos.

P42. Bone markers and calcium ions involved in bone remodeling at postmenopausal osteoporosis

Gurban Camelia¹, Gotia Smaranda², Gotia Laura², Savescu Iasmina³, Ciacli Camelia⁴, Puschita Maria⁴, Erdelean V.⁵, Sfrijan Felicia¹

1. Biochemistry Dept., "Victor Babeș" University of Medicine and Pharmacy, Timișoara, Romania; 2. Physiology Dept., "Victor Babeș" University of Medicine and Pharmacy, Timișoara, Romania; 3. TST-SHS Dept., "Banat" University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, Timișoara, Romania; 4. Immunology Dept., Faculty of Medicine, Pharmacy and Dental Medicine, „Vasile Goldiș" Western University, Arad, Romania; 5. Municipal Clinical Hospital, Clinical Laboratory Department, Timișoara, Romania

Objectives: To analyze if serum levels of bone alkaline phosphatase (BAP), osteocalcin (OC), serum and bone levels of Ca(2+) are elevated at postmenopausal women with osteoporosis. **Material**

and methods: The serum levels of the BAP and OC were measured by ELISA technique, serum levels of the Ca(2+) were measured by Vitros Ca Slides quantitative technique and bone levels of the Ca(2+) were measured by the bone flame atomic absorption spectrometry analyzed (FAAS). **Results:** In cohort 1: BAP were 13.76 ± 0.6 µg/ml, OC were 20.12 ± 0.87 ng/ml, serum levels of Ca(2+) were 5.39 ± 0.08 mg/dl and bone levels of Ca(2+) were 10.65 ± 0.03 mg/g of bone. In cohort 2: BAP were 11.88 ± 0.38 µg/ml, OC were 15.12 ± 1.55 ng/ml, serum levels of Ca(2+) were 4.12 ± 0.05 mg/dl and bone levels of Ca(2+) were 11.63 ± 0.14 mg/g of bone. In control group: BAP were 8.68 ± 0.44 µg/ml, OC were 16.22 ± 1.62 ng/ml, serum levels of Ca(2+) were 4.84 ± 0.08 mg/dl and bone levels of Ca(2+) were 14.24 ± 0.13 mg/g of bone. **Conclusions:** The increased serum levels of BAP demonstrate osteoblasts' activation, which will increase significantly bone remodeling (cohort 1 and 2). Increased serum levels of OC demonstrates osteoblasts' activation (cohort 1), and decreased serum levels of OC demonstrates osteoblasts' apoptosis stimulation (cohort 2), associated with estrogen deficiency postmenopausal installed. The serum levels of Ca(2+) transitory increase as a result of bone demineralization through hidroxiapatite microcrystal solubilization and mobilization of those ions in the circulating torrents. Decreased calcium ions at bone level have as a consequence localized bone demineralization accentuation encouraging the appearance of osteoporosis bone microfractures.

Markerii osoși și ionii de calciu implicați în remodelarea osoasă în osteoporoza postmenopauzală

Gurban Camelia¹, Gotia Smaranda², Gotia Laura², Savescu Iasmina³, Ciacli Camelia⁴, Puschita Maria⁴, Erdelean V.⁵, Sfrijan Felicia¹

1. Catedra de Biochimie, UMF "Victor Babeș", Timișoara, România; 2. Catedra de Fiziologie, UMF "Victor Babeș", Timișoara, România; 3. Catedra TST-SHS, Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară a Banatului, Timișoara, România; 4. Catedra de Imunologie, Facultatea de Medicină, Farmacie și Medicină Dentară, Universitatea de Vest "Vasile Goldiș", Arad, România; 5. Laboratorul Clinic de Analize, Spitalul Clinic Municipal, Timișoara, România

Obiective: Analizarea nivelelor serice ale fosfatazei alcaline osoase (BAP), osteocalcinei (OC), nivelelor serice și osoase ale ionilor de calciu, Ca(2+) sunt importante la femeile în postmenopauză cu osteoporoză. **Materiale și metode:** Nivelurile serice ale BAP și OC sunt măsurate prin tehnica ELISA, nivelurile serice ale Ca(2+) sunt măsurate prin tehnica biochimică colorimetrică uscată, Vitros Ca, iar nivelurile osoase ale ionilor Ca(2+) sunt măsurate prin tehnica spectrofotometriei de absorție atomică (FAAS). **Rezultate:** La lotul 1: BAP a fost 13.76 ± 0.6 µg/ml, OC a fost 20.12 ± 0.87 ng/ml, nivelurile serice ale Ca(2+) au fost 5.39 ± 0.08 mg/dl și nivelurile osoase ale Ca(2+) au fost 10.65 ± 0.03 mg/g os. La lotul 2: BAP a fost 11.88 ± 0.38 µg/ml, OC a fost 15.12 ± 1.55 ng/ml, nivelurile serice ale Ca(2+) au fost 4.12 ± 0.05 mg/dl și nivelurile osoase ale Ca(2+) au fost 11.63 ± 0.14 mg/g os. La grupul control: BAP a fost 8.68 ± 0.44 µg/ml, OC a fost 16.22 ± 1.62 ng/ml, nivelurile serice ale Ca(2+) au fost 4.84 ± 0.08 mg/dl și nivelurile osoase ale Ca(2+) au fost 14.24 ± 0.13 mg/g os. **Concluzii:** Nivelurile serice crescute ale BAP demonstrează activarea osteoblastelor, cu o creștere semnificativă a remodelării osoase (lotul 1 și 2). Nivelurile serice crescute ale OC demonstrează activarea osteoblastelor (lotul 1), iar nivelurile serice scăzute ale OC demonstrează stimularea apoptozei osteoblastelor (lotul 2), asociate cu deficitul estrogenic instalat postmenopauzal. Nivelurile serice ale Ca(2+) crescute tranzitoriu ca rezultat al demineralizării osoase prin solubilizarea microcristalelor de hidroxiapatită și mobilizarea lor în torrentul circula-

or. Ionii Ca(2+) scad la nivel osos ca o consecință demineralizării osoase localizate, favorizând apariția de microfracturi osoase osteoporotice.

P43. The osteoprotegerin and bone alkaline phosphatase - immunological markers of osteosynthesis in psoriatic arthritis

Ciacli Camelia¹, Gligor Ramona², Gurban Camelia³, Sitariu Anca⁴

1. Dept. of Immunology, Faculty of Medicine, Pharmacy and Dental Medicine, „Vasile Goldiș” Western University, Arad; 2. Dept. of Biochemistry, Faculty of Medicine, Pharmacy and Dental Medicine, „Vasile Goldiș” Western University, Arad; 3. Dept. of Biochemistry, University of Medicine and Pharmacy „Victor Babeș”, Timișoara; 4. Faculty of Medicine, Pharmacy and Dental Medicine, „Vasile Goldiș” Western University, Arad – student

Introduction: In our study we evaluated the blood concentration of osteoprotegerin (OPG) and bone alkaline phosphatase (bone-ALP) in psoriatic arthritis. **Material and methods:** Our study was made on two patient groups. Group 1 consisting of 27 patients diagnosed with psoriatic arthritis based on CASPAR criteria, group 2 consisting of 21 patients diagnosed with rheumatoid arthritis, based on ARA criteria and the control group (healthy patients). The OPG and bone-ALP serum levels were quantified by sandwich Elisa immunoenzymatic assay. **Results and discussion:** In psoriatic arthritic patients, the OPG ($p_1 < 0.003$ - statistically very important) and bone-ALP ($p_2 < 0.002$ - statistically very important) serum level increases more than in normal individuals, but there are more reduced at patients with rheumatoid arthritis which corresponds with clinic reality of bone synthesis that is trying to counteract the bone destruction in those disorders. The increase in OPG and Bone-ALP serum level induces the production of bone matrix parallel to the bone destruction mediated by RANKL. **Conclusions:** Our study proves that the OPG and bone-ALP represents a marker for the activation of osteosynthesis, which takes place in bone remodeling process in psoriatic arthritis. The monitoring of psoriatic arthritis patients by early determination of OPG and bone-ALP serum levels, bone metabolism marker (have specific role in bone remodeling), allows a precise evaluation of the disease activity, and, in the future, could be a criteria for initializing the specific, targeting therapy. **Keywords:** osteosynthesis, osteoprotegerin, bone alkaline phosphatase, psoriatic.

Osteoprotegerina și fosfataza alcalină osoasă - markeri imunologici ai osteosintezei în artrita psoriazică

Ciacli Camelia¹, Gligor Ramona², Gurban Camelia³, Sitariu Anca⁴

1. Dept. de Imunologie, Facultatea de Medicină, Farmacie și Medicină Dentară, Universitatea de Vest “Vasile Goldiș”, Arad; 2. Dept. de Biochimie, Facultatea de Medicină, Farmacie și Medicină Dentară, Universitatea de Vest “Vasile Goldiș”, Arad; 3. Dept. de Biochimie, UMF ”Victor Babeș”, Timișoara; 4. Facultatea de Medicină, Farmacie și Medicină Dentară, Universitatea de Vest “Vasile Goldiș”, Arad - student

Obiective: În acest studiu am evaluat nivelul sanguin al markerilor osteosintezei respectiv, osteoprotegerina (OPG) și fosfataza alcalină osoasă (FA-osoasă) la pacienții cu artrită psoriazică. **Material și metodă:** În studiu au fost inclusi 27 pacienți cu artrită psoriazică diagnosticați pe baza criteriilor CASPAR (lotul 1), 21 pacienți cu artrită reumatoidă diagnosticați pe baza criteriilor ARA (lotul 2) și

20 voluntari sănătoși (lotul 3). Nivelul sangvin al osteoprotegerinei și cel al fosfatazei alcaline osoase a fost cuantificat prin metoda ELISA. **Rezultate:** În urma studiului întreprins de noi s-a evidențiat creșterea importantă a concentrației serice a osteoprotegerinei ($p_1 < 0.003$ - intens semnificativ statistic) și a fosfatazei alcaline osoase ($p_2 < 0.002$ - intens semnificativ statistic) la pacienții cu artrită psoriazică comparativ cu martorii sănătoși, însă mai redusă decât la pacienții cu artrită reumatoidă ceea ce corespune cu realitatea clinică a sintezei osoase care încearcă să contracareze distrucția osoasă din cadrul acestor afecțiuni. Creșterea concentrației serice a osteoprotegerinei și a fosfatazei alcaline osoase reprezintă markeri ai sintezei osoase crescute care are loc în artrita psoriazică. **Concluzii:** Studiul nostru a demonstrat că cei doi markeri ai osteosintezei, osteoprotegerina și fosfataza alcalină osoasă reprezintă markeri osteogeni ai remodelării osoase cu prevalență ai sintezei osoase și ei au o valoare orientativă asupra procesului de osteosintează din artrita psoriazică, o valoare prognostică și aplicabilitate clinică în depistarea pacienților care pot beneficia precoce de terapie specifică înaintea apariției complicațiilor. **Cuvinte cheie:** osteosinteza, artrita psoriazică, osteoprotegerina serică, fosfataza alcalină serică.

P44. Importance of the determination of bone alkaline phosphatase in postmenopausal osteoporosis

Bonte Diana Camelia¹, David Dana Liana¹, Lighezan Rodica², Zosin Ioana³, Anghel Andrei¹

1. Biochemistry Dept., "Victor Babeș" University of Medicine and Pharmacy, Timișoara; 2. Histology Dept., "Victor Babeș" University of Medicine and Pharmacy, Timișoara; 3. Endocrinology Dept., "Victor Babeș" University of Medicine and Pharmacy, Timișoara

Introduction: Bone alkaline phosphatase (BAP) is an enzyme which plays an important role in the bone formation and in mineralization. It reflects the metabolic status of osteoblasts. **Objectives:** to determine the usefulness of the BAP measurement in serum for the monitoring of the therapy efficiency in osteoporosis patients. **Materials and method:** The study included a group of 34 patients suffering from postmenopausal osteoporosis, confirmed by DEXA (group 1), undergoing a treatment with bisphosphonates, and a control group (2): 20 postmenopausal women, not suffering from osteoporosis. The serum level of BAP was evaluated for both groups (ELISA), at the beginning of the study, then after 6 and 12 months. The efficiency of the therapy for the study group was evaluated according to the DEXA method, after 12 months of treatment. **Results:** $BAP_{0/6/12}$ ($\mu\text{g/L}$) - group 1: $15.6669 \pm 5.967184 / 12.56637 \pm 3.536284 / 12.2017 \pm 3.302395$. $BAP_{0/12}$ ($\mu\text{g/L}$) - group 2: $12.1893 \pm 3.15364 / 12.16475 \pm 3.26375$. **Discussion:** The initial BAP values were significantly higher in osteoporosis patients. A highly significant negative correlation was established between the values of BAP and the BMD ($p=0.01$). In patients where the BMD was high (but under treatment), the BAP values showed a significant decrease at 6 months and they continued to decrease until the following measurement. **Conclusions:** The BAP measurement reflects the changes at the level of the bone remodelling due to the anti-osteoporosis treatment. The significant decrease of the BAP levels after 6 months proves the efficiency of the treatment.

Importanța determinării fosfatazei alcaline cu specificitate osoasă în osteoporoza postmenopauzală

Bonte Diana Camelia¹, David Dana Liana¹, Lighezan Rodica², Zosin Ioana³, Anghel Andrei¹

1. Catedra de Biochimie, UMF "Victor Babeș" Timișoara; 2. Catedra de Histologie, UMF "Victor Babeș" Timișoara; 3. Catedra de Endocrinologie, UMF "Victor Babeș" Timișoara

Introducere: Fosfataza alcalină cu specificitate osoasă (FAos.) este o enzimă care joacă un rol important în formarea osoasă și în mineralizare. Ea reflectă statusul metabolic al osteoblastelor.

Obiectivele: stabilirea utilității determinării FAos. din ser în urmărire eficienței terapiei la pacientele cu osteoporoză. Material și metodă: Studiul a inclus un lot de 34 paciente cu osteoporoză postmenopauzală, validată prin DEXA (lot 1), care au urmat un tratament cu bifosfonați și un lot control de 20 de femei în postmenopauză (lot 2), fără osteoporoză. La ambele loturi se analizează nivelul seric al FAos (tehnica ELISA) la momentul inițial al inceperei studiului, la 6 și la 12 luni. Analizarea eficienței terapiei antiosteoporotice la lotul de studiu s-a realizat prin metoda DEXA, după 12 luni de tratament. **Rezultate:** BAP0/6/12 ($\mu\text{g/L}$) - lot 1: 15.6669 ± 5.967184 / 12.56637 ± 3.536284 / 12.2017 ± 3.302395 . BAP0/12 ($\mu\text{g/L}$) - lot 2: 12.1893 ± 3.15364 / 12.16475 ± 3.26375 . (Valori normale medii premenopauză: 8.7/ postmenopauză: 12.2). **Discuții:** Valorile FAos. au fost semnificativ crescute la pacientele cu osteoporoză, la determinarea inițială. Ulterior, am constatat o corelație negativă foarte importantă între valorile acestui marker de formare osoasă și DMO ($p=0.01$). La pacientele cu creștere a DMO (sub tratament), valorile FAos. au prezentat o scădere accentuată la 6 luni de la inițierea terapiei și au continuat să scadă până la următoarea determinare. **Concluzii:** Determinarea FAos. este utilă, reflectând schimbările la nivelul remodelării osoase datorate terapiei antiosteoporotice. Scăderile semnificative ale FAos. la 6 luni arată eficiența tratamentului.

P45. The value of bone resorption markers in monitoring treated osteoporosis

Bonte Diana Camelia¹, David Dana Liana¹, Lighezan Rodica², Motoc Marilena¹, Zosin Ioana³, Bonte Ovidiu Horia⁴

1. Biochemistry Dept., "Victor Babeș" University of Medicine and Pharmacy, Timișoara; 2. Histology Dept. "Victor Babeș", University of Medicine and Pharmacy, Timișoara; 3. Endocrinology Dept., "Victor Babeș", University of Medicine and Pharmacy, Timișoara; 4. Dept. of In vitro Fertilization of the Gynecology and Obstetrics Hospital "Dr. Dumitru Popescu", Timișoara

Introduction Pyridinoline and deoxypyridinoline are the crosslinks of mature type I collagen in bone, being released from bones during collagen degradation, and finally eliminated in urine. **Objectives:** to determine a correlation between the values of urinary pyridinoline (PYD), bone mineral density (BMD), the values of serum calcium and the values of serum phosphorus. **Materials and methods:** The study group included 30 patients (group 1) suffering from postmenopausal osteoporosis (undergoing treatment) and the control group of 20 postmenopausal patients, not suffering from osteoporosis (group 2). They underwent a basic examination: measurement of BMD (DEXA at L₁-L₄) and at the

hip), of urinary pyridinoline levels (ELISA) and of serum levels of calcium and phosphorus. The urinary pyridinoline assessments were repeated 6 and 12 months after the initial moment, while serum calcium, phosphorus and DEXA were repeated after 12 months. **Results:** PYD_{0/6/12 months} (nmol/mmol creatinine): 52.57 ± 19.92 / 32.61 ± 11.91 / 28.90 ± 12.23 (group 1), PYD_{0/12 months}: 26.02 ± 10.15 / 29.34 ± 10.72 (group 2). **Discussion:** A significant negative correlation between the levels of pyridinoline and the bone mineral density was reported. In patients where the BMD registered an increase (due to the treatment), the urinary pyridinoline showed a significant decrease 6 months after the beginning of treatment. The serum calcium and phosphorus levels were relatively constant during the study. **Conclusions:** The evaluation of the urinary pyridinoline levels is useful for clinicians to assess the efficacy of the treatment in osteoporosis patients, much before assessing the BMD.

Valoarea markerilor de resorbție osoasă în monitorizarea osteoporozei sub tratament

Bonte Diana Camelia¹, David Dana Liana¹, Lighezan Rodica², Motoc Marilena¹, Zosin Ioana³, Bonte Ovidiu Horia⁴

1. Catedra de Biochimie, UMF "Victor Babeș" Timișoara; 2. Catedra de Histologie, UMF "Victor Babeș" Timișoara; 3. Catedra de Endocrinologie, UMF "Victor Babeș" Timișoara; 4. Laboratorul de Fertilizare Asistată Medical, Spitalul Clinic "Dr. Dumitru Popescu", Timișoara

Introducere: Două legături majore sunt prezente în matricea osoasă și în cartilaj (legături ce stabilizează fibrele de colagen): piridinoline și deoxipiridinoline – PYR. Ele sunt eliberate din os în cursul degradării colagenului, de unde ajung în urină. **Obiectivele:** stabilirea unei corelații între valorile piridinolinelor urinare (PYR), densitatea minerală osoasă (DMO), valorile serice ale calciului și fosforului anorganic. **Material și metodă:** Lotul a cuprins un grup de 30 de paciente (grup 1) cu osteoporoză de postmenopauză (cu tratament) și un grup-control de 20 de paciente în postmenopauză, dar fără osteoporoză (grup 2). Acestea li s-a facut o evaluare bazală: măsurarea DMO (DEXA-vertebrele L₁-L₄ și șold), a nivelurilor piridinolinelor urinare (ELISA) și a valorilor serice ale calciului și fosforului anorganic. Determinările piridinolinelor urinare s-au repetat la 6 și la 12 luni de la momentul inițial, calciul, fosforul și DEXA au fost repetate după 12 luni. **Rezultate:** PYD_{0/6/12 luni} (nmol/mmol creatinina): 52.57 ± 19.92 / 32.61 ± 11.91 / 28.90 ± 12.23 (grup 1); PYD_{0/12 luni}: 26.02 ± 10.15 / 29.34 ± 10.72 (grup 2). **Discuții:** Am constatat o corelație negativă foarte semnificativă între valorile markerilor de resorbție (piridinolinele) și DMO. La pacientele cu creștere a DMO (sub tratament), eliminarea urinară a piridinolinelor a prezentat o scădere importantă încă de la 6 luni de la inițierea tratamentului. Valorile calciului și ale fosforului seric au fost relativ constante pe parcursul studiului. **Concluzii:** Determinarea piridinolinelor urinare este utilă pentru clinician în aprecierea eficienței terapiei la pacientele cu osteoporoză, cu mult înainte de evaluarea DMO.

P46. Low serum bilirubin levels, predictors of developing atherosclerosis

Borza Claudia¹, Savoiu Germaine², Cristescu Carmen³, Șerban Corina¹, Duicu Oana¹, Ghete Mihaela⁴, Mateescu Rodica⁵

1. Pathophysiology Dept., University of Medicine and Pharmacy „Victor Babeș” Timișoara; 2. Anatomy Physiology and Pathophysiology Dept., University of Medicine and Pharmacy „Victor Babeș”, Timișoara; 3. Dept. of Clinical Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy „Victor Babes”, Timișoara; 4 Bioexpomed Laboratory, Timișoara; 5. Physiology Dept.,

Aim: Bilirubin prevents oxidative modification of LDL and may protect from atherosclerosis and arterial hypertension. Impaired brachial artery flow-mediated dilatation (FMD), which means endothelial dysfunction is a strong predictor for the development and progression of atherosclerosis. The aim of this study was to analyze the association between low serum bilirubin levels with impaired flow mediated dilatation in a group of 103 hypertensive patients. **Material and method:** We determined by fully enzymatic techniques: triglycerides, total cholesterol, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol and serum bilirubin levels in all patients. Brachial artery flow-mediated dilatation was measured by means of high-resolution vascular ultrasound B-mode. **Results:** We observed significantly higher plasma levels of total cholesterol (231.32 ± 27.56 mg/dl), LDL-cholesterol (162.52 ± 30.55 mg/dl), triglycerides (168.15 ± 52.05 mg/dl) and low plasma levels of HDL-cholesterol (36.23 ± 5.90 mg/dl) in all patients. We noticed low serum levels of total bilirubin (0.67 ± 0.08 mg/dl), direct bilirubin (0.20 ± 0.05 mg/dl) and indirect bilirubin (0.47 ± 0.07 mg/dl) and FMD was also decreased ($9.8 \pm 0.8\%$). We have done the statistically analysis with Pearson's test which indicated inverse correlations between low serum total bilirubin, direct bilirubin and indirect bilirubin levels and impaired flow-mediated vasodilatation. **Conclusion:** In this study we have shown that lower serum bilirubin concentrations are independently and inversely associated with an increased risk for developing atherosclerosis. This finding is important because it may imply a tendency to enhanced atherosclerosis in subjects with lower serum bilirubin concentrations and arterial hypertension. **Keywords:** bilirubin, FMD, arterial hypertension, atherosclerosis.

Nivelele scăzute ale bilirubinei serice, predictori ai dezvoltării aterosclerozei

Borza Claudia¹, Savoiu Germaine², Cristescu Carmen³, Șerban Corina¹, Duicu Oana¹, Ghete Mihaela⁴, Mateescu Rodica⁵

1. Dept. de Fiziopatologie, UMF „Victor Babeș” Timișoara; 2. Dept. de Anatomie, Fiziologie și Fiziopatologie, Facultatea de Farmacie, UMF „Victor Babeș” Timișoara; 3. Dept. de Farmacie Clinică, UMF „Victor Babeș”, Timișoara; 4. Laboratorul de analize Bioexpomed, Timișoara; 5. Dept. de Fiziologie, UMF „Victor Babeș”, Timișoara

Scop: Bilirubina previne modificarea oxidativă a LDL și poate proteja împotriva aterosclerozei și hipertensiunii arteriale. Scăderea vasodilatației mediate de flux la nivelul arterei brahiale (FMD), care semnifică disfuncție endotelială, este un puternic predictor al dezvoltării și progresiei aterosclerozei. Scopul acestui studiu a fost să analizăm asocierea dintre nivelele scăzute de bilirubină serică și cele ale vasodilatației mediate de flux la un lot de 103 pacienți hipertensiivi. **Material și metodă:** Am determinat la toți pacienții, prin metode imunoenzimaticice complexe: trigliceridele, colesterolul

total, LDL-colesterolul, HDL-colesterolul și nivelele de bilirubină serică. Vasodilatația mediată de flux a fost evaluată folosind ultrasonografia vasculară, de înaltă rezoluție, de tip B. **Rezultate:** Am observat la toți pacienții nivele plasmatice crescute ale colesterolului total (231.32 ± 27.56 mg/dl), LDL-colesterolului (162.52 ± 30.55 mg/dl), trigliceridelor (168.15 ± 52.05 mg/dl) și nivele plasmaticе scăzute ale HDL-colesterolului (36.23 ± 5.90 mg/dl). Am obținut nivele plasmaticе scăzute ale bilirubinei totale (0.67 ± 0.08 mg/dl), bilirubinei directe (0.20 ± 0.05 mg/dl), ale bilirubinei indirekte (0.47 ± 0.07 mg/dl), iar valoarea medie a FMD a fost de asemenea scăzută ($9.8 \pm 0.8\%$). Am efectuat analiza statistică cu ajutorul testului Pearson care ne-a indicat corelații inverse între bilirubina serică totală, directă și indirectă și valorile vasodilatației mediate de flux. **Concluzii:** În acest studiu am demonstrat că nivelele scăzute ale bilirubinei serice sunt independent și invers asociate cu un risc crescut de a dezvolta atheroscleroză. Aceasta observație este importantă deoarece ar putea implica o tendință crescută la atheroscleroză la pacienții cu nivele scăzute ale bilirubinei și hipertensiune arterială. **Cuvinte cheie:** bilirubină, hipertensiune arterială, atheroscleroză.

P47. Higher serum uric acid levels are associated with atherogenesis independent from hypertension

Borza Claudia¹, Savoiu Germaine², Cristescu Carmen³, Noveanu Lavinia⁴, Șerban Corina¹, Duicu Oana¹, Răducan Andreea¹, Ghete Mihaela⁵

1. *Pathophysiology Dept., University of Medicine and Pharmacy „Victor Babeș”, Timișoara;*
2. *Anatomy, Physiology and Pathophysiology Dept., University of Medicine and Pharmacy „Victor Babeș”, Timișoara; 3. Dept. of Clinical Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy „Victor Babeș” Timișoara; 4. Physiology Dept., University of Medicine and Pharmacy „Victor Babeș” Timișoara, 5. Bioexpomed Laboratory, Timișoara*

Aim: Hyperuricemia (HU) is a well recognized risk factor for cardiovascular diseases. Intima-media thickness (IMT) of the carotid artery assessed noninvasively by ultrasonography is now validated as a sensitive marker for atherosclerosis and it is directly associated with increased risk of cardiovascular disease. The aim of this study was to evaluate the correlations between IMT and uric acid levels in patients with hypertension (HT). **Material and methods:** Our study consisted of: a group of 30 patients with HT without HU (male 58%, mean age \pm SD: 49 ± 10 years), a group of 25 patients with HT and HU (male 52%, mean age \pm SD: 52 ± 10 years), and a control group of 25 healthy subjects (male 55%, mean age \pm SD: 50 ± 11 years). All patients in the study groups were complete clinically and paraclinically investigated. All the patients were examined by high resolution B-mode ultrasound to measure the IMT of the common carotid artery. **Results:** IMT values were significantly higher in the hypertensive patients groups with and without HU, compared with the control group (0.98 ± 0.28 , 1.41 ± 0.31 versus 0.56 ± 0.15 mm, respectively, $p < 0.001$). All patients with HU had significantly higher carotid IMT compared with the patients without HU. **Conclusion:** In this study we have shown that higher serum uric acid levels are associated with atherogenesis independent from hypertension. Therefore, early screening for hyperuricemia is recommended in hypertensive patients. Lowering serum uric acid levels might be beneficial in slowing progression of IMT in hypertensive patients. **Keywords:** hyperuricemia, intima-media thickening, atherosclerosis.

Nivelele serice crescute de acid uric sunt asociate cu aterogeneza independent de hipertensiune

Borza Claudia¹, Savoiu Germaine², Cristescu Carmen³, Noveanu Lavinia⁴, Şerban Corina¹, Duicu Oana¹, Răducan Andreea¹, Ghete Mihaela⁵

1. Dept. de Fiziopatologie, UMF „Victor Babeş”, Timişoara; 2. Dept. de Anatomie, Fiziologie şi Fiziopatologie, Facultatea de Farmacie, UMF „Victor Babeş”, Timisoara; 3. Dept. de Farmacie Clinică, UMF „Victor Babeş”, Timişoara; 4. Dept. de Fiziologie, UMF „Victor Babeş”, Timişoara; 5. Laboratorul de analize Bioexpomed, Timişoara

Scop: Hiperuricemia este un factor de risc recunoscut pentru boala cardiovasculară. Grosimea complexului intima-media la nivelul arterei carotide (IMT), evaluată noninvaziv prin ultrasonografie este acum validată ca fiind marker sensibil al aterosclerozei, fiind direct asociată cu risc crescut de boală cardiovasculară. Scopul studiului este evaluarea corelațiilor dintre nivelele IMT și nivelele acidului uric seric la pacienții hipertensiivi. **Material și metodă:** Studiul a fost alcătuit din: un grup de 30 de pacienți cu hipertensiune și fără hiperuricemie (58% bărbați, vârstă medie ± SD: 49±10 ani), un grup de 25 de pacienți cu hipertensiune arterială și hiperuricemie (52% bărbați, vârstă medie ± SD: 52±10 ani) și un grup de control format din 25 de subiecți sănătoși (55% bărbați, vârstă medie ± SD: 50±11 ani). Pacienții cuprinși în studiu au fost complet investigați clinic și paraclinic și examinați prin ultrasonografie de înaltă rezoluție tip B, pentru măsurarea grosimii complexului intima-media la nivelul arterei carotide comune. **Rezultate:** Valorile IMT au fost semnificativ mai mari la grupul de pacienți cu hipertensiune arterială și fără hiperuricemie comparativ cu grupul control (0.98 ± 0.28 , 1.41 ± 0.31 versus 0.56 ± 0.15 mm, respectiv, $p < 0.001$). Toți pacienții cu hiperuricemie au avut valoarea IMT semnificativ mai mare comparativ cu lotul fără hiperuricemie. **Concluzii:** În acest studiu am arătat că valourile crescute ale acidului uric seric sunt asociate cu aterogeneza independent de hipertensiune. Așadar, este recomandat un screening precoce pentru hiperuricemie la pacienții hipertensiivi. Scăderea nivelelor acidului uric seric ar putea fi benefică pentru încetinirea progresiei grosimii intima-media carotidiană la pacienții cu hipertensiune arterială. **Cuvinte cheie:** hiperuricemie, grosimea intima-media carotidiană, atheroscleroză.

P48. Study on fibrinogen role in atheromatous plaque development at elderly patients

Opris Simona, Constantin Gianina, Valuch Anton, Găinaru Cecilia

“Ana Aslan” National Institute of Gerontology and Geriatrics

High fibrinogen concentrations in cardiovascular diseases led to the idea that fibrinogen is an independent risk factor. However, little is known about the biochemical mechanism of age-related fibrinogen increase. Its concentration measurement could give important information about a potential association between high plasmatic levels of this protein and aging. We took in study 2 age groups: group 45-64 years with subgroups: control C1 and carotidian atherosclerosis ATS1; and group 65-84 years with subgroups: control C2 and carotidian atherosclerosis ATS2 and a group carotidian atherosclerosis ATS3 (45-84 years) with advanced stenosis (70-90%) assessed by Doppler ultrasonography. Fibrinogen concentrations were measured with optic coagulometer by Clauss method. Our data showed a statistical significant increased of 26,71%, at ATS1 vs. C1 ($p < 0.05$), the same for ATS2 vs. C2 of

45% ($p<0.001$). From the point of view of total atheromatous area we observed a highly semnificative rise at ATS1 and ATS2 vs. ATS3 of 190,03% and respectively 168,17%. Linear equation regression showed a strong correlation between fibrinogen and total atheromatous area at ATS3 ($r=0,536$; $p<0.05$) Relation between aging and fibrinogen revealed a nonsemnificative increase both at control and atherosclerosis patients too. The study results suggest that possible alterations of fibrinogen levels are associated with atherosclerosis. Fibrinogen, as a marker for chronic inflammatory process, who reflects atherosgenesis, could play an active role in atheromatous plaque development and progression.

Studiu privind rolul fibrinogenului în progresia leziunilor ateromatoase la pacienții vârstnici

Opriș Simona, Constantin Gianina, Valuch Anton, Găinaru Cecilia

Institutul Național de Gerontologie și Geriatrie "Ana Aslan"

Concentrațiile crescute de fibrinogen în bolile cardiovasculare au condus la ideea că fibrinogenul este un factor de risc independent. Se cunosc însă puține despre mecanismul biochimic al creșterii fibrinogenului cu vîrstă. Măsurarea concentrației fibrinogenului ar putea da informații importante despre o potențială asociere între nivelele plasmatice crescute ale acestei proteine și îmbătrânirea. S-au luat în studiu 2 grupe de vîrstă: grupul 45-64 ani cu loturile: control C1 și cu ateroscleroză carotidiană ATS1 și grupul 65-84 ani cu loturile: control C2 și cu ateroscleroză carotidiană ATS2 în plus, un lot ATS3 (45-84 ani) cu grad de stenoză avansată (70-90%) evidențiate prin Doppler carotidian. S-a determinat concentrația de fibrinogen cu un coagulometru optic, utilizând metoda Clauss. Datele noastre au evidențiat o creștere semnificativă statistic de 26,71%, la ATS1 vs. C1 ($p<0.05$) cât și la ATS2 vs. C2 de 45% ($p<0.001$). Din punct de vedere al ariei totale de ateroame se observă o creștere înalt semnificativă la ATS1 și ATS2 față de ATS3 de 190,03% și respectiv 168,17%. Ecuatia de regresie liniară a arătat o corelație puternică între nivelele de fibrinogen și aria totală a ateroamelor la lotul ATS3 ($r=0,536$; $p<0.05$). Relația dintre îmbătrânire și fibrinogen arată o scădere nesemnificativă atât la lotul control cât și la pacienții cu ateroscleroză. Rezultatele studiului sugerează că posibilele alterări ale nivelelor de fibrinogen sunt asociate cu ateroscleroza. Fibrinogenul ca marker pentru procesele cronice inflamatorii ce reflectă aterogeneza ar putea juca un rol activ în dezvoltarea și progresia leziunilor ateromatoase.

P49. Total antioxidant status in the blood serum of rats exposed to biogenic amines

Zamoșteanu Nina¹, Filip Cristiana¹, Albu Elena², Albuț Irina¹, Cuciureanu Rodica³

1. Dept. of Biochemistry, Faculty of Medicine, „Gr. T. Popa“ University of Medicine and Pharmacy Iași; 2. Dept. of Pharmacology, Faculty of Medicine, „Gr. T. Popa“ University of Medicine and Pharmacy, Iași; 3. Dept. of Environment and Food Chemistry, Faculty of Pharmacy, „Gr. T. Popa“ University of Medicine and Pharmacy, Iași

Biogenic amines are endogenous compounds, which in high concentration become toxic and there are responsible for major human disorders such as depression and schizophrenia, hypo- or hypertension, headache and nausea. The exact mechanism by which biogenic amines cause these diseases is not exactly known, but it is supposed that the total antioxidant status (TAS) of the organism is influenced. The aim of our study was to investigate the influence of biogenic amines levels on total antiox-

idative status. For this, we worked on three series of Wistar male rats. Series I was control and received no substance, series II received histamine (10mg/kg body) intraperitoneal (i.p.), single dose, and series III received tyramine (5mg/kg body) intraperitoneal (i.p.), single dose. At 72 hours after biogenic amines administration blood samples were collected and TAS was determined using a RANDOX kit for manual use. Our data show that total antioxidant status present a significant decrease after 72 hours after amines administration as compared with control series. The histamine and tyramine decreased the level of the total oxidant status in rat blood serum and reduced the capacity of the antioxidant defense system.

Influența aminelor biogene asupra statusului oxidativ general la șobolani

Zamoșteanu Nina¹, Filip Cristiana¹, Albu Elena², Albuț Irina¹, Cuciureanu Rodica³

1. Disciplina de Biochimie, Facultatea de Medicină, Universitatea de Medicină și Farmacie „Gr.T.Popa”, Iași; 2. Disciplina de Farmacologie, Facultatea de Medicină, Universitatea de Medicină și Farmacie „Gr.T.Popa”, Iași; 3, Disciplina Chimia Mediului și Alimentului, Facultatea de Farmacie, Universitatea de Medicină și Farmacie „Gr.T.Popa”, Iași

Aminele biogene sunt compuși endogeni toxici în concentrații ridicate și responsabili de unele afecțiuni cum ar fi depresia și schizofrenia, hipo- sau hiper-tensiune, migrene, greață. Mecanismul prin care aceste afecțiuni sunt cauzate de aminele biogene nu este cunoscut în totalitate, dar se presupune că ele influențează statusul total antioxidant (TAS) al organismului. Scopul studiului de față este să investigăm dacă aminele biogene influențează nivelul statusului total antioxidant al organismului. Studiul experimental a fost realizat pe trei loturi de șobolani Wistar. Lotul I a fost martor și nu a primit amine biogene, lotul II a primit histamină (10mg/kg corp) intraperitoneal (i.p.) doză unică și lotul III a primit tiramină (10mg/kg corp) intraperitoneal (i.p.) doză unică. La 72h după administrarea substanțelor au fost recoltate probe de sânge în care a fost determinat TAS utilizând un kit RANDOX. Rezultatele obținute arată că valoarea statusului total antioxidant prezintă o scădere semnificativă după 72h de la administrarea aminelor biogene comparativ cu lotul martor. Histamina și tiramina scad nivelul seric al statusului total antioxidant la șobolani și reduc capacitatea sistemului de protecție antioxidantă.

P50. Sialic acid and oxidized LDL studies in senescence

Constantin Gianina Ioana, Opris Simona

"Ana Aslan" National Institute of Gerontology and Geriatrics

As the sialic acid content of LDL affects its catabolism at the cellular level, it could be assumed that the content is also associated with LDL metabolism in vivo. Aim of this study was to assess oxidatively modified lipoproteins and sialic acid in a group of presenescence (55.94 ± 5.67 years), versus a group of senescent patients (72.63 ± 5.8 years) who were enrolled according to the Seineur protocol criteria. The LDL susceptibility to in vitro induced lipid peroxidation was evaluated following its incubation with a FeSO_4 /ascorbic acid prooxidant system. Total sialic acid was determined by Ehrlich reactive reaction, incubated 30 minutes at 95°C . Results obtained showed an insignificant increase of LD-Lox susceptibility at senescent group compared with a presenescence group (6.89 ± 2.02 vs. 3.85 ± 2.30 mmoli MDA/dl serum). This suggests the existence of antioxidant protection individual mechanisms of

this fraction. As for sialic acid data revealed the same increase tendency at senescent versus presenescent group (69.33 ± 3.45 vs. 61.90 ± 3.11 mg/dl serum). Because of multiple morphological changes in the immune system occurring with advancing age, this tendency to increase might be due both to lipid metabolism disorders and oxidative modifications of plasma lipoproteins.

Studii privind acidul sialic și LDL oxidat în procesul de senescență

Constantin Gianina Ioana, Opriș Simona

Institutul Național de Gerontologie și Geriatrie "Ana Aslan"

Prin faptul că acidul sialic poate afecta catabolismul lipoproteinelor de joasă densitate la nivel celular, se poate presupune că acest conținut ar fi de asemenea asociat cu metabolismul LDL in vivo. Scopul studiului de față a fost determinarea conținutului de lipoproteine modificate oxidativ și acid sialic, la un grup de pacienți presenescenți (55.94 ± 5.67 ani), față de un grup de pacienți senescenți (72.63 ± 5.8 ani), selectați conform criteriilor protocolului Senieur. Susceptibilitatea LDL la peroxidarea lipidică indușă in vitro a fost evaluată prin incubare, în prezența unui sistem prooxidant format din FeSO_4 /acid ascorbic. Acidul sialic total s-a determinat prin reacția cu reactivul Ehrlich, prin incubare la 95°C timp de 30 minute. Rezultatele obținute arată o tendință de creștere a susceptibilității LDLox în cazul pacienților senescenți, aceasta fiind totuși nesemnificativă față de presenescenți (6.89 ± 2.02 vs. 3.85 ± 2.30 mmoli MDA/dl ser). Aceasta sugerează existența unor mecanisme individuale de protecție antioxidantă a acestei fracțiuni. și în cazul acidului sialic se constată aceeași tendință de creștere nesemnificativă la senescenți în raport cu presenescenții (69.33 ± 3.45 vs. 61.90 ± 3.11 mg/dl ser). Deoarece cu înaintarea în vîrstă se produc multiple schimbări morfologice ale sistemului imunitar, această tendință de creștere s-ar putea datora atât tulburărilor metabolismului lipidic, cât și modificărilor oxidative suferite de lipoproteinile plasmatiche.

P51. The status of whole blood zinc and copper levels in autistic children

Crăciun Elena Cristina¹, Ursu Monica², Predescu Elena³, Björklund Geir⁴, Dronca Maria⁴

1. Pharmaceutical Biochemistry and Clinical Laboratory Dept., Faculty of Pharmacy; „Iuliu Hațieganu” University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca, Romania; 2. Research Institute for Analytical Instrumentation, Cluj Napoca, Romania; 3. Pediatric Psychiatry Dept., Faculty of Medicine, „Iuliu Hațieganu” University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca, Romania; 4. Medical Biochemistry Dept., Faculty of Medicine, „Iuliu Hațieganu” University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca, Romania

Autistic spectrum disorders are lifelong developmental disabilities. These disorders are presented from birth or very early in the development and affect essential human behaviors such as social interaction, the ability to communicate ideas and feelings, imagination, and the establishment of relationships with others. Several studies have suggested a disturbance in the copper and zinc metabolism in autism. Copper and zinc are important for a healthy neurological function. Heavy metal detoxification has become a widespread method of treatment for autism, and helps remove mercury and other metals from the body. We have investigated, in the present study, the levels of zinc and copper in whole blood, as well as the copper/zinc ratio in a group of 28 children with autism. The patient group was

compared with healthy age and sex matched control subjects. The concentrations of copper and zinc were measured in whole blood with inductively coupled plasma-mass spectrometry. We found that zinc level was decreased ($P<0.001$), and copper/zinc ratio was increased ($P<0.001$) in autistic children compared with a healthy control group. Knowing that zinc upregulate the gene expression of metallothionein, an important protein implicated in heavy metal detoxification and in the elimination of free radicals throughout the body, we consider that the zinc deficiency could contribute in autism pathogenesis.

Statusul zincului și cuprului din sângele integral la copiii autiști

Crăciun Elena Cristina¹, Ursu Monica², Predescu Elena³, Björklund Geir⁴, Dronca Maria⁴

1. Catedra de Biochimie Farmaceutică și Laborator clinic, Facultatea de Farmacie, UMF "Iuliu Hațegianu", Cluj-Napoca, România; 2. Institutul de Cercetări pentru Instrumentație Analitică, Cluj-Napoca, România; 3. Departamentul de Psihiatrie Pediatrică, Facultatea de Medicină, UMF "Iuliu Hațegianu", Cluj-Napoca, România; 4. Catedra de Biochimie Medicală, Facultatea de Medicină, UMF "Iuliu Hațegianu", Cluj-Napoca, România

Autismul este o tulburare neurologică gravă care survine la copii înaintea împlinirii vîrstei de 3 ani, caracterizată prin afectarea capacitatei de comunicare și a interacțiunilor sociale, precum și de comportamente repetitive și stereotipe. Un număr relativ redus de studii sugerează o alterare a metabolismului cuprului și zincului în autism. Aceste oligoelemente sunt importante pentru funcționarea normală a sistemului nervos, precum și în eliminarea metalelor grele din organism. În studiul de față, am evaluat nivelul zincului și cuprului din sângele integral, precum și raportul cupru/zinc la un grup de 28 copii autiști, comparativ cu un grup martor potrivit ca vîrstă și sex. Concentrațiile celor două oligoelemente s-au determinat prin spectrometrie de masă cu plasma cuplată inductiv. La pacienții autiști s-a observat un nivel scăzut al zincului ($P<0.001$) și o valoare crescută a raportului cupru/zinc ($P<0.001$), față de grupul martor. Știind că zincul stimulează exprimarea genei metalotioneinei, o proteină importantă în eliminarea radicalilor liberi și a metalelor grele din organismul uman, apreciem că deficiența de zinc ar putea contribui la patogeneza autismului.

P52. Synovial fluid crystal analysis in arthropathies

Dumitrașcu V.^{1,2}, Vlad Daliborca Cristina², Matusz Anca Alexandra³, Poenaru D.V.⁴, Gîju S.², Cinca Rodica¹

1. Dept. of Pharmacology, University of Medicine and Pharmacy "Victor Babeș", Timișoara, Romania; 2. Laboratory Dept., Clinical Emergency Hospital, Timișoara, Romania; 3. Private Family Health Care Unit, Timișoara, Romania; 4. Dept. of Orthopedics – Traumatology II, University of Medicine and Pharmacy "Victor Babeș", Timișoara, Romania

Introduction: Calcium containing crystals can cause the degeneration of articular tissues in two pathways: the direct pathway, crystals induce synoviocytes to proliferate and produce metalloproteinases and prostaglandins; the paracrine pathway involves the interaction between crystals and macrophages/monocytes, which leads to the synthesis, release of cytokines and causes degeneration of ar-

ticular tissues. **Methods:** 17 synovial fluid (SF) samples divided in two groups were examined: first - with chronic knee pain (n=11); second, without (n=6). In the first group, radiographic chondrocalcinosis, arthritis or both were observed in 2, 3 and 7 patients; in those without pain, in 1, 0, respectively 5 patients. 7 patients had previous pseudogout crises; joint inflammation occurred in 10 of 11 patients in the first group and 4 in the second group. Joint inflammation was absent at the time of the study, patients had been off colchicine or NSAID (nonsteroidal anti-inflammatory drugs) for at least two months. We examined undiluted samples in 1 hour after extraction. Crystal detection was done with an ordinary microscope and identification confirmed with a polarized light microscope. **Results:** All 17 SF samples contained calcium pyrophosphate dehydrate (CPPD) crystals. CPPD crystals were observed in samples from patients with previous inflammatory episodes and patients without arthritis. **Conclusion:** The presence of CPPD crystals in the joint cavity suggests their slow clearance from the cavity, or constant shedding from joint deposits, mainly in the cartilage or both. The presence of intracellular crystals confirms an interaction between crystals and cells in such joints.

Analiza cristalelor din lichid sinovial în artropatii

Dumitrașcu V.^{1,2}, Vlad Daliborca Cristina², Matusz Anca Alexandra³, Poenaru D.V.⁴,
Gîju S.², Cinca Rodica¹

1. Catedra de Farmacologie, UMF "Victor Babeș", Timișoara, România; 2. Laborator Clinic, Spitalul Clinic Județean de Urgență, Timișoara, România; 3. Cabinet Privat de Medicina Familiei, Timișoara, România; 4. Clinica de Ortopedie – Traumatologie II, UMF "Victor Babeș", Timișoara, România

Introducere: Cristalele care conțin calciu pot cauza degenerarea țesutului articular prin două cǎi: calea directă (cristalele induc proliferarea sinoviocitelor și producerea de metaloproteinaze și prostaglandine); calea paracrină (implică interacțiunea între macrofage/monocite ducând la sinteza și eliberarea citokinelor și cauzând degenerarea țesutului articular). **Metode:** S-au examinat 17 probe de lichid sinovial (LS), împărțite în două grupuri: primul grup – cu durere articulară cronică (n=11); al doilea grup – fără durere (n=6). La nivelul primului grup condrocalcinoza, artrita sau amândouă au fost observate radiografic la 2, 3 și 7 pacienți; iar la cei fără durere la 1, 0 respectiv 5 pacienți. 7 dintre pacienți au prezentat crize de pseudogoută anterior studiului; inflamația articulației genunchiului s-a observat la 10 din 11 pacienți aparținând primului grup respectiv 4 din al doilea grup. Inflamația articulară a fost absență pe durata studiului, pacienții întrerupând tratamentul cu colchicină sau AINS (antiinflamatoare nesteroidiene) cu cel puțin două luni înainte de începerea acestuia. Probele nediluate au fost examineate într-o oră de la recoltare. Detectarea cristalelor a fost efectuată cu ajutorul unui microscop normal și confirmată cu ajutorul luminii polarizate. **Rezultate:** Toate cele 17 probe de LS au conținut cristale de cristale de calciu pirofosfat dihidrat (CPPD). Acestea au fost observate atât în probele pacienților care au prezentat episoade inflamatorii anteroioare cât și la cei fără artrită. **Concluzii:** Prezența cristalelor de CPPD în cavitatea articulară sugerează fie clearance-ul lor începutinit din articulație fie difuziunea lor din depozitele articulare în special în cartilaj sau amândouă. Prezența cristalelor intracelular confirmă o interacțiune între cristale și celulele acestor articulații.

P53. Infrared spectroscopy of synovial fluid in patients with gonarthrosis – analytical approaches and clinical challenges

Vlad Daliborca Cristina¹, Dumitrașcu V.^{1,2}, Matusz Anca Alexandra³, Poenaru D.V.⁴, Cinca Rodica²

1. Laboratory Dept, Clinical Emergency Hospital, Timișoara, România; 2. Dept. of Pharmacology, University of Medicine and Pharmacy “Victor Babeș”, Timișoara, România;

3. Private Family Health Care Unit, Timișoara, România; 4. Dept. of Orthopedic – Traumatology II, University of Medicine and Pharmacy “Victor Babeș”, Timișoara, România

Background: Infrared spectroscopy (IR) is a widely used analytical method which provides the basis for accurate identification of numerous components in biofluids. The purpose of the present study was to carry out an investigation based upon the obtained IR spectra of synovial fluid. **Methods:** 11 synovial fluid samples were aspirated from arthrosic knee joints for the study (study group) and compared with 11 infrared spectra obtained from non-arthrosic synovial fluid (control group). Spectra were measured on a JASCO – FT/IR spectrophotometer, with automatic listing of absorption bands, in the range 600-4000 cm⁻¹. **Results:** The IR spectra from both groups were dominated by absorption bands that correspond to proteins, lipids and carbohydrates. In patients with gonarthrosis (GA), the spectral range 1230-1260 cm⁻¹ is dominated by absorptions arising from C-O stretching vibrations of hyaluronic acid. Differences in this spectral region may be attributed to degradation of hyaluronic acid during the arthrosic process which leads to a reduced viscosity and lubricating properties of synovial fluid and increased friction within the joint. In obese patients with GA, the lipid absorption band at 1640 cm⁻¹ is directly correlated with hypercholesterolemia detected in serum and synovial fluid. **Conclusion:** Infrared spectroscopy reveals important differences between spectra obtained from normal and arthrosic synovial fluid samples. They are related to variations in the concentration of macromolecules within the joint caused by alterations in joint physiology occurred in gonarthrosic patients. **Keywords:** infrared spectroscopy, synovial fluid, gonarthrosis.

Spectroscopia în infraroșu a lichidului sinovial la pacienții cu gonartroză – abordare analitică și preocupare clinică

Vlad Daliborca Cristina¹, Dumitrașcu V.^{1,2}, Matusz Anca Alexandra³, Poenaru D.V.⁴, Cinca Rodica²

1. Laborator Clinic, Spitalul Clinic Județean de Urgență, Timișoara, România; 2. Catedra de Farmacologie, UMF“Victor Babeș”, Timișoara, România; 3. Cabinet Privat de Medicina Familiei, Timișoara, România; 4. Clinica de Ortopedie – Traumatologie II, UMF“Victor Babeș”, Timișoara, România

Introducere: Spectroscopia în infraroșu (IR) constituie o metodă analitică larg utilizată, care asigură baza identificării precise a numeroși compuși existenți în biofluide. Scopul prezentului studiu este efectuarea unei investigații bazate pe spectrele IR obținute din lichidul sinovial. **Metode:** 11 probe de lichid sinovial au fost aspirate din articulațiile genunchilor cu artroză în scopul studiului (grupul de studiu) și comparate cu 11 spectre în infraroșu obținute din lichid sinovial ne-artrozic (grupul de control). Spectrele au fost trasate cu un spectrofotometru JASCO – FT/IR, cu citire automată a benzilor de absorbție, în domeniul 600-4000 cm⁻¹. **Rezultate:** Spectrele IR la ambele grupuri au fost

dominate de benzi de absorbție corespunzătoare proteinelor, lipidelor și carbohidraților. La pacienții cu gonartroză (GA), domeniul spectral 1230-1260 cm⁻¹ este dominat de absorbția rezultată din vibrația de valență a grupării C-O a acidului hialuronic. Diferențele remarcate în această regiune spectrală pot fi atribuite degradării acidului hialuronic pe parcursul procesului artrozic, care duce la reducerea vâscozității și proprietăților lubrifiante ale lichidului sinovial și determină intensificarea fricțiunii articulare. La pacienții obezi cu GA, banda de absorbție a lipidelor situată la 1640 cm⁻¹ a fost direct corelată cu hipercolesterolemia serică și cea din lichidul sinovial. **Concluzii:** Spectroscopia în infraroșu evidențiază deosebiri importante între spectrele obținute din probele de lichid sinovial normal și cel artrozic. Aceste diferențe sunt datorate variațiilor de concentrație a macromoleculelor în interiorul articulației, cauzate de modificările fiziologiei articulare survenite în gonartroză. **Cuvinte cheie:** spectroscopie în infraroșu, lichid sinovial, gonartroză.

P54. Usefulness of synovial fluid analysis in the evaluation of arthritis

Vlad Daliborca Cristina¹, Dumitrașcu V.^{1,2}, Matusz Anca Alexandra³, Poenaru D.V.⁴, Gîju S.¹, Cinca Rodica²

1. Laboratory Dept., Clinical Emergency Hospital, , Timișoara, România; 2. Dept. of Pharmacology, University of Medicine and Pharmacy "Victor Babeș", Timișoara, România;

3. Private Family Health Care Unit, Timișoara, România; 4. Dept. of Orthopedics – Traumatology II, University of Medicine and Pharmacy "Victor Babeș", Timișoara, România

Introduction: Synovial fluid (SF) analysis is important in evaluation of patients with arthritis. It can help determine whether the fluid is inflammatory or non-inflammatory and the type of arthritis.

Methods: From 39 patients, 34 SF were suitable for the study: 3 samples were contaminated with blood, and no fluid was obtained in other 2 patients. We divided 2 groups according to the presence of pain: pain group (n=22) and asymptomatic group (n=12). Analysis was performed within one hour of joint aspiration. The cell count in SF was done manually from undiluted samples using a haemocytometric chamber.

Results: From the 34 patients studied 23 were women and 11 men (mean age = 65.7±12.8). The mean cell count was 300.3±17.5 cells/µl (84.8% mononuclear cells, 15.2% PMN). 24% of cells contained crystals (most of these mononuclear cells, some PMN also showed intracellular crystals, often more than one crystal). The mean proportion of cells with intracellular crystals was 24.1% in the pain group and 25.1% in the asymptomatic group. The mean cell count in the pain group was 341.5±20.2 cells/µl and 209.1±12.4 cells/µl in the asymptomatic group; PMN cells accounted for a mean of 21.5% of cells in the pain group and for 14.5% in the asymptomatic group. **Conclusion:** The presence of inflammation is supported by the higher than normal cell count and by the presence of PMN cells. Cell counts and the percentage of PMN cells provide relevant information about the degree of joint inflammation. **Key words:** synovial fluid; arthritis.

Utilitatea analizei lichidului sinovial în evaluarea artritei

Vlad Daliborca Cristina¹, Dumitrașcu V.^{1,2}, Matusz Anca Alexandra³, Poenaru D.V.⁴, Gîju S.¹, Cinca Rodica²

1. Laborator Clinic, Spitalul Clinic Județean de Urgență, , Timișoara, România; 2. Catedra de Farmacologie, UMF "Victor Babeș", Timișoara, România; 3. Cabinet Privat de Medicina Familiei, Timișoara, România; 4. Clinica de Ortopedie – Traumatologie II, UMF "Victor Babeș", Timișoara, România

Introducere: Analiza lichidului sinovial (LS) este importantă în evaluarea pacienților cu artrite; aceasta poate confirma natura lichidului, inflamatorie sau noninflamatorie, și de asemenea, tipul artritei. **Metode:** Din 39 de pacienți luați în studiu, doar 34 de probe de LS au fost conforme pentru continuarea studiului; 3 dintre probe au fost contaminate cu sânge, iar 2 dintre pacienți nu au prezentat lichid intraarticular. După prezența sau absența durerii articulare, pacienții au fost împărțiți în două grupuri: grupul care a prezentat durere (n=22) și grupul asimptomatic (n=12). Analiza LS a fost efectuată în decurs de o oră de la recoltare. Numărătoarea celulelor din LS a fost efectuată manual, din probe nediluate, utilizându-se o cameră hemocitometrică Fucks Rosenthal. **Rezultate:** Din cei 34 pacienți studiați, 23 au fost femei și 11 bărbați (cu vârstă medie = 65.7 ± 12.8 ani). Media celulelor numărate a fost de 300.3 ± 17.5 celule/ μl (84.8% fiind mononucleare și 15.2% polimorfonucleare). 24% au conținut cristale intracelular, dintre acestea cele mai multe fiind mononucleare, dar și PMN (polimorfonucleare), conținând adesea chiar mai mult de un cristal. Media proporției celulelor cu cristale intracelular a fost de 24.1 % la grupul de pacienți care prezenta durere și 25.1% la grupul asimptomatic. Media celulelor numărate la grupul cu durere a fost de 341.5 ± 20.2 celule/ μl și 209.1 ± 12.4 celule/ μl la grupul asimptomatic. **Concluzii:** Inflamația articulară este susținută de numărul mai mare decât normal de celule prezente în LS și de prezența PMN. Numărul celulelor și procentul PMN furnizează informații relevante și despre gradul inflamației articulare. **Cuvinte cheie:** lichid sinovial, artrită.

P55. Nephrological syndromes –nephritic and nephrotic sediments

Gîju S.¹, Flangea Corina², Dumitrașcu V.^{1,3}, Vlad Daliborca^{1,3}, Petrica Ligia⁴

1. Central Laboratory of the County Emergency Hospital, Timișoara,; 2. Dept. of Biochemistry, „Victor Babeș” University of Medicine and Pharmacy, Timișoara; 3. Dept. of Pharmacology „Victor Babeș” University of Medicine and Pharmacy, Timișoara; 4. Dept. of Nephrology „Victor Babeș” University of Medicine and Pharmacy, Timișoara

Urinary analysis is a useful tool for identification and discrimination nephritic versus nephrotic syndrome. Nephritic syndrome is associated with glomerular disorders which permit proteins and red blood cells to pass into the urine. By contrast, nephrotic syndrome is characterized by only proteins moving into the urine. The main goal of our study was to demonstrate the importance of the urinary sediment aspect in those two disorders and interpretation of laboratory data by clinician. For this purpose, we investigate urinary sediment of 54 cases admitted in Nephrology Department with a kidney disease diagnostic that led to nephritic or nephrotic syndrome. We used parallelism of the microscopic techniques (bright field, phase contrast and polarized light) and also the observation of the sediment elements in both unstained and stained samples (May-Grünwald-Giemsa, Sudan III and Sternheimer-

Malbin stain). The nephritic sediments (n=33) illustrated dysmorphic red blood cells, sometimes accompanied by red blood cells casts. Also many granular and cellular casts can be observed. White blood cells were occasionally seen but their number was lower than the number of erythrocytes. The nephrotic sediments (n=11) revealed a mass of granular casts beside hyaline casts, oval fat bodies and fatty casts. Few cholesterol crystals could be seen. Abundant hematuria and red blood cells casts were identified in two nephrotic cases suffering by glomerular disorder with proteinuria higher than 4 grams/day. We can conclude that urinary sediment analysis has an important contribution to discrimination between nephritic and nephrotic syndrome and give us essential information about kidney damage.

Sindroamele nefrologice – sedimente nefritice și nefrotice

Gîju S.¹, Flangea Corina², Dumitrașcu V.^{1,3}, Vlad Daliborca^{1,3}, Petrica Ligia⁴

1. Laboratorul Central de Analize, Spitalul Clinic Județean de Urgență Timișoara; 2. Disciplina de Biochimie, UMF „Victor Babeș”, Timișoara; 3. Disciplina de Farmacologie, UMF „Victor Babeș”, Timișoara; 4. Disciplina de Nefrologie, UMF „Victor Babeș”, Timișoara

Examenul de urină este un element esențial în identificarea și diferențierea sindromului nefritic de sindromul nefrotic. Sindromul nefritic este asociat cu afecțiunile glomerulare care permit trecerea proteinelor și hematiilor în urină. În contrast, sindromul nefrotic se caracterizează doar prin trecerea proteinelor în urină. Principalul scop al studiului nostru este demonstrarea importanței aspectului sedimentului urinar în aceste două afecțiuni și interpretării datelor de laborator de către medicul clinician. Pentru aceasta, am analizat sedimentul urinar provenit de la 54 de pacienți internați în Clinica de Nefrologie, diagnosticați cu o afecțiune renală ce determină apariția sindromului nefrotic sau nefritic. Am utilizat paralelismul tehniciilor microscopice (microscopie în câmp luminos, contrast de fază și lumină polarizată) precum și colorarea preparatelor microscopice acolo unde a fost necesar utilizând colorațiile May-Grünwald-Giemsa, Sudan III și Sternheimer-Malbin. Sedimentele nefritice (n=33) au ilustrat prezența hematiilor dysmorf uneori acompaniate de cilindri eritrocitari. De asemenea, au putut fi observați numeroși cilindri celulares și granuloși. Leucocitele au fost prezente doar偶然 dar întotdeauna numărul lor a fost mai mic comparativ cu cel al hematiilor. Sedimentele nefrotice (n=11) evidențiază o masă de cilindri granuloși alături de cilindri hialini, corpi grăsoși ovali și cilindri grăsoși. Câteva cristale de colesterol au fost de asemenea prezente. O hematurie abundantă însoțită de cilindri eritrocitari a fost identificată în două cazuri de sindrom nefrotic cu afectare glomerulară și proteinurie de peste 4 grame/24 ore. Astfel, putem concluziona că analiza sedimentului urinar are o contribuție importantă la diferențierea sindromului nefritic de sindromul nefrotic și oferă informații esențiale asupra afectării renale.

P56. Diselectrolytemia – risk factor for atrial fibrillation after aortic valve replacement

Velimirovici Dana, Rada Maria, Berceanu Văduva Delia, Drăgan Simona, Berceanu Văduva M., Duda Seiman D.M., Cobzariu I.F., Rădlescu Matilda, Arambasa Alexandra, Mancaş Silvia

„Victor Babeş“ University of Medicine and Pharmacy, Timișoara

Objectives: The influence of diselectrolytemia, along with other pre-, intra-, and postoperative factors, on the occurrence of rythm disorder, especially atrial fibrillation (AF) after aortic valve replacement with mechanical or biological valve prosthesis. **Material and method:** the study included 45 patients (27 men and 18 women) with aortic prosthesis from the Cardiovascular Rehabilitation Clinic Timișoara, in average 8,5 days after aortic valve replacement. All patients were electrocardiographically monitored (EKG and Holter rythm/24 hours) during hospital admittance, and one month postoperative. The threshold values for defining diselectrolytemia were: hypokalemia < 3,5 mEq/l and hypomagnesemia < 1,6 mg%. **Results:** Atrial fibrillation was the most frequent arrhythmia after heart surgery, its occurrence being of 44,44% in the study; 6,66% of the patients showed preoperative AF, and in 37,77% of the patients, AF occurred as a postoperative complication. A month after surgery, its occurrence seriously diminishes from 44,44% to 11,11% ($p<0,001$). Diselectrolytemia occurrence in the beginning of the study was 40%, and one month after surgery it seriously diminished to 15,55% ($p<0,001$). Hypokalemia was the most frequent diselectrolytemia, occurring in both precocious preoperative stage and after a month (17,77% vs. 8,88%). 33,33% of the dislectrolytemia patients showed AF at the moment of study inclusion, compared with 11,11% one month after surgery. **Conclusions:** Diselectrolytemia, frequently occurring after surgery, is a triggering factor for rythm disorders. Hypokalemia occurrence was much higher among AF patients. A month after surgery, AF occurrence seriously diminished through correction of diselectrolytemia and other factors.

Diselectrolitemia – factor de risc al apariției fibrilației atriale post-înlocuire valvulară aortică

Velimirovici Dana, Rada Maria, Berceanu Văduva Delia, Drăgan Simona, Berceanu Văduva M., Duda Seiman D.M., Cobzariu I.F., Rădlescu Matilda, Arambasa Alexandra, Mancaş Silvia

UMF „Victor Babeş“, Timișoara

Scopul lucrării: S-a urmărit influența diselectrolitemiilor alături de ceilalți factori pre-, intra- și postoperatori asupra incidenței tulburărilor de ritm, în special a fibrilației atriale (FA), post-înlocuire valvulară aortică cu proteză mecanică sau biologică. **Material și metodă:** Au fost incluși în studiu 45 pacienți (27 bărbați, 18 femei) protezați aortic internați în medie la 8,5 zile postoperator în Clinica de Recuperare Cardiovasculară Timișoara. Toți pacienții au fost monitorizați electrocardiografic (ECG și Holter ritm/24 ore) pe perioada internării și la o lună postoperator. Valorile prag pentru definirea diselectrolitemiilor au fost: hipopotasemie <3,5mEq/l și hipomagnezemie <1,6mg%. **Rezultate:** Fibrilația atrială a fost cea mai frecventă aritmie după chirurgia cardiacă, incidența sa fiind de 44,44% la includere în studiu; 6,66% din pacienți au prezentat FA și preoperator, iar la 37,77% aceasta a survenit ca o complicație postoperatorie. La o lună postoperator incidența acesteia se reduce semnificativ de la

44,44% la 11,11% ($p<0,001$). Incidența diselectrolitemiilor la debutul studiului a fost de 40%, iar la o lună postoperator aceasta a scăzut semnificativ la 15,55% ($p<0,001$). Hipotassemia a fost cea mai frecventă diselectrolitemie întâlnită atât în faza postoperatorie precoce cât și la o lună (17,77% versus 8,88%). Un procent de 33,33% din pacienții cu diselectrolitemie au prezentat FA la includere în studiu, comparativ cu 11,11% la o lună postoperator. **Concluzii:** Diselectrolitemiile, frecvent întâlnite postoperator, constituie un factor precipitant al tulburărilor de ritm. Incidența hipotassemiei a fost mult mai crescută în rândul pacienților cu FA. La o lună postoperator incidența FA s-a redus semnificativ atât prin corecția diselectrolitemiei cât și a celorlalți factori implicați în apariția acesteia.

Authors index

Index de autori

A

Adămuț Marcela: P7, P8, P13, P16,
P17, P18
Al-Aissa Zahra: C59
Albu Elena: P49
Albuț Irina: P49
Amzar Daniela: P33
Anghel Andrei: P44
Anghel G.: C45
Anisiei Ecaterina: P40
Antmann Katalin: P1
Anton G.: C20
Anton Gabriela: P34, P35
Apati Estera: P3, P15
Arambașa Alexandra: P10, P56

B

Babayan A.Y.: C26
Babiuc Constantin: P21
Bacârea Anca: C16
Bacârea Vladimir: C16
Badicut I.: P12
Bădițoiu Luminița: P7, P20
Badiu C.: C20
Bagoly Z.: R31
Bălăceanu Alina: P8
Balogh-Sămărghițan V.: P6, C61
Băncescu A.: C36
Bănescu Claudia: C9, C24, C27, C28
Bánfi Renáta: P1
Barbarii L.: C66, P26
Barna Zsófia: P1

Bashkatov S.V.: C26
Beaulieu Yves: R58
Belengeanu V.: C20
Bene Liliana: R3
Benedek Erzsébet: C9
Benedek I.: C9
Berceanu – Văduva Delia: P16, P2, P7,
P8, P10, P13, P14, P17, P18, P19,
P56
Berceanu Văduva M.: P2, P10, P56
Bereczky Z.: R31, R32, P27
Bilcă Doina Veronica: C44, C41, C43
Björklund Geir: P51
Blaton V.: R53
Bonte Diana Camelia: P28, P44, P45
Bonte Ovidiu Horia: P45
Borza Claudia: P46, P47
Botea S.: P12
Braha Elena: C22
Brânzeu Cristina: P20
Bricca Giampiero: R51
Brudașcă Ioana : R33
Bujoran Cornel: C22
Bumbăcila Bogdan: P34
Burtă Olivia Ligia: P30
Butilă Todoran Anamaria: C9, C24,
C27
Butnariu Lăcrămioara: C22

C

Caba Lavinia: C22
Carasevici Eugen: R65
Chicin Grațiana: P20

Chiriac Carmen: C48, P5
Ciacli Camelia: P22, P31, P32, P41, P42, P43
Cinca Rodica: P52, P53, P54
Cobzariu I.F.: P10, P56
Codiță Irina: R38
Colhon D.M. : R33
Constantin Gianina: P48, P50
Constantin Nicoleta: P25
Constantinescu A.: C66, P26
Constantinescu C.: C66, P26
Cornianu Marioara: P33, P36
Costi Simona: P33, P36
Covic Mircea: C22, C29
Crăciun Elena Cristina: C60, P51, C61
Crăciunescu Mihaela: P7, P8, P14, P16, P17, P19
Crasnic Ioan: P22
Crisan Tania: C23
Cristea Anca: R3
Cristescu Carmen: P46, P47
Csép Katalin: C27, C28, C9, C24
Cuciureanu Rodica: P49
Cucu N.: C20
Cucu Natalia: P34
Cucuijanu Andrei: C8, C10, R15, C16
Cucuijanu Mircea: R33
Czédula András: C61

D

Dan D.: C20
Dancescu M.: C62
David Dana Liana: P44, P45
David G.: C62
Dema Alis: P36
Dican Lucia: P24
Diculescu M.: C66
Dima Delia: C8, C10
Dimitriu Cristina: P40
Dobre Michaela: P25
Dobreanu Dan: P37
Dobreanu Minodora: C48, R54, C59, C61, P5
Dorcioman Bogdana: C16

Dorobat Olga Mihaela: P12
Drăgan Ana-Maria: P11
Dragan Petru: C63
Drăgan Simona: P10, P56
Dragomirescu Liliana: P13, P19, P20
Dronca Maria: C60, P51
Drugan Cristina: C24, C25
Duda Seiman D.M.: P56
Dugăeșescu Dorina: P2, P14, P18
Duicu Carmen: C9
Duicu Oana: P46, P47
Dumache Raluca: P34, P35
Dumitrașcu V.: P52, P53, P54, P55
Duță-Cornescu Georgiana: P25

E

Elefterescu Mărioara: P9
Erdelean V.: P41, P42

F

Faé Ingrid: P24
Farcas M.: C23
Farkas László Attila: C43
Faur Alexandra: P33, P36
Fazakas Zita: P6, P29
Filip Cristiana: P49
Filip Florina: P40
Filipas Cristina: R15
Fischer G.F.: P24
Flangea Corina : P55
Fodor Andrea: P5
Fodor Márta Andrea: C48
Foia Liliana: P40
Földes Annamária: C41, C43
Foris Vasile : C68
Funduc Ileana: R64

G

Gacs Mária: C40
Găiculescu M.: P26
Găinaru Cecilia: P48

Garbovan Cristina: C48

Georgescu Anca: C48

Gheoca Roxana: P38, P39

Gherase C.: C45

Ghete Mihaela: P46, P47

Gîju S.: P52, P54, P55

Gîrbea G.: P26, C66

Gliga Camelia: C27

Gligor Ramona: P22, P43

Golieeanu Madalina: P31, P32

Gologan S.: C66

Golu Ioana: P33

Gorduza Eusebiu Vlad: C22

Gorduza Vlad: C29

Gotia Laura: P31, P32, P41, P42

Gotia Smaranda: P31, P32, P41, P42

Grămescu Mihaela: C22

Grigorescu-Sido Paula: C25

Gurban Camelia: P22, P31, P32, P41, P42, P43

Gurban Camelia Vidița: P36

H

Hajbel-Vékony Gabriella: C40

Haramura G.: P27

Higgins Trefor: R57, C59

Hobai Ștefan: R4

Hogea Elena: P14, P16, P18, P20

Horhat F.: P14, P19, P20

I

Iancu C.B.: C66, P26

Iancu D.: C66, P23, P26

Incze Andrea: C48

Ionescu D.: C36

Ionescu G.: R35, C36, C39

Ionescu I.: C62

Ionescu Iulian: C63

Ioniță Hortensia: C11

Ioniță Ioana: C11

Ivanov Iuliu: C22, C29

J

Jákó Zsuzsanna: C61

K

Karyakin O.B.: C26

Kastal Timea: P6

Kaycsa Adriana: P35

Kezdi Iringo: C48

Kirizs Róbert: C59

Kósa Beáta: C61

Kovács E.: R32

Kovács EG: P27

L

László Annamária: P29

Lazăr Elena: P36

Lazslo Anamaria: C27

Lazureanu Codruta: P33, P36

Licker Monica: P7, P8, P13, P14, P16, P17, P18, P19, P20

Lighezan Daniel Florin: P28

Lighezan Rodica: P28, P44, P45

Liszt Ferenc: R2

Lórinczi Lilla: C41

Lung Valentin: C68

M

Man A.: C42, C44

Mancaș Silvia: P10, P56

Mare Anca: C42, C44

Marin Carmen: P9

Marusca Patricia: P15

Mateescu Rodica: P46

Matusz Anca Alexandra: P52, P53, P54

Micle Otilia: C60, P3, P15

Mihala Adrian: P31, P32

Militaru M.: C21

Militaru Mariela: C21, C23

Militaru Mariela S.: C10

Moldovan Andreea: C48

Moldovan Roxana: P2, P7, P8, P13,
P14, P16, P17, P18, P19, P20
Mortan Ramona: P3, P15
Moș Ioana: P11, P30
Motoc Marilena: P45
Muntean Delia: P2, P7, P8, P13, P14,
P16, P17, P18, P19, P20
Muset Gheorghe: P21
Muszbek L: R31, P27
Muszbek L. : R32

N

Nadig Satish: R55
Nășcuțiu Alexandra - Maria: C37
Nastase Violeta: R15
Neagu E.: C66, P26
Negrean Rodica: P15
Negură Lucian: C29
Negut M.: R35, C39
Nemes-Nagy Enikő: C59, C61
Németh Melinda: P1
Nemtsova M.V.: C26
Neuman Manuela: R47
Nicola Doina: P28
Nicolescu Ș.: C45
Nistor Elena: P28
Noveanu Lavinia: P47

O

Olariu Rareș: P28
Oltean Galafteon: C16
Olteanu C.: P9
Oprea Malina: C62
Oprea Mihaela: C43
Opriș Simona: P48, P50

P

Pall Emöke : C68
Panaiteescu Carmen: P8
Pânzariu Monica: C22
Pașcanu Ionela: C9, C24, C27, C28,

P29

Pászti Judit: C40, P1
Patiu Mariana: C10, R15, C16
Păunescu Iulieta: P28
Pelea Diana: P4, P30
Perian Marcel: P37
Petrica Ligia: P55
Petrov Ljubomir: C8, C10
Piciu Doina: C68
Piluț C.: P14, P19
Piluț Ciprian: P13
Pintilie G. Sofia: C62, C63
Pîrvan Ramona: P2, P13, P18
Poenaru D.V.: P52, P53, P54
Poenaru Mărioara: P7
Popa Daniela: P3, P4, P15
Popa Mihaela: P2, P7, P13, P14, P16,
P18
Popescu Roxana: C22
Popoiu M.: P12
Popp R.A.: C21, C23
Popp Radu A.: C10
Predescu Elena: P51
Puiu Maria: C19, C20, P34, P35
Puschita Maria: P22, P31, P32, P41,
P42
Puskás A: R31

R

Rada Maria: P10, P17, P56
Rădlescu Matilda: P56
Răducan Andreea: P47
Radulescu Ariadna: C67
Rădulescu Matilda: P2, P7, P8, P10,
P13, P16, P19
Rafila A.: R35, C39, P12
Rahaian Rodica: R3
Russu Eugeniu: P21
Rusu Cristina: C22, C29

S

Sabău Monica: C48
Saizu Ana Magdalena: P38, P39

Sali Vera: P21
Sânta Dóra: C61
Savescu Iasmina: P41, P42
Savoiu Germaine: P46, P47
Şchiopu A.: P29
Şchiopu Alexandru: R55
Scridon Alina: P37
Selicean Cristina: R15
Serban C.: P35
Serban Corina: P46, P47
Serban D.: P16, P17, P19
Serban Răzvan C.: P37
Sfrijan Felicia: P31, P32, P41, P42
Simona Drăgan: P17
Simon-Gruiaș Alexandra: P25
Sitariu Anca: P43
Sorîțău Olga : C68
Stamatian F.: C21
Stângă Livia: P2
Stanoiev J.: P8, P20
Stoian M.: C20
Stoian Monica: C19
Stoian Veronica: P25
Stoica Ortansa: C22
Străut Monica: C43
Szekely Edit: C42, C44, C41, C43

T

Tăbîrcă N.: C45
Talapan D.: P12
Talpes V.: C66, P26
Teaha Monica: P3, P4, P30
Tenea C.: P12
Teplov A.A.: C26
Tilea Brindușa: C48, P5
Todor Mihaela: P9
Todoran-Butilă Anamaria: C28
Toma Felicia: C42, C44
Toma Vasilica: P40
Tomuleasa Ciprian: C68
Tóth Ákos: C40
Tóth E: P27

Trandafir C.: C66
Trifa A.: C21
Trifa A.P.: C23
Trifa Adrian P.: C10
Țucra R.: C45

U

Ungureanu Didona: P40
Ungvári Erika: C40
Urcan Rodica: C48
Ursu Monica: P51

V

Valuch Anton: P48
Vargha Márta: P1
Velimirovici Dana: P2, P10, P17, P56
Venczellák M: P27
Vîlceanu Ioana: P23
Vitan A.: C45
Vlad Daliborca : P55
Vlad Daliborca Cristina: P52, P53, P54
Voidăzean Septimiu: C41
Voloșciuc Mihail: C22, C29

W

Wood Kathryn J.: R55

Z

Zaharia-Kézdi Iringó: P6
Zaharie Daniela: C63
Zaletaev D.V.: C26
Zamoșteanu Nina: P49
Zdrîncă Mihaela: P11, P30
Zlei Mihaela: P40
Zöld Gizella: C61
Zosin Ioana: P33, P44, P45
Zugravu Roxana: P18

Information and Guidelines for Authors

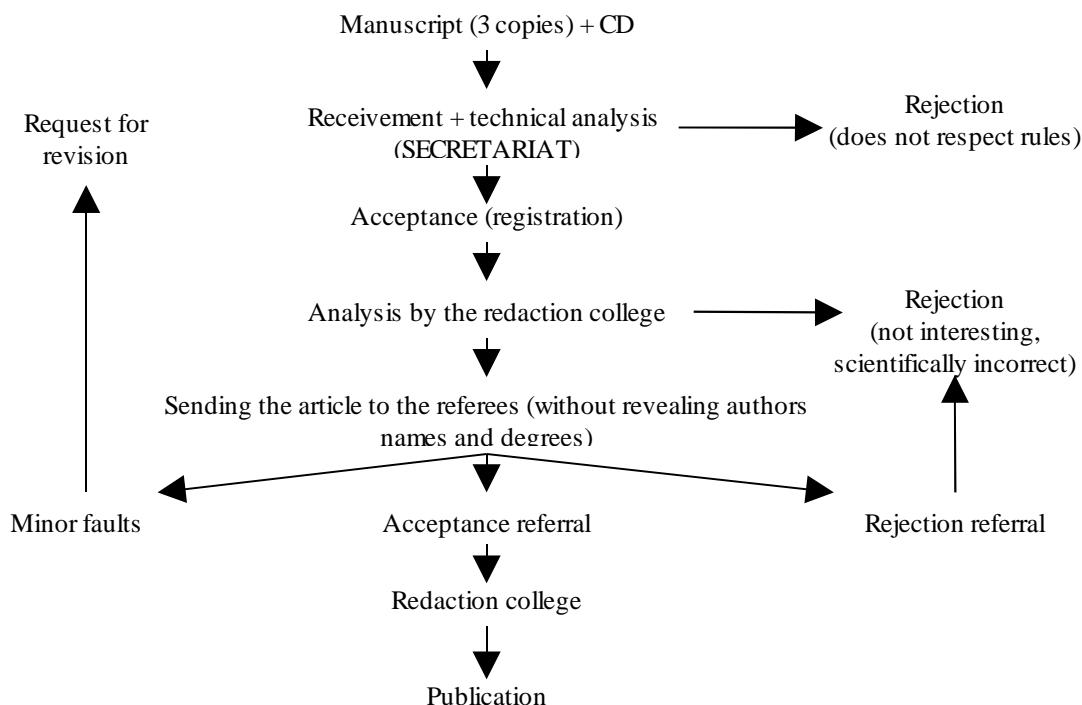
Version: December 15th 2008.

Revista Română de Medicină de Laborator (The Romanian Review of Laboratory Medicine) publishes editorials, original scientific and professional articles general reviews, case presentations, guidelines and recommendations of national and international scientific and professional associations, book reviews and announces events (congresses, symposia, courses) in the field of laboratory medicine. Its aim is to publish new information which can lead to a better understanding of the biological mechanisms of human diseases, improve prophylaxis and early diagnosis, as well

as therapy evaluation and patient health status. The Review also includes a “Course Notes” section for medical residents and for those who would like to update their knowledge into the approached fields. The frequency of the Review is currently four issues per year.

Manuscript submission

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



website of the Romanian Review of Laboratory Medicine (www.rrml.ro), or by regular mail to the Editor-in-Chief, on compact disk. It is preferable that three copies of the manuscript (including tables and figures), printed on one side of A4 paper format, double-spaced, with 2.5 cm margins, be also submitted to the same address.

Submission documents

At the time of submission, the *Romanian Review of Laboratory Medicine* requires an explicit statement by the corresponding author warranting that the manuscript, as submitted, has been reviewed by and approved by all named authors; that the corresponding author is empowered by all of the authors to act on their behalf with respect to the submission of the manuscript; that the article does not infringe upon any copyright or other proprietary right of any third party; that neither the text nor the data have been published previously (abstracts excepted); and that the article or a substantially similar article is not under consideration by another journal at that time.

Upon submission of the manuscript, the corresponding author must provide the Editorial Board with documents proving that all those quoted for personal communications or listed in the *Acknowledgement* section have agreed to their inclusion. Authors are responsible for obtaining permission to reproduce copyrighted material from other sources and send an authenticated copy of the permission to the Editorial Board.

Each author must provide a clear **statement on potential conflicts of interest** in which he or she may be involved. The statement should include sources of funding, including internal support or grants from non-commercial institutions. The absence of funding should also be declared. The statement on conflicts of interest will be published at the end of the paper.

Mailing address. Please submit all re-

quested signed documents by regular mail to the Secretariat in attention to Prof. Minodora Dobreanu (Editor-in-Chief), University of Medicine and Pharmacy, Tîrgu Mureş, code 540136, No. 38, Str. Gheorghe Marinescu, Romania.

Scanned copies sent electronically and fax submissions are not acceptable.

Authorship

All named authors should meet the criteria for authorship as stated in the “Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication” issued by the International Committee of Medical Journal Editors (www.icmje.org):

“Authorship credit should be based on 1) substantial contributions to conception and design, acquisition of data, or analysis and interpretation of data; 2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content; and 3) final approval of the version to be published. Authors should meet conditions 1, 2, and 3. [...]

Acquisition of funding, collection of data, or general supervision of the research group alone does not constitute authorship.

All persons designated as authors should qualify for authorship, and all those who qualify should be listed.”

The *Romanian Review of Laboratory Medicine* considers all authors to be responsible for the content of the entire paper.

Authors are requested to describe their individual contributions to a study/ paper in a section that will be signed, attached to and sent together with the “Authorship Responsibilities” form.

Individuals who supplied reagents, strains or facilities should not be listed as authors, but may be recognized in the *Acknowledgements* section. Individuals who gave advice on the manuscript should be acknowledged, but are not considered authors.

Research involving human subjects or experimental animals

If the scientific project involves human subjects or experimental animals, authors must state in the manuscript that the protocol has been approved by the Ethics Committee of the institution within which the research work was undertaken. Experiments on live vertebrates or higher invertebrates must be demonstrated to be ethically acceptable and in accordance with institutional and national guidelines or regulations for laboratory animals. If the manuscript reports medical research involving human subjects, authors must include a statement confirming that informed consent was obtained from all subjects, according to the World Medical Association Declaration of Helsinki, revised in 2000, Edinburgh.

Editorial process and peer review

Submitted manuscripts are screened for completeness and quality of files and will not enter the review process until all files are satisfactory. The Secretariat will announce the corresponding author about the receipt and the status of the manuscript.

The articles are sent to referees with expertise in the laboratory medicine area, without revealing the authors' names and position. Also, the referees' identities are not known by the authors. Following the referees' recommendations, the Editors decide if a paper is published or not.

Submissions may be declined without external review as deemed appropriate by the Editor-in-Chief and the members of the Editorial Board.

The authors of the manuscripts that have been rejected or need revision will be announced. Revised manuscripts should be resubmitted as soon as possible, but not later than 6 weeks. Although unusual, a resubmission may be rejected after revision if the response to suggestions and requests is considered inadequate.

Corrections

Scientific fraud are rare events; however, they have a very serious impact on the integrity of the scientific community. If the Editorial Board uncovers possible evidence of such problems it will first contact the corresponding author in complete confidence, to allow adequate clarification of the situation. If the results of such interactions are not satisfactory, the Board will contact the appropriate official(s) in the institution(s) from which the manuscript originated. It is then left to the institution(s) in question to pursue the matter appropriately. Depending on the circumstances, the *Romanian Review of Laboratory Medicine* may also opt to publish errata, corrigenda, or retractions.

Manuscript preparation

Manuscripts must be written in English and prepared in conformity to the "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication" issued by the International Committee of Medical Journal Editors (www.icmje.org).

Authors should consult someone proficient in the English language, if they feel it is necessary. If the manuscript is not conform to accepted standards of English usage, the authors will be required to bear the cost of English supervision/ translation: the charge is 12,5 RON (3,5 EUR)/ supervised page and 25 RON (7 EUR)/ translated page.

Articles must be written in Microsoft Word, Style: Normal + Justified, Font: Times New Roman, font size 12. All manuscripts must be typed double-spaced. Original source files, not PDF files, are required. In text editing, authors should not use spacing with spacebar, tab or paragraph mark, but use the indentation and spacing options in Format → Paragraph. Automatic paging is preferred.

Please do not import tables or figures

into the text document, but only specify their insertion in text (e.g. *Table No3 insertion*). They have to be sent in separate files. Files should be labeled with appropriate and descriptive file names, without diacritics (e.g. Popescu Imunofluorescenta.doc, Popescu Imunofluorescenta Fig1.tiff, Popescu Imunofluorescenta Table2.doc).

Resolution of scanned images must be at least 300 dpi at the size they will appear in the print and there must be no scanning faults (e.g. shadows, malrotation). The preferred format for digital images files is TIFF (Tagged Image File Format). JPEG (Joint Photographic Experts Group) format can be used for photographs if the image is saved with minimum compression. Please do not save digital files in GIF (Graphics Interchange Format) format. Any special instructions regarding sizing should be clearly noted. Authors should state the coloration technique and the magnification factor of all images of microscopic samples.

The author will be required to bear the cost of publication of color illustrations, if the number of these exceeds two color figures (invited contributions excepted). The charge is 60 RON (15 EUR) for each color figure, starting with the third illustration).

All payments will be operated in RO56BRDE270SV16682302700 bank account open for Romanian Association of Medical Laboratories – CF 17383407 – at BRD-Groupe Société Générale SA, Agenția Petru Maior, Str. Mihai Viteazu 31, Tîrgu Mureș. Please fax a copy of the bank draft at the Editorial Secretariat (+40 265 217 425).

Manuscript organization

Text will be structured on separate pages, as follows:

Page 1: Title of the paper, having no more than 150 characters, with no abbreviations.

Page 2: First name, middle initiale and surname of the authors, without any scientific,

didactic or military degrees; full name of the working-place (institution and department) for each author; contact details of the corresponding author (full address, telephone number, fax number, e-mail address) and the address of the institution and department where the study has been carried out. Contact details will be published unless otherwise requested by the author.

Page 3: Abstract page.

The **abstract** should have no more than 250 words and describe briefly the purpose of the study, methods and procedures used, the most important results, main conclusions, new aspects and importance of the study. **Key words** (at least 3) according to *Index medicus*.

Pages 4 and next:

The text of original papers will be organized in: introduction (no more than 25% of the text), material and methods, results, comments or discussions and acknowledgements. **Material and methods** have to be described in enough detail to permit reproduction by other teams. The same product names should be used throughout the text (with the brand name in parenthesis at the first use). **Results** should be presented concisely. Tables and figures should not duplicate text. The **discussion** should set the results in context and set forth the major conclusions of the authors. Information from the Introduction or Results should not be repeated unless necessary for clarity. The discussion should also include a comparison among the obtained results and other studies from the literature, with explanations or hypothesis on the observed differences, comments on the importance of the study and the actual status of the investigated subject, unsolved problems, questions to be answered in the future. In addition to the customary recognition of non-authors who have been helpful to the work described, the **acknowledgements** section must disclose any substantive conflicts of interest.

Abbreviations shall be preceded by the full term at their first apparition in text. A list of all used abbreviations shall be made at the end

of the article.

Separate pages: tables, graphics, pictures and schemes will appear on separate pages.

Tables will have a reasonable number of rows and columns.

Please do not forget to send the tables, charts, schemes etc. in their original file format (for example, .xls files if they were created in Microsoft Excel), and not embedded in the article text file (see **Manuscript preparation** section).

References should be numbered consecutively in the order in which they are first mentioned in the text. Identify references in text, tables, and legends by Arabic numerals in parentheses. References cited only in tables or figure legends should be numbered in accordance with the sequence established by the first identification in the text of the particular table or figure. The titles of journals should be abbreviated according to the style used in *Index Medicus*. Consult the list of Journals Indexed for MEDLINE, published annually as a separate publication by the National Library of Medicine. Authors are responsible for the accuracy

and completeness of all references and are also responsible for ensuring that references are not used out of context.

For journal articles use the following form: authors' surnames and first names initials, article's title, the journal abbreviation according to the *Index Medicus*, year, volume, starting and ending pages of the article. If there are more than six authors, list the first six and add et al.

e.g. Zimmermann MB, de Benoist B, Corigliano S, Jooste PL, Molinari L, Moosa K, et al. Assessment of iodine status using dried blood spot thyroglobulin: development of reference material and establishment of an international reference range in iodine-sufficient children. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006 Dec;91(12):4881-7

For books or monographs: the names of the cited chapter's authors, chapter's title, the editors, the book's or monograph's title, Editure's name and location, the year of the appearance and pages.

Revista Română de Medicină de Laborator

Official publication of the *Romanian Association of Medical Laboratories*

Editorial Office:

Prof. Minodora Dobreanu

University of Medicine and Pharmacy, Tîrgu Mureş

Dept. of Clinical Biochemistry

Str. Gh. Marinescu, Nr. 38, Tîrgu Mureş, Romania

Tel./Fax: +40 265 217 425, E-mail: publication@almr.ro, Website: www.rrml.ro

A L M R



Authorship responsibilities

Signing this form, the authors of the manuscript entitled:

guarantee that:

- the corresponding author is empowered by all of the authors to act on their behalf with respect to the submission of the manuscript;
- the article, as submitted, has been reviewed by and approved by all named authors;
- all named authors have participated substantially in the work;
- all those who have participated in the work in a substantive way have been named as authors of the paper;
- the paper is original (only applies to articles reporting research results);
- the article does not infringe upon any copyright or other proprietary right of any third party;
- neither the text nor the data have been published previously, abstracts excepted (applies to articles reporting research results)
- the article or a substantially similar article is not under consideration by another journal at submission time. If this can not be certified, permission from the copyright owner to republish copyrighted material must be included with the manuscript.

The author(s), in consideration of the acceptance of the above paper for publication, does hereby assign to the Editorial Board of the Romanian Review of Laboratory Medicine the rights to publish the above mentioned paper, in its current form and in any form subsequently revised for publication and/or electronic dissemination and they will republish/re-disseminate this material only with the written consent from the Editor-in-Chief of the Romanian Review of Laboratory Medicine.

Authors:

Name, Signature, Date

1. _____
2. _____
3. _____
4. _____
5. _____
6. _____
7. _____
8. _____