

**REVISTA ROMÂNĂ DE
MEDICINĂ DE LABORATOR**

Supliment la Vol. 23, Nr. 1, Martie, 2015

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, www.raml-conference.ro



REVISTA ROMÂNĂ DE MEDICINĂ DE LABORATOR

Romanian Review of Laboratory Medicine

Publicație Oficială a ASOCIAȚIEI LABORATOARELOR MEDICALE DIN ROMÂNIA

Supliment la Vol. 23, Nr. 1, Martie, 2015

Comitetul de redacție

Redactor șef
Minodora Dobreanu

Redactor adjunct
Adrian Man

Secretariat redacție
Floredana Șular

Comitet redacțional

Anca Bacărea
Claudia Bănescu
Simona Cernea
Ovidiu Cotoi
Carmen Duicu
Andrea Marta Fodor
Ileana Funduc
Andrada Loghin
Cosmin Moldovan
Valeriu Moldovan
Edit Szekeley
Septimiu Voidăzan

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). Factor impact 2013: 0.171

Elsevier Bibliographic Databases

RRML este indexată în bazele de date SCOPUS și EMCARE, începând cu anul 2008.

Index Copernicus Master journal List - din anul 2009.

CNCSIS

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

CMR

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

OBBCSSR

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

Scientific Reviewers

- Isabel Alvarado-Cabrero (*Mexican Oncology Hospital, Mexico City, Mexico*)
 Patrice André (*Univ. Claude Bernard Lyon I, France*)
 Victoria Arama (*Institutul Național de Boli Infecțioase „Matei Balș”*)
 Aurora Arghir (*Institutul Național „Victor Babeș” București*)
 Simona Avram (*Spitalul „Regina Maria” Cluj-Napoca*)
 Vladimir Bacărea (*UMF Tîrgu Mureș*)
 Despina Baghiu (*UMF Tîrgu Mureș*)
 Rodica Bălașa (*UMF Tîrgu Mureș*)
 Aurel Bizo (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca*)
 Elena Bobescu (*Univ. „Transilvania” Brașov*)
 Angela Borda (*UMF Tîrgu Mureș*)
 Ovidiu Bratu (*Spitalul Militar București*)
 Ioana Brudașcă (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca*)
 Magdalena Budișteanu (*Spitalul Clinic de Psihiatrie „Alexandru Obregia” București*)
 Gallia Butnaru (*USAMVB Timisoara*)
 Eugen Carasevici (*UMF „Gr. T. Popa” Iași*)
 Carmen Chifiriuc (*Universitatea București*)
 Carmen Chiriac (*UMF Tîrgu Mureș*)
 Corina Cianga (*UMF „Gr. T. Popa” Iași*)
 Petru Cianga (*UMF „Gr. T. Popa” Iași*)
 Mircea Cintează (*UMF „Carol Davila” București*)
 Irina Codiță (*UMF „Carol Davila” București*)
 Adriana Coliță (*UMF „Carol Davila” București*)
 Dan Coliță (*UMF „Carol Davila” București*)
 Ileana Constantinescu (*Institutul Clinic Fundeni*)
 Daniel Coriu (*UMF „Carol Davila” București*)
 Anca Cristea (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca*)
 Victor Cristea (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca*)
 Andrei Cucuianu (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca*)
 Mircea Cucuianu (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca*)
 Augustin Curticăpean (*UMF Tîrgu Mureș*)
 Alis Dema (*UMF „Victor Babeș” Timișoara*)
 Camelia Dobrea (*UMF „Carol Davila” București*)
 Dan Dobreanu (*UMF Tîrgu Mureș*)
 Dana Dobru (*UMF Tîrgu Mureș*)
 Olga Dorobăț (*Institutul Național de Boli Infecțioase „Matei Balș”*)
 Maria Dronca (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca*)
 Maurizio Ferrari (*Univ. „Vita-Salute San Raffaele”, Milan, Italy*)
 Mirela Flonta (*Spitalul de Boli Infecțioase, Cluj-Napoca*)
 Dragoș Florea (*Institutul Național de Boli Infecțioase „Matei Balș”*)
 Dan Georgescu (*UMF Tîrgu Mureș*)
 Vlad Gorduza (*UMF „Gr. T. Popa” Iași*)
 Maria Greabu (*UMF „Carol Davila” București*)
 Éva György (*Universitatea Sapientia, Miercurea Ciuc*)
 Nicolae Hâncu (*UMF „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca*)
 Trefor Higgins (*Dyna LIFE Dx Laboratories, Edmonton, Canada*)
 Daniela Homorodean (*Spitalul Clinic de Pneumologie Cluj-Napoca*)
 Steliana Huhulescu (*Institut für med. Mikrobiologie und Hygiene, Viena, Austria*)
 Luminița Smaranda Iancu (*UMF „Gr. T. Popa” Iași*)
 Imran Imran (*Pharmacology Institute for Natural Scientist, Germany*)
 Gabriel Ionescu (*UMF „Carol Davila” București*)
 Hortensia Ioniță (*UMF „Victor Babeș” Timișoara*)
 János Kappelmayer (*Univ. Debrecen, Hungary*)
 Gábor Kovács (*Univ. Pecs, Hungary*)
 Crezante Lazăr (*RoEQUALM*)
 Monica Licker (*UMF Timișoara*)
 Lilla Lorinczi (*UMF Tîrgu Mureș*)
 Mihaela Lupșe (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca*)
 Cristina Mambet (*Laboratorul Central SYNEVO, București*)
 Mihai Mareș (*Universitatea de Medicină Veterinară, Iași*)
 Claudiu Mărgăritescu (*UMF Craiova*)
 Marius Mărușteri (*UMF Tîrgu Mureș*)

- Adriana Mihai (UMF Tîrgu Mureş)
 Maria Mohora (UMF „Carol Davila” Bucureşti)
 Andreea Moicean (UMF „Carol Davila” Bucureşti)
 Roxana Moldovan (UMF „Victor Babeş” Timişoara)
 Dumitru Moldovan (UMF Tîrgu Mureş)
 Daniela Lucia Muntean (UMF Tîrgu Mureş)
 Adelina Munteanu (UMF „Carol Davila” Bucureşti)
 László Muszbek (Univ. Debrecen, Hungary)
 Alexandra Năşcuţiu (UMF „Carol Davila” Bucureşti)
 Ioana Neagoe (UMF „Iuliu Haţieganu” Cluj-Napoca)
 Marian Neguţ (UMF „Carol Davila” Bucureşti)
 Manuela Neuman (Institute of Drug Research, Univ. of Toronto, Canada)
 Francisco Nogales (Universidad de Granada, Spain)
 Grazyna Odrowaz-Sypniewska (Nicolaus Copernicus University, Torun, Poland)
 Galafteon Oltean (UMF Tîrgu Mureş)
 Dan Oţelea (Institutul Naţional de Boli Infecţioase „Matei Balş”)
 Vladimír Palicka (Univ. Hradec Kralove, Praga, Czech Republic)
 Raluca Papacoea (UMF „Carol Davila” Bucureşti)
 Ioan Pascu (UMF Tîrgu Mureş)
 Ionela Paşcanu (UMF Tîrgu Mureş)
 Mariana Paţiu (Institutul Oncologic „Ion Chiricuţă”, Cluj-Napoca)
 Ioan Victor Pop (UMF „Iuliu Haţieganu” Cluj-Napoca)
 Monica Dana Pop (UMF Tîrgu Mureş)
 Radu Popp (UMF „Iuliu Haţieganu” Cluj-Napoca)
 Connie Prosser (Univ. of Alberta Hospital, Edmonton, Canada)
 Maria Puiu (UMF „Victor Babeş” Timişoara)
 Lucian Puşcaşiu (UMF Tîrgu Mureş)
 Marius Sabău (UMF Tîrgu Mureş)
 Monica Sabău (UMF Tîrgu Mureş)
 Alina Scridon (UMF Tîrgu Mureş)
 Cristina Selicean (Institutul Oncologic „Ion Chiricuţă”, Cluj-Napoca)
 Emilia Severin (UMF „Carol Davila” Bucureşti)
 Agneta Simionescu (Clemson University, USA)
 Cristiana Simionescu (UMF Craiova)
 Dan Simionescu (Clemson University, USA)
 Ana Maria Simundic (Univ. Zagreb, Croatia)
 Cristina Skrypnyk (Arabian Gulf University, Manama, Bahrain)
 Robert Soslow (Memorial Sloan Kettering Cancer Center, New York, USA)
 Horia Stănescu (University College London, UK)
 Cătălina Suzana Stîngu (Universitätsklinikum Leipzig, Germany)
 Simona Stolnicu (UMF Tîrgu Mureş)
 Monica Străuţ (INCDMI „I. Cantacuzino”)
 Adrian Streinu-Cercel (UMF „Carol Davila” Bucureşti)
 Franc Strle (University Medical Centre Ljubljana, Slovenia)
 Alexandru Şchiopu Jr. (Lund University, Malmö, Sweden)
 Margit Şerban (UMF „Victor Babeş” Timişoara)
 Sorina Taban (UMF „Victor Babeş” Timişoara)
 Gratiela Tardei (Spitalul Clinic Boli Infecţioase şi Tropicale „Dr. Victor Babeş”)
 Felicia Toma (UMF Tîrgu Mureş)
 Elizabeta Topic (Univ. Zagreb, Croatia)
 Adrian Trifa (UMF „Iuliu Haţieganu” Cluj-Napoca)
 Didona Ungureanu (UMF „Gr. T. Popa” Iaşi)
 Corina Ureche (UMF Tîrgu Mureş)
 Cornel Ursaciuc (Institutul Naţional „Victor Babeş”)
 Camil Vari (UMF Tîrgu Mureş)
 Dumitru Zdrengea (UMF „Iuliu Haţieganu” Cluj-Napoca)
 Mihaela Zlei (Institutul Regional de Oncologie, Iaşi)
 Florin Eloae Zugun (UMF „Gr. T. Popa” Iaşi)

Table of contents

1st Congress of the Romanian Association of Laboratory Medicine with International Participation	S9
Abstracts* / Rezumate	S13
Authors Index / Index de autori	S121
Information and Guidelines for Authors	S125

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



**1st Congress of the Romanian Association
of Laboratory Medicine
with International Participation**

Under the auspices of IFCC and EFLM



ABSTRACT BOOK

20-23rd May 2015, Sighișoara, Romania

Organizers

Romanian Association of Laboratory Medicine
University of Medicine and Pharmacy Iuliu Hațieganu Cluj Napoca
University of Medicine and Pharmacy Tîrgu Mureș
University of Medicine and Pharmacy Grigore T. Popa Iași
University of Medicine and Pharmacy Carol Davila București
Romanian Society of Microbiology
Romanian Society of Hematology

Organizing Committee

Cluj Napoca

Ioana Brudașcă (RALM President)
Mariana Pațiu
Mihai Aldica
Cristina Selicean

Tîrgu Mureș

Minodora Dobreanu
Floredana Șular
Alina Mărginean
Eliza Remona David

Bucharest

Ileana Funduc (RALM Vice-president)
Ariadna Rădulescu
Daniela Miricescu

Scientific Committee

Assoc. Prof. Ioana Brudașcă
Prof. Eugen Carasevici
Prof. Dan Coliță
Prof. Mircea Cucuianu
Assoc. Prof. Irina Codiță
Prof. Dan Coriu
Prof. Anca Cristea
Prof. Minodora Dobreanu

Prof. Olga Dorobăț
Prof. Maria Greabu
Prof. Maria Mohora
Lecturer Gabriel Ionescu
Cezante Lazăr, PhD
Assoc. Prof. Mariana Pațiu
Cristina Selicean, MD
Cristina Mambet, MD

General Information

Venue

The Opening ceremony and scientific sessions of the 1st Congress of the Romanian Association of Laboratory Medicine will be held at Hotel CAVALER, Sighișoara

Secretariat

The Conference Secretariat will be open in the lobby of CAVALER Hotel as follows:

Wednesday, 20th May 2015, between 12.00-19.00

Participants registration

Thursday, 21nd May 2015, between 8.30 – 13.30 and 15.30 – 19.00:

Participants registration

Application for RAML membership and payment of the RAML membership fee.

Subscription to the Romanian Review of Laboratory Medicine

Friday, 22nd May 2015, between 8.30 - 13.00

Subscription to the *Romanian Review of Laboratory Medicine*

Application for RAML membership and payment of the RAML membership fee

Upon registration, participants will receive the conference materials and accomodation

Accomodation

Guest accomodation will be made at *CAVALER*, *Central Park* and *Binder Bubi* Hotels, Sighișoara

Poster and oral presentations

Presentations will be assigned the following amount of time:

20 minutes – plenary report (R)

10 minutes – oral communication (C)

5 minutes – poster presentation (P)

Main Sponsors:

ROCHE DIAGNOSTICS

CLINILAB

Major Sponsors:

ABBOTT
BIOMEDICA MEDIZINPRODUKTE
BIVARIA
DIAMEDIX
MEDIST
NOVAINTERMED
PROTON
TOP DIAGNOSTICS

Official Sponsors:

AMS
ANTISEL RO
BALMED
BIO AQUA GROUP
BIOSYSTEMS DIAGNOSTIC
ELTA 90 MEDICAL
GLOBAL VIEW
NOBIS
PALMED PATRONAT
ROCO SISTEM
TEHNO INDUSTRIAL

MEDIA PARTNER:

EDITURA ALL

EDITURA MEDICAL MARKET

Wednesday 20th of May 2015

Plenary lectures MOLECULAR BIOLOGY

Chairpersons: Prof. Dr. Maurizio Ferrari, Prof. Dr. Eugen Carasevici

**R1. P4 Medicine: Predictive, Preventive, Personalized and Participatory.
A new trend in Laboratory Medicine.**

Maurizio Ferrari

*Vita-Salute San Raffaele University, and Genomic Unit for the Diagnosis of Human Pathologies,
San Raffaele Scientific Institute, Milan, Italy.*

Personalized medicine, which simply means selection of treatment best suited for an individual, involves integration and translation of several new technologies in clinical care of patients. The scope is much broader than indicated by the term genomic medicine because many non-genomic factors are taken into consideration in developing personalized medicine.

The wide and public availability of the human genome sequence and the other tools spawned by the Human Genome Project have helped to create an unparalleled era of biomedical discovery.

Researchers have discovered hundreds of genes that harbour variations contributing to human illness, identified genetic variability in patients' responses to dozens of treatments, and begun to target the molecular causes of some diseases. In addition, scientists are developing and using diagnostic tests based on genetics or other molecular mechanisms to better predict patients' responses to targeted therapy. Since the completion of the mapping of the human genome, we have seen whole new areas of research evolve such as genomics, proteomics, and metabolomics.

Advances in DNA analysis to develop methods, which are increasingly specific, sensitive, fast, simple, automatable, and cost-effective, are considered paramount. These demands are currently driving the rapid evolution of a diverse range of newer technologies.

Although the potential diagnostic applications are unlimited, most important current applications are foreseen in the areas of biomarker research, cancer diagnosis and detection of infectious microorganisms.

There has been an explosion in the number of validated markers but relatively little independent analysis of the validity of the tests used to identify them in biologic specimens. The success of personalized medicine depends on having accurate diagnostic tests that identify patients who can benefit from targeted therapies.

Another important step will be expanding efforts to develop tissue banks containing specimens along with information linking them to clinical outcomes.

In this arena Laboratory Medicine should play a major role.

R2. Axl receptor tyrosine kinase is a marker of epithelial–mesenchymal transition and mediates tumor invasion in breast cancer

Crina E. Tiron¹, Alina Makkai², Anca-Raluca Vranceanu², Eugen Carasevici^{1,2}

1.Gr.T.Popa University of Medicine and Pharmacy, Iasi, (AIDPATH project FP7 EC Marie Curie Action) 2.Regional Institute of Oncology, Iasi

The Axl receptor tyrosine kinase and its major ligand, Gas6 are over expressed in many human cancers, including breast, and associated with poor prognosis, promotion of epithelial-to-mesenchymal transition (EMT) invasive phenotype, and drug resistance.

PI3K/AKT is a main signal transduction pathway activated by Gas6-Axl. AKT kinases, represented by three related isoforms Akt1, Akt2 and Akt3, supply important roles in many cellular processes and are associated with cancer, diabetes, cardiovascular and neurological diseases when deregulated.

We have previously showed that the presence of the receptor tyrosine kinase Axl in primary breast cancers independently predicts strongly reduced overall patient survival, while corresponding patient metastatic lesions demonstrate enhanced Axl expression. Axl is also associated with EMT within intra ductal proliferative tumor cells that establish an autocrine signaling loop with its ligand Gas6.

Axl immunohistochemistry (IHC) staining has been performed on paraffin embedded sections of human primary breast tumors. Whole slide digital examination and region of interest (ROI) analysis proved to be a valuable tool in scoring Axl expression and disclosing its marker value for the EMT process. Our study reveals variability of Axl expression inside the tumour, and highlights the propensity of invasive front to associate an active process of epithelial to mesenchymal transition. Our data confirmed that Axl, AKT3 and Vimentin are very highly expressed in invasive tumor spots versus non invasive regions and indicates Axl as an EMT marker of dissemination suggesting, at the same time, that these attribute could be converted into an attractive target for therapeutic development.

Receptorul tirozin kinazic Axl este un marker al tranziției epitelial-mezenchimale și mediază invazia tumorală în cancerul mamar

Crina Elena Tiron¹, Alina Makkai², Anca-Raluca Vrânceanu², Eugen Carasevici^{1,2}

1.Universitatea de Medicină și Farmacie Gr.T.Popa, Iași, (Proiectul AIDPATH FP7 EC Marie Curie Action) 2.Institutul Regional de Oncologie, Iași

Receptorul tirozin kinazic Axl și ligandul său major Gas6 sunt supraexprimate în numeroase cancere umane, inclusiv cancerul mamar, asociate cu un prognostic nefavorabil, promovând un fenotip de tranziție epitelial-mezenchimală (EMT) și invaziv ce predispune la instalarea rezistenței la tratament. PI3K/AKT este calea principală de transducție a semnalului activat de Gas6-Axl. Kinazele AKT reprezentate de trei izoforme înrudite Akt1, Akt2, Akt3, îndeplinesc roluri importante în numeroase procese celulare și sunt asociate în condiții de dereglare cu cancerul, diabetul, bolile cardiovasculare și neurologice.

S-a arătat inițial că prezența receptorului tirozin kinazic Axl în tumorile maligne mamare primare este un factor de prognostic independent asociat cu reducerea supraviețuirii globale, leziunile metastatice ale pacienților investigate prezintă intensificare a expresiei Axl. Axl este deasemenea asociat cu EMT

în leziunile celulare maligne proliferative intraductale, care stabilesc o buclă autocrină de semnalizare cu ligandul său Gas6.

Marcarea imunohistochimică (IHC) a fost efectuată pe secțiunile incluse în parafină a tumorilor primare mamare. Examinarea digitală a întregii secțiuni, precum și analiza regiunilor de interes (ROI) a reprezentat un instrument eficient în stabilirea scorului expresiei Axl și evidențierea valorii sale de marker pentru procesul EMT.

Studiul nostru revelează variabilitatea expresiei Axl în tumora și subliniază tendința frontului de invazie tumoral de a asocia un proces activ de tranziție epitelial-mezenchimala. Datele noastre confirmă faptul ca Axl, Akt3 și Vimentina sunt înalt exprimate la nivelul zonelor tumorale invazive față de regiunile noninvazive și recomandă Axl ca un marker EMT al diseminării, sugerând în același timp posibila conversie a atributelor sale într-o dezvoltare terapeutică.

R3. The future of molecular biology in the diagnostic laboratories

Maurizio Ferrari

*Vita-Salute San Raffaele University, and Genomic Unit for the Diagnosis of Human Pathologies,
San Raffaele Scientific Institute, Milan, Italy.*

The recent advances in the genomic field and the development of new technologies for DNA testing started the revolution of the diagnostic laboratory. For the diagnosis DNA-based diagnostics provide a sensitive alternative to protein-based diagnostics and the mutation detection is one of the most important areas of molecular diagnostics today and can be divided into two categories: a diagnostic mode, where specific tests are designed to detect known mutations and a scanning mode, where a stretch of DNA is searched for unknown mutations.

Advances in DNA analysis to develop methods, which are increasingly specific, sensitive, fast, simple, automatable, and cost-effective, are considered paramount. These demands are currently driving the rapid evolution of a diverse range of newer technologies.

Researchers have discovered hundreds of genes that harbour variations contributing to human illness, identified genetic variability in patients' responses to dozens of treatments, and begun to target the molecular causes of some diseases. In addition, scientists are developing and using diagnostic tests based on genetics or other molecular mechanisms to better predict patients' responses to targeted therapy.

For the future of genomics is demanding the rapid evolution of miniaturization (nanotechnology) and high-throughput genotyping technologies (next generation sequencing) toward increased speed and reduced cost. The speed, accuracy, efficiency, and cost-effectiveness of DNA sequencing have been improving continuously since the initial derivation of the technique in the mid-1970s. With the advent of massively parallel sequencing technologies, DNA sequencing costs have been dramatically reduced. The recent introduction of instruments capable of producing millions of DNA sequence reads in a single run is rapidly changing the landscape of genetics, providing the ability to answer questions with heretofore unimaginable speed.

POSTER SESSION 1

Chairpersons: Prof. Dr. Minodora Dobreanu, Assoc. Prof. Dr. Ioana Brudașcă

P1. The Influence of the Obesity Duration on the Visceral Fat in Wistar Female Mice and on Tissue Lipid Peroxidation

Maria Zinaida Constantinescu¹, Diana Comandasu¹, Bogdana Virgolici², Daniela Lixandru², Daniela Miricescu², Laura Popescu², Horia Virgolici², Maria Mohora²

¹PhD students "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Department of Biochemistry, Bucharest, Romania; ² "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Department of Biochemistry, Bucharest, Romania

Hypercaloric, hyperlipidic diet can develop nonalcoholic liver and pancreas disease in few weeks. The time of intervention is important to reverse the modifications.

The aim of this study is to do a comparison for the liver, kidney and pancreas lipid peroxidation level in two Wistar female mice groups with the same age, but divided according to the obesity duration: since childhood or adulthood.

Group one of the obese Wistar females was raised on hypercaloric/hyperlipidic diet since childhood and group two became obese only in adulthood, after 3 weeks of hypercaloric, hyperlipidic diet. The lipid peroxidation level in liver, kidney and pancreas was measured by spectrophotometry in both groups as malonyldialdehyde (MDA). Histopathological aspects of the organs was analyzed.

In group one, the liver and kidney had higher weights than in group 2. The MDA level (nmol/g tissue) was higher in all the studied tissues in group 1 versus group 2 ($p < 0.05$) as: for liver 18.6 vs. 7.69, for kidney 35.6 vs. 24.04 and for pancreas 9.8 vs. 6.07. The worst histopathological aspects of the organs: inflammation, edema, vacuolated cytoplasm was observed in group 1.

In conclusion, childhood obesity increase the oxidative stress in visceral organs and lipid peroxidation has an important contribution to tissue injury in ectopic fat tissue storage.

Influenta duratei obezitatii asupra grasimii viscerale si asupra peroxidării lipidice tisulare – studiu pe female Wistar

Maria Zinaida Constantinescu¹, Diana Comandasu¹, Bogdana Virgolici², Daniela Lixandru², Daniela Miricescu², Laura Popescu², Horia Virgolici², Florin Dobre², Maria Mohora²

1. Studenti doctoranzi, Universitatea de Medicina si Farmacie "Carol Davila", Departamentul de Biochimie, Bucuresti, Romania; 2. Universitatea de Medicina si Farmacie "Carol Davila", Departamentul de Biochimie, Bucuresti, Romania

Dieta hipercalorică și hiperlipidică poate determina formarea ficatului și a pancreasului gras în doar câteva săptămâni.

Momentul în care se intervine terapeutic este important deoarece aceste modificări pot fi reversibile. Scopul acestui studiu este de a face o comparație între nivelurile de peroxidare lipidică din ficat, din

rinichi și din pancreas în două grupuri de șobolani Wistar, de aceeași vârstă, un grup format din femele obeze din perioada copilăriei, și un grup de femele devenite obeze în perioada adultă.

Primul grup de femele obeze Wistar, a fost crescut primind dieta hipercalorică/hiperlipidică (80% grăsimi) din copilărie, iar grupul al doilea a devenit obez abia în perioada adultă, adică după trei săptămâni de dietă hipercalorică/hiperlipidică. Nivelurile de peroxidare lipidică de la nivelul ficatului, rinichiului și pancreasului au fost măsurate cu ajutorul spectrofotometriei, în ambele grupuri, sub forma malondialdehidei (MDA). Aspectele histopatologice ale organelor au fost analizate.

În primul grup, greutatea ficatului și ale rinichiului au fost mai mari decât în grupul al doilea. Nivelurile de MDA (nmoli/g țesut) au fost mai mari în toate țesuturile studiate din grupul 1 față de grupul 2 ($p < 0.05$), după cum urmează: pentru ficat 18.6 vs. 7.69, pentru rinichi 35.6 vs. 24.04, pentru pancreas 9.8 vs. 6.07. Cele mai severe modificări histopatologice ale organelor: inflamația, edemul, citoplasma vacuolară au fost observate în grupul 1.

În concluzie, obezitatea care începe din perioada copilăriei crește stresul oxidativ de la nivelul organelor viscerale, iar peroxidarea lipidică tisulară crescută se asociază cu depunerile ectopice de grăsime.

P2. Salivary biomarkers – assessment tools of periodontal disease progression

D.P. Balaban¹, L.C. Petcu¹, M. Maris¹, M. Grigorian¹, V. Badea¹, A. Caraiane¹

¹Ovidius University from Constanta, Faculty of Dental Medicine

Introduction. Salivary biomarkers play an important role in the diagnosis and monitoring of periodontal disease. Oxidative stress is involved in periodontium destruction during various stages of periodontal disease. Saliva is rich in antioxidants and therefore is considered to be first line of defense against oxidative stress.

Objective. The aim of this study was to determine the association between salivary oxidative stress biomarkers levels and the progression of periodontal disease.

Methods. For this study were selected 15 patients with periodontitis (P), 15 patients with gingivitis (G) and 10 subjects with healthy periodontium (H), aged between 19 to 38 years. The periodontium status was evaluated by CPITN index (Community Periodontal Index of Treatment Need). Salivary biomarkers of oxidative stress: uric acid (UA), total antioxidant status (TAS) and 8-hydroxy-deoxy-guanosine (8-OHdG) were determined by spectrophotometric (UA, TAS) and ELISA (8-OHdG) methods, using total saliva.

Results. There are statistically significant differences between the mean values of salivary biomarkers and CPITN index at the three study groups, $p < 0.001$, $\alpha = 0.05$. Patients with periodontitis had increased salivary 8-OHdG levels compared with gingivitis patients and healthy subjects: 8.095 ng / mL (P), 4.966 ng / mL (G), 1.906 ng / mL (H). Significantly lower salivary UA and TAS levels were detected in the saliva of patients compared to healthy subjects: 1.47 mM (UA - patients), 1.75 mM (UA – healthy subjects), 1.27 mM (TAS - patients), 1.36 mM (TAS – healthy subjects) There is a positive correlation between the degree of periodontium destruction and salivary 8-OHdG levels, $r = 0.855$. There are negative correlations between periodontium status and UA levels, $r = -0.664$ and TAS levels, $r = -0.703$.

Conclusions. Existence of positive or negative correlations among uric acid, total antioxidant status

and degree of periodontal destruction in various stages of periodontal disease offers the possibility of using these biomarkers as tools to evaluate of periodontal disease evolution.

Biomarkeri salivari – instrumente de evaluare ale evoluției bolii parodontale

D.P.Balaban¹, L.C. Petcu¹, M. Maris¹, M. Grigorian¹, V. Badea¹, A. Caraiane¹

¹*Universitatea Ovidius din Constanța, Facultatea de Medicină Dentară*

Introducere. Biomarkerii salivari joacă un rol important în diagnosticul și monitorizarea bolii parodontale. Stresul oxidativ este implicat în distrugerea parodonțiului în diferite etape ale bolii parodontale. Saliva este bogată în antioxidanți și ca urmare este considerată a fi prima linie de apărare împotriva stresului oxidativ.

Obiectiv. Scopul acestui studiu a fost de a determina asocierea între valorile biomarkerilor salivari ai stresului oxidativ și evoluția bolii parodontale.

Metode. Au fost selectați 15 pacienți cu parodontită (P), 15 pacienți cu gingivită (G) și 10 persoane sănătoase (S) cu vârste cuprinse între 19 și 38 ani. Statusul parodonțiului a fost evaluat cu indicele CPITN (Community Periodontal Index of Treatment Need). Biomarkerii salivari ai stresului oxidativ: acidul uric (AU), statusul total antioxidant (STA) și 8-hidroxi-deoxi-guanozina (8-OHdG) au fost determinați din saliva totală, folosind metodele spectrofotometrică (AU, STA) și ELISA (8-OHdG).

Rezultate. Există diferențe semnificative statistic între valorile medii ale biomarkerilor salivari și valorile medii ale indicilor CPITN ale celor trei grupuri, $p < 0.001$, $\alpha = 0.05$. Pacienții cu parodontită au avut valori medii crescute ale 8-OHdG salivare comparativ cu pacienții cu gingivită și cei sănătoși: 8.095 ng / mL (P), 4.966 ng / mL (G), 1.906 ng / mL (S). Au fost detectate valori medii semnificativ scăzute ale AU și STA la pacienți comparativ cu subiecții sănătoși: 1.47 mM (AU - pacienți), 1.75 mM (AU – persoane sănătoase), 1.27 mM (STA - pacienți), 1.36 mM (STA – persoane sănătoase). Există o corelație pozitivă între gradul de afectare al parodonțiului și valorile medii ale 8-OHdG salivare, $r = 0.855$, și corelații negative între statusul parodonțiului și valorile medii ale AU, $r = -0.664$ și STA, $r = -0.703$.

Concluzii. Existența corelațiilor pozitive sau negative între valorile medii ale acidului uric, statusului total antioxidant și gradul de afectare al parodonțiului în diferite etape ale bolii parodontale oferă posibilitatea utilizării acestor biomarkeri ca instrumente de evaluare a evoluției bolii parodontale.

P3. Importance of Obesity on Lipid Placental Peroxidation and on Metabolic Profile in Wistar Females with Diet-Induced Obesity

Diana-Elena Comandașu¹, Maria Zinaida Constantinescu¹, Daniela Miricescu², Bogdana Virgolică², Daniela Lixandru², Laura Anca Popescu², Elvira Brătilă¹, Muscurel Corina², Maria Mohora²

¹*Ph.D. Student, “Carol Davila” University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania;*

²*“Carol Davila” University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania*

Background: Maternal obesity during pregnancy is associated with increased metabolic risks, expressed through increased proinflammatory and lipid peroxidation markers, hormonal imbalance

through adipokines and subsequent abnormal glycemic profile, which is reflected as growth and feto-placental metabolism disorders.

Methods: The effects of maternal obesity have been studied in an animal model using female Wistar rats 200g-250g, in which obesity was induced by high caloric/high fat diet using different times for the obesity onset. The rats were divided into 2 groups: group A of the obese Wistar females was raised on hypercaloric/hyperlipidic diet since childhood and group B became obese only in adulthood, during pregnancy, after 3 weeks of hypercaloric, hyperlipidic diet. In each group, A and B, there were rats treated with different supplements as: Omega3 fatty acids 1ml/kg, Omega6 fatty acids 1ml/kg, Sea Buckthorn 10g/rat/day and no supplements. Malonyldialdehyde (MDA) was analyzed as a lipid peroxidation marker (measured from placental homogenate).

Results: The values for MDA on placental homogenates were: 9 nmols/g for group A versus 3,3 nmols/g for group B in those treated with Omega3 fatty acids, 14 nmols/g for group A versus 5,3 nmol/g for group B in those treated with Omega6 fatty acids, 7,3nmol/g for group A versus 4,1 nmol/g for group B in those treated with Sea Buckthorn fruit, respectively 28 nmol/g for group A versus 9.8 nmol/g for group B in those without supplements.

Conclusion: Placental lipid peroxidation is higher in obese female Wistar with a long period of obesity, since childhood, than in obese female in whom obesity onset was only during pregnancy. Supplements with Omega 3 fatty acids and with Sea Buckthorn were the most efficient in preventing lipid peroxidation in obese WISTAR rats.

Acknowledgement: This work received financial support through the project entitled „CERO – CAREER PROFILE: ROMANIAN RESEARCHER”, grant number POSRDU/159/1.5/S/135760, cofinanced by the Operational Programme Human Resources Development 2007-2013.

Importanța obezității asupra peroxidării lipidice placentare și asupra profilului metabolic la female Wistar cu obezitate indusă prin dietă

Diana-Elena Comandașu¹, Maria Zinaida Constantinescu¹, Bogdana Vîrgolici², Daniela Lixandru², Laura Anca Popescu², Elvira Brătilă², Muscurel Corina², Maria Mohora²

¹ Doctorand, Universitatea de Medicină și Farmacie “Carol Davila, București, România; ² Universitatea de Medicină și Farmacie “Carol Davila, București, România

Introducere: Obezitatea maternă pe perioada sarcinii asociază riscuri metabolice crescute, exprimate prin creșterea markerilor proinflamatori și de peroxidare lipidică, dezechilibru hormonal prin intermediul adipokinelor și ulterior un profil glicemic anormal, ce conduc la tulburări de creștere și metabolism feto-placental.

Material și metodă: Efectele obezității materne au fost studiate pe un model animal utilizând femele de șoareci WISTAR, cântărind 200g-250g, la care s-a indus obezitatea prin dietă hipercalorică/hiperlipidică folosind momente diferite de instalare a obezității. Șoarecii au fost ulterior împărțiți în 2 grupuri: grupul A de femele obeze WISTAR care au fost crescute cu dietă hiperlipidică/hipercalorică încă din copilărie și grupul B care au devenit obeze doar la vârsta adultă, pe perioada sarcinii, după 3 săptămâni de dietă hipercalorică/hiperlipidică. În fiecare grup, A și B, o parte din șoareci au fost tratați cu diferite suplimente cum sunt: acizi grași Omega 3 1ml/Kg corp, acizi grași Omega 6 1ml/kg corp, fruct

de cătină 10g/femelă/zi, iar o parte nu au primit niciun supliment. A fost analizată malonildialdehida MDA ca marker de peroxidare lipidică placentară (dozată din omogenat placentar).

Rezultate: Valorile MDA pe omogenatele placentare au fost: 9 nmoli/g la grupul A versus 3,3 nmol/g la grupul B pentru femelele tratate cu acizi grași Omega 3, 14 nmol/g la grupul A versus 5,3 nmol/g la grupul B pentru femelele tratate cu acizi grași Omega 6, 7,3nmol/g la grupul A versus 4,1 nmol/g la grupul B pentru femelele tratate cu fructe de cătină, respectiv 28 nmol/g la grupul A versus 9.8 nmol/ la grupul B pentru femelele care nu au primit suplimente.

Concluzii: Peroxidarea lipidică placentară este mai importantă la femelele WISTAR obeze cu o perioadă îndelungată a obezității, instalată în copilărie, comparativ cu femelele la care obezitatea s-a instalat pe perioada sarcinii. Suplimentele cu acizi grași Omega 3 și cătină au fost cele mai eficiente în prevenirea peroxidării lipidice la femelele obeze WISTAR.

Acknowledgement: Această lucrare a beneficiat de suport financiar prin proiectul «CERO - PROFIL DE CARIERĂ: CERCETĂTOR ROMÂN», contract nr. POSRDU/159/1.5/S/135760, proiect cofinanțat prin Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane 2007-2013.

P4. Paraoxonase-1 activities in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus

Elena Cristina Crăciun¹, Eleonora Dronca², Daniel-Corneliu Leucuța³, Răzvan Rusu⁴, Bianca-Andreea David⁵, Victoria Creț⁶

¹ Department of Pharmaceutical Biochemistry and Clinical Laboratory, ² Department of Medical Genetics, ³ Department of Medical Informatics and Biostatistics, ⁴ Department of Medical Biochemistry, "Iuliu Hațieganu" University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca, Romania, ⁵ Paediatric Emergency County Hospital, ⁶ 1th Paediatric Clinic, Cluj-Napoca, Romania

Objectives: Paraoxonase-1 (PON1) is an HDL-associated enzyme that acts as an anti-atherogenic agent by protecting LDL from oxidation. The present study questions whether PON1 activities (arylesterase, paraoxonase and lactonase) are impaired in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus (T1DM) and if they are associated with alteration of other biochemical markers.

Methods: We enrolled 82 children and adolescents with T1DM and 41 age and gender-matched controls. Serum PON1 arylesterase and NaCl-stimulated paraoxonase activities were assessed by rates of hydrolysis of phenyl acetate and paraoxon. PON1 lactonase activity and oxidized LDL were assessed by a pH-sensitive colorimetric assay and ELISA, respectively.

Results: We found that only lactonase activity was significantly reduced ($P < 0.001$) in T1DM, multiple regression analysis highlighting that diabetes is an independent determinant of this decrease ($P = 0.001$). Contrary to expectations, oxidized LDL levels were similar to control group. A significant negative association was observed only between arylesterase activity and glycated haemoglobin HbA_{1c} ($r = 0.217$, $P = 0.04$).

Conclusions: Children and adolescents with T1DM have reduced lactonase activity without increased oxidized LDL levels. This suggests a specific inactivation of PON1 lactonase activity due to oxidative stress and an efficient removal from blood of the oxidized LDL.

Activitățile paraoxonazei-1 la copii și adolescenți cu diabet zaharat tip 1

Elena Cristina Crăciun¹, Eleonora Dronca², Daniel-Corneliu Leucuța³, Răzvan Rusu⁴, Bianca-Andreea David⁵, Victoria Creț⁶

¹ Biochimie farmaceutică și Laborator clinic, ² Genetică Medicală, ³ Informatică Medicală și Biostatistică, ⁴ Biochimie Medicală, ⁵ Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca, România, ⁶ Spitalul Clinic de Urgență Pentru Copii, Clinica Pediatrie I, Cluj-Napoca, România

Obiective: Paraoxonaza-1 (PON1) este o enzimă asociată HDL care acționează ca un agent antiaterogenic protejând LDL împotriva oxidării. Prezentul studiu își propune să investigheze dacă activitățile PON1 (arilesterazică, paraoxonazică și lactonazică) sunt modificate la copii și adolescenți cu diabet zaharat tip 1 (T1DM), respectiv o posibilă asociere a acestora cu alterarea altor parametri biochimici.

Metode: Am investigat 82 copii și adolescenți cu T1DM, respectiv 41 subiecți de control, potriviți ca vârstă și sex. Activitățile, arilesterazică și paraoxonazică (stimulată cu NaCl), ale PON1 serice s-au determinat pe baza vitezei de hidroliză a acetatului de fenil, respectiv a paraoxonului. Activitatea lactonazică a PON1 și nivelul LDL oxidat s-au evaluat printr-o metodă colorimetrică pH-sensibilă, respectiv tehnica ELISA.

Rezultate: Am observat că doar activitatea lactonazică a fost semnificativ scăzută ($P < 0,001$) la subiecții cu T1DM, analiza de regresie multiplă evidențiind faptul că diabetul este un determinant independent al acestei descreșteri ($P = 0,001$). Contrar așteptărilor, nivelul LDL oxidat a fost similar celui observat la grupul de control. S-a observat o asociere negativă semnificativă doar între activitatea arilesterazică și hemoglobina glicată HbA_{1c} ($r = 0,217$, $P = 0,04$).

Concluzie: Copiii și adolescenții cu T1DM au o activitate lactonazică scăzută, fără creșterea nivelului LDL oxidat. Aceasta sugerează o inactivare specifică a activității lactonazice a PON1 datorită stresului oxidativ și o îndepărtare eficientă din sânge a LDL oxidat.

P5. Cystic fibrosis in Romanian children

Dobre Michaela, Chesaru Bianca, Romila Aurelia, Tutunaru Dana, Gurau Gabriela, Ginel Baci

“Dunarea de Jos” University of Galati, Faculty of Medicine and Pharmacy

This study aims to draw attention to a rare genetic disease that endangers the lives of over 300 children in Romania – cystic fibrosis. Based on the information recorded between 1993 and 2013 in the database of the Romanian Cystic Fibrosis (Mucoviscidosis) Association, 355 cases were reported by the five regional centres, diagnosed mainly on the basis of sweat test and confirmed by genetic tests only in proportion of 15% (F508del mutation - the most common cause). Most cases occurred in Timis, Iasi and Bucharest counties. 25% of patients associated respiratory infection, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* being the main etiological agents. The disease is slightly more common among male subjects (sex ratio M/F = 1.2/1) but mortality is slightly higher in female subjects (M/F = 1/1.14). The duration and quality of life of cystic fibrosis patients depend on both the precocity and accuracy of diagnosis and treatment.

Fibroza chistică la copiii din România

Dobre Michaela, Chesaru Bianca, Romilă Aurelia, Tutunaru Dana, Gurău Gabriela, Baciuc Ginel

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

Scopul acestui studiu este de a readuce în atenție o boală genetică rară care pune în pericol viața a aproximativ 300 de copii din România – fibroza chistică. Pe baza informațiilor înregistrate în perioada 1993-2013 în baza de date a Asociației Române de Fibroză Chistică (Mucoviscidoză), 355 de cazuri au fost semnalate de cele cinci centre regionale, diagnosticate în principal pe baza testului transpirației și confirmate genetic doar în proporție de 15% (mutația *F508del* – cea mai frecventă cauză). Cele mai multe cazuri s-au înregistrat în județele Timiș, Iași și București. Un sfert din pacienți asociază infecții respiratorii, *Pseudomonas aeruginosa* și cu *Staphylococcus aureus* fiind principalii agenți etiologici. Boala este ușor mai frecventă în rândul subiecților de sex masculin (sex ratio M/F = 1.2/1) dar mortalitatea este ușor mai crescută la subiecții de sex feminin (M/F = 1/1.14). Durata și calitatea vieții pacienților depinde deopotrivă de precocitatea și corectitudinea diagnosticării și de tratament.

P6. Developing the Methodology for Measuring the Arylsulfatase Enzyme Activity

Fazakas Zita, Nemes-Nagy Eniko, Balogh Samarghitan Victor, David Eliza, Simon-Szabo Zsuzsanna, Uzun Cosmina, Szekely Melinda, Tripon Robert, Kovács Zsolt

**University of Medicine and Pharmacy, Tîrgu Mures*

Arylsulfatase A deficiency (metachromatic leukodystrophy) is suspected in individuals with progressive neurologic dysfunction and it is recommended the dosage of arylsulfatase A (ARSA) enzyme activity. The **aim** of our study is the develop the methodology for determining the ARSA enzyme activity based on a spectrophotometric method.

Materials and methods. The reagent used in this enzymatic method consists of 62 mg 4-nitrocatechol sulfate, as substrate, 2.2 mg inorganic pyrophosphate, 1 g KCl and 10 ml acetate buffer. The sample consisted of 0.3 ml reagent with 0.3 ml serum, incubated for 4 hours at 37°C. The control consisted of separately incubated 0.3 ml serum and 0.3 ml reagent which were mixed right after the incubation. 0.6 ml NaOH 1.25 N stops the hydrolytic action of ARSA. The absorbances are measured at 515 nm and the obtained values are expressed in nmol/ml/4h. We have kept up reading the absorbance every 15 minutes for 450 min in order to verify the protocol.

Results. ARSA shows activity after the protocol of 4 hour long hydrolysis ($E=+0.25$). At 60 minutes after incubation the enzyme activity decreases (from 0.30 to -0.25) and reaches the minimal value (-0.30) after 200 minutes, then slightly increases, and after 6 hours and 25 minutes becomes relatively stable (-0.05).

Conclusion. According to our study, the optimal incubation time is 4+6 hour and 25 minutes. The used NaOH amount and concentration stops the reaction only for 15 minutes. It is important to know the exact experimental conditions in order to exclude the variability factors.

Îmbunătățirea metodologiei determinării activității enzimatică a arisulfatazei A

Fazakas Zita, Nemes-Nagy Enikő, Balogh Sămărgăhitan Victor, David Eliza, Simon-Szabó Zsuzsánna, Uzun Cosmina, Székely Melinda, Tripon Robert, Kovács Zsolt

**Universitatea de Medicină și Farmacie, Tîrgu Mures*

Deficiența Arilsulfatazei A (leucodistrofia metacromatică) este suspectată la pacienții cu disfuncție neurologică progresivă la aceste persoane se recomandă dozarea activității enzimatică a arilsulfatazei A (ARSA).

Scopul lucrării este perfecționarea metodologiei de determinare a activității enzimatică a ARSA, bazată pe o metodă spectrofotometrică.

Materiale și metode. Reactivul folosit pentru această metodă conține următoarele componente 62 mg 4-nitrocatechol sulfat (substrat), 2,2 mg pirofosfat anorganic, 1 g KCl și 10 ml tampon acetat Proba de analizat, 0,3 ml reactiv și 0,3 ml ser, se incubează timp de 4 ore la 37°C. Controlul constă în 0,3 ml reactiv și 0,3 ml ser, amestecate imediat după incubare. Inactivarea enzimei din probă și martor se face cu 0,6 ml NaOH 1,25 N. Extincțiile probelor față de martori sunt măsurate la 515 nm, iar valorile sunt exprimate în nmol/ml/4h. Am continuat citirea extincției din 15 în 15 minute pentru 450 de minute cu scopul verificării protocolului.

Rezultate. ARSA prezintă activitate și după 4 ore, conform protocolului ($E=+0,25$). La 60 de minute de după incubare scade activitatea enzimei (de la 0,30 până la -0,25), atingând valoarea minimă (-0,30) la 200 minute, apoi crește ușor, iar după 6 ore și 25 de minute devine relativ stabilă (-0,05).

Concluzie. Potrivit studiului nostru, timpul optim de incubare este de 4 + 6 ore și 25 de minute. Folosirea NaOH în cantitatea și concentrația din protocol oprește reacția numai pentru 15 minute. Este important să se cunoască condițiile experimentale exacte în scopul excluderii factorilor de variabilitate.

P7. Pre-analytical Phase Risk Evaluation in Clinical Laboratory

Fodor Márta Andrea^{1,2}, Corina Ene², Adina Huțanu², Nicoleta Pop², Csath Mária², Ilyés Magdolna³, Minodora Dobreanu^{1,2}

1. Univ Med & Pharm Tîrgu Mureș, Laboratory Medicine Department; 2. Tîrgu Mureș Emergency Clinical County Hospital, Central Laboratory; 3. Univ Med & Pharm Tîrgu Mureș, student

Introduction: The elimination of errors in clinical laboratory is a continuous concern of the laboratory staff. The purpose of this study was to identify the most frequent pre-analytical phase errors and to evaluate the risk.

Material: We analyzed the type and frequency of pre-analytical phase errors in the Central Laboratory of Tîrgu Mureș Emergency Clinical County Hospital during November-December 2014, in clinical chemistry-immunology and hematology departments, followed by evaluation of sigma value. In this period were processed over 19 000 blood samples.

Methods: We considered the following sources of errors: tubes with any degree of hemolysis, lipemic, icteric and coagulated samples, insufficient sample volume, misidentification of patient, inappro-

plate collection tubes, inadequate sample collection. We calculated DPMO (defects per million opportunities) and the risk in sigma-metric.

Results: In this period we identified eight wrong tubes in the reception department, 113 in the biochemistry, 12 in the immunology, 24 in the haematology, 20 in the ESR (erythrocytes sedimentation rate) determination and 89 in the coagulation department. The calculated sigma value was 3.4 for biochemistry and between 4- 5 for the rest of departments investigated. The most common preanalytical errors were represented by the coagulated and hemolysed samples.

Conclusions: The performance of our laboratory is within the limits recommended by current guidelines. In order to increase the laboratory performance we organize an intensive training for healthcare professionals involved in sample collection and transport. We recommend individual assessment of the degree of hemolysis in each tube.

Evaluarea riscului în faza preanalitică în laboratorul de analize medicale

Fodor Márta Andrea^{1,2}, Corina Ene², Adina Huțanu², Nicoleta Pop², Csath Mária², Ilyés Magdolna³, Minodora Dobreanu^{1,2}

1. Univ Med & Pharm Tîrgu Mureș, Laboratory Medicine Department; 2. Tîrgu Mureș Emergency Clinical County Hospital, Central Laboratory; 3. Univ Med & Pharm Tîrgu Mureș, student

Introducere: Eliminarea erorilor în laboratorul de analize medicale constituie o preocupare continuă a personalului implicat în efectuarea acestora.

Scop: Ne-am propus evaluarea riscului și identificarea celor mai importante tipuri de erori din faza preanalitică.

Material: Am analizat frecvența și tipul erorilor preanalitice și am calculat valoarea sigma în Laboratorul Central al Spitalului Clinic Județean de Urgență Tîrgu Mureș în perioada noiembrie-decembrie 2014 din departamentele de biochimie- imunologie și hematologie. În această perioadă au fost prelucrate peste 19 000 de eșantioane.

Metoda: Am considerat următoarele surse de erori: tuburile cu orice grad de hemoliză, lipemice, coagulate, icterice, cele cu volum necorespunzător, identitate eronată, recoltarea în tuburi necorespunzătoare, eșantionare incorectă. Am calculat DPMO (defecte pe milion de oportunități) și am exprimat riscul în sigma-metric.

Rezultate: S-au înregistrat 8 tuburi greșite la nivelul registraturii, 113 la biochimie, 12 la imunologie, 24 la hemoleucograme, 20 la VSH și 89 la coagulare. Am obținut o valoare sigma de 3,4 la biochimie și între 4 și 5 pentru restul locurilor de muncă studiate. Cele mai frecvente probleme au fost reprezentate de tuburile hemolizate și coagulate.

Concluzii: Performanța laboratorului se încadrează în limitele recomandate de ghidurile actuale. În vederea creșterii calității prestației laboratorului vom organiza cursuri de instruire pe tema recoltării produselor patologice pentru cadrele medicale implicate. Recomandăm evaluarea individuală a gradului de hemoliză pentru fiecare tub în parte.

P8. Local and Circulating Undercarboxylated Matrix Gla Protein (ucMGP) in Brain Tumors

Gheorghe R. Simona¹, Vermeer C.², Dricu A.³, Crăciun M. Alexandra¹

¹ Department of Medical Biochemistry, University of Medicine and Pharmacy „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca, Romania; ² R&D Group Vitak, Maastricht University, The Netherlands; ³ Biochemistry Discipline, University of Medicine and Pharmacy Craiova, Romania

Background: ucMGP is the inactive form of MGP, a potent calcification inhibitor in vascular walls and soft tissue. The purpose of our study was to evaluate the relationship between serum ucMGP, local calcification and ucMGP in patients with meningioma.

Methods: Serum and tumoral tissue were collected from 41 patients with ages between 16 and 77 years, divided in 3 groups according to the diagnosis: atypical meningioma (n=14), meningothelial meningioma (n=15) and transitional meningioma (n=12). Immunohistochemistry was performed to determine the presence of ucMGP in tumoral tissue and von Kossa staining for tissue calcification. Circulating levels of ucMGP were assessed in serum using an enzyme-linked immunosorbent assay (VitaK, Maastricht, The Netherlands).

Results: Among patients (n=41), we observed calcifications of the tumor tissue in 58.5% (n=24) of the subjects and presence of ucMGP localized at calcification sites in 65.9% (n=27). Serum ucMGP was 2997 (981-6604) nM, but no significant differences were found between the three groups. There was no correlation between serum ucMGP and age, tissue calcification or localization of ucMGP in all patients or within the three groups. Also, we did not find differences of serum ucMGP between genders, patients with total/ partial resection of the tumor, left/right localization of the tumor or patients with primary/ recurrent tumors.

Conclusions: We identified ucMGP in three types of meningioma, but its presence was not correlated with circulating levels.

Keywords: undercarboxylated matrix Gla protein, meningioma, calcification.

Nivelele serice și localizarea proteinei Gla matriceale necarboxilate (ucMGP) în tumorile cerebrale

Gheorghe R. Simona¹, Vermeer C.², Dricu A.³, Crăciun M. Alexandra¹

¹ Departamentul de Biochimie Medicală, Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca, România; ² R&D Group Vitak, Universitatea Maastricht, Olanda; ³ Disciplina Biochimie, Universitatea de Medicină și Farmacie Craiova, România

Introducere: ucMGP este forma inactivă a MGP, un puternic inhibitor al calcificării vasculare și țesuturilor moi. Scopul studiului a fost evaluarea relației dintre ucMGP seric, calcificările locale și ucMGP tumoral la pacienții cu meningioame.

Material și metodă: S-a recoltat ser și țesut tumoral de la 41 de pacienți cu vârste cuprinse între 16 și 77 de ani, repartizați în 3 subgrupuri, în funcție de diagnostic: meningiom atipic (n = 14), meningiom meningotelial (n = 15) și meningiom de tranziție (n = 12). Pentru a evidenția prezența ucMGP în țesutul tumoral s-a utilizat metoda imunohistochimică, iar pentru evidențierea calcificărilor tisulare s-a efectuat

colorația von Kossa. Nivelele circulante ale ucMGP din ser au fost determinate utilizând metoda imunoenzimatică (VitaK, Maastricht, Olanda).

Rezultate: În grupul de pacienți ($n=41$), am observat calcificări ale țesutului tumoral în 58,5% ($n=24$) dintre subiecți și prezența ucMGP la nivelul zonelor de calcificare în 65,9% ($n=27$) din cazuri. Nivelul seric de ucMGP a fost 2997 (981-6604) nM, fără să se observe diferențe semnificative între cele trei grupuri. În grupul de pacienți, respectiv în cele trei subgrupuri, nu s-a găsit nici o corelație între nivelul seric de ucMGP și vârstă, calcificare tisulară sau localizarea ucMGP. De asemenea, nu am găsit diferențe de ucMGP seric între sexe, pacienți cu rezecție totală/parțială a tumorii, localizarea tumorii (stânga/dreapta) sau între pacienții cu tumori primare/recurente.

Concluzii: Am identificat ucMGP în trei tipuri de meningioame, dar prezența la nivel local nu a fost corelată cu nivelele circulante.

Cuvinte cheie: proteina Gla matriceală necarboxilată, meningiom, calcificare.

P9. Changes in the lipid metabolism parameters in children with newly diagnosed type 1 diabetes mellitus

Florina Sisinie Gligor-Dincă, Ramona Gligor, Dana Zdremțan, Viorica Leordean, Maria Pușchiță

*“Vasile Goldiș” Western University of Arad Faculty of Medicine, Pharmacy and Dental Medicine,
General Medicine Department*

Introduction. Type 1 diabetes mellitus (T1DM) is a disease with an endocrine and autoimmune etiology, characterized by the increase of the glucose level in the blood but also my modifications in the lipidic metabolism. In this study we studied the changes in the lipid metabolism in children with newly diagnosed T1DM.

Material and method. Two groups were taken into study: group I represented by 13 children with T1DM and group II – control group formed by 13 subjects, clinically healthy, normal weight. Total cholesterol (TC), serum triglycerides (TG), HDL-cholesterol and LDL-cholesterol, serum glucose level and glycated hemoglobin (HbA1c) were measured in both groups.

Results. Total cholesterol values and LDL-cholesterol were significantly increased in group I, compared to the control group ($p<0.0001$, $p<0.001$, respectively). The mean values of HDL-cholesterol were lower in the group I compared to the control group ($47.16\pm16,7\text{mg/dL}$ vs. $48.22\pm2,19$; $p=0,8$). TG values were significantly higher in group I compared to group II ($p<0.05$). The correlation between HDL-cholesterol and HbA1c is negative in subjects with T1DM ($r=-0.33$), suggesting that a better therapeutic control of diabetes is associated with higher HDL cholesterol values, which presumably provides an increased cardiovascular protection.

Conclusions. Modifications of the lipidic metabolism show up even in the early stages of T1DM, which might increase atherosclerotic risk in these patients.

Keywords. HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, type 1 diabetes mellitus, HbA1c

Modificările parametrilor metabolismului lipidic în diabetul zaharat tip 1 nou depistat la copil

Florina Sisinie Gligor-Dincă, Ramona Gligor, Dana Zdremțan, Viorica Leordean, Maria Pușchiță

Universitatea de Vest „Vasile Goldiș” din Arad, Facultatea de Medicină, Farmacie și Medicină Dentară, Departamentul Medicină Generală

Introducere. Diabetul zaharat tip 1 (DZ1) este o boală de etiologie endocrină și autoimună, caracterizată prin creșterea valorilor glicemice, dar și de modificări ale metabolismului lipidic. În acest studiu s-a urmărit modificările parametrilor metabolismului lipidic la copii cu DZ1 nou depistat.

Material și metode. S-au luat în studiu două loturi de subiecți; lot I reprezentat de 13 copii cu DZ1 nou depistat și lotul II – lot martor format din 13 subiecți clinic sănătoși normoponderali. La ambele loturi s-au determinat colesterolul total (CT), trigliceridele serice (TG), HDL-colesterol și LDL-colesterol, glicemia și hemoglobina glicozilată (HbA1c).

Rezultate. Valorile CT și ale LDL-colesterolului au fost semnificativ statistic mai crescute la lotul I raportat la lotul martor ($p < 0,0001$, respectiv $p < 0,001$). Valorile medii ale HDL-colesterolului au fost mai mici la lotul I față de martor ($47,16 \pm 16,7 \text{ mg/dL}$ vs. $48,22 \pm 2,19$; $p = 0,8$). În ceea ce privește valorile trigliceridelor, acestea au fost semnificativ statistic mai mari la lotul I față de lotul II ($p < 0,05$). Corelația dintre HDL-colesterol și HbA1c este negativă ($r = -0,33$), la subiecții cu DZ1, prin urmare cu cât diabetul este mai bine controlat cu atât valorile HDLc sunt mai mari, existând o protecție cardiovasculară mai bună.

Concluzii. Modificările metabolismului lipidic apar încă din stadiile precoce ale diabetului zaharat tip 1, crescând riscul aterosclerotic la acești pacienți.

Cuvinte cheie: HDL-colesterol, LDL-colesterol, diabet zaharat tip 1, HbA1c.

P10. Correlations between Inflammatory Process and Levels of Cytokines in the Gingival Crevicular Fluid in Periodontal Diseases

Camelia Vidita Gurban^{1,2}, Alexandra Faur³, Laura Smaranda Gotia⁴, Rodica Lighezan^{2,5}, R. Tirziu⁶, O. Cretu⁶

1 "Victor Babes" University of Medicine and Pharmacy, Timisoara, Biochemistry Department, 2 Department of Clinical Laboratory, Emergency Clinical City Hospital Timisoara; 3 "Victor Babes" University of Medicine and Pharmacy, Pathology Department, Timisoara; 4 Physiology Department; 5, Parasitology Department, 6 Emergency General Surgery Department.

Aim: In this paper, we quantified the presence of pro-inflammatory (IL-1 β , IL-6, TNF- α), anti-inflammatory (IL-4) and immune-modulating (IFN- γ) cytokines in the gingival crevicular fluid (CGF) from patients with different types of periodontal disease.

Material and method: The study was performed on three groups of patients: first with aggressive periodontitis (AgP, n=42), second with chronic periodontitis (CP, n=31), and a third group with gingivitis (G, n=22), compared with the control group of healthy subjects (n=22). The local inflammatory process was revealed by Haematoxylin Eosin and Gomori Trichrome staining. The levels of the enunciated markers in CGF were measured by immunoenzymatic technique ELISA (R&D System, Minneapolis, USA).

Results: In patients with AgP, we observed an intense process of acute intraepithelial inflammation, which was significantly correlated with increased levels of IL-1 β ($p<0.0001$) and IFN- γ ($p<0.001$), and decreased level of IL-4 ($p<0.0001$) in CGF, comparing to healthy subjects. In CP group, it was demonstrated a chronic inflammation present in the superficial chorion of the gingival lining, with increased levels of IL-6 and IFN- γ ($p<0.001$, respectively $p<0.0001$), and low levels of IL-4 ($p<0.0001$) in CGF, versus control group.

Conclusions: The cytokine cascade released in the cellular immune inflammatory response showed an ascendant evolution from chronic gingivitis to the aggressive periodontitis. The intensity of the immune response was correlated with the increased levels of those mediators that represent markers of evolution in the periodontitis progression.

Corelații între procesul inflamator și nivelele de citokine din lichidul crevicular în parodontite

Camelia Vidița Gurban^{1,2}, Alexandra Faur³, Laura Smaranda Goția⁴, Rodica Lighezan^{2,5},
R. Tîrziu⁶, O. Crețu⁶

1 Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara, Disciplina Biochimie; 2 Laboratorul de analize medicale, Spitalul Clinic Municipal de Urgențe Timișoara; 3 Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara, Disciplina Morfopatologie; 4 Disciplina Fiziologie; 5 Disciplina Parazitologie; 6 Disciplina Semiologie Chirurgicală.

Scop: În acest studiu s-a determinat prezența citokinelor pro-inflamatorii (IL-1 β , IL-6, TNF- α), anti-inflamatorii (IL-4) și imunomodulatorii (IFN- γ) în lichidul crevicular (CGF) la pacienții cu diferite tipuri de inflamații parodontale.

Materiale și metode: În studiu pacienții au fost împărțiți în trei grupuri: primul grup cu parodontită agresivă (AgP, n=42), al doilea grup cu parodontită cronică (CP, n=31), al treilea grup cu gingivită (G, n=22), comparativ cu grupul de control (n=22). Procesul inflamator a fost evidențiat prin colorațiile Hematoxilina Eozina și Tricrom Gomori. În CGF, nivelele markerilor enumerați au fost determinate prin metoda imunoenzimatică ELISA (R&D System, Minneapolis, USA).

Rezultate: La pacienții cu AgP se observă un intens proces acut inflamator intraepithelial corelat cu o creștere semnificativă a nivelelor de IL-1 β ($p<0.0001$) și de IFN- γ ($p<0.001$) și o scădere a nivelelor de IL-4 ($p<0.0001$) în CGF, comparativ cu subiecții sănătoși. La grupul cu CP s-a demonstrat o inflamație cronică în corionul superficial al mucoasei gingivale cu o creștere a nivelelor de IL-6 și IFN- γ ($p<0.001$, respectiv $p<0.0001$) și o scădere a nivelelor de IL-4 ($p<0.0001$) în CGF, versus grupul de control.

Concluzii: Cascada citokinelor prezente în răspunsul imuno-inflamator celular arată o evoluție ascendentă de la gingivita cronică la parodontita agresivă. Intensitatea răspunsului imun a fost corelată cu o creștere a nivelelor acestor mediatori, care reprezintă markeri ai evoluției în progresia parodontitei.

P11. Selenium - the “invisible” face behind the thyroid function

Daniela Miricescu¹, Maria Constantinescu^{2*}, Maria Mohora², Alexandra Totan¹, Bogdana Vîrgolici² and Maria Greabu¹

¹Department of Biochemistry, Faculty of Dental Medicine, Carol Davila University of Medicine and Pharmacy; ²Department of Biochemistry, Faculty of General Medicine, ^{2*}PhD student, Carol Davila University of Medicine and Pharmacy, Bucharest

Introduction: Selenium (Se) deficiency may influence both the immune response and the peroxidation of thyroid cell components, so studies Se status are quite important. Mild iodine deficiency has been reported in Romanian people but there are very few studies regarding the Se status. The aim of our study was to investigate possible correlations between Se status and thyroid function.

Materials and methods: our study included 2 groups: the patients group (20, 11 females and 9 males; age 48±5 years) and the control group (20, 10 females and 10 males; age 42±7 years). Thyroid function was classified as normal or hypothyroid based on the measured levels of Free T4 (fT4) and TSH. Serum total antibodies anti-thyroperoxidase (ATPO)(normal range: <40 UI/mL), FT4(normal range: 0.8-1.8 ng/dL) and TSH (normal range: 0.3-4.0 µU/mL) concentrations were measured by a commercial enzyme luminescence assay (Siemens, Germany). Selenium was detected by atomic absorption spectrometry.

Results: Patients with hypothyroid function (TSH level increased and FT4 decreased) have a statistic increased levels for ATPO (525±63 UI/mL versus 15±4.4 UI/mL; p<0.01), TSH (15.3±2.2 µU/mL versus 1.6±0.9 µU/mL; p<0.01) and Se (89.3±6.2 µg/dL versus 110.5±2.5 µg/dL; p<0.01) and FT4 (0.71±0.2 ng/dL versus 1.1±0.12 ng/dL)) levels were decreased (p<0.05).

Discussion and conclusions: Se deficiency decreases the conversion of T4 to T3 and increases oxidative stress in the thyroid gland as a result of reduced GPx activity (a Se-enzyme) and H₂O₂ overproduction. Both Se and iodine deficiencies may exacerbate the effects of individual deficiencies.

Key words: selenium, thyroid function, ATPO

Seleniul - fața invizibilă a funcției tiroidiene

Daniela Miricescu¹, Maria Constantinescu^{2*}, Maria Mohora², Alexandra Totan¹, Bogdana Vîrgolici² și Maria Greabu¹

¹ Disciplina de Biochimie, Facultatea de Medicină Dentară, Universitatea de Medicină și Farmacie “Carol Davila”, București; ² Disciplina de Biochimie, Facultatea de Medicină Generală; ^{2*} Doctorand, , Universitatea de Medicină și Farmacie “Carol Davila”, București

Introducere: Cunoașterea nivelului de seleniu (Se) din organism este importantă deoarece deficiența de Se influențează răpunsul imun și procesul de peroxidare la nivelul glandei tiroide. Deși s-a semnalat deficiența de iod la populația din România, există puține studii. Scopul studiului nostru este de a investiga o posibilă corelație între nivelul de Se și funcția tiroidiană la un grup de pacienți cu hipotiroidism.

Materiale și metode: Studiul a inclus două loturi:-lotul de pacienți (20, 11 femei și 9 bărbați cu vârsta 48±5 ani) diagnosticați cu hipotiroidism pe baza valorilor T4 liber (FT4) și TSH și lotul de control (20, 10 femei și 10 bărbați cu vârsta 42±5 ani), compus din voluntari sănătoși.

Anticorpul antitireoperoxidază (ATPO) (valori normale: <40 UI/mL), FT4 (valori normale: 0.8-1.8 ng/dL) și TSH (valori normale: 0.3-4.0 µU/mL) au fost determinați prin tehnica ELISA cu chemiluminescență (Siemens, Germania) iar Se a fost determinat utilizând spectrometria de absorbție atomică.

Rezultate: La pacienții cu hipotiroidism s-au obținut valori crescute statistic semnificative pentru ATPO (525 ± 63 UI/mL versus 15 ± 4.4 UI/mL; $p < 0.01$) și TSH (15.3 ± 2.2 μ U/mL versus 1.6 ± 0.9 μ U/mL; $p < 0.01$) iar pentru Se (89.3 ± 6.2 μ g/dL versus 110.5 ± 2.5 μ g/dL; $p < 0.01$) și FT4 (0.71 ± 0.2 ng/dL versus 1.1 ± 0.12 ng/dL)) valori scăzute ($p < 0.05$).

Discuții și concluzii: Deficiența de Se scade rata de conversie a T4 la T3 și induce stres oxidativ la nivelul glandei tiroide, ca rezultat al diminuării activității GPx (o Se-enzimă) concomitent cu supraproducție de H_2O_2 . Ambele deficiențe, de Se și iod, amplifică efectele deficienței individuale.

Cuvinte cheie: Seleniu, funcția tiroidiană, ATPO

P12. Salivary Biomarkers of Invasivity in Oral Cancer

Radu Rădulescu, Alexandra Totan, Daniela Miricescu, Bogdan Calenic and Maria Greabu

Department of Biochemistry, Faculty of Dental Medicine, University of Medicine and Pharmacy Carol Davila, Bucharest, Romania

Saliva can be utilized as a diagnostic fluid for a number of oral affections due to the high number of biomarkers contained and the ease of recollection. Local invasiveness is an important mechanism of tumoral advance, collagen degradation playing a crucial role. Key enzymes in this process are matrix metalloproteinases (MMP) and their inhibitors (TIMP).

Objective: evaluation of the diagnostic potential of invasivity in oral cancer for salivary biomarkers MMP-9 and TIMP-2.

Material and methods:

- patients group: 30 patients (aged between 40 and 65 years), diagnosed with oral squamous cell carcinomas
- control group: 14 healthy volunteers with no associated oral or general diseases (aged between 40 and 60 years)
- MMP-9 and TIMP-2 were measured using the ELISA method

Results: MMP-9 showed increased levels in the saliva of oral patients compared to the control group (21.2 pg/mg albumin ± 4.2 versus 12.5 pg/mg albumin ± 1.7 , $p < 0.01$). Salivary TIMP-2 levels were decreased in the patients group compared with controls (41.1 pg/mg albumin ± 2.8 versus 63 pg/mg albumin ± 4.7 , $p < 0.05$).

Conclusions: the present study show that salivary diagnosis has the potential of becoming a powerful tool in detecting and monitoring oral cancer patients.

Key words: saliva, oral cancer, MMP-9, TIMP-2

Biomarkeri salivary de invazivitate tumorală în cancerul oral

Radu Rădulescu, Alexandra Totan, Daniela Miricescu, Bogdan Calenic and Maria Greabu

Catedra de Biochimie, Facultatea de Medicina Dentara, Universitatea de Medicina si Farmacie Carol Davila, Bucuresti

Saliva, în ultimele decenii a căpătat o importanță diagnostică din ce în ce mai crescută datorită multiplelor avantaje. Distrugerea și remodelarea matricei extracelulare și membranei bazale reprezintă unul din procesele cheie ale invazivității locale al tumorilor maligne. În aceste procese sunt implicați

o multitudine de factori printre care se numără și metaloproteazele matriceale MMP-9, precum și inhibitorul acesteia, TIMP-2.

Scopul acestui studiu: determinarea nivelelor salivare ale metalo-proteazei 9 (MMP-9) și a inhibitorului sau tisular TIMP-2, în vederea aprecierii gradului de invazivitate tumorală.

Materiale și metode:

- lotul de pacienți: 30 de pacienți diagnosticați cu carcinom oral cu celule scuamoase (vârsta cuprinsă între 40 și 65 de ani).
- lotul control: 14 voluntari sănătoși, fără afecțiuni orale sau sistemice (vârsta cuprinsă între 40 și 60 de ani).
- pentru determinarea nivelelor salivare ale celor doi parametri a fost utilizată tehnica ELISA.

Rezultate: în urma determinării MMP-9 salivar valoarea medie obținută în cazul pacienților cu neoplasme orale este 21,2 pg/mg de albumină $\pm$ 4,2 comparativ cu o valoare medie de 12,5 pg/mg de albumină $\pm$ 1,7 în saliva lotului control, ($p < 0,01$). Determinarea TIMP-2 a arătat că valoarea medie obținută în saliva pacienților cu neoplasme orale este de 41,1 pg/mg de albumină $\pm$ 2,8 comparativ cu o valoare medie de 63 pg/mg de albumină $\pm$ 4,7 în saliva lotului de control ($p < 0,05$).

Concluzii: analiza concomitentă a MMP-9 și a inhibitorului sau tisular, în saliva va putea fi folosită pentru aprecierea gradului de invazivitate a tumorilor orale.

Cuvinte cheie: saliva, cancer oral, MMP-9, TIMP-2

P13. Metabolic Signature of Prostate Adenocarcinoma bu Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy Method ($^1\text{H-NMR}$) of Urine

L.I. Stefan¹, A. Nicolescu², O. Zlatian³, L. Roșu³, C. Deleanu⁵.

¹County Clinical Emergency Hospital, Department of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, Craiova, Romania; e-mail: lorenaiivona@yahoo.com; ²Petru Poni Institute of Macromolecular Chemistry, Group of Biospectroscopy, Iasi, Romania; ³University of Medicine and Pharmacy, Department of Microbiology, Craiova, Romania, ⁴C.D.Nenitescu Institute of Organic Chemistry, Group of Biospectroscopy, Bucharest, Romania.

In this study, proton nuclear magnetic resonance ($^1\text{H-NMR}$) spectroscopy have been applied to investigate prostate cancer metabolic signatures in urine, aiming at assessing the diagnostic potential of this method and gaining novel insights into prostate cancer and systemic effects. Urine samples from prostate cancer patients ($n=26$) and a control healthy group ($n=32$) were analyzed by $^1\text{H-NMR}$ spectroscopy method and their spectral profiles established.

The $^1\text{H-NMR}$ spectra have been recorded on a Bruker Avance DRX 400 MHz spectrometer, using a 5 mm inverse detection multinuclear probe head equipped with gradients on the z-axis. To 0.9 ml urine, 0.1 ml of a stock solution of 5 mM sodium 3-(trimethylsilyl)-[2, 2, 3, 3- d_4]-1-propionate (TSP) in D_2O has been added. The $^1\text{H-NMR}$ spectra have been recorded with water presaturation. MestRe-C 2.3a and GraphPad Prism 5.0 software were used for processing and visualization of spectra, respectively statistical analysis. The results are evaluated in mmol/mol of creatinine. $p < 0.05$ was taken as significant.

Based on urinary metabolites significant difference between creatine, gamma-aminobutyrate, citrate and trimethylamine at the healthy individuals and prostate cancer patients was found.

The results anticipate that $^1\text{H-NMR}$ spectroscopy would be widely used for *rapidly identifying of*

metabolites in prostate cancer, collected in a minimally invasive way, which may have diagnostic impact.

Keywords: NMR spectroscopy, urine, prostate adenocarcinoma

Profil metabolic în adenocarcinomul de prostată prin metoda spectroscopiei de rezonanță magnetică nucleară a protonului (^1H -RMN)

L.I. Stefan¹, A. Nicolescu², O. Zlatian³, L.Roșu³, Călin Deleanu⁴

¹ Spitalul Clinic de Urgență, Departament Chimie Clinică și Medicină de Laborator, Craiova, Romania; ² Institutul de Chimie Macromoleculară Petru Poni, Grupul de Biospectroscopie, Iași, România; ³ Universitatea de Medicină și Farmacie, Departamentul de Microbiologie, Craiova, România; ⁴ Institutul de Chimie Organică C.D. Nenițescu, Grupul de Biospectroscopie, București, România.

În acest studiu, metoda spectroscopiei de rezonanță magnetică nucleară a protonului (^1H -RMN) a fost aplicată pentru a investiga urina recoltată de la pacienți cu adenocarcinom de prostată, cu scopul de a evalua potențialul de diagnostic al acestei metode și de a obține perspective noi în adenocarcinomul de prostată, precum și informații asupra posibilelor efecte sistemice. Au fost examinate și stabilite profilele spectrale de rezonanță magnetică nucleară pentru un număr de 26 probe de urină recoltate de la pacienți cu adenocarcinom de prostată, respectiv un număr de 32 probe de urină colectate de la subiecți sănătoși.

Spectrele ^1H -RMN au fost înregistrate cu un spectrometru Bruker Avance DRX 400 MHz. La 0.9 ml urină au fost adăugate 0.1 ml soluție stoc de 5 mM de sodiu 3- (trimetilsilil) - [2, 2, 3, 3-d₄] -1-propionat (TSP) în D₂O. Spectrele ^1H -RMN au fost înregistrate cu presaturarea apei din proba de urină. Mestre-C 2.3a și software-ul GraphPad Prism 5.0 au fost utilizate pentru prelucrarea, vizualizarea spectrelor și analiza statistică. Rezultatele au fost evaluate în mmol/mol de creatinină. $p < 0.05$ a fost considerat semnificativ statistic.

Din analiza profilelor spectrale am obținut o diferență semnificativă între excreția urinară a creatinei, acidului gamma-aminobutiric, acidului citric și trimetilaminei la pacienții cu adenocarcinom de prostată comparativ cu subiecții sănătoși.

Rezultatele anticipează că metoda ^1H -RMN ar putea fi utilizată pe scară largă pentru identificarea rapidă a metaboliților din urina pacienților cu adenocarcinom de prostată, ce pot furniza informații de diagnostic.

Cuvinte cheie: spectroscopie RMN, urină, adenocarcinom de prostată

P14. Monitoring the Stability of Biochemical Parameters to Temperature Variations

Tudor Bianca¹, Voidăzan Septimiu², Nițu Florin³, Ene Corina³, Dobreanu Minodora⁴

1. Department of Microbiology, University of Medicine and Pharmacy Tirgu Mures, Romania, ; 2. Department of Epidemiology; 3. Central Laboratory, County Emergency Clinical Hospital, Tirgu Mures, Romania; 4. Department of Laboratory Medicine, University of Medicine and Pharmacy Tirgu Mures, Romania

The purpose of our study is to analyse the stability of 16 biochemical parameters depending on temperature variations.

Materials and methods: Serum from seven patients was mixed and divided into 21 samples, 0.5 ml each. One sample was analysed in first day of the study the others samples were separated in 2 groups. Groups 1 (n=10 samples) was stored at at 4°C and group 2 (n=10 samples) was stored at -20 °C. Every day from day 2 to day 11 the samples from groups 1 and 2 were brought to room temperature (22°C). Once at room temperature, the following parameters were analysed: lactate dehydrogenase, creatine kinase, triglycerides, urea, creatinine, aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase, γ -glutamyltransferase, uric acid, total calcium, total proteins, albumin, total bilirubin, direct bilirubin and glucose. In order to compare the results we applied the Bland Altman method.

Results: At the frost-thaw cycles, the lactate dehydrogenase and the creatine kinase had variations exceeding the limits of agreement. The value of LDH exceeded these limits on the 9th day showing a tendency to decrease especially after day 5. CK exceeded the limits on the second till ninth day. In the refrigerated samples group the lactate dehydrogenase exceeded the limits in 9 days out of 10, and for the TG in day two.

Conclusions: Comparing the results between the two storing methods, there were no significant statistical differences, but there were values that exceeded the agreement limit in each separate method, for LDH, CPK and triglycerides.

Monitorizarea stabilității parametrilor biochimici la variații de temperatură

Tudor Bianca¹, Voidăzan Septimiu², Nițu Florin³, Ene Corina³, Dobreanu Minodora⁴

1. *Departmentul de Microbiologie, Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș, România;*
2. *Departmentul de Epidemiologie;* 3. *Laboratorul Central, Spital Clinic Județean de Urgență, Tîrgu Mureș, România;* 4. *Departmentul de Medicină de Laborator, Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș, România*

Studiul își propune urmărirea influenței temperaturii de conservare a probelor de ser asupra rezultatelor obținute pentru 16 parametri biochimici.

Material și metodă: Serul obținut de la 7 pacienți a fost mixat și eșantionat în 21 de probe de câte 0,5 ml. O probă a fost examinată în prima zi a studiului, restul au fost împărțite în 2 grupuri. Grupul 1 (n = 10 probe) a fost păstrat la +4° C, și grupul 2 (n=10 probe) a fost păstrat la -20 ° C. În fiecare zi din intervalul cuprins între ziua a 2-a și ziua a 11-a probele din grupul 1 și 2 au fost aduse la temperatura camerei (22°C), s-a luat ser pentru examinare, după care probele au fost redepozitate la temperatura inițială. Parametrii analizați au fost: uree, glicemie, bilirubină totală și directă, acid uric, creatinină, calciul total, proteine totale, albumină, aspartataminotransferaza (ASAT), alaninaminotransferaza (ALAT), creatinkinaza(CK), gama-gutamyltranspeptidaza (GGT) și lactat dehidrogenaza (LDH).

Pentru a evidenția evoluția măsurătorilor am aplicat metoda statistică Bland Altman între cele două moduri de conservare și în cadrul aceleiași metode.

Rezultate: La ciclurile îngheț-dezghet valorile LDH și CK au avut variații care au depășit intervalul de agreere. Valoarea LDH a depășit acest interval în 9 zile din 10, având tendința de scădere mai ales după ziua a 5-a. Valoarea CK a depășit intervalul de agreere în ziua a 2-a și ziua a 9-a. La probele aduse la temperatura camerei și refrigerate la +4 °C, LDH și trigliceridele au depășit intervalul de agreere, valoarea LDH depășind intervalul în 9 din 10 zile, iar cea a trigliceridele în ziua a 2-a.

Concluzii: Comparând rezultatele între cele două metode de stocare pentru cei 16 parametri

biochimici analizați, nu au existat diferențe semnificative statistice, dar în cadrul aceleiași metode au existat valori care au depășit limita de agreere, pentru LDH, CPK și trigliceride.

P15. Dynamics of lipid profile and lipid ratios in elderly people

Elena Lupeanu, Mariana Rachita, Monica Bârsan, Doina State, Doina Roditis, Violeta Bogdaneanu, Emanuela Constantinescu, Petru Gherasim, Rodica Hnidei, Irina Dumitrescu

National Institute of Gerontology and Geriatrics "Ana Aslan", Biology of Aging, Bucharest, Romania

Metabolic profile changes during aging. Under certain conditions, the lipid parameters are metabolic risk factors for certain pathological conditions associated with aging process or not. The aim is to highlight the dynamics of lipid parameters and their ratios to people over 80 years. We investigated 110 patients, grouped according to age: a) subjects aged between 80 and 84 years; b) subjects aged between 85 and 89 years and c) subjects aged over 90 years. We evaluated serum lipid parameters: total cholesterol, HDL-cholesterol, non-HDL cholesterol, LDL-cholesterol, triglycerides, and the ratios: total cholesterol/HDLc, LDLc/HDLc, non-HDLc/HDLc, triglycerides/HDLc. Results showed significant reductions in total cholesterol in patients 85-89 years ($p < 0.001$) and those over 90 years ($p = 0.009$) compared with those of 80-84 years. LDLc significantly decreased ($p < 0.001$) in subjects 85-89 years and 90+ compared with those of 80-84 years. Non-HDLc significantly decreased in patients 85-89 years ($p < 0.0001$) and over 90 years ($p = 0.0197$). The ratios total cholesterol/HDL ($p = 0.0460$), LDLc/HDLc ($p = 0.005$) and non-HDLc/HDLc ($p = 0.0466$) were significantly reduced in subjects aged 85- 89 years compared those of 80-84 years. Significant negative correlations were found for total cholesterol ($r = -0.2532$), LDLc ($r = -0.3473$) and non-HDLc ($r = -0.2476$) with age. Conclusion: Significant reduction in lipid parameters in patients over 85 years and longevity (90+ years) may illustrate an apparently healthy aging due to lipid-lowering drug strategies and/or healthy lifestyle.

The research was conducted within the project no.335/2014, funded by the program PARTENERIATE-collaborative applied research projects, the competition in 2013.

Dinamica profilului lipidic și a rapoartelor lipidice la persoanele vârstnice

Elena Lupeanu, Mariana Rachita, Monica Bârsan, Doina State, Doina Roditis, Violeta Bogdaneanu, Emanuela Constantinescu, Petru Gherasim, Rodica Hnidei, Irina Dumitrescu

Institutul Național de Gerontologie și Geriatrie "Ana Aslan", Biologia îmbătrânirii, București, Romania

Profilul metabolic se modifică în cursul îmbătrânirii. În anumite condiții, parametrii lipidici sunt factori de risc metabolic pentru unele stări patologice asociate sau nu procesului îmbătrânirii. Scopul studiului este să evidențieze dinamica parametrilor lipidici și a rapoartelor acestora la persoane de peste 80 de ani. S-au investigat 110 pacienți, grupați în funcție de vârstă: a) subiecți cu vârsta între 80 și 84 ani; b) subiecți cu vârsta între 85 și 89 ani și c) subiecți cu vârsta peste 90 ani. S-au evaluat parametrii lipidici serici: colesterol total, HDL-colesterol, non-HDL-colesterol, LDL-colesterol, trigliceride, și rapoartele colesterol total/HDLc, LDLc/HDLc, non-HDLc/HDLc, trigliceride/HDLc. Rezultatele au arătat reducerea semnificativă a colesterolului total la pacienții de 85-89 ani ($p < 0,001$) și cei de peste 90 ani ($p = 0,009$) comparativ cu cei de 80-84 ani. LDLc a scăzut semnificativ ($p < 0,001$) la subiecții de 85-89 ani

și de 90+ față de cei de 80–84 ani. Non-HDLc a scăzut semnificativ la pacienți de 85-89 ani ($p < 0,0001$) și peste 90 ani ($p = 0,0197$). S-au redus semnificativ și rapoartele colesterol total/HDL ($p = 0,0460$), LDLc/HDLc ($p = 0,005$) și non-HDLc/HDLc ($p = 0,0466$) la subiecții cu vârsta între 85- 89 ani comparativ cu cei de 80-84 ani. S-au evidențiat corelații semnificativ negative ale colesterolul total ($r = -0,2532$), LDLc ($r = -0,3473$) și non-HDLc ($r = -0,2476$) cu vârsta pacienților. Concluzii: Reducerea semnificativă a unor parametri lipidici la pacienții de peste 85 ani și longevivi (90+ ani) poate ilustra o îmbătrânire aparent sănătoasă datorită respectării unei strategii medicamentoase hipolipemiante și/sau stilului de viață sănătos. Cercetările s-au efectuat în cadrul proiectului nr.335/2014, finanțat prin programul PARTENERI-ATE-Proiecte colaborative de cercetare aplicativă-competitivă 2013.

P16. Urinary enzymes in chronic pyelonephritis - clinical significance

Vera Sali

¹State Medical and Pharmaceutical University „Nicolae Testemitanu”, ²Republican Clinical Hospital, Chișinău, Moldova

Most recently published studies show an increased incidence of chronic pyelonephritis. Acute or chronic tubulointerstitial renal diseases determined by nonspecific infectious agents, are frequent diseases with diagnosis and treatment often difficult for clinicians. Assessment of some urinary enzyme activity simultaneously with traditional laboratory markers and analysis of complex biochemical indices, allow estimation of cellular damage, location (tubular, glomerular or interstitial) and stages of chronic inflammatory process in the kidneys.

The purpose of this study was to analyse complex enzymatic spectrum in urine of the patients with different stages of chronic pyelonephritis.

The study included 52 patients with latent phase of chronic pyelonephritis (group I), 48 patients with acute chronic pyelonephritis (group II), hospitalized in the nephrology department of the Republican Clinical Hospital Chișinău. The mean age of patients in group I was 51 ± 7.1 years and 49 ± 6.8 years in group II. In both investigated groups patients with preserved renal function were selected. The control group consisted in 35 apparently healthy people with normal physico-chemical urine parameters. Urinary and serum enzyme activity of β -NAG, β -galactosidase, β -glucosidase β -glucuronidase, A and B arylsulfatase, alkaline phosphatase, LDH, γ -GT, α -glycosidase neutral, lysozyme, β 2- microglobulin were analysed by kinetic spectrophotometric methods and by radioimmunoassay. High excretion of enzymes and β 2- mg level in patients with latent phase of chronic pyelonephritis despite normalization of clinical indices, indicates the persistence of the inflammatory process and can be considered simple diagnostic markers in these forms. The methods are non-invasive, accessible to any laboratory and microspecimens of biological material can be used (important especially in the pediatric clinics).

Enzime urinare în pielonefritele cronice - semnificație clinică

Vera Sali

¹State Universitatea de Stat de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemitanu”, ²Spitalul Clinic Republican, Chișinău, Moldova

Majoritatea studiilor publicate recent evidențiază o incidență crescută a pielonefritelor cronice. Afecțiunile tubulo-interstițiale renale, prin cauze infecțioase nespecifice cu caracter acut sau cronic,

reprezintă afecțiuni des întâlnite în clinică și care ridică medicului practician probleme de diagnostic și tratament adeseori dificile.

Estimarea activității enzimelor urinare în pielonefritele cronice în ambianță cu tehnicile tradiționale de laborator și analiza indicilor biochimici complecși, permit aprecierea caracterului leziunilor celulare, gradului de acutizare a procesului inflamator cronic în rinichi, localizarea lui la nivel tubular, glomerular sau interstițial.

Scopul studiului a fost analiza complexă a spectrului enzimatic la pacienții cu pielonefrite cronice în diverse stadii.

În studiu au fost incluși 52 pacienți cu pielonefrite cronice, faza latentă (lotul I), 48 de pacienți cu pielonefrite cronice în acutizare (lotul II), spitalizați în secția nefrologie a Spitalului Clinic Republican Chișinău. Vârsta medie a pacienților din loturile studiate a fost $51 \pm 7,1$ ani la lotul I și $49 \pm 6,8$ ani la lotul II. În ambele loturi cercetate au fost selectați pacienții cu funcția renală păstrată. Lotul martor a fost constituit din 35 persoane aparent sănătoase, cu vârstă similară cu pacienții și cu valori normale ale examenului sumar de urină. Activitatea enzimelor urinare β -NAG, β -galactozidazei, β -glucozidazei, β -glucoronidazei, arilsulfatazelor A și B, fosfatazei alcaline, LDH, γ -GT, α -glicozidazei neutre, lizozimului, β_2 -mg în ser și urină a fost apreciată prin metode cinetice, spectrofotometrice, radioimune.

Excreția crescută a unor enzime, precum și nivelul β_2 -microglobulinei în faza latentă a pielonefritelor cronice indică persistența procesului inflamator, în pofida normalizării celorlalți indici clinici și pot fi considerați markeri simpli de diagnostic în aceste forme. Metodele sunt neinvazive, se folosesc microdoze de material biologic, sunt accesibile pentru orice laborator și pot fi utilizate și în pediatrie.

POSTER SESSION 2

Chairpersons: Prof. Dr. Olga Dorobăț, Assoc. Prof. Dr. Irina Codiță

P18. Identification of Human Demodex mites in a case of periorificial dermatitis

Chiriac Anca^{1,2}, Pinteală Tudor³, Chiriac E Anca³, Cioloca Petru³, Foia Liliana³

¹Nicolina Medical Center, Iasi, Romania; ²Apollonia University, Iasi, Romania; ³University of Medicine and Pharmacy "Gr. T. Popa" Iasi, Romania

Case report. Demodex is a saprophytic mite that belongs to family Demodicidae, class Arachnida, and order Acarina. Demodex is among the smallest of arthropods, living in or near hair follicles of mammals. About 65 species of Demodex are known nowadays. Demodex mites are normal inhabitants of human hair follicles. Demodex mite lives for several weeks. The dead mites decompose inside the hair follicles or sebaceous glands. In daily practice Demodex is not easily put in evidence by microscopy, and in specialized laboratories a few techniques exist to measure the density of mites, such as skin surface biopsy (SSB - technique with cyanoacrylic adhesion that collects the superficial part of stratum corneum and the contents of pilo-sebaceous follicle), methods using adhesive bands, skin scrapings, skin impressions, expressed follicular contents, comedone extraction, hair epilation, and punch biopsies. We report the microscopic identification of Demodex infestation in a case of periorificial dermatitis triggered by secondary immune suppression due to prolonged inhalation of steroids for asthma. The density of

mites was found more than 5/cm², and, considering literature data that claimed an important diminish of T-cell lymphocytes in patients with Demodex proliferation, our findings suggest that colonization of the skin with Demodex could be a reflection of the altered immune balance of the host. The microscopic reports were essential for the diagnosis and further efficient therapy, but only associated to the clinical grounds, as the presence of Demodex in the absence of any clinical sign does not indicate pathogenesis.

Identificarea acarienilor Demodex umani într-un caz de dermatită periorificială

Chiriac Anca^{1,2}, Pinteală Tudor³, Chiriac E Anca³, Cioloca Petru³, Foia Liliana³

¹ Centrul Medical Nicolina, Iași, România; ² Universitatea Apollonia, Iași, România; ³ Universitatea de Medicină și Farmacie "Gr. T. Popa" Iași, România

Raport de caz. Demodex este un acarian saprofit care aparține familiei Demodicidae, clasa Arachnida, ordinul Acarina. Demodex este printre cele mai mici artropode, care trăiesc în sau în apropierea foliculilor de păr la mamifere. Astăzi se cunosc proximativ 65 de specii de Demodex. Acarienii Demodex sunt locuitori normali în foliculii umani de păr. Acarianul Demodex trăiește normal câteva săptămâni. Acarienii morți se descompun în interiorul foliculilor de păr sau al glandelor sebacee. În practica de rutină Demodex nu este pus ușor în evidență prin microscopie, iar în laboratoare specializate există câteva tehnici pentru a măsura densitatea acarienilor cum ar fi biopsia cutanată superficială (SSB - tehnică prin adeziv tip cianoacrilat ce colectează partea superficială a stratul cornos și conținutul din foliculul pilosebaceu), metode care folosesc benzi adezive, exprimarea conținutului folicular, extracție de comedone, epilare păr și biopsii. Studiul nostru raportează identificarea microscopică a infestării cu Demodex într-un caz de dermatită periorificială declanșată de imunosupresia secundară ca urmare a inhalării prelungite de steroizi pentru tratarea unui astm. Densitatea de acarieni măsurată depășea 5/cm², și având în vedere datele din literatură care raportează diminuarea semnificativă a limfocitelor T la pacienții cu proliferare Demodex, constatările noastre sugerează că o colonizare a pielii cu Demodex ar putea reflecta alterări ale echilibrului imun al gazdei în contextul consumului cronic de steroizi. Rapoartele microscopice au fost esențiale pentru diagnosticul și ulterior aplicarea unei terapii țintite și eficace în contextul asocierii semnelor clinice, prezența Demodex în absența oricărui semn clinic neindicând potențial patogenic.

P19. Direct microscopic examination (Gram stain) of epidermal scale and macerated skin – key investigation in pitted keratolysis

Brzezinski Piotr¹, Foia Liliana², Dimitriu Cristina², Birsan Cristina³, Chiriac Anca^{3,4}

¹ Department of Dermatology, 6th Military Support Unit, Ustka, Poland; ² University of Medicine and Pharmacy "Gr. T. Popa" Iasi, Romania; ³ Apollonia University Iasi, Romania; ⁴ Nicolina Medical Center, Department of Dermatology, Iasi, Romania

Case report. Foot and ankle injuries have been described in ballet dancers who wear pointe shoes and spend hours and hours exercising. Pitted keratolysis is a *Corynebacterium* spp. infection of the

plantar corneum stratum diagnosed initially in barefooted people living in tropical areas but also reported in persons who wear occlusive shoes as soldiers, sailors, office workers and athletes. *Corynebacterium* is also involved in the etiology of erythrasma, and trichobacteriosis. *Corynebacterium* spp. are Gram-positive bacteria that invade and proliferate within plantar stratum corneum of feet favored by over warming, humidity, occlusion, overstressed feet, and poor hygiene. Malodor, hyperhidrosis and crateriform pits are main features of the disease. Keratolytic enzymes produced by *Corynebacterium* spp. destroy the stratum corneum of the epidermis, explaining the presence of characteristic shallow or deep crater-shaped sores. We present a case of pitted keratolysis in a ballet dancer who has spent more than 8 hours daily for the last months wearing pointe shoes. Gram's staining from the epidermal scale and macerated skin were performed and showed the rod like organisms confirming the diagnosis of *Corynebacterium* infection. One week of systemic antibiotic (clarytromicyne) and topical fusidic acid cream applied twice daily for 4 weeks proved to be effective, safe and with no recurrence. Direct microscopic examination (Gram stain) proved to be an important tool in establishing the diagnosis.

Examenul microscopic direct (colorație Gram) al scuamelor epidermice și pieli macerate - element cheie de diagnostic în keratoliza punctată

Brzezinski Piotr¹, Foia Liliana², Dimitriu Cristina², Birsan Cristina³, Chiriac Anca^{3,4}

¹Departmentul de Dermatologie, Unitatea Militară 6, Ustka, Polonia; ²Universitatea de Medicină și Farmacie "Gr. T. Popa" Iași, România; ³Universitatea Apollonia, Iași, România; ⁴Centrul Medical Nicolina, Iași, România

Raport de caz. Variate tipuri de leziuni ale piciorului și gleznei au fost descrise la balerini care poartă poante și petrec numeroase ore pentru antrenament. Keratoliza punctată reprezintă o infecție comună a stratului cornos plantar determinată de *Corynebacterium* spp., diagnosticată inițial la indivizii care stau frecvent cu picioarele goale, locuitori ai zonelor tropicale, dar raportate de asemenea la persoanele care poartă pantofi ocluzivi, precum soldații, marinarii și atleții. Speciile de *Corynebacterium* sunt de asemeni implicate în etiologia eritrasmei și trichobacteriozei. *Corynebacterium* spp. sunt bacterii gram-pozitive care, în condiții de supraîncălzire (temperaturi foarte mari), umiditate, ocluzie, picioare supratensionate sau igienă precară, invadează și proliferază în stratul cornos plantar al piciorului. Principalele caracteristici ale bolii sunt mirosul neplăcut, hiperhidroza și șanțurile crateriforme. Enzimele keratolitice produse de *Corynebacterium* spp. distrug stratul cornos al epidermei, explicând prezența fie superficial fie în profunzime, a unor rani caracteristice în formă de crater. Studiul nostru prezintă un caz de keratoliză punctată la o tânără balerină care petrece zilnic în ultimii ani mai mult de 8 ore încălțată cu poante, specifice meseriei. Colorația Gram realizată din scuamele epidermice și aria cu piele macerată, a relevat aspectul specific difteriform al agentului etiologic, confirmând diagnosticul de infecție cu *Corynebacterium*. Tratamentul stabilit în urma diagnosticului de laborator constând în administrare sistemică de antibiotice timp de o săptămână (clarytromicină) și aplicații topice cu acid fusidic de două ori pe zi timp de o lună, s-a dovedit a fi eficient, sigur și fără recurență. Examenul microscopic direct (consecutiv colorației Gram) s-a dovedit a fi un instrument important în stabilirea diagnosticului.

P20. The Antifungal Treatment of External Otitis Caused by Several *Aspergillus* Species

Ioana Coralia Codreanu¹, Dana Carmen Zaha¹, Ciprian Iovan¹

University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy

Introduction. Ear infections by various species of *Aspergillus* may occur in case of a decline of body immunity, their occurrence being favoured by a history of ear disease, diabetes mellitus, neoplastic diseases, etc. The Genus *Aspergillus* includes hundreds of species widespread in the environment but the species involved in the vast majority of ear infections are *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* and *Aspergillus fumigatus*.

Material and method. We performed the study on 30 adult patients who came to the medical analysis laboratory for the mycological examination of biological samples collected from the external ear canal, by the ENT specialist physician in the outpatient department. The smear carried out from the samples collected has shown the existence of an inflammatory reaction and/or the presence of hyphae. The plate counts used in order to isolate the *Aspergillus* species were Sabouraud Agar with chloramphenicol and Agar Czapek. The antifungal susceptibility was tested to clotrimazole, itraconazole and voriconazole, using E-test strips with antifungal agents.

Results and discussions. The *Aspergillus* species isolated from these biological samples were represented by *A. niger* (8 patients), *A. fumigatus* (10 patients) and *A. flavus* (12 patients).

The *Aspergillus* strains were susceptible in percents of 58% to itraconazole, 67% to clotrimazole and 92% to voriconazole.

Conclusions. The study highlighted the sensitivity of the *Aspergillus* strains to clotrimazole, itraconazole and voriconazole; these antimycotics can be used with success in therapy.

Tratamentul antifungic al otitelor externe determinate de unele specii de *Aspergillus*

Ioana Coralia Codreanu¹, Dana Carmen Zaha¹, Ciprian Iovan¹

1. Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie

Introducere . Infecțiile otice cu diferite specii de *Aspergillus* apar în condițiile scăderii imunității organismului, fiind favorizate de afecțiuni otice în antecedente, diabet zaharat, afecțiuni neoplazice, etc. Genul *Aspergillus* cuprinde sute de specii larg răspândite în mediul înconjurător însă în marea majoritate a infecțiilor otice sunt implicați *Aspergillus niger*, *Aspergillus flavus* și *Aspergillus fumigatus*.

Material si metodă. Studiul l-am realizat pe un număr de 30 de pacienți adulți care s-au adresat laboratorului de analize medicale pentru examenul micologic al probelor biologice recoltate de la nivelul conductului auditiv extern, de către medicul specialist ORL în ambulator. Frotiul efectuat din prelevat a evidențiat existența unei reacții inflamatorii și/sau prezența de hife. Mediile de cultură utilizate pentru izolarea speciilor de *Aspergillus* au fost Agar Sabouraud cu cloramfenicol și Agar Czapek. Sensibilitatea la antifungice a fost testată pentru clotrimazol, itraconazol și voriconazol utilizând benzi E test cu antifungice.

Rezultate si discuții. Speciile de *Aspergillus* izolate din probele biologice au fost reprezentate de *A.niger* (8 pacienți), *A. fumigatus* (10 pacienți) si *A. flavus* (12 pacienți). Tulpinile de *Aspergillus* au fost sensibile în procent de 58% la itraconazol, 67% la clotrimazol si 92% la voriconazol.

Concluzii. Studiul a demonstrat sensibilitatea tulpinilor de *Aspergillus* la clotrimazol, itraconazol si voriconazol , aceste antimicotice putând fi utilizate cu succes în terapie.

P21. Correlation between Asymptomatic Cervical Bacterial Colonization during Pregnancy, Neonatal Infection and the Risk of Preterm Birth

Elvira Brătilă¹, Diana-Elena Comandașu², Ruxandra Stănculescu¹, Bogdana Virgolici¹, Maria Mohora¹

“Carol Davila” University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania, Ph.D. Student, “Carol Davila” University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania

Background: The objectives of the study were to determine the relationship between diagnosed cervical bacterial colonization in the third trimester of pregnancy and premature birth, respectively to check whether the screening of this bacterial colonization affects maternal and neonatal morbidity.

Methods: We have studied 1676 pregnant women who gave birth in Clinical Emergency „Saint Pantelimon” Hospital, in the period December 2010 – December 2011. We divided the patients into two groups - a group of patients who gave birth before 37 weeks of gestation and a group with term births. Bacterial cultures were taken from all patients included in the study. Patients with group B streptococcal colonization of the cervix were not included in the study. Analysis included the prevalence of cervical bacterial colonization, the association with risk of premature birth and low birthweight newborns. Maternal and neonatal complications were evaluated in cases with positive cervical cultures.

Results: The rate of preterm births in the study population was 11.6%. The prevalence of cervical bacterial asymptomatic colonization in the third trimester of pregnancy was 16.4% for premature births group versus 18.7% in cases of birth at term group. There was no correlation between cervical bacterial colonization and low birth weight. The correlation between maternal cervical bacterial colonization and fetal infection was 25% in preterm births group and 15.05% in term births group.

Conclusions: Routine screening of cervical bacterial colonization in the third trimester of pregnancy did not show benefits in terms of lowering maternal and fetal morbidity. An asymptomatic bacterial cervical infection diagnosed in the third trimester did not correlate with an increased risk of premature birth or low birth weight. Cervical bacterial cultures are indicated for preterm labor, where the correlation of maternal cervical bacterial colonization and fetal infection is 25%.

Acknowledgement: This work received financial support through the project entitled „CERO – CAREER PROFILE: ROMANIAN RESEARCHER”, grant number POSRDU/159/1.5/S/135760, cofinanced by the Operational Programme Human Resources Development 2007-2013.

Corelație între colonizarea cervicală bacteriană asimptomatică pe perioada sarcinii, infecția neonatală și riscul de naștere prematură

Elvira Brătilă¹, Diana-Elena Comandașu², Ruxandra Stănculescu¹, Bogdana Vîrgolici¹,
Maria Mohora¹

1. "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania, 2. Ph.D. Student,
"Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania

Introducere: Obiectivele studiului au fost de a stabili relația dintre colonizarea bacteriană cervicală diagnosticată în trimestrul III de sarcină și nașterea prematură, respectiv de a verifica dacă screeningul acestei colonizări influențează morbiditatea maternă și neonatală.

Material și metodă: S-au luat în studiu 1676 gravide ce au născut în Spitalul Clinic de Urgență „Sfântul Pantelimon”, în perioada decembrie 2010 - decembrie 2011. Acestea au fost împărțite în două grupuri - un grup de paciente ce au născut înainte de 37 săptămâni de gestație și un grup cu nașteri la termen. S-au recoltat culturi din col la toate pacientele incluse în studiu. Nu au fost incluse în studiu pacientele cu Streptococ de grup B la nivelul colului. Analiza cuprinde prevalența colonizării cervicale, asocierea acesteia cu riscul de naștere prematură și greutatea scăzută la naștere a nou-născuților. S-au evaluat complicațiile materne și neonatale la cazurile cu culturi cervicale pozitive.

Rezultate: Rata de nașteri premature în populația de studiu a fost de 11,6%. Prevalența colonizării bacteriene cervicale în trimestrul III de sarcină a fost de 16,4% în cazul nașterilor premature versus 18,7% în cazurile de naștere la termen. Nu s-a înregistrat nici o corelație între colonizarea cervicală și greutatea scăzută la naștere. Corelația între colonizarea cervicală maternă și fetală a fost de 25% la prematuri și de 15,05% în cazul nașterilor la termen.

Concluzii: Screeningul de rutină, în trimestrul III de sarcină, al colonizării bacteriene cervicale nu a înregistrat beneficii în ceea ce privește scăderea morbidității materne și fetale. Colonizarea cervicală bacteriană asimptomatică diagnosticată în trimestrul III nu se corelează cu creșterea riscului de naștere prematură sau greutatea scăzută la naștere. Culturile cervicale sunt indicate în cazul travaliului la nașterea prematură unde corelația culturi cervicale materne-neonatale este de 25%.

Acknowledgement: Această lucrare a beneficiat de suport financiar prin proiectul „CERO - PROFIL DE CARIERĂ: CERCETĂTOR ROMÂN”, contract nr. POSRDU/159/1.5/S/135760, proiect cofinanțat prin Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane 2007-2013.

P22. *Nocardia cyriacigeorgica* pulmonary infection at an immunocompetent patient- Case study

Violeta Corina Cristea¹, Alina Dumitrascu², Roxana Gabriela Pricop¹, Cristina Tanaseanu²

1. Synevo Bucharest – Central Reference Laboratory; 2. Saint Pantelimon Emergency Clinic Hospital,
Bucharest

Introduction: *Nocardia* spp is a saprophyte found worldwide in soil rich in organic matter as a result of decomposition processes. In the pathology of the last decades, it has been described as an etiological agent in pulmonary and skin diseases disseminated in immunosuppressed patients.

This is a case study of the *Nocardia cyriacigeorgica* pulmonary infection at an immunocompetent patient.

Case study: A 65-year-old female patient comes to the emergency ward with high fever (40.5°C), shivers, pus-filled mucus cough expectorant, dyspnea, thoracic pain. By her personal medical history, she has been a smoker for almost 10 years.

Clinical examination upon hospital admission shows tachycardia, polypnea, crepitating lung (low-right area), BP 120/90 mmHg and HR 130 beats/ minute.

Laboratory testing results show inflammatory syndrome: Sedimentation rate - 95 mm/h (RR 3-10mm/h), C reactive protein -134 mg/dl (RR 1-5 mg/dl), fibrinogen level - 580 mg/dl (RR 200-400mg/dl).

The Pulmonary X-ray shows signs of condensation syndrome – on 1/3 of the left lower lobe, and also on the 1/3 middle (part) of the right lobe.

Sputum microscopic analysis demonstrated numerous branching positive gram bacilli.

On culture media they grew into white-yellowish colonies, with a hypha-like aerial appearance, that later, through the mass spectrometry method, were identified as *Nocardia cyriacigeorgica*. At admission, the patient received Moxifloxacin treatment that was replaced by trimethoprim- sulfamethoxazole after the result of the sputum analysis was delivered. The sputum analysis result was BAAR negative. The evolution under treatment was positive.

Conclusions: Although rare, infections caused by *Nocardia* can occur in immunocompetent patients. Sulfonamides are the treatment of choice in nocardiosis. It is the responsibility of the Microbiology Laboratories to have a highly qualified staff and the appropriate technical means for the identification of the rarely-found pathogenic bacteria. To our knowledge, this is the first reported case of *Nocardia cyriacigeorgica* infection in Romania.

Infecție pulmonară cu *Nocardia cyriacigeorgica* la un pacient imunocompetent - Prezentare de caz

Violeta Corina Cristea¹, Alina Dumitrașcu², Roxana Gabriela Pricop¹, Cristina Tănăseanu²

1. Laboratorul Central de Referință Synevo București; 2. Spitalul Clinic De Urgență "Sfântul Pantelimon", București

Introducere: Genul *Nocardia* cuprinde bacterii întâlnite ca saprofite în natură fiind prezente în sol și în materiile organice rezultate prin descompunere. În patologia ultimelor decade acestea au fost descrise ca agenți etiologici în afecțiuni pulmonare, cutanate și diseminate la pacienții imunodeprimați. Vă prezentăm un caz de infecție pulmonară cu *Nocardia cyriacigeorgica* la un pacient imunocompetent.

Prezentare caz: Pacientă în vârstă de 65 de ani se prezintă la camera de gardă cu febră (40.5°C), frisoane, tuse cu expectorație mucopurulentă, dispnee și junghi toracic. Din antecedentele personale se notează un istoric de fumătoare, aproximativ 10 ani.

Examenul clinic la internare evidențiază tahicardie, polipnee, raluri crepitante bazal dreapta, TA 120/90 mmHg și AV 130 bătăi/minut.

Determinările biologice au evidențiat sindrom inflamator: VSH 95 mm/h (VN 3-10mm/h), Proteina C reactivă 134 mg/dl (VN 1-5 mg/dl), Fibrinogen 580 mg/dl (VN 200-400mg/dl).

Radiografia pulmonară a pus în evidență un sindrom de condensare în 1/3 inferioară pulmonară stângă și 1/3 medie a corpului pulmonar drept.

Analiza microscopică a sputei a evidențiat numeroși bacili Gram pozitivi, ramificați. Pe mediile de cultură s-au dezvoltat colonii alb-gălbui cu aspect aerian de hife care ulterior au fost identificate prin spectrometrie de masă ca fiind *Nocardia cyriacigeorgica*. La internare pacienta a primit moxifloxacin care a fost înlocuit cu trimethoprim-sulfamethoxazole după primirea rezultatului de laborator al sputei. Examenul sputei a fost negativ pentru BAAR. Evoluția sub tratament a fost favorabilă.

Concluzii: Deși rare, infecțiile determinate de *Nocardia* pot apare și la pacienți imunocompetenți. Sulfonamidele sunt prima linie de tratament în nocardioză. Laboratoarele de microbiologie le revine responsabilitatea de a avea personal instruit și posibilități de a identifica microorganisme rar întâlnite în patologie. Din cunoștințele noastre, acesta este primul caz raportat de infecție cu *Nocardia cyriacigeorgica* din România.

P23. Clostridium difficile infection in an immunocompromised patient with influenza AH1N1 and Q Fever

Csep Andrei

University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy

Clostridium difficile, a gram positive anaerobic bacillus, present in the normal fecal flora, produce postantibiotic enterocolitis, especially in the elderly and in the immunocompromised individuals. We present the case of a 32 years old young woman from rural area, with two kidney transplants in her childhood, admitted to the department of infectious diseases clinic for fever, chills, productive cough, inspiratory dyspnea. The radiological examination highlighted bronchopneumonia. The hemoleucogram revealed us a significant leukocytosis (21,000 / mm³) with increased inflammatory syndrome (CRP = 188 mg/l) and an easy hepatocytolysis syndrome (TGP = 88u/l, TGO = 76u l). Under antibiotic treatment (Meropenem + Ciprofloxacin), symptoms worsened. Intense myalgia, runny nose, increased dyspnea appeared. Suspicion of AH1N1 flu was confirmed after virus isolation with Hank solution. Under treatment with Oseltamivir 2x75 mg/day for 7 days, the general condition improved. After 7 days of antibiotic and antiviral treatment, seven greenish diarrhea appeared, *Clostridium difficile* toxin A and B respectively the GDH (glutamate dehydrogenase) were positive. Serology for *Coxiella burnetii* (Q fever) was also positive, which led to continued treatment with an association of Vancomycin 4x250 mg/day and Metronidazole 3x250 mg/day for 14 days and Doxycycline 2x200 mg/day, 3 days and then 2x100 mg/day 11 days. Following this association, symptoms resolved, but a relapse after 12 days of antibiotic discontinuing appeared. The same pattern of emergence of a new treatment was administered again without relapses. In conclusion, *Clostridium difficile* infection evolves with relapses especially in immunocompromised individuals or associated infections.

Infecția cu Clostridium difficile la un pacient imunodeprimat cu gripă AH1N1 și Febră Q

Csep Andrei

Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie

Clostridium difficile, bacil anaerob gram pozitiv, face parte din flora fecală normală, producând enterocolită postantibioterapie, în special la persoanele vârstnice și la imunodeprimați. Prezentăm ca-

zul unei paciente de 32 de ani din mediul rural, cu 2 transplanturi renale în antecedente, internată în secția de boli infecțioase din Oradea, pentru febră, frisoane, tuse productivă, dispnee inspiratorie, examenul radiologic evidențiind o bronhopneumonie. Hemoleucograma a evidențiat o leucocitoză importantă (21.000/mm³) cu sindrom inflamator crescut (PCR= 188 mg/l) și un ușor sindrom de hepatocitoliză (TGP=88U/l, TGO=76U/l). Sub tratament antibiotic (Meropenem +Ciprofloxacin), simptomatologia se agravează apărând mialgii intense, rinoree, accentuarea dispneei, suspiciunându-se gripă AH1N1, confirmată ulterior în urma izolării virusului pe mediu Hank. Sub tratament cu Oseltamivir 2x75 mg/zi, timp de 7 zile, starea generală se ameliorează. După 7 zile de tratament antibiotic și antiviral, pacienta a prezentat 7 scaune diareice de aspect verzui, Clostridium difficile toxina A și B respectiv GDH-ul (Glutamat dehidrogenaza) fiind pozitive. Serologia pentru Coxiella burnetti (febra Q), fiind de asemenea pozitivă s-a continuat asocierea Vancomicină 4x250 mg/zi cu Metronidazol 3x250 mg/zi timp de 14 zile și Doxicielină 2x200 mg/zi 3 zile urmat de 2x100 mg/zi 11 zile. În urma acestei asociații simptomatologia s-a remis, dar cu apariția unei recăderi la 12 zile de la întreruperea antibioterapiei. S-a administrat din nou aceeași schemă de tratament fără apariția unei noi recăderi. În concluzie infecția cu Clostridium difficile evoluează cu recăderi în special la persoanele imunodeprimare sau cu infecții asociate.

P24. Clinical and biological aspects of nosocomial infection with Clostridium difficile

Csep Andrei

University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy

Objective. The study of the Clostridium difficile infection between 01.01.2013-31.12.2014.

Materials and methods. The study comprised of 40 patients diagnosed with Clostridium difficile infection in the Infectious Diseases ambulatory of the Emergency Hospital from Oradea, coming from different departments.

Results. Diagnosis was established by a positive A and/or B toxin of Clostridium difficile. Most cases were of mild and medium clinical severity (87.5%) that did not require hospitalisation in the department of Infectious Diseases. There were no significant differences in the area of origin or in the distribution of patients by gender. Patients aged 61-70 years were in a significantly increased percentage compared to the other age groups. Over 65% of patients had surgery or antibiotics in recent history. The etiological treatment of mild to medium cases, Metronidazole 3x500 mg/day for 10 days was effective. The severe forms were treated with of Vancomycin 4x250 mg/day for 10 days. There was a single case of relapse in a severe form of infection.

Conclusion. In the reported study etiologic treatment with Metronidazole for easy and medium forms was performed, glycopeptide being administered only in severe forms of the infection.

Aspecte clinico biologice ale infecției nosocomiale cu Clostridium difficile

Csep Andrei

Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie

Obiectiv. Studiul cazurilor de infecție cu Clostridium Difficile în perioada 01.01.2013-31.12.2014.

Material și metode. Studiul a cuprins un număr de 40 de pacienți diagnosticați cu infecție cu

Clostridium difficile, în cadrul ambulatorului de Boli infecțioase al Spitalului Clinic Județean de Urgență Oradea proveniți din diferite secții ale spitalului. Diagnosticul s-a stabilit prin pozitivarea toxinei A și/ sau B a *Clostridium difficile* respectiv a enzimei GDH (Glutamat dehidrogenaza).

Rezultate. Majoritatea cazurilor diagnosticate au fost forme ușoare și medii (87,5%), care nu au necesitat internare pe secția de Boli Infecțioase. Nu au existat diferențe semnificative privind mediul de proveniență al bolnavilor și nici în repartitia pe sexe. Pacienții cu vârste cuprinse între 61-70 de ani au fost într-un procent semnificativ crescut față de celelalte grupe de vârstă. Peste 65% din bolnavi au prezentat o intervenție chirurgicală sau antibioterapie în antecedentele recente. În formele ușoare și medii tratamentul etiologic cu Metronidazol 3x500 mg/zi timp de 10 zile, a fost eficient, formele severe beneficiind de tratament cu Vancomicina 4x250 mg/zi tot 10 zile. S-a constatat o singură recidivă la un caz de formă severă a infecției.

Concluzie. Tratamentul etiologic cu Metronidazol în monoterapie pentru formele ușoare și medii a fost benefic în cazurile studiate, glicopeptide administrându-se doar în formele severe ale infecției.

P25. Beta-lactamase producing Gram-negative bacteria - Are they part of the indigenous intestinal flora?

Felicia Toma^{1,2}, Adrian Man^{1,3}, Eniko Barabas^{3,4}, Ioana Maier³, Anca Mare¹

1 – Department of Microbiology, University of Medicine and Pharmacy Tg. Mureș; 2 – Department of Microbiology, Clinical Laboratory, Mures County Emergency Clinical Hospital; 3 – Department of Microbiology, Clinical Laboratory, Mures County Clinical Hospital; 4 – Department of Pharmacology and Clinical Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy Tg. Mureș

Purpose: Evaluation of beta-lactamase producing Gram-negative bacteria isolated from human intestinal tract.

Materials and methods: Faeces samples were collected from 126 patients admitted in the hospitals of Tg.Mures. The samples were cultured on CLED agar, and all morphologically different colonies were isolated and identified using conventional biochemical methods. The bacteria positively identified as Gram-negative bacilli were subjects to initial screening tests for beta-lactamases by disk diffusion method, according to CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) standard.

Results: From the feces samples of 70 males and 56 females, a total of 211 Gram negative bacilli were isolated. *E. coli* was the most prevalent (72%), followed by *Klebsiella* spp. (15.2%), *Enterobacter* spp. (4.3%). Other species such as non-glucose-fermentative, *Serratia* spp., *Morganella* spp. or *Citrobacter* spp. were found in less than 2%. The screening tests revealed 42 (19.9%) ESBL (extended-spectrum beta-lactamase), 10 (4.7%) carbapenemase, and 4 (1.9%) AMPc positive strains. Seven strains (3.3%) presented both carbapenemase and ESBL phenotypes, and 3 (1.4%) presented carbapenemase and AMPc. From the ESBL-positive bacteria, *E. coli* represented 50%, while *Klebsiella* spp. 26.2%. The carbapenemase producers were *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp., *Serratia* spp. and *Enterobacter* spp.

Conclusions: Based on phenotypic techniques, our screening study on Gram-negative bacilli isolated from human intestinal tract identified 26% of the isolated strains as beta-lactamase producers, mainly ESBL.

Bacteriile Gram-negative producătoare de beta-lactamaze – Parte din flora intestinală indigenă?

Felicia Toma ^{1,2}, Adrian Man ^{1,3}, Eniko Barabas ^{3,4}, Ioana Maier ³, Anca Mare ¹

1 – Disciplina de Microbiologie, Universitatea de Medicină și Farmacie Tg. Mureș, 2 – Departamentul de Microbiologie, Laborator Clinic, Spitalul Clinic Județean de Urgență Mureș, 3 – Departamentul de Microbiologie, Laborator Clinic, Spitalul Clinic Județean Mureș; 4 - Departamentul de Farmacologie și Farmacie Clinică, Universitatea de Medicină și Farmacie Tg. Mureș

Scop: Evaluarea producerii de beta-lactamaze de către bacteriile Gram-negative din tractul intestinal uman.

Material și metodă: Au fost recoltate probe de materii fecale de la 126 de pacienți internați în spitale din Tg. Mureș. Probele au fost cultivate pe CLED agar, coloniile cu morfologie caracteristică fiind izolate și identificate prin metode biochimice convenționale. Bacteriile identificate ca bacili Gram-negativi au fost supuse unui screening inițial pentru detectarea producerii de beta-lactamaze prin metoda difuzimetrică, conform standardelor CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute).

Rezultate: Probele de materii fecale prelucrate au provenit de la 70 de bărbați și 56 de femei. A fost izolat un număr de 211 tulpini de bacili Gram-negativi. *E. coli* a fost specia cea mai frecvent izolată, (72%), urmată de *Klebsiella* spp. (15.2%) și *Enterobacter* spp. (4.3%). Alte specii, precum bacilii nefermentativi, *Serratia* spp., *Morganella* spp. sau *Citrobacter* spp. au fost identificate în procente scăzute, sub 2%. Screening-ul a evidențiat 10 (4.7%) tulpini producătoare de carbapenemaze, 42 (19.9%) de BLSE (beta-lactamaze cu spectru extins) și 4 (1.9%) de AMPc. Șapte tulpini (3.3%) au fost producătoare de carbapenemaze și de BLSE, iar 3 (1.4%) de carbapenemaze și de AMPc. Dintre bacteriile producătoare de BLSE, *E. coli* a reprezentat 50%, pe când *Klebsiella* spp. 26.2%. Tulpinile producătoare de carbapenemaze au fost reprezentate de specii de *Pseudomonas*, *Klebsiella*, *Serratia*, *Enterobacter*.

Concluzii: Screening-ul bazat pe metode fenotipice și efectuat pe bacterii Gram-negative izolate din tractul intestinal uman, a identificat 26% din tulpinile izolate ca fiind producătoare de beta-lactamaze, în mod special BLSE.

P26. Comparative levels of C - reactive protein in respiratory syncytial virus vs. adenovirus acute bronchiolitis

Patricia Marușca, R. Spineanu, Simona Cheregi, C. Sava, Csep A.

University of Oradea, The Faculty of Medicine and Pharmacy

Introduction. Elevated serum levels of C-reactive protein (CRP) are common findings during bacterial respiratory tract infections, enabling the differentiation from respiratory viral infections.

Objectives. Comparative evaluation of CRP serum level in infants and toddlers with acute bronchiolitis due to syncytial respiratory virus and adenovirus, respectively.

Method. We conducted a prospective study analyzing CRP titer in 61 children with acute bronchiolitis between 2008 and 2012. 42 of these children had respiratory syncytial virus as the etiological agent and 19 of them were positive for adenovirus. In order to detect the etiology, antiviral antibodies detection was

performed using ELISA method. Patients with bacterial co-infection were excluded from the study. It was considered CRP levels analyzed within three days of hospitalization, with normal range of 0-5 mg/L.

Results. In case of respiratory syncytial virus infection, the number of patients with CRP above 5 mg/L was 38 of these, 4 having values > 15 mg/L. CRP values ranged between 4 and 31 mg/dl, with a mean of 11.26mg/L. Patients infected with adenovirus submitted values higher than 5 mg/L in 18 cases (94.73%), 12 cases with CRP levels > 15 mg/L (63.15%), within limits between 4-88 mg/L, with an average of 55.89 mg/L. The differences between the mean values of CRP levels during the two viral infections are statistically significant ($p < 0.001$).

Conclusions. Elevated CRP levels in adenoviral respiratory infections may result in confusion with bacterial co-infections and subsequent unnecessary antibiotic therapy.

Nivele comparative de proteină C-reactivă în bronșiolitele acute cu virus sincițial respirator și adenovirus

Patricia Marușca, R.Spineanu, Simona Cheregi, C. Sava, Csep A.

Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie

Introducere. Nivele serice ridicate de proteină C-reactivă (CRP) sunt întâlnite deseori în infecții respiratorii bacteriene, permițând diferențierea de infecțiile cu determinism viral. Totuși nivele crescute de CRP au fost semnalate și în unele infecții respiratorii virale.

Obiective. Evaluarea comparativă a nivelului CRP în bronșiolitele sugarilor și copiilor mici având ca agenți etiologici virusul sincițial respirator și adenovirusul.

Material și metodă. A fost studiat titrul CRP într-o cercetare prospectivă la 61 copii cu bronșiolită acută, în intervalul 2008-2012, 42 având ca etiologie virusul sincițial respirator și 19 adenovirusul. Pentru decelarea etiologiei s-a procedat la determinarea anticorpilor antivirali prin metoda ELISA. Au fost excluse cazurile de coinfecție bacteriană. A fost luat în considerare nivelul CRP determinat în primele trei zile de spitalizare considerând ca valori normale cele < 5 mg/L.

Rezultate. În cazul virusului sincițial respirator numărul de pacienți cu CRP > 5mg/L a fost de 38, dintre care 4 (9,52%) cu valori > 15 mg/L. Valorile CRP au fost cuprinse între 4-31 mg/L cu o medie de 11,26 mg/L. Pacienții infectați cu adenovirus au prezentat valori > 5mg/L în 18 cazuri (94,73%), dintre care 12 (63,15%) valori > 15mg/L, cu limite între 4-88 mg/L și o medie de 55,89 mg/L. Diferențele dintre valorile medii ale CRP în cele două infecții virale este semnificativă statistic ($p < 0,001$).

Concluzii. Valorile ridicate ale CRP în infecțiile adenovirale respiratorii pot genera confuzii cu coinfecții bacteriene și introducerea nonnecesară a tratamentului cu antibiotice.

P27. Antibacterial properties of Genistein

Muntean Delia¹, Danciu Corina², Șoica Codruța², Dugășescu Dorina¹, Horhat Florin¹, Moldovan Roxana¹, Dehelean Cristina², Licker Monica¹

1. Faculty of Medicine, University of Medicine and Pharmacy "Victor Babes" Timisoara, Romania;

2. Faculty of Pharmacy, University of Medicine and Pharmacy "Victor Babes" Timisoara, Romania

Background. Antibiotic resistance is a global medical problem, therefore discovery of novel antimicrobial compounds is absolutely necessary.

The isoflavone genistein is best represented in soybean, but there are also other medicinal plants that contain important amounts of genistein.

Aim. Our study aimed the preparation of genistein complexes and to evaluate their antibacterial properties.

Materials and methods. In this study we tested the antibacterial activity of Genistein (Gen) against ten bacterial strains: *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Bacillus cereus* (ATCC 14579), *Candida albicans* (10231), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), *Salmonella enteritidis* (ATCC 13076), *Shigella sonnei* (ATCC 25931), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), by the agar disk-diffusion method and the dilution assay for minimal inhibitory concentration (MIC) determinations.

Results. The evaluation of biological activities, for Genistein at the concentration of 10mM, showed that the compounds act as antibacterial agents against *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Bacillus cereus* (ATCC 14579) and *Candida albicans* (10231).

Conclusions. This might potentially be the first step in the development of new antimicrobial drugs. The potential use of isoflavone genistein in the antimicrobial therapy may appear an attractive opportunity.

Proprietățile antibacteriene ale Genisteinei

Muntean Delia¹, Danciu Corina², Șoica Codruța², Dugășescu Dorina¹, Horhat Florin¹, Moldovan Roxana¹, Dehelean Cristina², Licker Monica¹

1. *Facultatea de Medicină, Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara, România;* 2. *Facultatea de Farmacie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara, România*

Introducere. Rezistența la antibiotice este o problemă medicală globală, de aceea descoperirea unor compuși antimicrobieni noi este absolut necesară. Isoflavone genisteina este cel mai bine reprezentată în soia, dar există și alte plante medicinale care conțin cantități importante de genisteină.

Scop. În acest studiu ne-am propus prepararea unor complexe pe bază de genisteină și evaluarea proprietăților lor antibacteriene.

Material și metode. Am testat activitatea antibacteriană a Genisteinei (Gen) pe un lot de zece tulpini bacteriene: *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Bacillus cereus* (ATCC 14579), *Candida albicans* (10231), *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212), *Escherichia coli* (ATCC 25922), *Salmonella typhimurium* (ATCC 14028), *Salmonella enteritidis* (ATCC 13076), *Shigella sonnei* (ATCC 25931), *Pseudomonas aeruginosa* (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* (ATCC 25923), prin tehnica difuzimetrică și prin metoda diluției cu determinarea concentrației minime inhibitorii (CMI).

Rezultate. Evaluarea activității biologice a Genisteinei, la concentrația de 10 mM, a demonstrat activitatea antibacteriană a acestor compuși asupra tulpinilor de *Bacillus subtilis* (ATCC 6633), *Bacillus cereus* (ATCC 14579) și *Candida albicans* (10231).

Concluzii. Rezultatele acestui studiu ar putea sta la baza dezvoltării unor noi preparate antimicrobiene. Pe viitor, utilizarea Genisteinei în terapia antimicrobiană poate fi utilă.

P28. Antimicrobial resistance of Gram-negative bacilli isolated from community urinary tract infections

Muntean Delia, Dugășescu Dorina, Bădițoiu Luminița, Moldovan Roxana, Hogeia Elena, Berceanu-Văduva Delia, Crăciunescu Mihaela, Popa Mihaela, Licker Monica

University of Medicine and Pharmacy "Victor Babes" Timisoara

Aim. To evaluate the resistance of Gram-negative bacilli isolated from urocultures, in ambulatory patients.

Methods. A total of 469 strains: 432 *Escherichia coli*, 24 *Klebsiella pneumoniae*, 8 *Proteus* spp., 2 *Enterobacter* spp., 1 *Citrobacter freundii*, 2 *Pseudomonas aeruginosa*, isolated from 2392 urocultures, in 2014, were tested for antimicrobial susceptibility by disk-diffusion method, according with CLSI 2014.

Results. *E. coli* strains were resistant to: ampicillin (56,48%), trimethoprim-sulfamethoxazole (39,59%), amoxicillin/clavulanic acid (29,63%), cefazolin (29,63%), ciprofloxacin (19,45%), ofloxacin (19,45%), nitrofurantoin (16,67%) and to aminoglycosides and ceftazidime resistance was below 1%. For *K. pneumoniae* resistance rate was higher: ceftazidime 4,16%, gentamycin 12,5%, tobramycin 12,5% and nitrofurantoin 20,83%. For other antimicrobials, resistance rate was over 50%. *Proteus* spp. showed sensitivity for almost all antimicrobials, resistance rate being below 25%. All *Enterobacter* and *Citrobacter freundii* strains were resistant to fluoroquinolones and trimethoprim-sulfamethoxazol. None of *Enterobacteriaceae* isolated were carbapenem resistant. Both *Pseudomonas aeruginosa* strains were resistant to ticarcillin, piperacillin/tazobactam, aztreonam, ceftazidime, cefepime, gentamycin, tobramycin, ciprofloxacin and levofloxacin. These strains were susceptible only to imipenem and amikacin.

Conclusions. *E. coli* strains were mostly sensitive, high levels of resistance recorded only to ampicillin and trimethoprim-sulfamethoxazole. *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* and *Pseudomonas*, although lower numerically, showed a high level of resistance to tested antibiotics. To limit the possibility of spreading resistance required control measures and surveillance of infections in outpatients.

Rezistența la antibiotice a bacililor Gram-negativi izolați din infecții urinare comunitare

Muntean Delia, Dugășescu Dorina, Bădițoiu Luminița, Moldovan Roxana, Hogeia Elena, Berceanu-Văduva Delia, Crăciunescu Mihaela, Popa Mihaela, Licker Monica

Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara

Scop. Evaluarea rezistenței bacililor Gram-negativi izolați din uroculturile pacienților din ambulator.

Metode. Un număr de 469 de tulpini: 432 *Escherichia coli*, 24 *Klebsiella pneumoniae*, 8 *Proteus* spp., 2 *Enterobacter* spp., 1 *Citrobacter freundii*, 2 *Pseudomonas aeruginosa*, izolate din 2392 uroculturi, în 2014, au fost testate pentru sensibilitatea la antibiotice prin metoda difuzimetrică, conform CLSI 2014.

Rezultate. Tulpinile de *E. coli* au fost rezistente la: ampicilină (56,48%), trimetoprim-sulfametoxazol (39,59%), amoxicilină/acid clavulanic (29,63%), cefazolin (29,63%), ciprofloxacin (19,45%), ofloxacin (19,45%), nitrofurantoin (16,67%), iar pentru aminoglicozide și ceftazidim rezistența a fost sub 1%. La tulpinile de *Klebsiella pneumoniae*, rata de rezistență a fost mai mare: ceftazidim 4,16%, gentamicină

12,5%, tobramicină 12,5% și nitrofurantoin 20,83%. Pentru celelalte antibiotice, rezistența a depășit 50%. *Proteus* spp. a fost sensibil la aproape toate antibioticele, rata de rezistență nedepășind 25%. Toate tulpinile de *Enterobacter* spp. și *Citrobacter freundii* au fost rezistente la fluoroquinolone și trimetoprim-sulfametoxazol. Niciuna din enterobacteriile izolate nu a fost rezistentă la carbapeneme. Ambele tulpini de *Pseudomonas aeruginosa* au fost rezistente la ticarcilină, piperacilină/tazobactam, aztreonam, ceftazidim, cefepim, gentamicină, tobramicină, ciprofloxacin și levofloxacin. Aceste tulpini au fost sensibile numai la imipenem și amikacină.

Concluzii. Tulpinile de *E. coli* au fost în mare parte sensibile, un nivel crescut de rezistență înregistrându-se numai față de ampicilină și trimetoprim-sulfametoxazol. *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter* și *Pseudomonas*, deși izolate în număr redus, au prezentat un nivel ridicat de rezistență la antibioticele testate. Pentru a reduce posibilitățile de răspândire a rezistenței sunt necesare măsuri de control și supraveghere a infecțiilor din ambulator.

P29. Sepsis Ethiology in Patients Admitted to “St.John” Hospital, Galați

Mateiu Maria Mirabela^{1,2}, Florea Calioipsia^{2,2}, Debita Mihaela^{2,3}, Tutunaru Dana^{2,3}, Romila Aurelia^{2,3}, Dobre Michaela^{2,2}, Gurău Gabriela^{2,2}

1. “Dunarea de Jos” University of Galati, Faculty of Medicine and Pharmacy, Department of Morphological and Functional Sciences, 2. Emergency Hospital for Children „St. John”, Galati, 3. Emergency Clinic Hospital, Galati

Objective: Systemic bacterial infections are one of the most important health problems of pediatric age and immunocompromised children through severity, high degree of mortality and difficulty in diagnosis and choice of treatment.

The aim of this study was to determine the etiologic spectrum of systemic bacterial infections and antibiotic resistance of bacterial strains isolated from hospitalized patients in the Children’s Hospital „Sfântul Ioan” in Galati during the period October 2013 to March 2015.

Materials and methods: We have analyzed 317 clinical cases of sepsis in children aged between 0-18 years; 167 boys (52.68%) and 150 girls (47.32%).

Results: We recorded 43 positive blood cultures (13.56%), of which: coagulase-negative staphylococci (SCN) 29 (67.44%), *Staphylococcus aureus* 5 (11.63%), *Streptococcus* sp. 2 (4.65%); *Klebsiella pneumoniae* 5 (11.63%) and *Haemophilus* sp. 2 (4.65%).

In terms of resistance to antibiotics we have found a high incidence of methicillin resistant SCN strains (SCN-MR) 72.41% (21/29 strains); methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) 1 of 5 isolates and *Klebsiella* sp. producing beta-spectrum lactamase extended (ESBL) 3 of 5 strains.

Conclusions: The results of our investigations show that systemic infections constitute a serious health problem in pediatric patients in Galati. Frequently, these infections’ etiology was represented by species of the normal microflora of the organism as well as by opportunistic strains, sometimes of nosocomial origin, showing increased resistance to antibiotics and chemotherapeutic agents.

Keywords: sepsis, antibiotic resistance, MRSA, ESBL

Etiologia sepsisului la pacienții internați în Spitalul “Sfântul Ioan” din Galați

Mateiu Maria Mirabela^{1,2}, Florea Caliochia^{2,2}, Debita Mihaela^{2,3}, Tutunaru Dana^{2,3}, Romila Aurelia^{2,3}, Dobre Michaela^{2,2}, Gurău Gabriela^{2,2}

1. Facultatea de Medicină și Farmacie “Dunărea de jos”, Departamentul de Științe morfologice și funcționale, Galați, 2. Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii “Sf. Ioan”, Galați, 3. Spitalul Clinic Județean de Urgență, Galați

Obiectiv: Infecțiile bacteriene sistemice reprezintă una dintre cele mai importante probleme de sănătate a vârstei pediatrice și a copiilor imunocompromiși prin severitatea, gradul ridicat de mortalitate și controversele legate de dificultatea în precizarea unui diagnostic și alegerea tratamentului.

Scopul acestui studiu a fost de a determina spectrul etiologic al infecțiilor bacteriene sistemice și rezistența la antibiotice a tulpinilor bacteriene izolate de la pacienții internați în Spitalul de Copii „Sf. Ioan” din Galați, în perioada octombrie 2013 - martie 2015.

Materiale și metode: Au fost analizate 317 cazuri clinice de sepsis la copiii cu vârsta cuprinsă între 0 – 18 ani, dintre care 167 băieți (52,68%) și 150 fete (47,32%).

Rezultate: Au fost înregistrate 43 de hemoculturi pozitive (13,56%), dintre care: stafilococi coagulazo negativi (SCN), 29 (67,44%), *Staphylococcus aureus* 5 (11,63%), *Streptococcus* spp. 2 (4,65%); *Klebsiella pneumoniae* 5 (11,63%), și *Haemophilus* sp 2 (4,65%).

În privința rezistenței la antibiotice am constatat o incidență ridicată a SCN rezistenți la metilicilina (SCN-MR), 72,41% (21/29 tulpini); *Staphylococcus aureus* rezistent la metilicilina (MRSA), 1 din 5 tulpini izolate și *Klebsiella* sp. producătoare de beta lactamaze cu spectru extins (BLSE), 3 din 5 tulpini.

Concluzii: Rezultatele investigațiilor noastre arată că infecțiile sistemice constituie o problemă serioasă de sănătate la pacienții pediatrici din Galați. Frecvent, etiologia acestor infecții a fost reprezentată atât de specii ale microflorei normale a organismului, cât și de tulpinile oportuniste, uneori de origine nosocomială, care prezintă o rezistență crescută la antibiotice și chimioterapice.

Cuvinte cheie: sepsis, rezistența la antibiotice, MRSA, BLSE

P30. Rotavirus – diarrhea at a vaccinated child – case presentation

Luminița Pilat, Simona Dumitra, Carmen Crisan, Daniela Ciupea, Lavinia Maris

„Vasile Goldis” Western University of Arad

Introduction: The diarrheic Rotavirus disease prevalence at vaccinated children is not known in Romania.

Aim – To present a case with medium form of rotavirus diarrhea, at a child with vaccinal antecedents.

Materials and methods: Patient CL, child three years and 11 months old, female, vaccinated against Rotavirus at the age of 3 months and 5 months.

The identification of the Rotavirus in the stool has been carried out through the ELISA method, reactive RIDASCREEN third generation.

Results: Patient CL is presenting high fever (30 – 40 degrees C) shivers (2 days), general status influenced by vomiting, frequent watery stools (10 in the first day), than 5-6 in the following 3 days, unorganized abdominal aches. Precocious induced oral rehydration and the antisecretory – racecadotrilum

treatment, allowed the monitoring of the child in a specialized ambulatory, avoiding the internment. The ELISA examination, with the RIDASCREEN III generation reagent, from the stool, reveals the infection with Rotavirus.

Conclusions: Comparative studies, carried out on vaccinated/ unvaccinated children need to be performed in order to evaluate the efficiency of the vaccine, respectively the necessity of its compulsory introduction. There is also the possibility of infection with other strains, not covered by the vaccinal spectrum.

A work carried out within the internal grant PI/4 of the “Vasile Goldis” Western University of Arad.

Rotavirus –factor de mediu la un copil vaccinat – prezentare de caz

Luminița Pilat, Simona Dumitra, Carmen Crisan, Daniela Ciupea, Lavinia Maris,

Universitatea de Vest „Vasile Goldiș” din Arad

Introducere: Situația bolii diareice cu Rotavirus la copii vaccinați nu este cunoscută în România.

Obiectiv: Prezentarea unei forme medii de diaree rotavirală la un copil cu antecedente vaccinale.

Material și metodă: Pacient CL, 3 ani și 11 luni, sex feminin, vaccinat la vârsta de 3 luni și 5 luni, cu vaccin antirotaviral.

Identificarea Rotavirusului din scaun s-a efectuat prin metoda ELISA reactiv RIDASCREEN generația III.

Rezultate: Pacienta CL, se prezintă cu febră înaltă (39-40° C), frison (2 zile), stare generală influențată, vărsături (o zi), scaune apoase frecvente (10 în prima zi) apoi 5-6 /zi în următoarele 3 zile, dureri abdominale nesistemizate. Rehidratarea orală introdusă precoce și tratamentul antisecretor-racecadotril au permis monitorizarea copilului în ambulatoriul de specialitate, cu evitarea internării. Examenul ELISA cu reactiv Ridascree generația III din scaun evidențiază infecția cu Rotavirus.

Concluzii: Sunt necesare studii comparative pe loturi de copii vaccinați/nevaccinați pentru evaluarea eficienței vaccinului cu Rotavirus, respectiv a necesității introducerii obligatorii a acestuia. Este posibilă infectarea cu alte tulpini, neacoperite de spectrul vaccinal.

Lucrare efectuată în cadrul grantului intern PI/4 al Universității de Vest “Vasile Goldiș” Arad.

P31. Correlation between Sepsis Screening and Blood Culture in Neonates

Dana Carmen Zaha, Lucia Daina

University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy

Introduction. Using markers for sepsis screening without positive blood cultures the diagnosis of sepsis in neonates can be made early. The purpose of this study was to evaluate some markers of sepsis screening in neonates and their correlation with blood culture, clinical outcome, etiological agents, and antibiotic susceptibility.

Material and method. The medical records of patients (both mothers and neonates) were evaluated retrospectively. The following groups were considered for analysis: (1) patients with positive blood cultures, (2) patients with positive bacteriologic cultures (other than blood culture) and presenting

clinical signs and haematological markers of sepsis, (3) patients with no positive bacteriologic cultures and presenting clinical signs and haematological markers of sepsis. Hematologic scoring system includes abnormalities of leukocyte count, total neutrophil count, increased immature polymorph nuclear leukocyte count, increased I/T ratio >0.2, immature to mature PMN ratio >0.3, platelet count $\leq 150\ 000/\text{mm}^3$, and degenerative changes in PMNs.

Results: Blood culture positivity rate found was 7.3% from 314 neonates with clinical signs of sepsis. In this first group, 60.8% were found to be preterm children; *S. aureus* followed by *E. coli* were predominantly isolated, the absolute survival rate being 82%. In the second group there were 58 neonates, 67.2% preterm, *E. coli* was predominant and the survival rate was 79.3%. The third group consists of 233 neonates, 42.9% preterm, with a survival rate of 91%, clinical diagnosis being sustained by hematologic scoring system (average 4.89) and the increase of CRP (average 10.74 mg/dl).

Conclusion: The combination of parameters yielded better results than single tests and proved to be useful for the early diagnosis of neonatal sepsis.

Keywords: blood culture, neonatal sepsis, markers.

Corelația între markerii sepsisului și hemocultură la nou-născut

Dana Carmen Zaha, Lucia Daina

Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie

Introducere. Utilizând markeri de screening ai sepsisului în absența pozitivării hemoculturii diagnosticul de septicemie la nou născut poate fi neîntârziat. Scopul studiului a fost evaluarea acestora și corelația cu hemocultura, supraviețuirea, agenții etiologici, sensibilitatea la antibiotice.

Material și metodă. Înregistrările medicale ale pacienților au fost evaluate retrospectiv, cazurile fiind grupate astfel: (1) cazurile cu hemocultura pozitivă; (2) alte culturi pozitive decât hemocultura cu semne clinice și hematologice pozitive pentru sepsis; (3) cazurile bacteriologic negative, markeri hematologici și clinici ai sepsisului pozitivi. Scorul hematologic cuprinde: anormalități ale numărului total de leucocite, ale numărului absolut de neutrofile, creșterea proporției de PMN imature, creșterea raportului de PMN imature/total(>0.2), raport imature/mature(>0.3), număr plachete(<150 000/mm³) și modificări degenerative ale PMN.

Rezultate. Rata de pozitivitate a hemoculturii la un număr total de 314 nou-născuți cu semne clinice de sepsis a fost de 7.3%. În acest prim grup, 60.8% au fost prematuri predominant izolat fiind *S.aureus*, urmat de *E.coli*, rata de supraviețuire fiind de 82%. În al doilea grup au fost incluși 58 de noi-născuți, 67.2% prematuri, *E. coli* a fost predominant izolată, iar supraviețuirea a fost de 79.3%. Cel de-al treilea grup este format din 233 pacienți, 42.9% prematuri cu o rată de supraviețuire de 91%, diagnosticul clinic fiind susținut de sistemul de scor hematologic (mediu 4.89) și creșterea proteinei C reactive(valoare medie 10.74 mg/dl).

Concluzie. Combinația de parametri a dat rezultate mai bune decât unul singur, dovedind a fi de ajutor pentru diagnosticul și tratamentul precoce al sepsisului neonatal.

Cuvinte cheie: hemocultură, sepsis neonatal, marker.

P32. Carba NP II versus Mast Inhibitor Combination Discs tests performance in detecting *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase classes

Brândușa-Elena Lixandru*, Ileana-Luminița Coldea, Elena-Carmina Drăgulescu, Cristiana Cerasella Dragomirescu, Felicia Antohe, Irina Codiță*,***, Maria Damian***

* “Cantacuzino” National Institute of Research-Development for Microbiology and Immunology, Bucharest, Romania; ** “Nicolae Simionescu” Institute of Cellular Biology and Pathology, Bucharest, Romania; *** “Carol Davila” University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania

Introduction: Carbapenemase producing Enterobacteriaceae are considered as a “threat to healthcare and patient safety in Europe” by the European Centre for Disease Control (ECDC).

Information on carbapenemase class may help in substantiation of interventions aiming at improving hospital patient safety.

Scope: To compare the performance of two phenotypic tests in detecting *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase classes.

Material and methods: A total of 75 carbapenems -nonsusceptible nonduplicated *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates collected in laboratories from eight Romanian hospitals, according with ECDC EuSCAPE project protocol, were investigated in the National Reference Laboratory NIRDMI Cantacuzino (NRL). Screening of carbapenemase production in the hospital laboratories, using breakpoint values for carbapenems, confirmation of carbapenemase class using Mastdiscs ID inhibitor combination discs (MDI) supplemented with susceptibility testing to temocillin, and biochemical Carba NP II test at the NRL.

PCR for detection of genes encoding for the most clinical relevant *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases types and sequencing for detecting bla gene subtypes were used as the gold standard.

Results: Among 75 isolates, 51 harbored blaOXA-48 gene, 8 strains had the blaNDM gene, whereas the blaKPC and blaVIM genes were present in 4 and 2 strains, respectively.

Carbapenemase class detection was correct in 61 from 61 (100%) isolates by using Carba NP II test and in only 57 from 61 isolates (93,44%) by using MDI supplemented with temocillin susceptibility test.

Conclusion: Carba NP test performed in the NRL may be used as a valuable alternative for providing information for action to local infection control teams.

Performanța Carba NP II vs Mast Inhibitor Combination Discs în detectarea claselor de carbapenemaze la *K. pneumoniae*

Brândușa-Elena Lixandru*, Ileana- Luminița Coldea, Elena-Carmina Drăgulescu, Cristiana Cerasella Dragomirescu, Felicia Antohe, Irina Codiță*,***, Maria Damian***

* Institutul Național de Cercetare-Dezvoltare pentru Microbiologie și Imunologie “Cantacuzino”, București, România; ** Institutul de Biologie și Patologie celulară “Nicolae Simionescu”, București, România ; ***Universitatea de Medicină și Farmacie “Carol Davila”, București, România

Introducere: Enterobacteriile producătoare de carbapenemaze sunt considerate o “amenințare pentru sănătate și siguranța pacientului în Europa” de Centrul European pentru Controlul Bolilor (ECDC).

Informația asupra clasei de carbapenemază poate fi utilă în fundamentarea intervențiilor pentru îmbunătățirea siguranței pacientului.

Scop: Compararea performanței a două teste fenotipice pentru detectarea claselor de carbapenemaze la *Klebsiella pneumoniae*.

Material și metode: Au fost investigate la Laboratorul Național de Referință din INCDDMI Cantacuzino (LNR) 75 de izolate clinice neduplicate de *Klebsiella pneumoniae* non-susceptibile la carbapeneme colectate în opt spitale din România, conform protocolului EuSCAPE al ECDC. Screening-ul pentru carbapenemaze a fost efectuat în laboratoarele spitalelor, folosind punctele de ruptură pentru carbapeneme recomandate de EUCAST, iar confirmarea clasei carbapenemazei în LNR utilizând discurile Mastdiscs ID inhibitor combination (MDI) suplimentat cu testarea sensibilității la temocilină și testele biochimice Carba NP II.

Ca standard de aur au fost utilizate PCR pentru detectarea genelor codante pentru tipurile de carbapenemaze *K. pneumoniae* cele mai relevante clinic și secvențierea pentru identificarea subtipurilor genelor bla..

Rezultate: Din 75 izolate, 51 au prezentat gena blaOXA-48, 8 tulpini gena blaNDM, iar genele blaKPC și blaVIM au fost prezente la 4, respectiv 2 tulpini.

Detectarea clasei de carbapenemaze a fost corectă pentru 61 din 61 tulpini (100%) utilizând testul Carba NP II și doar pentru 57 din 61 tulpini (93,44%) utilizând MDI suplimentat cu testarea sensibilității la temocilină.

Concluzii: Testul Carba NP efectuat în LNR poate fi utilizat ca alternativă fiabilă pentru furnizarea informației pentru acțiune necesare secției pentru controlul infecțiilor.

P33. Incidence of Extended Betalactamase Strains of *Klebsiella pneumoniae* isolated from Urocultures in an Urology Clinic

Delia Berceanu Văduva, Matilda Rădulescu, Livia Stângă, Delia Muntean, Ciprian Piliuț, Monica Licker, Dana Velimirovici, Maria Rada, Marcel Berceanu Văduva, Roxana Moldovan

University of Medicine and Pharmacy „Victor Babeș”, Timișoara

Objectives: Although *Escherichia coli* is the main ethiological agent of urinary tract infections, *Klebsiella pneumoniae* is frequently isolated in urocultures, especially in urology wards.

Considering that *Klebsiella* spp. strains are the first among enterobacteriaceae regarding the production of ESBL, our purpose was to study the incidence of ESBL producing strains, as well as determining the resistance phenotypes to antibiotics of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from urocultures from a urology clinic.

Material and methods: 111 *Klebsiella pneumoniae* strains, isolated from 1720 urocultures were studied. A number of 431 of them came out positive. Germ identification was performed with the API 10S (BioMerieux), and antibiotic sensitivity testing was performed by the Kirby-Bauer disk-diffusion test, with automatic phenotyping (Osiris Evolution system), according to CLSI standard. In order to highlight ESBL strains, the synergy test was also used.

Results: Phenotypes of resistance were determined by antibiogram analysis. The wild phenotype was present at 9.00% from the isolated strains. The ESBL strains represented 66.66%. Resistance phenotypes for betalactamines were associated with 69.36% resistant to aminoglycosides and 81.98% resistant to fluoroquinolones.

Conclusions: Antibiotic sensitivity testing revealed a great number of *Klebsiella pneumoniae* strains with cross resistance to betalactams, aminoglycosides and fluoroquinolones, anti-infectious agents frequently used in the treatment of urinary tract infections. Presence of *Klebsiella pneumoniae* ESBL producing strains can be used as an alarm signal, due to the fact that these betalactamases with extended spectrum are encoded by plasmids, which explains the ease with which it crosses the boundaries between species - and even families.

Strains included in the present study are characterized by multiple antibiotic resistance which requires to use the most efficient methods for limiting the spread of multiple resistant strains.

Incidența tulpinilor de *Klebsiella pneumoniae* producătoare de betalactamaze cu spectru extins izolate din uroculturi provenite dintr-o clinică de urologie

Delia Berceanu Văduva, Matilda Rădulescu, Livia Stângă, Delia Muntean, Ciprian Piluț, Monica Licker, Dana Velimirovici, Maria Rada, Marcel Berceanu Văduva, Roxana Moldovan

Universitatea de Medicină și Farmacie „Victor Babeș” Timișoara

Obiective: Deși tulpinile de *Escherichia coli* reprezintă principalii agenți etiologici ai infecțiilor urinare, germenii din genul *Klebsiella* se izolează frecvent din uroculturi, în special în serviciile de urologie.

Având în vedere că tulpinile de *Klebsiella* spp. se situează pe locul întâi între enterobacterii în ceea ce privește producerea de betalactamaze cu spectru extins (BLSE), ne-am propus să studiem incidența tulpinilor producătoare de BLSE. În paralel am determinat fenotipurile de rezistență la antibiotice a tulpinilor de *Klebsiella pneumoniae* izolate din uroculturi provenite dintr-o clinică de urologie.

Material și metodă: S-au luat în studiu 111 tulpini *Klebsiella pneumoniae* izolate din 1720 uroculturi, dintre care 431 au fost pozitive. Identificarea germenilor s-a realizat cu ajutorul galeriilor API 10S (BioMérieux), iar testarea sensibilității la antibiotice s-a realizat prin metoda difuzimetrică Kirby-Bauer, cu citire și fenotipare automată prin sistemul Osiris Evolution (BioRad), conform standardului CLSI. De asemenea, pentru evidențierea tulpinilor BLSE s-a utilizat și testul de sinergie.

Rezultate: Prin analiza interpretativă a antibiogramelor s-a făcut încadrarea tulpinilor izolate în fenotipuri de rezistență. Fenotipul sălbatic a fost reprezentat de 9,00% din tulpinile izolate. Tulpinile BLSE s-au izolat într-un procent de 66,66%. Fenotipurile de rezistență la betalactamine au fost însoțite de fenotipuri de rezistență la aminoglicozide (69,36%) și fluorochinolone (81,98%).

Concluzii: Studiul profilelor de rezistență la antibiotice a evidențiat un număr mare de tulpini de *Klebsiella pneumoniae* cu rezistență încrucișată la betalactamine, aminoglicozide și fluorochinolone, substanțe antimicrobiene frecvent utilizate în tratamentul infecțiilor urinare. Prezența tulpinilor de *Klebsiella pneumoniae* producătoare de BLSE constituie un semnal de alarmă, aceste betalactamaze cu spectru extins fiind codificate plasmidic, ceea ce explică trecerea cu ușurință peste barierele de specie și chiar de familie.

Rezistența multiplă la antibiotice caracterizează tulpinile cuprinse în prezentul studiu, impunându-se aplicarea unor măsuri eficiente pentru a limita răspândirea tulpinilor multirezistente.

P34. Identification and Susceptibility Testing of *Candida* Strains isolated from Outpatients

Matilda Rădulescu, Monica Licker, Livia Stângă, Delia Berceanu-Văduva, Delia Muntean, Piluț C., Elena Hoge, Dana Velimirovici, Maria Rada, Roxana Moldovan

University of Medicine and Pharmacy „Victor Babes” Timisoara

Objectives: The study aims to evaluate the distribution of *Candida* species isolated from different pathological products and their susceptibility testing of antifungal preparations.

Material and method: The study was conducted during the period January 3rd 2014- December 28th 2014.

A number of 917 pathologic products were collected (pharyngeal swabs, nasal swabs, ear and parotid secretions) from outpatients.

The biological samples were collected from the hospitalized patients were plated on blood agar, and Sabouraud medium with addition of chloramphenicol and gentamicin. Identification of fungi and susceptibility testing was performed on Candifast galleries.

Results: From the total amount of 917 samples collected during the period mentioned above, we isolated 140 strains of *Candida*. The order of species distribution was: *Candida albicans* 107 (68.58%), *Candida glabrata* 12 (7.69%), *Candida tropicalis* 8 (5.12%), *Candida parapsilosis* 6 (3.84%), *Candida famata* 4 (2.56%), *Candida kefyr* 2 (1.28%) and *Candida lusitanae* 1(0.64%). It has been shown that the highest sensitivity of strains of *Candida albicans* to 69.28% ketoconazole, respectively 62.14% of miconazole.

Conclusions: *C. albicans* is the most frequently isolated fungal species among investigated patients. Most strains of *C. albicans* were sensitive to ketoconazole and miconazole.

Identificarea și testarea sensibilității tulpinilor de *Candida* izolate la pacienții din ambulator

Matilda Rădulescu, Monica Licker, Livia Stângă, Delia Berceanu-Văduva, Delia Muntean, Piluț C., Elena Hoge, Dana Velimirovici, Maria Rada, Roxana Moldovan

Universitatea de Medicină și Farmacie „Victor Babeș” Timișoara

Obiective: Studiul are ca obiectiv evaluarea distribuției speciilor de *Candida* izolate din diverse produse patologice și testarea sensibilității lor la preparatele antifungice.

Material și metodă: Studiul a fost efectuat în perioada 3 ianuarie 2014 – 28 decembrie 2014. Au fost recoltate un număr de 917 produse patologice (exudate faringiene, nazale, secreții otice, secreții parotidiene) de la pacienții din ambulator. Probele biologice prelevate de la pacienți au fost însămânțate pe geloză sânge și mediul Sabouraud cu adăugare de cloramfenicol și gentamicină. Identificarea fungilor și testele de sensibilitate s-au efectuat pe galeriile Candifast.

Rezultate: Din totalul de 917 probe recoltate în perioada mai sus menționată, am izolat un număr de 140 de tulpini de *Candida*. Ordinea distribuției speciilor a fost: *Candida albicans* 107 (68,58%), *Candida glabrata* 12 (7,69%), *Candida tropicalis* 8 (5,12%), *Candida parapsilosis* 6 (3,84%), *Candida famata* 4

(2,56%), *Candida kefyr* 2 (1,28%) și *Candida lusitanae* 1(0,64%). Sensibilitatea cea mai mare a tulpinilor de *Candida albicans* a fost la ketoconazol 69,28%, respectiv la miconazol 62,14%.

Concluzii: *C. albicans* reprezintă specia fungică cel mai frecvent izolată în rândul pacienților investigați. Majoritatea tulpinilor de *C. albicans* au fost sensibile la ketoconazol precum și la miconazol.

P35. The incidence of *Staphylococcus aureus* methicillin - resistant isolates from outpatients

Livia Stângă, Monica Licker, Delia Berceanu-Văduva, Delia Muntean, Piliț C., Elena Hoge, Dana Velimirovici, Maria Rada, Matilda Rădulescu, Roxana Moldovan

University of Medicine and Pharmacy „Victor Babes” Timisoara

Objectives: The aim was to study the sensitivity of *Staphylococcus aureus* strains, collected from various pathologic products, to anti infective chemotherapy and the determination of phenotypic resistance of these strains.

Material and method Testing for antibiotic sensitivity was done by Kirby-Bauer diffusion method (disc diffusion method) - the susceptibility of the isolated strains of *S. aureus* has been determined using cefoxitin disc diffusion test and it was confirmed by detection of PBP2a (penicillin - binding protein 2a) through latexagglutination. Using the interpretative analysis the germs classification was done in phenotypes.

Results: The study was conducted during the period January 3rd – December 31th when 1758 bacteriological samples were collected and from the total amount 311 strains of *Staphylococcus aureus* were isolated. There haven't been described vancomycin-resistant strains, but from total amount of 311 strains of *S. aureus* 32 strains (10,29%) were placed in the phenotype of resistance Peni- R & Methyl-R. From these 32 strains of MRSA isolated 65,62% come from pharyngeal exudate (21 strains), 18,75% come from sputum (6 strains) and only 12,5% come from nasal exudate (4 strains). Most strains of *S. aureus* have an increased sensitivity to gentamicin and clindamycin 84.89 % and 74.28 % to ciprofloxacin.

Conclusions: *S. aureus* remains one of the most common bacteria isolated in outpatients. Increasingly percentage of methicillin - resistant strains tends to underscore their transfer from from outpatients into community.

Incidența tulpinilor de *Staphylococcus aureus* meticilino – rezistente izolate din ambulator

Livia Stângă , Matilda Rădulescu, Monica Licker, Delia Berceanu-Văduva, Delia Muntean, Piliț C., Elena Hoge, Dana Velimirovici, Maria Rada, Roxana Moldovan

Universitatea de Medicină și Farmacie „Victor Babeș” Timișoara

Obiective: S-a urmărit studiul sensibilității la chimioterapicele antiinfecțioase ale tulpinilor de *Staphylococcus aureus* izolate din diverse produse patologice, precum și stabilirea fenotipurilor de rezistență în care se încadrează aceste tulpini.

Material și metodă: Testarea sensibilității germenilor la antibiotice s-a realizat prin metoda difuzimetrică Kirby-Bauer. Meticilino – rezistența tulpinilor de *S. aureus* izolate s-a testat difuzimetric

cu discuri de cefoxitină și s-a confirmat prin detectarea PBP2a (penicillin-binding protein 2a) prin latexaglutinare. Prin analiza interpretativă a antibiogramelor s-a făcut încadrarea germenilor în fenotipuri.

Rezultate: În perioada 3 ianuarie - 31 decembrie 2014 s-au recoltat 1758 de probe bacteriologice din care s-au izolat 311 tulpini de *Staphylococcus aureus*. Nu au fost descrise tulpini rezistente la vancomicină, însă din cele 311 tulpini de *S. aureus* 32 de tulpini (10,29%) s-au încadrat în fenotipul de rezistență Peni-R Meti-R. Din cele 32 de tulpini de MRSA izolate, 65,62% provin din exudatele faringiene (21 tulpini), 6 tulpini (18,75%) provin din spută și numai 4 tulpini (12,5%) din exudatele nazale. Majoritatea tulpinilor de *S. aureus* au avut o sensibilitate crescută la gentamicină și clindamicină 84,89%, precum și la ciprofloxacina 74,28%.

Concluzii: *S. aureus* rămâne unul dintre cei mai întâlniți germeni izolați în ambulator. Procentul crescut de tulpini metilino-rezistente pledează pentru depășirea granițelor nosocomiale și pătrunderea în comunitate.

Thursday 21st of May 2015

Plenary lectures MICROBIOLOGY

Chairpersons: Prof. Dr. Olga Dorobăț, Assoc. Prof. Dr. Irina Codiță

C1. The importance of the preanalytical phase in bacteriological diagnosis

Elvira Borcan, Georgeta Voicu, Camelia Stancu, Paula Simion, Ileana Vizitiu, Daniela Lică

Fundeni Clinical Institute, Bucharest

Bacteriological processing of clinical specimens requires a multiple effort involving a number of a decisional steps, including specimen processing for anaerobic bacteriology, mycology, serology etc., depending on the nature of the specimen. Since the automation of laboratory methods and widespread application of quality management policies, the largest error source became preanalytical phase. Getting as quickly correct results, involves the clinician knowledge of the principles by which the test is conducted. However, the laboratories must have and implement protocols regarding the collection and transport bacteriological samples. In the absence of the standardized procedures, including patient preparation, samples handling, storage and transport, preanalytical phase errors exceed, according to some authors 70% of the errors encountered throughout the testing process. The most frequent errors in the preanalytical phase in the laboratory of bacteriology are due to quality or quantity of the examined specimen and also to an improper collection and transport of the samples. The microbiological triage of samples which decides the acceptance or rejection of the specimen after its arrival in the laboratory is mandatory. Thus, may be rejected oropharyngeal secretion instead of sputum, samples submitted in inappropriate containers or in insufficient quantity, contaminated samples, wound secretions collected on swabs, without sample. Processing of any of these samples may lead to false positive or false negative result influencing the therapeutic management. Thus, standardized procedures, automation and quality control as well as daily monitoring by an experienced laboratory staff can serve to promote quality results. However, the occasional human error may occur in the laboratory as in any other field.

Keywords: preanalytical phase, errors, rejected samples, bacteriological diagnosis

Importanța fazei preanalitice în diagnosticul bacteriologic

Elvira Borcan, Georgeta Voicu, Camelia Stancu, Paula Simion, Ileana Vizitiu, Daniela Lică

Institutul Clinic Fundeni, București

Prelucrarea probelor clinice bacteriologice necesită un efort multiplu care implică un număr de pași decizionali, inclusiv prelucrarea specimenului pentru bacteriologie anaerobă, micologie, serologie etc., depinzând de natura specimenului. Odată cu automatizarea metodelor în laborator și a aplicării pe scară largă a unor politici de management a calității, sursa celor mai mari erori a devenit faza preanalitică. Obținerea cât mai rapidă a unor rezultate corecte, implică și din partea clinicianului cunoașterea principiilor după care se desfășoară procesul de testare. Totodată, laboratoarele trebuie să dețină și să implementeze protocoale privind modul de recoltare și transport al probelor pentru examenul bacteriologic. În lipsa unor proceduri standardizate, inclusiv pentru pregătirea pacientului, a manipulării, depozitării și transportului probelor, erorile din faza preanalitică depășesc, după unii autori, 70% din totalul erorilor întâlnite pe parcursul întregului proces de testare. Cele mai frecvent întâlnite erori în faza preanalitică, în cadrul laboratorului de bacteriologie se datorează calității/cantității specimenului analizat precum și nerespectării regulilor generale și particulare de recolare și transport. Triaajul de calitate al probelor, care decide acceptarea/respingerea probei după sosirea acesteia în laborator, este obligatoriu. Astfel, pot fi respinse spute cu aspect de secreții orofaringiene, probe recoltate în recipiente neadecvate sau aflate în cantitate insuficientă pentru examenul solicitat, secreții de plagă recoltate pe tampon lipsite de produs patologic, probe contaminate etc.. Prelucrarea unor astfel de probe poate conduce la rezultate fals positive sau fals negative cu influență decisivă asupra conduitei terapeutice.

Astfel, procedurile standardizate, automatizarea și controlul calității precum și supravegherea zilnică de către un personal de laborator cu experiență pot servi la promovarea unor rezultate de calitate. Totodată, eroarea umană ocazională poate surveni în laborator la fel ca în orice alt domeniu.

Cuvinte cheie: faza preanalitică, erori, probe respinse, diagnostic bacteriologic

C2.The role of mass spectrometry in microbiological diagnosis accuracy and rate

Violeta Corina Cristea

Central Reference Laboratory Synevo, Bucharest

Introduction: In the last decades the infectious pathology has been in a continuous change. This is mainly due to the increased life expectancy of the patients through the use of modern medical technologies, to the new classes of antibiotics, antifungals and immunosuppressives but also due to the improvement of clinical laboratory diagnostic methods that allow accurate identification of different species.

Results and discussion: The mass spectrometry MALDI-TOF technology (Matrix Assisted Laser Desorption /Ionization Time - Of - Flight) is a last generation method capable to identify microorganisms by proteins analysis especially the ribosome.

This technology allows rapid identification in about 120 seconds from pure culture of both common and rare pathogens found in pathology as: HACEK group found in endocarditis pathology, *Turicella otitidis* found in ear pathology or *Oligella ureolytica* present in the urologic pathology.

For blood and urine culture there are kits available for direct identification of the etiologic agent from the pathologic product in just few hours after the collection of the urine samples or after the blood culture bottle positivity.

Conclusions: The automatic techniques which allow accurate and rapid identification of microorganisms involved in pathology are very promising. The emerging microorganisms conditioned pathogenically restrict the classical diagnostic methods. Therefore the laboratories upgrading is the safest way for performance.

Acknowledgement: This work received financial support through the project entitled “CERO – Career profile: Romanian Researcher”, grant number POSDRU/159/1.5/S/135760, cofinanced by the European Social Fund for Sectorial Operational Programme Human Resources Development 2007-2013.

Rolul spectrometriei de masă în acuratețea și rapiditatea diagnosticului microbiologic

Violeta Corina Cristea

Laboratorul Central de Referință Synevo, București

Introducere: Patologia infecțioasă a ultimelor decenii este într-o continuă schimbare. Acest fenomen este determinat în principal de creșterea speranței de viață a pacienților prin folosirea tehnologiilor moderne, a claselor noi de antibiotice, antifungice și imunosupresoare dar și de îmbunătățirea metodelor de diagnostic din laboratorul clinic care permit identificarea cu acuratețe a diferitelor specii.

Rezultate și discuții: Spectrometria de masă prin tehnologia MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time – Of – Flight) este o metodă de ultimă generație care realizează identificarea microorganismelor prin analiza proteinelor - în special cele ribozomale.

Tehnologia permite identificarea rapidă în aproximativ 120 secunde din cultura pură, atât a patogenilor frecvent întâlniți în patologie precum și a celor rari, emergenți: grupul HACEK în patologia endocarditelor, *Turicella otitidis* în patologia otică, *Oligella ureolytica* în patologia urologică.

Pentru hemocultură și urocultură sunt disponibile kit-uri care realizează identificarea agentului etiologic direct din produsul patologic în doar câteva ore de la recoltarea probei de urocultură, respectiv pozitivarea flaconului de hemocultură.

Concluzii: Tehnicile automate permit identificarea cu acuratețe și rapiditate a microorganismelor implicate în patologie. Emergența microorganismelor condiționat patogene limitează posibilitățile de diagnostic ale metodelor clasice. Modernizarea laboratoarelor reprezintă calea cea mai sigură către performanță.

Notă: Această lucrare a beneficiat de suport financiar prin proiectul «CERO-PROFIL DE CARIERĂ: CERCETĂTOR ROMÂN», contract nr. POSDRU/159/1.5/S/135760, proiect cofinanțat din Fondul Social European prin Programul Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane 2007-2013.

R4. Throat swab: what are we looking for and what are we susceptibility test?

Irina Codiță

Cantacuzino National Institute of Research-Development for Microbiology and Immunology, Bucharest, Romania

Throat swab is one of the frequent samples in microbiology laboratories. It is very important for laboratories to correctly answer identification and clinical relevancy challenges. Several papers, guidelines, procedures are available.

ESCMID Guideline for the Management of Acute Sore Throat is recommending to do not test a negative Group A Streptococcus rapid test sample and to avoid antimicrobial therapy in mild and middle severity sore throat cases.

According to Public Health England Standard Procedure for Investigation of throat swabs, the main pathogens to be identified are: group A, C and G streptococci, *Corynebacterium diphtheriae* and *ulcerans* (on request or in epidemiologically specific context), *Haemophilus influenzae* type b in epiglottitis, *Archanobacterium haemolyticum*, *Borrelia vincenti* and *Fusobacterium*, *Neisseria* spp.

Canada Clinical Microbiology Proficiency Testing is considering laboratories capacity to report background microorganisms *Moraxella catarrhalis* and *viridans* streptococcus and pathogen specific *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Neisseria meningitidis*, group A, B, C and G streptococcus, *Streptococcus anginosus* group, *Archanobacterium haemolyticum*. Correct choice of antimicrobials for antimicrobial susceptibility testing is another quality criterion.

Most sources consider throat swab positive for *Staphylococcus aureus* as carriage recommending antimicrobial susceptibility testing only in peritonsillar abscess or if eradication is desirable for surgery prophylaxis or for epidemiological reasons.

Laboratories must contribute to medical care services efforts to meet professional and ethical requirements aiming to preserve the effectiveness of antimicrobials.

Exsudatul faringian: ce urmărim și ce testăm la antibiotice?

Irina Codiță

INCDMI Cantacuzino, București, România

Exsudatul faringian este un prelevat frecvent în laboratoarele de microbiologie. Este foarte important ca acestea să răspundă corect provocărilor privind identificarea și relevanța clinică a microorganismelor. Sunt accesibile o serie de publicații, ghiduri, proceduri.

Ghidul ESCMID pentru managementul faringitei acute recomandă să nu retestăm un exsudat negativ pentru streptococul de grup A prin testul rapid și să evităm terapia cu antibiotice în formele ușoare și medii de faringită.

Potrivit procedurii standard pentru investigarea exsudatului faringian, principalii patogeni de identificat sunt: streptococii de grup A, C și G, *Corynebacterium diphtheriae* și *ulcerans* (la cerere sau în context epidemiologic specific), *Haemophilus influenzae* tip b în epiglottită, *Archanobacterium haemolyticum*, *Borrelia vincenti* și *Fusobacterium*, *Neisseria* spp..

Organismul Canadian pentru control extern de calitate în microbiologie ia în considerare capacitatea laboratoarelor de a raporta microorganisme saprofite, cum sunt *Moraxella catarrhalis* și streptococi viridans și patogeni specifici: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Staphylococcus aureus*, *Neisseria meningitidis*, streptococi de grup A, B, C și G, streptococi grup *Streptococcus anginosus*, *Archanobacterium haemolyticum*. Un alt criteriu de calitate este alegerea corectă a antibioticelor pentru testarea sensibilității fiecărui microorganism.

Cele mai multe surse consideră exsudatul faringian pozitiv pentru *Staphylococcus aureus* ca stare de portaj și recomandă testarea sensibilității la antibiotice doar în caz de flegmon retroamigdalian sau dacă se dorește eradicarea profilactică prechirurgicală sau din considerente epidemiologice a portajului.

Laboratoarele trebuie să contribuie la eforturile unităților de îngrijire medicală de a se alinia cerințelor profesionale și etice care au ca scop preservarea eficienței antibioticelor.

C3. Antimicrobial resistance in most frequent bacteria associated skin and soft tissue infections

O. M. Dorobăț, A. Răfăla, M. Popoiu, C. Tenea, A. Mihai, D. Talapan

National Institute for Infectious Diseases "Prof. Dr. Matei Balș"

Objectives: To evaluate the resistance of most frequent bacterial species isolated from skin and soft tissue infections in National Institute for Infectious Diseases Prof. Dr. Matei Balș in 2012-2014.

Methods: 1548 strains (654 *Staphylococcus aureus*, 252 *Pseudomonas aeruginosa*, 126 *Escherichia coli*, 111 *Klebsiella pneumoniae*, 106 *Enterococcus faecalis*, 90 *Acinetobacter baumannii*, 72 coagulase-negative staphylococci, 61 *Streptococcus pyogenes*) were tested in Vitek2C and MicroScan Dade systems and Etest, according to EUCAST.

Results: For *Staphylococcus aureus* methicillin resistance (MRSA) was observed between 43.9-53.4% while the resistance rate to other agents were to erythromycin 54.1%-57.5%, clindamycin 42.3%-59.8% fluoroquinolones 12.2%-25.9%, trimethoprim-sulfamethoxazol 0.5%-1.5%, no resistance against linezolid and vancomycin. Resistance rate for *Pseudomonas aeruginosa* was higher than 34.5% for all the antibacterial agents, except colistin (0-3.8% resistance). Extended spectrum beta-lactamase producing *E.coli* and *K.pneumoniae* occurred in 22.6%-31.6% and 33.3%-54.8% of isolates, respectively *K.pneumoniae* strains were more resistant than *E.coli* to all the antimicrobial agents: amoxicillin-clavulanic acid 63.9%-70.0% compared to 43%, ciprofloxacin 54.9%-63.9% versus 36.8-50.9% and trimethoprim-sulfamethoxazol 50.9% versus 31.0%. *K. pneumoniae* showed resistance to carbapenems variable annual (0-22.7%). To vancomycin 0-2.6% of *Enterococcus faecalis* were resistant. Resistance of *Acinetobacter baumannii* was higher than 48.0% for all antimicrobials tested except colistin and tobramycin. 50.0%-81.2% of coagulase-negative staphylococci were oxacillin resistant.

Conclusions: Rate of oxacillin resistance was 43.9%-53.4% for *S.aureus* and higher for coagulase-negative staphylococci. ESBL producing *E.coli* and *K.pneumoniae* were 22.6%-31.6% and 33.3%-54.8%. There are annually variable *K.pneumoniae* strains resistant to carbapenems. High level of resistance was observed for majority of antimicrobials in *P.aeruginosa* and *A.baumannii*.

Antibiorezistența speciilor bacteriene frecvent izolate din infecțiile pielii și țesuturilor moi

O.M. Dorobăț, A. Răfăla, M. Popoiu, C. Tenea, A. Mihai, D. Talapan

Institutul Național de Boli Infecțioase „Prof. Dr. Matei Balș”

Obiectiv: Evaluarea rezistenței la antibiotice a speciilor bacteriene frecvente în infecțiile pielii și țesuturilor moi în INBI Prof. Dr. Matei Balș în 2012-2014.

Metode: 1548 tulpini (654 *Staphylococcus aureus*, 252 *Pseudomonas aeruginosa*, 126 *Escherichia coli*, 111 *Klebsiella pneumoniae*, 106 *Enterococcus faecalis*, 90 *Acinetobacter baumannii*, 72 stafilococi coagulazo-negativi, 61 *Streptococcus pyogenes*) au fost testate cu sistemele Vitek2C și MicroScan Dade și cu Etest, conform EUCAST.

Rezultate: *Staphylococcus aureus* rezistent la oxacilină s-a observat la 43,9-53,4% iar rezistența la alte preparate au fost pentru eritromicină 54,1%-57,5%, clindamicină 42,3%-59,8% fluoroquinolone

12,2%-25,9%, trimethoprim-sulfamethoxazol 0,5%-1,5%; la linezolid și vancomicină nu au fost rezistențe. Pentru *Pseudomonas aeruginosa* rezistența a fost mai mare de 34,5% pentru toate antibioticele testate, exceptând colimicina (0-3,8% rezistență). Tulpini de *E.coli* și *K.pneumoniae* producătoare de beta-lactamaze cu spectru larg (ESBL) au fost 22,6%-31,6% și respectiv 33,3%-54,8%. Rezistența *K.pneumoniae* a fost mai mare decât la *E.coli* pentru toate preparatele: amoxicilină-acid clavulanic 63,9%-70,0% comparativ cu 43%, ciprofloxacină 54,9%-63,9% versus 36,8-50,9%, trimethoprim-sulfamethoxazol 50,9% versus 31,0%. La carbapeneme rezistența *K.pneumoniae* a fost variabilă (0-22,7%). *Enterococcus faecalis* a prezentat rezistență la vancomicină de 0-2,6%. La toate antibioticele rezistența *Acinetobacter baumannii* a fost mai mare de 48,0%, exceptând colimicina și tobramicina. 50,0%-81,2% dintre stafilococii coagulazo-negativi au fost oxacilin-rezistenți.

Concluzii: Oxacilin-rezistența a fost de 43,9%-53,4% pentru *S.aureus* și mai mare pentru stafilococii coagulazo-negativi. Dintre tulpinile de *E.coli* și *K.pneumoniae* producătoare de ESBL au fost 33,3%-54,8%. Rezistența la carbapeneme a *K.pneumoniae* a variat în cei trei ani. Rezistența *P.aeruginosa* și *A.baumannii* a fost mare la majoritatea antibioticelor.

C4. Analysis of carbapenemase producing Enterobacteriaceae strains isolated during a one year period

Sameen Janjua¹, Izabella Szász², Doina Bilca², Edit Székely^{1,2}

1. UMF Tg. Mureș; 2. Mureș County Clinical Emergency Hospital

The recent emergence and spread of carbapenemase producing Enterobacteriaceae (CPE) strains is of great concern due to their ability to hydrolyse multiple antibiotics, including the last resort carbapenems. This multidrug resistance greatly limits antibiotic treatment options and therefore poses a great therapeutic challenge.

We analysed the production of carbapenemases and the presence of their genes in CPE strains.

A total of 122 successive, non-duplicate Enterobacteriaceae strains resistant to carbapenems isolated between 1st November 2013 and 31st October 2013 were included in our study. These were recovered from various clinical samples, including screening specimens. Carbapenemase production was tested by the modified Hodge test. Triplex PCR assay was used to assess the presence of bla_{KPC}, bla_{NDM-1} and bla_{OXA48} genes.

Among the 122 strains there were 100 *Klebsiella pneumoniae*, 9 *Serratia marcescens*, 9 *Enterobacter cloacae*, one *Escherichia coli*, *Serratia liquefaciens*, *Proteus mirabilis* and *Providencia stuartii* strain. The Hodge test was positive in 117 strains. The presence of carbapenemase genes in 112 strains: 24 strains carried bla_{NDM-1} (9 *Enterobacter cloacae*, 5 *Klebsiella pneumoniae*, 8 *Serratia marcescens*, 1 *Proteus mirabilis* and 1 *Serratia liquefaciens*), 88 *Klebsiella pneumoniae* strains were positive for bla_{OXA48} and 2 of these co-harboured bla_{NDM-1}. None of the CPEs had bla_{KPC}. In 5 strains with positive Hodge test none of the tested carbapenemase genes were detected.

OXA48-like enzymes were the most frequent carbapenemases and were detected only from *Klebsiella pneumoniae* strains. Genes encoding for NDM-1 carbapenemase were recovered from various species showing their wide dissemination among Enterobacteriaceae.

Analiza tulpinilor de Enterobacteriaceae producătoare de carbapenemaze izolate în cursul unui an

Sameen Janjua¹, Izabella Szász², Doina Bilca², Edit Székely^{1,2}

1. UMF Tg. Mureș; 2. Spitalul Clinic Județean de Urgență Tg. Mureș

Emergența și diseminarea tulpinilor de enterobacterii producătoare de carbapenemaze (CPE) este îngrijorătoare datorită capacității acestora de a hidroliza antibioticele beta-lactamice cu spectru larg, inclusiv a carbapenemelor. Multirezistența acestor tulpini limitează posibilitățile terapeutice.

Am analizat producerea de carbapenemaze și prezența genelor ce le codifică la tulpini CPE.

S-au inclus în studiu 122 de tulpini non-duplicat izolate succesiv în perioada 1 noiembrie 2012 – 31 octombrie 2013. Acestea s-au izolat din diverse probe clinice, inclusiv cele recoltate cu scop de screening. Producerea carbapenemazelor s-a testat prin metoda Hodge modificată. Pentru depistarea genelor bla_{KPC}, bla_{NDM-1} and bla_{OXA48} s-a folosit o metodă PCR triplex.

Dintre cele 122 de tulpini 100 erau *Klebsiella pneumoniae*, 9 *Serratia marcescens*, 9 *Enterobacter cloacae* și câte una de *Escherichia coli*, *Serratia liquefaciens*, *Proteus mirabilis* *Providencia stuartii*. Testul Hodge a fost pozitiv la 117 tulpini. La 112 tulpini s-a depistat prezența genelor de carbapenemază. La 24 de tulpini s-a evidențiat gena bla_{NDM-1} (9 *Enterobacter cloacae*, 5 *Klebsiella pneumoniae*, 8 *Serratia marcescens*, 1 *Proteus mirabilis*, 1 *Serratia liquefaciens*). La 88 de tulpini de *Klebsiella pneumoniae* s-a detectat gena bla_{OXA48}, iar 2 două dintre acestea erau pozitive concomitent pentru bla_{NDM-1}. Gena bla_{KPC} nu s-a regăsit la nici una dintre enterobacteriile testate. În cazul a 5 tulpini cu test Hodge pozitiv testele moleculare au fost negative.

Carbapenemazele de tip OXA48-like au fost cele mai frecvente și s-au detectat doar la tulpini de *Klebsiella pneumoniae*. Genele carbapenemazei NDM-1 s-au regăsit la diverse specii, ceea ce evidențiază larga lor diseminare între enterobacterii.

C5. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae isolated in 2014 in a clinical hospital from Bucharest

Daniela Talapan^{1,2}, Olga Mihaela Dorobăț¹, Adrian Streinu-Cercel^{1,2}, Alexandru Rafila^{1,2}

1. National Institute for Infectious Diseases „Prof. Dr. Matei Balș”, Bucharest; 2. University of Medicine and Pharmacy „Carol Davila”, Bucharest

Purpose: To evaluate the carbapenem-resistant Enterobacteriaceae through carbapenemase production in strains isolated from patients admitted in the National Institute for Infectious Diseases “Prof. Dr. Matei Balș”, Bucharest.

Method: The bacteria were identified and tested for susceptibility to antibiotics by MicroScan (Siemens Healthcare Diagnostics). There were included in the study all non-repeat strains resistant to one or more carbapenems according to EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms (version 1.0, December 2013). The modified Hodge test (MHT) was performed as phenotypic confirmatory test for carbapenemase production according to CLSI guidelines 2014 and the combination disk test (KPC, MBL, OXA-48 Confirm kit, Rosco Diagnostica) according to EUCAST guidelines.

Results: Between 1st January and 31st December 2014, 88 out of 1,299 (6.77%) microorganisms isolated from various clinical specimens were resistant to carbapenems as follows: 70 out of 309 *Klebsiella pneumoniae*, 6/914 *E. coli*, 9/46 *Enterobacter* spp., 2/52 *Serratia marcescens* and 1/18 *Citrobacter freundii*. Among all 88 selected strains, 48 (54.54%) were resistant to carbapenems by production of carbapenemase: 33 OXA-48 type, 5 KPC, 3 MBL and 7 strains produced double carbapenemase (3 KPC+OXA, 2 MBL+OXA, 2 KPC+MBL). MHT was positive in 93.75% (45/48) of carbapenemase-producing strains; these microorganisms were highly resistant to most antibiotics except colistin (50%), fosfomicine (47.92%) and tigecycline (29.17%).

Conclusion: Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae isolated in one year were 6.77%. The most frequent carbapenemase was OXA-48 type.

Acknowledgements: This paper is supported by SOP HRD, financed from the European Social Fund and by the Romanian Government under the contract number POSDRU/159/1.5/S/137390.

Enterobacteriaceae producătoare de carbapenemaze izolate în 2014 într-un spital clinic din București

Daniela Talapan^{1,2}, Olga Mihaela Dorobăț¹, Adrian Streinu-Cercel^{1,2}, Alexandru Răfila^{1,2}

1. Institutul Național de Boli Infecțioase „Prof. Dr. Matei Balș”, Bucharest; 2. Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila”, București

Obiectiv: Evaluarea enterobacteriilor rezistente la carbapeneme prin producerea de carbapenemază la tulpinile izolate de la pacienții internați în Institutul Național de Boli Infecțioase „Prof. Dr. Matei Balș”, București.

Metodă: Bacteriile au fost identificate și testate pentru determinarea sensibilității la antibiotice utilizând aparatul MicroScan (Siemens Healthcare Diagnostics). În studiu au fost incluse toate microorganismele non-duplicate rezistente la unul sau mai multe carbapeneme conform ghidului EUCAST pentru determinarea mecanismelor de rezistență (versiunea 1.0 din decembrie 2013). Pentru confirmarea producerii de carbapenemază a fost efectuat testul Hodge modificat (MHT) conform ghidului CLSI 2014, iar combinația de discuri (KPC, MBL, OXA-48 Confirm kit, Rosco Diagnostica) conform ghidului EUCAST.

Rezultate: Între 1 ianuarie - 31 decembrie 2014, din diverse prelevate clinice au fost izolate 6,77% (88/1299) tulpini de Enterobacteriaceae rezistente la carbapeneme: 70/309 *Klebsiella pneumoniae*, 6/914 *E. coli*, 9/46 *Enterobacter* spp., 2/52 *Serratia marcescens* și 1/18 *Citrobacter freundii*. Dintre cele 88 tulpini selectate, 48 (54,54%) au fost rezistente la carbapeneme prin producere de carbapenemază: 33 tip OXA-48, 5 KPC, 3 MBL și 7 tulpini dublu producătoare de carbapenemază (3 KPC+OXA, 2 MBL+OXA, 2 KPC+MBL). MHT a fost pozitiv pentru 93,75% (45/48) dintre tulpinile producătoare de carbapenemază; aceste microorganisme au prezentat rezistență înaltă la majoritatea antibioticelor cu excepția colistinului (50%), fosfomicinei (47,92%) și tigeciclinei (29,17%).

Concluzii: Dintre enterobacteriile izolate într-un an, 6,77% au fost rezistente la carbapeneme. Cel mai frecvent tip de carbapenemază a fost OXA-48.

Mențiune: Această lucrare este efectuată în cadrul POSDRU, finanțat din Fondul Social European și Guvernul României prin contractul nr. POSDRU/159/1.5/S/137390.

C6. Community strains vs. hospital strains; a comparative study of the resistance of Gram negative bacilli isolated from urine cultures in 2014

Mariana Buzea^{1,2}, Isabela Iftimi², Marilena Filipov¹, Rodica Rotaru¹

1. SUU Elias; 2. Medcenter Bucharest

Purpose: to evaluate the resistance of Gram negative bacilli isolated from positive urine cultures in 2014 in a comparative study between hospital (SUU Elias) and community laboratory (Medcenter Bucharest).

Methods: A total of 1678 positive urine cultures in SUU Elias and 1744 in Medcenter have been investigated. The isolated strains were identified/tested for antimicrobial susceptibility by automatic systems (Vitek2/Phoenix), E-test and disk-diffusion.

Results: Similar percents of Gram negative bacilli were isolated both in hospital and community: E.coli (72.8% vs. 81.7%), K.pneumoniae (20.08% vs. 10.6%), P.mirabilis (3.3% vs. 4.9%); others (3.9% vs. 3.4%). There is a significantly high resistance of hospital strains, with a prevalence of 17.9% ESBL-E.coli and 41% ESBL-K.pneumoniae. On the other hand, the community strains were more sensitive: 4.5% ESBL-E.coli and 3.8% ESBL-Klebsiella pneumoniae. The carbapenemases were detected in 4.7% Klebsiella pneumoniae hospital-strains and 0.2% community-strains. For cotrimoxazol the resistance was relatively similar, but for aminoglycosides and fluorquinolones showed an important difference for both E.coli (11.2% vs. 4.8% gentamicin resistance and 27.9% vs. 13.7% norfloxacin resistance) and Klebsiella pneumonia (45.9% vs. 9.8% gentamicin resistance and 60.5% vs. 11.8% norfloxacin resistance).

Conclusions: As we have expected, we noticed a higher prevalence of MDR Gram negative bacilli among hospital-strains as compared to those isolated in community. But, at the same time, the emergence of carbapenems resistant strains in community isolates is a huge concern and the correct detection must be well known and understood. A full characterisation of all isolated strains is very important, both in hospital and in ambulatory laboratory, in order to avoid clinical failure because of inadequate antibiotherapy.

Tulpini comunitare vs. tulpini de spital: studiu comparativ al rezistenței bacililor Gram negativi izolați din uroculturi în 2014

Mariana Buzea^{1,2}, Isabela Iftimi², Marilena Filipov¹, Rodica Rotaru¹

1. SUU Elias; 2. Medcenter București

Scop: evaluarea rezistenței bacililor Gram negativi izolați din uroculturi în 2014, într-un studiu comparativ între mediul de spital (SUU Elias) și un laborator ambulator (Medcenter București).

Metoda: Au fost investigate 1678 uroculturi în spital și 1744 în ambulator; tulpinile izolate au fost identificate/testate în sistem automat (Vitek2/Phoenix), prin E-test și metoda difuzimetrică.

Rezultate: Au fost izolate procente similare de bacili Gram negativi: E.coli (72,8% vs. 81,7%), K.pneumoniae (20,08% vs. 10,6%), P.mirabilis (3,3% vs. 4,9%); alte tulpini (3,9% vs. 3,4%). S-a remarcat rezistență înaltă a tulpinilor din spital, cu o prevalență de 17,9% E.coli-ESBL și 41% K.pneumoniae-ESBL. Tulpinile comunitare au fost mult mai sensibile: 4,5% E.coli-ESBL și 3,8% K.pneumoniae-ESBL. Producerea de carbapenemaze evidențiată la 4,7% tulpini K.pneumoniae izolate în spital și 0,2%

în ambulator. Pentru cotrimoxazol, nivelul de rezistență a fost comparabil; pentru aminoglicozide și fluorquinolone a existat însă o diferență semnificativă, atât pentru *E.coli*: gentamicină-11,2% spital vs. 4,8% ambulator și norfloxacină-27,9% spital vs. 13,7% ambulator, cât și pentru *K.pneumoniae*: gentamicină-45,9% spital vs. 9,8% ambulator și norfloxacină-60,5% spital vs. 11,8% ambulator.

Concluzii: De remarcat incidența crescută a izolării bacililor Gram negativi cu rezistență multiplă la antibiotice în mediul de spital comparativ cu cel comunitar. În același timp, emergența tulpinilor rezistente la carbapeneme în comunitate, deși în procente mici, este îngrijorătoare și reclamă necesitatea caracterizării complete și corecte a acestora. Acesta este un deziderat care trebuie respectat de altfel atât în mediul de spital, cât și în ambulator, pentru că antibiograma corectă constituie premisa unui succes terapeutic.

C7. Distribution and Antifungal Susceptibility Testing Trends of *Candida* isolates – Report of a Six Year University Hospital Survey

Floredana-Laura Șular^{1,2}, Edit Szekely^{1,2}, Doina Bilcă², Alina Mărginean^{1,3}, Minodora Dobreanu^{1,2}

1. University of Medicine and Pharmacy, Tg.Mureș; 2. Clinical County Emergency Hospital of Tg.Mureș; 3. "Dr. Constantin Papilian" Emergency Military Hospital, Cluj-Napoca

Studies performed over the last years have documented a gradual shift from *Candida albicans* as main cause of the majority of invasive fungal infections towards non-*Candida albicans* species.

In order to evaluate the changing trends in species' distribution and the antifungal susceptibility patterns of invasive *Candida* spp. isolates we have evaluated all the *Candida* spp. strains isolated in the

Bacteriology Department of the Central Laboratory of the Emergency Clinical County Hospital of Tg.Mureș between January 2009 and December 2014. Final identification of the non-*C.albicans* isolates was performed by using the Vitek –Biomérieux system and for *C.albicans/dubliniensis*, besides chromogenic media, other traditional microbiological methods such as the germ tube test in serum was used. Susceptibility testing was conducted for 9 antifungals by using the Sensititre Yeast One[®] microtiter plates according to the manufacturer's instructions which followed the CLSI (Clinical Laboratory Standard Institute) and EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) guidelines. One hundred and seventy five isolates were identified and tested for antifungal sensitivity. Only initial isolates from each patient were studied. The fungal isolates distribution for the 6 years of surveillance was the following: *C.parapsilosis*, 64 (36.57%); *C.albicans*, 48 (27.42%); *C.lusitaniae*, 24 (13.71%); *C.glabrata*, 17 (9.71%); *C.krusei*, 8 (4.57%); *C.tropicalis*, 4 (2.28%); other *Candida* isolates, 10 (5.71%). Fluconazole resistance was identified in 2.08% of the *C.albicans* isolates; 17.64% of *C.glabrata*; 4.68% of *C.parapsilosis* and in none of the *C.tropicalis* and *C.lusitaniae* strains, according to EUCAST criteria. The general tendency of the species' distribution during the surveyed period shifted towards an increased incidence of *C.parapsilosis* and *C.lusitaniae* isolates and a decrease in *C.albicans*' incidence. Echinocandin resistance in the surveyed isolates of *Candida* spp. was inexistent when using CLSI interpretative criteria, but it reached an incidence of 12.57% according to EUCAST guidelines.

The current study reveals the shifting trend in distribution and susceptibility of the invasive *Candida* spp. isolates during the last 6 years in our hospital.

Tendințe în distribuția și sensibilitatea la antifungice a izolatelor de *Candida* spp. – Raport al unui studiu de șase ani realizat într-un spital universitar

Floredana-Laura Șular^{1,2}, Edit Szekely^{1,2}, Doina Bilcă², Alina Mărginean^{1,3}, Minodora Dobreanu^{1,2}

1. Universitatea de Medicină și Farmacie, Tg.Mureș; 2. Spitalul Clinic Județean de Urgență Tg.Mureș; 3. Spitalul Militar de Urgență „Dr. Constantin Papilian” Cluj-Napoca

Studii realizate în ultimii ani au descris o trecere treptată de la speciile de *Candida albicans*, ca principali factori etiologici ai majorității infecțiilor fungice invazive, spre specii de *Candida non-albicans*.

Pentru a monitoriza schimbarea tendințelor în distribuția speciilor și a modelelor de sensibilitate la antifungice a izolatelor de *Candida* spp. implicate în infecțiile fungice invazive, am evaluat toate tulpinile izolate în Departamentul de Bacteriologie al Laboratorului Central al Spitalului Clinic Județean de Urgență Tg.Mureș în perioada 2009-2014. Identificarea finală la nivel de specie s-a făcut utilizând sistemul Vitek, sau metode microbiologice tradiționale (testul de blastază cu ser pentru *C.albicans/dubliniensis*). Testarea sensibilității s-a realizat în conformitate cu recomandările CLSI (Clinical Laboratory Standard Institute) și EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing), pentru 9 agenți antifungici, potrivit recomandărilor producătorului, utilizând plăcile de microdiluție Sensititre Yeast One[®]. Au fost identificate și testate în vederea determinării sensibilității la antifungice 175 de izolate, fiind incluse în calcul doar izolatele inițiale ale fiecărui pacient. Distribuția speciilor pentru perioada evaluată de 6 ani a fost următoarea: *C.parapsilosis*, 64 (36,57%); *C.albicans*, 48 (27,42%); *C.lusitaniae*, 24 (13,71%); *C.glabrata*, 17 (9,71%); *C.krusei*, 8 (4,57%); *C.tropicalis*, 4 (2,28%); alte specii de *Candida*, 10 (5,71%). Tendința generală a distribuției speciilor în decursul perioadei urmărite a virat în ultimii ani spre o creștere a incidenței izolatelor de *C.parapsilosis* și *C.lusitaniae*, și spre o scădere a incidenței *C.albicans*. Rezistența la fluconazol a fost identificată în cazul a 2,08% dintre izolatele de *C.albicans*, 17,64% de *C.glabrata*, 4,68% de *C.parapsilosis* și nu a fost prezentă în cazul niciuneia dintre tulpinile de *C.tropicalis* și *C.lusitaniae*, potrivit criteriilor EUCAST. Rezistența la echinocandine nu a fost prezentă în rândul izolatelor testate, potrivit criteriilor CLSI, dar a atins o rată de 12,57% potrivit EUCAST.

Studiul de față scoate în evidență tendința de schimbare a distribuției și sensibilității izolatelor invazive de *Candida* spp. în spitalul nostru, în decursul celor 6 ani urmăriți.

C8. Distribution of spa types among invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains during a four year period

Maria Czajka¹, Izabella Szász², Doina Bilcă², Edit Székely^{1,2}

1. UMF Tg. Mureș; 2. Mureș County Clinical Emergency Hospital

Before 2011, almost 90% of all methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates involved in bloodstream infections in our hospital belonged to the same spa type t030, a common hospital-associated MRSA (HA-MRSA) reported from several Romanian hospitals. We analysed strains recovered from 2011 to 2014 in order to reveal eventual changes in the epidemiology of MRSA.

Successive non-duplicate MRSA strains isolated from blood cultures were included in our study. A triplex PCR assay for *nuc*, *mecA*, and *lukS/F-PV* genes was performed to confirm identification of

S. aureus species, methicillin-resistance and to search for Panton-Valentine encoding genes. For each strain spa typing was carried out.

A total of 108 MRSA strains were identified (14 in 2011, 38 in 2012, 26 in 2013 and 30 in 2014). Of these, only one strain carried *lukS/F-PV* gene. The most common spa type was t030 (n=67.62%). Although their number did not decrease over the years, the rate of t030 spa types has yearly dropped from 92% in 2011 to 36% in 2014 due to the increasing frequency of others. The emerging spa types included 31 of t127, 2 of t174 and one of each of the following: t321, t002, t044, t2933. All these are known as typical community-associated MRSA (CA-MRSA).

Although spa type t030 remained important in invasive infections, there is an increase of the number of CA-MRSA strains and diversification of involved spa types.

Distribuția tipurilor spa ale tulpinilor de *Staphylococcus aureus* metilino-rezistente invazive pe perioadă de 4 ani

Maria Czajka¹, Izabella Szász², Doina Bilcă², Edit Székely^{1,2}

1. UMF Tg.Mureș; 2. Spitalul Clinic Județean de Urgență Tg.Mureș

Înainte de anul 2011, aproape 90% a tulpinilor de *Staphylococcus aureus* metilino-rezistente (MRSA) implicate în infecții invazive, în spitalul nostru, aparțineau aceluiași tip spa t030, un MRSA asociat infecțiilor de spital (HA-MRSA), prezent și în alte spitale din România.

Am analizat izolate colectate în perioada 2011-2014 în vederea urmăririi eventualelor modificări în epidemiologia MRSA.

Am inclus în acest studiu tulpini MRSA succesive, non-duplicate izolate din hemoculturi. S-a efectuat o metodă triplex PCR pentru genele *nuc*, *mecA*, și *lukS/F-PV* în vederea confirmării identificării speciei, a metilino-rezistenței și a prezenței genei leucocidinei Panton-Valentine. Pentru fiecare tulpină s-a efectuat tipizare spa.

În total s-au identificat 108 tulpini MRSA (14 în 2011, 38 în 2012, 26 în 2013 și 30 în 2014). Doar o singură tulpină a fost pozitivă pentru gena *lukS/F-PV*. Cel mai frecvent tip spa a fost t030 (n=68,63%). Deși numărul acestora nu a scăzut de-a lungul anilor, procentul lor s-a redus treptat de la an la an, de la 92% în 2011 la 36% în 2014 datorită creșterii frecvenței izolării altor tipuri. Tipurile emergente au inclus 32 tulpini de tip t127, 2 de tip t174 și câte una din tipurile t321, t002, t044, t114, t2933. Toate acestea sunt cunoscute ca și tipuri spa comunitare (CA-MRSA).

Deși tipul spa t030 și-a păstrat importanța în infecții invazive, se remarcă creșterea numărului tulpinilor CA-MRSA și diversificarea tipurilor spa.

W3. The prevention of MRSA - The role of screening and a short comparison of methods

Wofgang R. Heizmann

Screening of MRSA positive patients in hospitals may reduce transmission rates during hospitalization and leads to a reduction of MRSA-blood stream infections and also surgical wound infections. However, screening always has to be seen in relation to further actions e.g. hand hygiene. In general there are two groups of detection methods: genotyping (PCR) versus culture based tests. Turn around time (TAT)

for PCR methods may be short depending on equipment. But mayor pitfalls are poor sensitivity and specificity. Also new mutants may lead to false negative results. Normally culture based tests need a long TAT, therefore there may be the chance of transmission during that time. A new automated culture based method has the advantage of a short TAT for up to 120 specimens at significant lower costs than PCR. The goal of the lecture is to help decision making in a hospital or lab, which test will fit best for a given setting.

Plenary lectures QUALITY MANAGEMENT

Chairpersons: Prof. Dr. Graham Beastall, Prof. Dr. Minodora Dobreanu

R5. What is Quality and Why Does It Matter?

Graham H. Beastall

International Federation of Clinical Chemistry & Laboratory Medicine, Glasgow, UK

All providers of laboratory medicine services aim to provide a “high quality” service but our understanding of what this means is variable. The IFCC has developed a “quality ladder” to illustrate the stages of quality improvement. The aim of all laboratory specialists should be continuous quality improvement, effectively climbing the rungs of the quality ladder. The top of the ladder is reached through laboratory accreditation against the international standard ISO 15189:2012.

Continuous quality improvement requires an active programme of quality management. This involve a continuous series of internal audits against locally established quality standards supplemented by benchmarking against external standards of performance. Documentation and document control are essential internal elements of quality management. External standards include: staff training and qualifications; performance in external quality assurance programmes; user satisfaction surveys; and ultimately, full accreditation by external assessors against ISO 15189:2012. Everyone working in a clinical laboratory should contribute to continuous quality improvement.

The results from laboratory medicine investigations inform a high percentage of all clinical decisions. Therefore, provision of a high quality service is of critical importance to patients, both in terms of patient safety and improving quality outcomes. In an increasingly litigious world avoidable quality failures in the provision of laboratory medicine services are unacceptable to patients and the public. Laboratory directors are being asked to provide evidence of their quality standards of performance. Contracts for service provision, clinical trials and research programmes are becoming conditional on provision of that evidence.

Managing Quality Challenges: An Interactive Session

Graham H. Beastall

International Federation of Clinical Chemistry & Laboratory Medicine, Glasgow, UK

Every laboratory faces quality challenges on a daily basis. Common quality challenges can be anticipated and addressed through the preparation of standards of procedure (SOP) that are available to all staff. Not every laboratory will have identical SOPs and sometimes there are not “right and wrong”

answers. Participants will be invited to share their views on a range of quality challenges, such as:

- Incomplete request form
- Handling a “high risk” specimen
- Incorrect investigations requested for clinical details
- Result from an assay that failed quality control
- Modifying instrument manufacturers’ instructions to get “more assays per kit”
- Critical result reporting
- Requirement for a follow-up investigation.

C9. Preanalytical errors in Clinic Laboratory Management

Remona Eliza David¹, Delianu Carmen², Minodora Dobreanu³

1. *Departament of Medical Biochemistry, University of Medicine and Pharmacy Tîrgu Mureş;* 2. *“Sfântul Spiridon” Hospital Iaşi;* 3. *Departament of Laboratory, Medicine University of Medicine and Pharmacy Tîrgu Mureş*

Objective: Quantifying and monitoring the nonconformities from the preanalytical process through some quality indicators (Six Sigma) and comparison of the indicators between laboratories in different periods of time.

Materials and method: I have performed a research for Six Sigma evaluation in the following medical laboratories: The Mureş County Clinical Hospital (A), “Sfântul Spiridon” Hospital from Iaşi (B) and Sante Clinic from Tîrgu Mureş (C), on different periods of time. The study group consists of the received analytical applications. To collect the preanalytical errors I have made up “A Risk Budget” using the entries from “The Evidence Notebook – nonconform samples” from the biochemistry, hematology and coagulation departments. After blood sampling for the coagulation and hematology tests, there was taken into account the hemolytic (any presence of the hemolysis), lipemic, coagulated samples and also the misidentified samples or the ones incorrectly sampled. For the biochemical tests, to the above mentioned quality indicators there was added the interval between collecting and analyzing, when this exceeded 2 hours.

Results: In order to assess the control level over the processes, the results were transformed using the Westgard calculation method, thus obtaining the frequency with which an error may occur. (<https://www.westgard.com/six-sigma-calculators.htm>) Based on the data, Six Sigma was calculated for each nonconformity, in each laboratory. In the case of the A Laboratory, for the period 1st November 2014 – 31st December 2014, Six Sigma was 4 (hematology), Six Sigma 3.4 (biochemistry), Six Sigma 3.9 (coagulation). For the C Laboratory, for the period 1st January 2015 – 31st March 2015 the rate was: Six Sigma (hematology) 4.1, Six Sigma (biochemistry) 3.7, Six Sigma (coagulation) 3.9. For the B Laboratory, the evaluation was performed in two periods of time only for the coagulation department: Six Sigma₁ (hemolytic) 4.1, Six Sigma₂ (hemolytic) 3.7, Six Sigma₁ (coagulation) 3.3, Six Sigma₂ (coagulation) 3.8.

Conclusion: The laboratory must adopt control and monitoring measures so that Six Sigma would reach the ideal rate of six.

Erorile preanalitice și Managementul laboratorului clinic

Remona Eliza David¹, Delianu Carmen², Minodora Dobreanu³

1. Departamentul Biochimie Medicală, Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș; 2. Spitalul „Sfântul Spiridon” Iași; 3. Departamentul Laborator Clinic,

Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș

Scop: Cuantificarea și monitorizarea neconformităților din procesul preanalitic prin intermediul unor indicatori de calitate (Six Sigma) și compararea indicatorilor între laboratoare la diferite perioade de timp.

Material și metodă: Am efectuat un studiu pentru evaluarea Six Sigma în laboratoarele medicale: Spitalul Clinic Județean de Urgență Tîrgu Mureș (A), Spitalul “Sfântul Spiridon” Iași (B) și Clinica Sante Tîrgu Mureș (C), la diferite perioade de timp. Lotul de studiu constă din cererile de analiză primite. Pentru a colecta erorile preanalitice am conceput „Buget de risc” folosind înregistrările din „Caietul evidență – probe neconforme” din departamentele de biochimie, hematologie și coagulare. După recoltarea sângelui pentru testele de coagulare și hematologie, s-au urmărit specișenele hemolizate (orice grad de hemoliză prezent), lipemice, coagulate, specișenele cu identitate incorectă sau recoltate incorect; pentru testele biochimice, indicatorilor de calitate precizați anterior s-a adăugat și timpul scurs de la recoltare la analizare, dacă a depășit 2 ore.

Rezultate: Pentru a estima gradul de control asupra proceselor, rezultatele au fost transformate pe scala Six Sigma, folosind calculatorul Westgard și obținându-se astfel frecvența cu care este posibil să apară o eroare. (<https://westgard.com/six-sigma-calculators.htm>) Pe baza datelor s-a calculat pentru fiecare neconformitate, în fiecare laborator, Six Sigma. În cadrul laboratorului A, pentru perioada 01.11.2014–31.12.2014 s-au obținut Six Sigma (hematologie) 4, Six Sigma (biochimie) 3,4; Six Sigma (coagulare) 3,9. Pentru laboratorul C, în perioada 1.01.2015-31.03.2015, valorile au fost: Six Sigma (hematologie) 4,1; Six Sigma (biochimie) 3,7; Six Sigma (coagulare) 3,9. Pentru laboratorul B, evaluarea s-a efectuat în două momente de timp doar pentru departamentul de coagulare: Six Sigma₁ (hemoliză) 4,1; Six Sigma₂ (hemoliză) 3,7; Six Sigma₁ (coagulare) 3,3; Six Sigma₂ (coagulare) 3,8.

Concluzii: Laboratorul trebuie să adopte măsuri de control și monitorizare astfel încât Six Sigma să tindă spre valoarea ideală 6.

C10. Comparison between reference intervals on Cobas6000 and Architect C8000 using indirect visual method

Vladimir Bacărea¹, Anca Bacărea², Marian Pop³, Minodora Dobreanu⁴

1. University of Medicine and Pharmacy Tîrgu Mureș, Medical Research Methodology Department; 2. University of Medicine and Pharmacy Tîrgu Mureș, Pathophysiology Department; 3. Cardiovascular Disease and Transplantation Institute; 4. University of Medicine and Pharmacy Tîrgu Mureș, Clinical Biochemistry Department

The interpretation of laboratory tests is one of the major concerns of the medical laboratory, knowing the fact that medical decisions are based on these results.

The aim of this study is to compare the reference intervals (RI) calculated using the visual indirect method that we developed, on two equipments used in the Biochemistry Department, in Emergency County Clinical Hospital Tîrgu Mureş, in two different time periods. Between 2009 and 2011 the samples were tested on Architect C8000 System (Abbott) and between 2011 and 2013 on Cobas6000 System (Roche).

The population structure based on county provenience is not significantly different. For the tested parameters: GOT, GPT, LDH, CK, glucose, urea, creatinine, total bilirubin there were no significant differences on RI calculation. For example, the results for women were (Architect C8000 versus Cobas6000): CK 11.4 – 157 vs. 17.2 – 164 U/L; glucose 74 – 106 vs. 73.67 – 116.5 mg/dL; GOT 6.19 – 34.6 vs. 12.2 – 39.2 U/L, with Reference Change Value (or RCV) 70.65, 14.01, 38.11 respectively.

Larger amount of data is very useful to discern better the normal versus the pathological in biological parameters, and the differences between populations require more attention in the establishment of laboratories' RI.

Key words: reference interval, indirect visual method

Comparație între intervalele de referință obținute pe Cobas6000 și Architect C8000, folosind metoda vizuală indirectă

Vladimir Bacărea¹, Anca Bacărea², Marian Pop³, Minodora Dobreanu⁴

1. Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureş, Departmentul Metodologia Cercetării Științifice Medicale; 2. Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureş, Departmentul Fiziopatologie; 3. Institutul de Boli Cardiovasculare și Transplant Tîrgu Mureş; 4. Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureş, Departmentul Laborator Biochimie Clinică

Interpretarea rezultatelor de laborator este o preocupare continuă a laboratoarelor medicale, fiind cunoscut faptul că pe aceste rezultate se bazează deciziile medicale.

Scopul studiului este comparația intervalelor de referință (IR) calculate utilizând metoda vizuală indirectă dezvoltată de noi, pe două echipamente folosite în Departamentul de Biochimie al Spitalului Clinic Județean de Urgență Tîrgu Mureş, în două intervale de timp diferite. În perioada 2009-2011 probele au fost lucrate pe sistemul Architect C8000 (Abbott), iar în perioada 2011-2013 pe sistemul Cobas6000 (Roche).

Structura populației pe județele deservite de spital nu este semnificativ diferită. Pentru parametrii testați: GOT, GPT, LDH, CK, glicemie, uree, creatinină, bilirubină totală, nu s-au obținut diferențe semnificative la calculul IR. De exemplu pentru sexul feminin am obținut astfel (Architect C8000 versus Cobas6000): CK 11,4 – 157 vs. 17,2 – 164 U/L; glicemie 74 – 106 vs. 73,67 – 116,5 mg/dL; GOT 6,19 – 34,6 vs. 12,2 – 39,2 U/L, cu Reference Change Value (RCV) de 70,65; 14,01 respectiv de 38,11.

Un volum cât mai mare de date este folositor pentru a distinge mai bine normalul de patologic pentru parametri biologici, indiferent de echipamentul pe care se lucrează, iar diferențele dintre populații necesită mai multă atenție în stabilirea IR.

Cuvinte cheie: interval de referință, metodă vizuală indirectă

R6. The role of the specialists from medical laboratories in conducting external quality control

C. Popa¹, G. Sorescu², E. Borcan¹, D. Popa¹, C. Neagoe¹, R. M. Popa², V. Găman¹

*1. Order of Biochemists, Biologists and Chemists in the healthcare system in Romania (O.B.B.C.S.S.R);
2. Association for Quality in Medical Laboratory (CALILAB)*

The **purpose** of the study is to demonstrate the role of the specialists from the medical laboratories conducting external quality control through comparative study on the coefficients of variation average of the results reported in external quality control in 2008, 2010, 2013 and November 2014 in biochemistry, hemostasis, hematology for the selected parameters and analytes. The schemes include results from laboratories, with participants ranging between 139 and 233 laboratories in almost all of the 41 Romanian counties (while maintaining confidentiality of the individual performance evaluation results of the medical laboratories). The study was conducted on the basis of scientific data provided by CALILAB Association.

Methods used are statistical calculations and the comparison of the mean coefficients of variation as a measure of the dispersion of participants reported values for analytes and parameters under study.

The results observed: Specialists CALILAB observed during the interval studied a significant decline of the value of the mean coefficient of variation for the parameters and analytes in the fields of biochemistry, hemostasis and hematology.

Conclusions: The role of specialists in medical laboratories conducting external quality control is important and stated in the current standards and legislation applicable to the medical laboratories, including art. 24 and 25 the Minister of Health 1301:2007 for the approval regarding the functioning of the medical laboratories.

Keywords: physicians, biologists, chemists, biochemists, coefficient of variation, external control, proficiency testing schemes.

Rolul specialiștilor din laboratoarele medicale în efectuarea controlului extern al calității

C. Popa¹, G. Sorescu², E. Borcan¹, D. Popa¹, C. Neagoe¹, R. M. Popa², V. Găman¹

*1. Ordinul Biochimistilor, Biologilor și Chimistilor în Sistemul Sanitar din România (O.B.B.C.S.S.R); 2.
Asociația pentru Calitate în Laboratoare (CALILAB)*

Scopul studiului este de a demonstra rolul specialiștilor din laboratoarele medicale în efectuarea controlului extern al calității prin studiul comparativ al mediei coeficienților de variație a rezultatelor raportate la controlul extern al calității în anii 2008, 2010, 2013 și runda din noiembrie 2014 în domeniile biochimie, hemostaza, hematologie pentru analiții și parametrii selectați la care au participat între 139 și 233 de laboratoare din România din aproape toate județele țării (cu păstrarea confidențialității rezultatelor evaluărilor individuale ale performanței laboratoarelor medicale). Studiul a fost realizat pe baza datelor științifice puse la dispoziție de Asociația CALILAB.

Metodele utilizate sunt calcule statistice și comparația mediei coeficienților de variație ca măsură a dispersiei valorilor raportate de participanți pentru analiții și parametri luați în studiu.

Rezultatele: Specialiștii CALILAB au observat în perioada efectuării studiului o scădere semnificativă a valorii medii a coeficienților de variație pentru analiții și parametri selectați din domeniile biochimie, hemostaza și hematologie.

Concluzii: Rolul specialiștilor din laboratoarele medicale în efectuarea controlului extern al calității este foarte important și este stipulat în standardele și legislația actuale aplicabile laboratorului de analize medicale, printre care art. 24 și 25 ale Ordinului Ministrului Sănătății 1301:2007 pentru aprobarea Normelor privind funcționarea laboratoarelor de analize medicale.

Cuvinte cheie: medici, biologi, chimiști, biochimiști, coeficient de variație, control extern al calității, scheme de încercări de competență.

Plenary lectures - HEMATOLOGY 1

Chairpersons: Prof. Dr. Mihail Badea, Assoc. Prof. Dr. Daniel Coriu

R7. The precursor states of multiple myeloma: the actual problems of diagnosis and management

Dan Coliță, Adriana Coliță, Daniel Coriu

Fundeni Clinic of Hematology, Bucharest

The multiple myeloma (MM) is a clonal malignancy of terminally differentiated B cells, which accounts for 1% of all cancers and for 10% of hematologic malignancies. MM is preceded with many years age by two precursor states: the monoclonal gammopathy with undetermined significance (MGUS) and the smoldering multiple myeloma (SMM). These 2 entities have in common some genetic events. The presence of a serum monoclonal protein and of clonal marrow plasmocytes, but only the MM have characteristically end – organ damages (“CRAB” = hyper Calcemia, Renal failure, Anemia, Bones destructions) plus recurrent infections, amyloidosis, hyperviscosity and abnormal serum free light (sFL) ratio. The incidence of MGUS in general population is 1% (for the persons older than 50 years) with a progressive risk to 10% for the persons older than 80 years. SMM accounts for ~ 15% of all cases of newly diagnosed MM. The risk of the progression MGUS to MM is 1% per year for MGUS. For SMM it is 10% in the first 10 years after the diagnosis with a progressive decrease later. The Mayo Clinic group (A) and The Spanish PETHEMA group (B) formulated the criteria for the risk stratifications of the progression to MM. In the “A” system 3 factors (non IgG isotype, serum M component concentration and free light chain ratio) confer each 1 pt., and at 20 years of follow up the progression is 5%, 21%, 37% and 58% for 0, 1, 2 and 3 points. In the “B” system 2 factors (abnormal plasma cells ratio in bone marrow and the DNA aneuploidy) are designated as factors for the progression risk and at 5 years of follow up the data are 2% (0 factor), 10% (1 factor), 46% (2 factors). The serum free light chain ratio is one of the main determinants for diagnosis and the management. The consensus on the attitude is the watch and wait strategy but a sum of decisions can be discussed in function of the presence of some risk factors to progression.

Afecțiunile care preced mielomul multiplu: problem actuale de diagnostic și de gestionare

Dan Coliță, Adriana Coliță, Daniel Coriu

Clinica de Hematologie Fundeni, București

Mielomul multiplu (MM) este o proliferare malignă de limfocite B diferențiate. Reprezintă 1% dintre cancere și 10% dintre hemopatiile maligne. MM este precedat cu ani înainte de 2 afecțiuni precursore: gamapatia monoclonală cu semnificație nedeterminată (GMSN) și mielomul “mocnit” (SMM). Împreună au în comun evenimente genetice, prezența unei proteine serice monoclonale și prezența de plasmocite clonale în măduva osoasă. MM se singularizează prin existența unor leziuni “organice” (“CRAB” = hiper Calcemie, insuficiență Renală, Anemie, leziuni osoase - B) plus infecții recurente, amiloidoză, hipervâscozitate și anomalii ale raportului dintre lanțurile ușoare libere din ser. Incidența GMSN în populația generală este de 1% pentru persoanele cu peste 50 de ani cu o creștere progresivă (10 % pentru persoanele peste 80 de ani). SMM este semnalat la ~ 15% dintre cazurile diagnosticate ca MM. Riscul progresiei GMSN către MM este semnalat la 1% pe an iar în cazul SMM ar ajunge la 10% în primii 10 ani după diagnostic. Există stabilită o stratificare a riscurilor de transformare în MM în 2 studii de bază. Factorii de risc în studiul grupului Mayo Clinic sunt: izotipul non IgG, concentrația în ser a componentului M și raportul dintre lanțurile ușoare de Ig din ser. Fiecare înseamnă 1 punct. La termenul stabilit de 20 de ani de urmărire riscul progresiunii a fost de 5% (pt. 0 puncte), 21% (pt. 1 punct), 37% (pt. 2 puncte) și 58% (pt. 3 puncte). În studiul spaniol PETHEMA, factorii de risc sunt aneuploidia ADN și procentul plasmocitelor clonale din măduva osoasă, iar evaluarea după 5 ani arată transformarea în MM la 2% (0 factori), 10% (1 factor) și 48% (2 factori). Unul dintre cei mai importanți determinanți pentru precizarea diagnosticului și adoptarea liniei terapeutice este evaluarea raportului dintre lanțurile ușoare libere ale imunoglobulinelor în serul pacienților. Atitudinea terapeutică unanim recomandată este expectativă dar aceasta ar trebui nuanțată în funcție de factorii de risc de progresie observată în fiecare caz.

R8. The role of cytogenetic examination in the choice of treatment in patients with multiple myeloma

Daniel Coriu, Sorina Badel, Cerasela Jardan

Center of Hematology and Bone Marrow Transplantation, Fundeni, Bucharest

Multiple myeloma is a very heterogeneous disease with indolent evolution for some patients, but evolution aggressive for another category of patients. Therapeutic strategy is adapted to risk: no treatment in patients with indolent disease; complex treatment (proteasome inhibitors, immunomodulatory therapy, chemotherapy, autologous bone marrow transplantation) in patients with aggressive disease. Risk stratification systems are dynamic according with therapeutic advances. Very used for risk stratification is the International Staging System (ISS) which establishes three prognostic groups (stage I, II, III) depending on the level of albumin and beta-2 microglobulin. Recent studies have shown that risk stratification based on FISH and cytogenetics is useful in choosing a risk adapted therapy. Patients with hyperdiploid, t(6;14) and t(11;14) have the best results in terms of survival with the current treatment approach being considered standard risk. Patients with del17p, t(14;16) and t(14;20) have a poor prognosis

and these changes indicate a high risk disease. Patients with hypoploid, t(4;14) or del13 indicates an medium risk. Recently, experts try a combination of the International Staging System (ISS) and risk stratification system based on FISH (presence of t(4;14) and del17p as unfavorable risk markers).

Recently in our Center we managed implementation of FISH examination for patients with multiple myeloma. So far were analyzed 32 patients: in 22 patients did not find any abnormality, in 5 patients found t(4;14); in 1 patient was found t(14;16); in 3 patients were found deletion of 17p; in 1 patients was found del17p associated with t(14;16). Three patients with t(4;14) and 2 patients with deletion 17p died a few months after diagnosis despite therapy administered. This is consistent with published results of other similar studies.

Conclusion: FISH examination/cytogenetics is an essential tool in the management of patients with multiple myeloma and should be implemented in all hematology centers that treat such patients.

This work was supported by the grant CEEX 74/2006 from the Romanian Ministry of Research and Technology.

Rolul examenului citogenetic în alegerea terapiei la pacienții cu mielom multiplu

Daniel Coriu, Sorina Bădeliță, Cerasela Jardan

Centrul de Hematologie și Transplant Medular, Institutul Clinic Fundeni, București

Mielomul multiplu este o boală foarte heterogenă cu evoluție indolentă pentru unii pacienți, dar evoluție agresivă pentru altă categorie de pacienți. Strategia terapeutică este adaptată riscului: fără tratament, la pacienții cu boală indolentă; tratament complex (inhibitori de proteazom, imunomodulatori, chimioterapie, autotransplant) la pacienții cu boală agresivă. Sistemele de stratificare a riscurilor sunt dinamice în concordanță cu progresele terapeutice. Foarte folosit pentru stratificarea riscului este Sistemul Internațional de Stadializare (SIS) care stabilește trei grupe prognostice (stadiul I, II, III) în funcție de nivelul albuminei și beta-2 microglobulină. Studii recente au arătat că stratificarea riscurilor pe bază FISH și citogenetică este mai utilă în alegerea unei terapii adaptate riscului. Pacienții cu hiperdiploidie, t(6;14) și t(11;14) au cele mai bune rezultate din perspectiva supraviețuirii prin abordarea de tratament curentă, fiind considerați de risc standard. Pacienții cu del17p, t(14;16) și t(14;20) au prognostic nefavorabil și prezența acestor modificări indică un risc ridicat. Prezența hipoploidiei, a t(4;14) sau a del13 indică un risc mediu. Recent se încearcă o combinare a Sistemul Internațional de Stadializare (SIS) și a sistemului de stratificare a riscurilor pe bază FISH (prezența t(4;14) și del17p ca markeri de risc nefavorabil).

Recent în Laboratorul de Citogenetică din Centrul nostru am reușit implementarea examenului FISH pentru pacienții cu mielom multiplu. Până acum au fost analizați 32 pacienți: la 22 pacienți nu s-a găsit nicio anomalie FISH, la 5 pacienți s-a găsit t(4;14); la 1 pacient s-a găsit t(14;16); la 3 pacienți s-a găsit deleția 17p; la 1 pacient s-a găsit deleția 17p asociată cu t(14;16). Trei pacienți cu t(4;14) și doi pacienți cu deleția 17p au decedat la câteva luni după diagnostic, în ciuda terapiei administrate. Această evoluție este în concordanță cu rezultatele publicate de alte studii similare.

Concluzie: Examenul FISH/citogenetic este un instrument absolut necesar în managementul pacienților cu mielom multiplu și trebuie implementat în toate centrele de hematologie care îngrijesc astfel de pacienți.

Această lucrare a beneficiat de suportul Ministerului Român al Cercetării și Tehnologiei, contract CEEX 74/2006.

R9. Impact of genetic evaluation in diagnosis and prognosis of multiple myeloma

Badea Mihail, Daniela Badea, Amelia Genunche, Aurelian Badea

UMF Craiova

Multiple myeloma is a malign plasma cell dyscrasia whose origin lies in a germinal center B lymphocyte. This germinal center cells undergo somatic hypermutation and isotypic switch. It is an incurable disease and the cause of about 20 percent of deaths from hematologic malignancy and 2 percent of deaths from all cancers. MM is thought to evolve from an asymptomatic pre-malignant stage of clonal plasma cell proliferation termed monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS), about 1% of those cases per year, progress to frank clinical malignancy. Malignant transformation is sequential multistep process involving the progressive accumulation of several abnormalities starting with an aberrant immune answer initiated by a B cell. Cytogenetic changes are: numeric - trisomies of impar chromosomes, or structural-translocations which are not random. The resultant clone, malign by its biology, may rest asymptomatic (MGUS). The final transformation is provided by a new genetic abnormality of the malignant cell or/and changes in bone marrow microenvironment concerning immune surveillance, angiogenesis, etc.

MM is a heterogeneous disease by pathogenesis and not only. The biology of malignant process is reflected in disease aggressively, prognostic, treatment response and overall survival.

Prognostic stratification is primary based on presence/absence of genetic abnormalities (t(14;16), t(14;20) or del17p, del13 by FISH) or molecular biology (molecular expression of the genetic abnormalities).

MM high risk (with the abnormalities mentioned above) is characterized by short overall survival (2-3 years) with conventional treatment, including ASCT (autologus stem cell transplant).

In conclusion: the molecular biology of the malignant clone has a major role in choosing a personalized chemotherapy for the patient with MM.

Impactul studiului genetic în mielomul multiplu

Badea Mihail, Daniela Badea, Badea Aurelian

UMF Craiova

MM este o discazie plasmocitară malignă ce își are originea într-o celula B ce a traversat centrul germinativ, suferind deci procesul mutațiilor somatice și pe cel de switch izotipic. MM este o boală incurabilă, responsabilă de aprox. 20% din decesele prin neoplazii hematologice și 2% din toate neoplaziile umane. Se consideră că virtual toate cazurile de MM sunt precedate de o gamapatiie monoclonală cu semnificație nedeterminată (MGUS), o proliferare clonală asimptomatică, numai 1% pe an din aceste cazuri vor evolua spre malignitate clinică francă. Acumularea anomaliilor responsabile de transformarea malignă este secvențială și începe într-o celula B implicată într-un răspuns imun aberant; se

caracterizează prin apariția fie a hiperdiploidiei (trisomii ale cromozomilor impari) fie a unor translocatii neîntâmplătoare. Transformarea definitivă este asigurată fie de noi anomalii genetice acumulate de celula stem a neoplaziei, sau/și de modificări în micromediul medular legate de supravegherea imună, de angiogeneză, etc.

Prin patogenie, și nu numai, MM este o afecțiune heterogenă în care biologia transformării maligne se reflectă în agresivitatea afecțiunii, în prognostic, în răspunsul la tratament și implicit în supraviețuirea globală a bolnavilor. Stratificarea prognostică se bazează în primul rând pe prezența sau absența unor anomalii genetice (t(14;16), t(14;20), sau del17p, del13 prin FISH) sau de biologie moleculară (profilul expresiei genetice). MM high risk (cu anomalii menționate mai sus) este definit de o supraviețuire redusă (2-3 ani) în contextul terapiilor convenționale actuale, inclusiv auto TM. Bolnavii cu risc intermediar (t(4;14) prin FISH sau deleția 13/hipodiploidia la ex. citogenetic) au un prognostic ameliorat dacă sunt tratați precoce cu protocoale ce cuprind bortezomib ce sunt urmate de auto TM.

Rezultă că biologia moleculară a clonei maligne este implicată major în personalizarea programul terapeutic în MM.

C11. Serum free light chain assay completes the laboratory diagnosis of multiple myeloma

Monica Popescu¹, Sorina Badelita¹, Daniel Coriu^{1,2}

1. Fundeni Clinical Institute, Bucharest, Romania; 2. "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania

Multiple myeloma is a classical malignant proliferation of a B lymphocyte which produces a clone of plasma cells which synthesize immunoglobulins molecules structurally identical, referred to as myeloma proteins (M protein) or paraproteins.

The purpose of this study is to assess the efficiency of free light chain assay (FLC) along with serum protein electrophoresis (SPE), IFE (immunofixation protein electrophoresis) and intact immunoglobulin quantification in monitoring patients with multiple myeloma at the diagnosis and during the treatment and to determine correlations between the concentration of free light chains, M-protein and pathological total intact immunoglobulin.

In this study 411 samples coming from 56 patients with IIMM (intact immunoglobulin multiple myeloma) and LCMM (light chain multiple myeloma) were assayed. At the diagnosis, IFE was positive in all samples and SPE quantified M-protein for all patients with IIMM.

The individual correlation (for each patient) among FLCs, M-protein and intact immunoglobulins in 8 patients with IgGκ IIMM proved to be more significant as compared with the degree of correlation established for the entire group of patients among these markers.

Since the values obtained for the studied markers were not homogeneous, we have taken into account the Spearman coefficient values, which indicated the existence of a correlation between the M-protein, FLCs and intact immunoglobulin.

For those patients with LCMM, FLC assay showed high levels of kappa or lambda light chains for all patients, while SPE and IFE were positive in 20% of cases.

Since the classical SPE and IFE failed to demonstrate the presence of M-protein in LCMM for 80% of cases, FLC was the only method used to follow the disease course.

Keywords: multiple myeloma (MM), immunoglobulin, free light chains (FLC), immunofixation

Metoda de cuantificare a lanțurilor ușoare libere completează diagnosticul de laborator al mielomului multiplu

Monica Popescu¹, Sorina Badelita¹, Daniel Coriu^{1,2}

1. Institutul Clinic Fundeni, București, România; 2. Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila”, București, România

Mielomul multiplu este modelul clasic de proliferare malignă a unui limfocit B care generează o clonă de plasmocite ce sintetizează molecule de Ig identice din punct de vedere structural, denumite proteine de mielom (proteina M) sau paraproteine.

Scopul acestui studiu este stabilirea eficienței metodei nefelometrice de cuantificare a lanțurilor ușoare (FLC), împreună cu separarea electroforetică a proteinelor serice, imunofixarea proteinelor serice și cuantificarea imunoglobulinelor, în monitorizarea pacienților cu mielom multiplu atât la diagnostic cât și pe parcursul tratamentului și determinarea unor corelații între lanțurile ușoare, proteina M și imunoglobulina intactă.

În acest studiu au fost analizate 411 probe care au provenit de la 56 de pacienți cu mielom multiplu cu imunoglobulină intactă și mielom multiplu micromolecular.

În cazul pacienților cu mielom multiplu cu imunoglobulină intactă atât electroforeza cât și imunofixarea proteinelor serice au indicat prezența unei proteine monoclonale la diagnostic.

Corelația individuală a concentrațiilor lanțurilor ușoare, proteinei M și imunoglobulinei la 8 pacienți cu mielom a fost semnificativă în comparație cu gradul de corelație al markerilor pentru întregul grup de pacienți. Având în vedere că valorile obținute pentru markerii studiați nu au fost omogene, am luat în considerație valorile coeficientului Spearman care au indicat existența corelațiilor între proteina M, lanțurile ușoare și imunoglobulină.

În cazul pacienților cu mielom multiplu micromolecular (LCMM), metoda FLC a indicat valori crescute ale lanțurilor kapa sau lambda pentru toți pacienții, în schimb electroforeza și imunofixarea au identificat proteina M doar pentru 20% din cazuri.

Având în vedere faptul că metodele clasice nu au identificat proteina M pentru 80% din cazurile cu LCMM, metoda FLC este singura metodă ce permite diagnosticul corect și monitorizarea acestor pacienți.

Cuvinte cheie: mielom multiplu (MM), imunoglobulină, lanțuri ușoare libere (FLC), imunofixare

Plenary lectures HEMATOLOGY 2

Chairpersons: Prof. Kappelmayer Janos, Prof. Dr. Dan Coliță

R10. Thrombin generation and its usefulness in laboratory medicine

Renáta Hudák¹, Zsuzsa Bagoly², János Kappelmayer¹

1. Department of Laboratory Medicine; 2. Division of Clinical Laboratory Science, University of Debrecen, Hungary

Hemostasis screening tests were designed to identify clotting factor deficiencies. The PT and APTT assays together with thrombin time are capable for screening for most coagulopathies, but these assays are unsuitable for detecting enhanced clotting. This can be achieved by investigating a central serine protease of the coagulation system, the thrombin. There are two ways to approach this question: one being the detection of enhanced thrombin activity via the fibrin monomer test and by the measurement of fibrinopeptides A and B. Alternatively one may measure the complexes of thrombin and its primary inhibitor the antithrombin (TAT-assay). The other approach is the utilization of the thrombin generation assay (TGA) that monitors the proteolytic action of this serine protease and a software converts the raw fluorescence data to meaningful results, characterizing the speed and the magnitude of thrombin generation.

I provide two examples where TGA was used to monitor pathological events. In one series of measurements CTAD-plasma samples were investigated in a selected group of ischemic stroke patients (n=121) who subsequently received thrombolytic therapy by t-PA. We hypothesized that the TGA may be associated with short and long term clinical outcome. We observed a decreased TGA in patients who subsequently experienced bleeding complications compared to those who did not (ETP was 1266 versus 1488 nM x min) and this difference was significant in both ETP and peak thrombin measurements (p=0.0094 and 0.0205).

Platelets can also contribute to enhanced thrombin generation via providing phospholipid surface for the assembly of the multiprotein coagulation complexes. In another series of experiments we determined TGA in platelet rich plasma (PRP) by using resting and activated samples and found that by inhibiting platelet phosphatase activity we could downregulate thrombin formation in PRP.

TGA is a helpful test in identifying thrombin generation both in plasma and in cell-associated pathological processes and it is also suitable for identifying enhanced as well as impaired thrombin formation, thus can be useful in both thrombotic and bleeding disorders.

C12. Acute lymphoblastic leukemia with CNS onset in a child with chronic myelogenous leukemia – case report

Anca Bacărea¹, Nicoleta Pop², Molnar Eniko², Maria Despina Baghiu³, Minodora Dobreanu⁴

1. University of Medicine and Pharmacy Tîrgu Mureș, Pathophysiology Department; 2. Emergency County Clinical Hospital Tîrgu Mureș, Central Clinical Laboratory, Hematology Department; 3. University of Medicine and Pharmacy Tîrgu Mureș, Pediatrics I Department; 4. University of Medicine and Pharmacy Tîrgu Mureș, Clinical Biochemistry Department

We present the case of a 14 year old boy who was diagnosed with chronic myelogenous leukemia (CML) in March 2014: marked splenomegaly, marked leukocytosis (588000/ μ l), leukocyte alkaline phosphatase 0, left shift and basophilia at the peripheral smear examination and Ph chromosome positive. Imatinib therapy was instituted, and hematologic remission was achieved. In January 2015 the patient experiences repeated vomiting (initially considered in relation with a H. pylori gastritis that has been treated). Fundoscopic examination reveals papillary edema and papillary stasis in both eyes, which is why cranial computer tomography (CT) was performed, but without changes. Cranial MRI shows the presence of an inflammatory/infectious process of the leptomeninges. Bacteriological and TB determinations from cerebrospinal fluid (CSF) were negative. CSF cytology analysis indicates the presence of atypical cell population (88%), and lymphocytes. CSF immunophenotyping is performed, highlighting a population that is CD45 negative, but CD19, CD10, CD34 positive and also a T lymphocyte population (7%). Periodic Acid Schiff (PAS) staining was performed showing glycogen score of 0.4. Based on these results is interpreted the atypical population as lymphoblastic. In this moment the patient had hematologic remission. Chemotherapy was initiated according to ALL IC-BFM 2009 protocol. Subsequent CSF examinations show that the atypical population initially present disappeared. The patient is still under treatment and monitoring. ALL in this case is most likely an extramedullary blast crisis of CML, possibly due to selection of a clone resistant to Imatinib. A complete genetic investigation at the disease onset would have been useful for the correct interpretation of the case – de novo ALL or extramedullary blast crisis of CML.

Keywords: CML, ALL, immunophenotyping

Leucemie acută limfoblastică cu debut cerebral la un copil cu leucemie mieloidă cronică – prezentare de caz

Anca Bacărea¹, Nicoleta Pop², Molnar Eniko², Maria Despina Baghiu³, Minodora Dobreanu⁴

1. Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș, Departmentul de Fiziopatologie; 2. Spitalul Clinic Județean de Urgență Tîrgu Mureș, Laboratorul Clinic Central, Departmentul de Hematologie; 3. Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș, Departmentul Pediatrie I; 4. Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș, Departmentul Laborator Biochimie Clinică

Prezentăm cazul unui băiat în vârstă de 14 ani, care a fost diagnosticat cu leucemie mieloidă cronică (LMC) în martie 2014: splenomegalie marcată, leucocitoză marcată (588000/ μ l), fosfataza alcalină leucocitară 0, seria granulocitară cu deviere la stînga la examenul frotiului periferic cu bazofilie și cromozom Ph pozitiv. S-a instituit tratament cu Imatinib, și s-a obținut remisie hematologică. În ianuarie 2015 pacientul acuză vărsături repetate (puse inițial pe seama unei gastrite cu H. Pylori, care a fost tratată). Examenul fundului de ochi evidențiază edem papilar și stază papilară la ambii ochi, motiv pentru care se face computer tomografie (CT) cranian, dar care nu arată modificări. RMN-ul cranian sugerează prezența unui proces inflamator/infecțios leptomeningeal. Determinările bacteriologice și TBC din lichid cefalorahidian (LCR) au fost negative. Analiza citologică a LCR indică prezența unei populații celulare atipice (88%) și a limfocitelor. Se efectuează imunofenotiparea din LCR, cu evidențierea unei populații CD45 negative, dar CD19, CD10, CD34 pozitivă și o populație de limfocite T (7%). S-a efectuat colorația

Periodic Acid Schiff (PAS), care arată scor glicogenic de 0,4. Pe baza acestor rezultate populația este interpretată ca fiind limfoblastică. În acest moment pacientul era în remisie hematologică. Se inițiază chimioterapia conform protocolului LAL IC-BFM 2009. Examinările LCR ulterioare arată dispariția populației atipice prezente inițial. Pacientul este în continuare sub tratament și monitorizare. LAL în acest caz este cel mai probabil o criză blastică extramedulară a LMC, posibil datorită selectării unei subclone rezistente la Imatinib. O investigare genetică completă la debut ar fi fost utilă pentru interpretarea corectă a cazului – LAL de novo sau criză blastică extramedulară a LMC.

Cuvinte cheie: LGC, LAL, imunofenotipare

C13. Resistance to antiplatelet therapy – Is this a real problem in Romanian population?

Alina Mărginean¹, Claudia Bănescu², Floredana Laura Șular¹, Rodica Bălașa³, Smaranda Maier³, Mihaela Ispas⁴, Mariana Țăruși⁴, Minodora Dobreanu¹

1. University of Medicine and Pharmacy Tîrgu Mureș, Laboratory Medicine Department; 2. University of Medicine and Pharmacy Tîrgu Mureș, Genetics Department; 3. University of Medicine and Pharmacy Tîrgu Mureș, Neurology Department; 4. Emergency Institute for Cardiac Transplant and Cardiovascular Disease

Background: Inhibition of platelet activation using anti-platelet drugs, is a well established therapy for the prevention of vascular events in myocardial infarction or stroke. Clopidogrel and Aspirin are commonly used. Many factors, such as genetic polymorphism of cytochrome P450 isoenzymes, obesity, co-morbidities gender, age or co-medication, lead to diminished clopidogrel responsiveness.

The **aim** of this study was to determine platelet inhibition during clopidogrel (whose active metabolite irreversibly inhibits P2Y₁₂ Receptor for ADP) and/or aspirin (COX-1 enzyme inhibitor) therapy using the Multiplate® analyzer and to investigate the relationship between cytochrome P450 genetic polymorphism and clopidogrel resistance in a Romanian population.

Material and methods: 162 patients with ischemic diseases, acute coronary syndrome or stroke, who received antiplatelet therapy were included in the study. Response to Clopidogrel and Aspirin was assessed by ADPtest HS and ASPI test using whole blood multiple electrode aggregometry. For CYP1A2, CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19 and CYP3A4 genotyping, a MLPA for DNA protocol is proposed to study genetic polymorphism.

Results: Forty-four of 159 Clopidogrel users (27.6%) and three of 117 Aspirin users (2.5%) were identified as non-responders to therapy. The lowest value of the reference interval was used as the diagnostic cut-off value: patients who received anti-platelet therapy and had results within the reference ranges were considered non-responders to the therapy.

Conclusion: Platelet function tests demonstrated a highly variable inhibition of ADP induced platelet function under Clopidogrel therapy. Genotyping the highly polymorphic cytochrome P450 enzyme system is a way of identifying the cause of non-responsiveness to Clopidogrel.

Rezistența la terapia cu antiagregante plachetare - o problemă reală la populația din România

Alina Mărginean¹, Claudia Bănescu², Floredana Laura Șular¹, Rodica Bălașa³, Smaranda Maier³, Mihaela Ispas⁴, Mariana Țăruși⁴, Minodora Dobreanu¹

1. Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș, Departamentul Laborator Clinic; 2. Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș, Departmentul Genetică; 3. Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș, Departmentul Neurologie; 4. Institutul de Boli Cardiovasculare și Transplant Tîrgu Mureș

Introducere: Inhibarea activării plachetare cu ajutorul antiagregantelor este o terapie consacrată pentru prevenția evenimentelor vasculare în infarctul miocardic sau accidentul vascular cerebral ischemic. Clopidogrelul și Aspirina sunt frecvent utilizate în acest scop. O multitudine de factori printre care polimorfismele genetice ale izoenzimelor citocromului P450, obezitatea, co-morbiditățile, sexul, vârsta și medicația concomitentă pot avea ca efect diminuarea răspunsului la Clopidogrel.

Scopul studiului a fost determinarea efectului de inhibiție plachetară în timpul tratamentului cu Clopidogrel (a cărui metabolit activ inhibă ireversibil receptorul de ADH - P2Y₁₂) și/sau Aspirină (inhibitor al enzimei COX-1) utilizând analizorul Multiplate® și investigarea relației dintre polimorfismul genetic al citocromului P450 și rezistența la Clopidogrel la o populație din România.

Material și metoda: Au fost incluși în studiu 162 pacienți cu boală ischemică (sindrom coronarian acut sau accident vascular cerebral ischemic) care au beneficiat de tratament antiplachetar. Răspunsul la Clopidogrel și Aspirină a fost evaluat efectuându-se ADPtest HS și ASPItest din sânge integral utilizând metoda agregometriei de impedanță. Pentru genotipare și studiul polimorfismului genetic al CYP1A2, CYP2B6, CYP2C9, CYP2C19 și CYP3A4 propunem un protocol de MLPA pentru ADN.

Rezultate: 44 din 159 de pacienți tratați cu Clopidogrel (27,6%) și 3 din 117 pacienți tratați cu Aspirină au fost identificați ca fiind non-responderi la terapie. Cea mai mică valoare a intervalului biologic de referință a fost utilizată ca valoare de cut-off astfel: pacienții aflați pe terapie cu antiagregante plachetare cu rezultate ale testelor de agregometrie situate în intervalul biologic de referință au fost considerați non-responderi.

Concluzii: Testele de funcție plachetară au demonstrat o variabilitate importantă a inhibiției plachetare la pacienții tratați cu Clopidogrel.

Genotiparea citocromului P450, sistem enzimatic cu polimorfism important, reprezintă o modalitate de identificare a cauzei lipsei de răspuns la terapia cu Clopidogrel.

C14. Genotypic and phenotypic correlations in β thalassemia major

Adriana Diaconu^{1,2}, Georgiana Bălan¹, Tudor Neamțu², Monica Duțescu³, Vasilica Plăiașu⁴, Ana-Maria Marcu¹, Horațiu Vultur¹, Marina Constantin^{1,2}, Marius Iulian Ungureanu¹, Alice Bălăceanu^{1,5}

1. "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy Bucharest; 2. Pediatric Clinic, Fundeni Clinical Institute Bucharest; 3. INHT "C. T. Nicolau" Bucharest; 4. I.O.M.C. "Alfred Rusescu", Bucharest; 5. Internal Medicine Clinic, "Sf. Ioan" Emergency Hospital

Introduction: β thalassemia major is a hereditary severe anemia determined by mutations of both β globin genes, so the severity of the clinical manifestations is correlated with the degree of globin chain imbalance. The patients need lifelong regular chronic transfusions and iron chelation therapy.

Goal: Genotypic and phenotypic description of paediatric patients with β thalassemia major.

Objectives: Identification of β -globin gene mutations and genotypic - phenotypic evaluation of the impact on the progression of the disease.

Material and methods: longitudinal, retrospective, descriptive study, on a 21 children group with β -thalassemia major regularly hospitalized in Fundeni Pediatric Department between January 2013 and May 2014.

Results: The allelic distribution of the analyzed mutations was similar with the one from the mediterranean and balcanic regions. From 9 exclusively punctiform mutations of β -globin gene, almost 80% were mediterranean type. 3 mutation types were mild (β^+ phenotype) and 6 were severe (β^0 phenotype). Children with severe phenotype had a higher transfusion frequency and volume. Mean haemoglobin levels after transfusion was 7% lower for the patients with severe mutations compared to those with mild ones, although the transfused volume was 20% higher.

Conclusions: The β -thalassemia mutations spectrum in Romania is heterogeneous, predominantly those of mediterranean origin. The degree of the phenotypic severity is in direct ratio with the frequency and volume of the transfusion, and in inverse ratio with the mean posttransfusional haemoglobin level.

Corelații genotipice și fenotipice în β talasemia majoră

Adriana Diaconu^{1,2}, Georgiana Bălan¹, Tudor Neamțu², Monica Duțescu³, Vasilica Plăiașu⁴, Ana-Maria Marcu¹, Horațiu Vultur¹, Marina Constantin^{1,2}, Marius Iulian Ungureanu¹, Alice Bălăceanu^{1,5}

1. Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila” București; 2. Clinica de Pediatrie, Institutul Clinic Fundeni București; 3. INHT „C. T. Nicolau” București; 4. I.O.M.C. „Alfred Rusescu” București; 5. Spitalul Clinic de Urgență „Sf. Ioan” București

Introducere: β -talasemia majoră este o anemie ereditară severă determinată de prezența mutațiilor ambelor gene β globinice. Severitatea tabloului clinic se corelează direct cu gradul imbalanței lanțurilor globinice. Pacienții necesită tratament transfuzional cronic regulat și chelator de fier pe durata întregii vieți.

Scopul este descrierea genotipică și fenotipică a pacienților pediatrici diagnosticați cu β talasemie majoră.

Obiective: caracterizarea mutațiilor de la nivelul genei β -globinice și evaluarea impactului genotipic asupra evoluției bolii.

Material și metodă: anchetă longitudinală de tip descriptiv, retrospectiv a unui lot de 21 copii cu β -talasemie majoră, internați periodic în Secția de Pediatrie a Institutului Clinic Fundeni, în perioada ianuarie 2013-mai 2014.

Rezultate: S-au identificat 9 tipuri de mutații exclusiv punctiforme ale genei β -globinice. Distribuția alelică a mutațiilor analizate a fost similară cu aceea din regiunile mediteraneană și balcanică, aproape 80% fiind de origine mediteraneană. 3 din cele 9 mutații identificate au fost blânde (fenotip β^+), iar 6 au avut caracter sever (fenotip β^0). S-a observat că pacienții cu fenotip sever au avut o frecvență și un nivel transfuzional mai ridicate. Deși nivelul transfuzional a fost mai mare cu aproape 20% la pacienții prezentând mutații severe, valoarea medie a hemoglobinei posttransfuzionale a acestora s-a menținut la un nivel mai scăzut cu 7% comparativ cu cei asociind mutații blânde.

Concluzii: Spectrul mutațiilor β -talasemice în România este heterogen, predominând cele de origine mediteraneană. Gradul de severitate fenotipic se corelează direct proporțional cu frecvența și necesarul transfuzional al pacienților, și invers proporțional cu nivelul mediu al hemoglobinei post-transfuzionale.

Friday 22nd of May 2015

R11. Automation laboratory - CASE HUSLAB

Paivi Laitinen

International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, HUSLAB, Helsinki, Finland

HUSLAB is the laboratory of Helsinki Uusimaa district in Southern Finland. The area is about 3% of the total area of the country but over 30% of the population lives in the region. HUSLAB has about 70 site for sampling in the area as well as 11 laboratories in the regional hospitals. The main laboratory is located in the hospital campus in Meilahti.

HUSLAB is a multidisciplinary laboratory which has many medical specialities (clinical chemistry, haematology, virology, bacteriology, immunology, genetics, pathology). Presently HUSLAB has several separate laboratories in the main campus which complicates the co-operations between the specialities. A construction of a new laboratory building is about to be completed. This new laboratory will be a multidisciplinary facility where HUSLAB aims at consolidation of testing on the same automation platform of all laboratory specialities as much as possible. Another aims of the automation are reduction of laboratory costs (space, staff, infra), increased capacity and efficiency, improved sample flow, TAT, use of space and improved laboratory working environment. To achieve these goals HUSLAB had a tender for total laboratory automation which included basic chemistry, coagulation, haematology and immunochemistry. In my presentation I will clarify details of this procurement process and the final outcome.

R12. Standardisation in Laboratory Medicine: Putting in into Practice

Graham H Beastall

International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, Glasgow, UK
gbeastall@googlemail.com

Standardisation is a specialised form of harmonisation in which data can be compared with an objective standard. Within laboratory medicine it is possible to standardise both laboratory practices (e.g. nomenclature and units) and laboratory methods.

Globalisation and electronic communication enable data and practice to be compared, transferred and adopted with ease. In the absence of standardisation variability in practice and/or results can lead to misinterpretation of data leading to a negative impact on patient care. Therefore, standardisation is necessary to:

- Assure patient safety
- Improve the effectiveness of clinical guidelines
- Reduce public / patient confusion
- Enhance clinical governance in laboratory medicine
- Facilitate the transferability of data between centres

Laboratory practices can be standardised and harmonised at national level and there are examples of this being achieved both formally (by reference to a standard) and informally. IFCC Member societies can take a lead in this area.

Laboratory methods can only be standardised at international level through collaboration of a range of stakeholders, including the manufacturers of diagnostic systems. The IFCC has a proud record of leading global initiatives to standardise key laboratory methods. However, there are hundreds of methods in use across laboratory medicine. New biomarkers emerge at a rate quicker than we can standardise existing methods. Therefore, a co-ordinated global programme is required if patient interests are to be best served.

R13. Process-based planning of a new laboratory building.

Päivi Laitinen

International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, HUSLAB, Helsinki, Finland

HUSLAB is the laboratory of Helsinki Uusimaa district in Southern Finland. The area is about 3% of the total area of the country but over 30% of the population lives in the region. HUSLAB has about 70 site for sampling in the area as well as 11 laboratories in the regional hospitals. The main laboratory is located in the hospital campus in Meilahti.

HUSLAB is a multidisciplinary laboratory which has many medical specialities (clinical chemistry, haematology, virology, bacteriology, immunology, genetics, pathology). A construction of a new laboratory building is about to be completed and HUSLAB will start moving into the new location in the beginning of August 2015. The building is owned by the University of Helsinki and HUSLAB will be a subtenant.

The planning of the building has been a two-year process in co-operation with the owner of the building, the architects, engineers and the user HUSLAB. HUSLAB started the planning of the building

by training the staff for Lean ideology. Then HUSLAB described all its processes based on Lean methods and did value-stream maps of the processes. These processes were then transferred into the processes of the new building, considering all the synergy of the processed that could be implemented. In my presentation I will go to more details of the planning process.

R14. Selected Laboratory Parameters During Haemodialysis Procedures

Vladimir Palicka, Sylvie Dusilova Sulkova

Charles University in Prague, Faculty of Medicine in Hradec Kralove and University Hospital Hradec Kralove, Czech Republic

Introduction: Dialysis procedure influences many of biochemical markers, not only creatinine and other parameters of renal insufficiency. Types of dialysis procedure as well as the composition of dialysis solution have deep influence on many analytes. We have focused on bone markers and their affection by haemodialysis – haemodiafiltration and dialysis bicarbonate solution with different acidic components: acetate or citrate.

Methods: Patient from a single haemodialysis centre (n=126) were included in the study. Conventional low-flux haemodialysis and on-line haemodiafiltration procedures were used. Both dialysis solutions contained identical calcium (1.5 mmol/l) and magnesium (0.5 mmol/L) concentrations. In the second part of the study we have focused on the composition of dialysis solution: two bicarbonate-based (32-33 mmol/l) solutions with different acidic components were used. Solution A contained 3 mmol/l of acetate; solution C contained 0.8 mmol/L of citrate. All dialysis procedures lasted four hours and polysulphonate membranes 1.8 m2 were used.

We have measured bone turnover markers (P1NP, CTx, B-ALP) and concentration of calcium, phosphate, magnesium, and PTH in serum just before and immediately after the dialysis procedure.

Results: Different elimination strategies may be associated with procedure-dependent acute changes in bone turnover indicators. Contrary to HD, on-line HDF significantly and profoundly decreased serum levels of CTx. A marginal, but highly significant decrease of serum P1NP during HDF was observed. Because there were no pre-dialysis difference in P1NP and only marginal in CTx between HD and HDF patients, the effect of HDF is probably only temporary.

Citrate-enriched dialysis solution (C) was associated with smaller decrease of CTX compared to acetate-enriched solution (A) (from 2.15 to 0.78 vs 2.08 to 0.37 g/L, $p = 0.0047$). Decrease of concentrations of P1NP was comparable in both groups (from 425.5 to 324.5 vs 318.8 to 231.1 37 µg/L, $p = 0.170$). Parathyroid hormone (iPTH) concentration decreased during procedures with solution A by 64%. On the contrary, when solution C was used, iPTH concentration increased insignificantly by 4%. For solution A, serum calcium and magnesium increased during procedures in patients with predialysis concentrations lower than 2.33 and 0.76 mmol/L, respectively. In procedures with dialysis solution C these concentrations were significantly lower: 2.19 mmol/L for Ca and 0.68 mmol/L for Mg.

Conclusion: Type of dialysis procedure and composition of dialysis solutions have deep influence on many biochemical markers. Supported by MH CZ - DRO (UHHK, 00179906) and by the Programme PRVOUK P37/11

C15. Study on diet, infections, medication and genetic predisposition in the occurrence and recurrences of urolithiasis

Nemes-Nagy Enikő¹, Maier Adrian², Man Adrian³, Kudor-Ferice Boldizsár⁴, Kovács Zsuzsa Réka⁴, Demeter Réka⁴, Fazakas Zita¹, Victor Balogh-Sămărghițan¹, Simon-Szabó Zsuzsánna¹, Barabás Hajdu Enikő⁵

1. University of Medicine and Pharmacy, Tîrgu Mureș, Romania, Department of Medical Biochemistry; 2. University of Medicine and Pharmacy, Tîrgu Mureș, Romania, Department of Urology; 3. University of Medicine and Pharmacy, Tîrgu Mureș, Romania, Department of Microbiology; 4. University of Medicine and Pharmacy, Tîrgu Mureș, Romania, student; 5. University of Medicine and Pharmacy, Tîrgu Mureș, Romania, Department of Clinical Pharmacy;

Several factors influence the occurrence of urolithiasis: diet, medication, medical history. **The aim** of the study was to highlight risk factors in patients presenting urolithiasis depending on the type of the stones and compared to a control group. **Method:** Data were collected during 5.5 years, ending in March 2015. 280 patients with urolithiasis and 94 control subjects were involved, patients of the Urology Clinical Hospital in Tîrgu Mureș and patients of two private medical units in the city (Marmed, Procardia). Eating habits, medication and medical history were assessed using a questionnaire, we also used information of hospital record sheets. Chemical analysis of the stones was performed at the Department of Biochemistry and Pharmacy Tîrgu Mureș. **Results and discussion:** 81% of the patients presenting calcium oxalate stones consume much dairy, beans and caffeine, thus ingesting larger amounts of calcium than the daily requirement. Over 90% of those presenting calcium oxalate stones in combination with phosphate shows high consumption of vegetables and fruits. Patients with urinary stones consume significantly more drugs ($p < 0.0001$) compared to the control group (some drugs may favor stones), and they consume significantly less liquids ($p < 0.05$). Genetic predisposition could be documented in nearly a quarter of the patients. Frequency of urinary tract infections is significantly higher in patients with urolithiasis compared to controls ($p < 0.0001$), the most common germs are *E. coli* and *P. aeruginosa*. **Conclusions:** Knowledge of risk factors favoring urinary stones and mitigate them can help in the prevention of the disease and its relapses.

C15. Studiul alimentației, infecțiilor, medicației și predispoziției genetice în apariția și recidivele urolitiaziei

Nemes-Nagy Enikő¹, Maier Adrian², Man Adrian³, Kudor-Ferice Boldizsár⁴, Kovács Zsuzsa Réka⁴, Demeter Réka⁴, Fazakas Zita¹, Victor Balogh-Sămărghițan¹, Simon-Szabó Zsuzsánna¹, Barabás Hajdu Enikő⁵

1. Universitatea de Medicină și Farmacie, Tîrgu Mureș, România, Disciplina de Biochimie Medicală
2. Universitatea de Medicină și Farmacie, Tîrgu Mureș, România, Disciplina de Urologie; 3. Universitatea de Medicină și Farmacie, Tîrgu Mureș, România, Disciplina de Microbiologie; 4. Universitatea de Medicină și Farmacie, Tîrgu Mureș, România, student; 5. Universitatea de Medicină și Farmacie, Tîrgu Mureș, România, Disciplina de Farmacie Clinică;

Numeroși factori influențează apariția calculozei urinare: dieta, medicația, antecedentele patologice. **Scopul** studiului a fost evidențierea factorilor de risc la pacienții prezentând calculoză urinară în funcție

de tipul calculului și comparativ cu lotul control. **Metodă:** Colectarea datelor a durat 5,5 ani, încheindu-se în martie 2015, pe 280 pacienți cu litiază urinară și 94 subiecți control din cazuistica Clinicii de Urologie din Tîrgu Mureș și a două policlinici private din oraș (Marmed, Procardia). Obiceiurile alimentare, medicația și antecedentele patologice s-au evaluat cu ajutorul unui chestionar, am utilizat și datele foilor de observație la cei internați. Analiza chimică a calculilor s-a efectuat la Disciplina de Biochimie a UMF Tîrgu Mureș. **Rezultate și discuții:** 81% dintre pacienții care prezintă calculi de oxalat de calciu consumă multe lactate, păstăioase și cofeină, ingerând astfel cantități mai mari de calciu decât necesarul zilnic. La peste 90% dintre cei care au calculi de oxalat de calciu în combinație cu fosfat se poate observa de asemenea un consum ridicat de legume și fructe. Pacienții cu calculi urinari consumă semnificativ mai multe medicamente ($p < 0,0001$) comparativ cu lotul control (unele preparate pot favoriza litiaza), și semnificativ mai puține lichide ($p < 0,05$). Predispoziția genetică a putut fi documentată la aproape un sfert dintre pacienți. La cei cu litiază infecțiile urinare sunt semnificativ mai frecvente comparativ cu lotul control ($p < 0,0001$), germenii cel mai des întâlniți fiind *E. coli* și *P. aeruginosa*. **Concluzii:** Cunoașterea factorilor de risc care favorizează litiaza urinară și contracararea acestora ne poate ajuta în prevenția bolii și a recidivelor sale.

R15. Serum pseudocholinesterase – diagnostic significance and clinical correlations

Ioana Brudașcă, Mircea Cucuianu

University of Medicine and Pharmacy Iuliu Hațieganu, Cluj Napoca

Serum cholinesterase hydrolyses choline esters (mimicking the activity of acetylcholinesterase which exerts its effect in the synaptic cleft), and some drugs (myorelaxants, local anaesthetics, analgesics). PChe genetic deficiency may be suspected in patients displaying respiratory paralysis following administration of standard doses of succinylcholine. PChe is a useful marker of organophosphate pesticide poisoning (as they block the reactive site of the enzyme).

Besides these classical uses, PChe activity also has other diagnostic significance. Its activity can be considered a marker of hepatic protein synthesis, being impaired in patients with cirrhosis and chronic hepatitis, in subjects with malnutrition and/or malabsorption as well as in leukemic patients treated with L asparaginase (which interferes with protein synthesis in the liver). On the contrary, in case of an accelerated hepatic protein synthesis, as in nephrotic syndrome and type IIb and IV hyperlipoproteinemia (associated with an accelerated synthesis of proteins and lipoproteins in the liver), PChe activity is enhanced. In overweight hypertriglyceridemic patients high serum PChe activity is correlated with other liver secretion enzymes such as lecithin cholesterol acyltransferase (LCAT), fibrin stabilizing factor XIII and vitamin K dependent clotting factors.

An enhanced activity of PChe is noticed in hyperthyroid patients and in subjects with abdominal obesity, both conditions being associated with an accelerated turnover of free fatty acids and lipoproteins. This phenomenon might be considered a marker of the metabolic syndrome, without being directly involved in its pathogenesis.

R15. Pseudocolinesteraza serică – semnificație diagnostică și corelații clinice

Ioana Brudașcă, Mircea Cucuianu

Universitatea de Medicină și Farmacie Iuliu Hațieganu, Cluj Napoca

Pseudocolinesteraza serică (PChe) hidrolizează esterii colinei (similar cu activitatea acetilcolinesterazei de la nivelul sinapselor neuronale). PChe hidrolizează de asemenea unele medicamente (miorelaxante, analgezice, anestezice locale), iar deficitul genetic de PChe poate fi suspectat la pacienții care prezintă paralizie respiratorie după administrarea dozelor standard de succinilcolină. Determinarea activității ei este de asemenea utilizată în intoxicațiile cu compuși organofosforici (aceștia blocând centrul activ al enzimei).

În afară de aceste utilizări consacrate ale PChe, aceasta are și alte implicații diagnostice. Activitatea sa este un marker fidel al proteosintezei hepatice, fiind scăzută la pacienții cu ciroză și hepatită cronică, la subiecții cu malnutriție și/sau malabsorbție, precum la pacienții tratați cu L asparaginază (cunoscută ca interferând cu sinteza hepatică de proteine). În situațiile în care proteosinteza hepatică este accelerată (sindromul nefrotic, la pacienții cu hiperlipoproteinemii tip IIb și IV - asociate cu accelerarea sintezei hepatice de proteine și lipoproteine) activitatea PChe este crescută. La pacienții supraponderali hipertrigliceridemici activitatea crescută a PChe se corelează cu alte enzime de secreție hepatică cum sunt lecitin colesterol aciltransferaza (LCAT), factorul XIII stabilizator al fibrinei și factorii coagulării dependenți de vitamina K.

O creștere a activității PChe se observă și la pacienții cu hipertiroidism, precum și la subiecții cu obezitate de tip central, ambele condiții fiind asociate cu un turnover accelerat al acizilor grași liberi și al lipoproteinelor. Acest fenomen poate fi considerat un marker al sindromului metabolic, fără a face parte direct din patogeniza acestuia.

C16. Cytological Aspects of CSF

Ariadna Rădulescu

Fundeni Clinical Institute

The Central Nervous System (consisting of the brain and spinal chord) is protected by the cerebrospinal fluid that occupies the subarachnoid space, insuring the brain's functionality. The CSF comes in contact with the whole surface of the brain and the spinal chord. The cytological examination offers us information about the pathology of the subarachnoid space and of the parenchyma.

In theory, the cerebrospinal fluid is clear and colourless, and should not contain any cellular elements, but usually it contains about 5 cellular elements/ mm³.

In the benign cytology, besides the sanguine elements, there can also be found chondrocytes, macrophages, lipophages, giant poly-nuclear cells. A high number of lymphocytes indicate a viral meningitis or a non-specific chronic inflammation, while the neutrophilic granulocytes indicate an acute inflammatory process or a reaction to chemotherapy. A high number of red cells can indicate common procedural complication, a cerebral hemorrhage, or a neoplastic lesion.

In the malignant cytology, besides the already mentioned cellular components, there are also cells with malignant characteristics, but only if the tumor penetrates the spaces in which the CSF circulates.

In the cerebrospinal fluid generally appear only few malignant cells. In the case of cancer patients, only in 5-8% of the cases neoplastic lesions can be found in the subarachnoid space.

The responsiveness of the cytological examination is dependent upon the quantity of the examined liquid, the number of samples, the place from which it is drawn – lumbar or cisternal.

The cytodiagnosics raises problems regarding the difrential diagnosis between a reactional and a neoplastic cytology. The result must be combined with other investigations.

C16. Aspecte citologice în LCR

Ariadna Rădulescu

Institutul Clinic Fundeni, București

Sistemul nervos central (encefalul și măduva spinării) este protejat de lichidul cefalorahidian care ocupă spațiul subarahnoidian, asigurând în același timp buna funcționare a creierului. Lichidul cefalorahidian vine în contact cu întreaga suprafață a creierului și măduvei spinării. Examenul citologic ne oferă informații despre patologia atât a spațiului subarahnoidian cât și a parenchimului.

Lichidul cefalorahidian este limpede și incolor și teoretic fără elemente celulare, dar în mod normal se găsesc până la 5 elemente celulare / mm³.

În citologia benignă în afară de elemente sanguine se mai pot găsi condrocite, macrofage, lipofage, celule gigante multinucleate. Un număr ridicat de limfocite ne indică o meningită virală sau o inflamație cronică nespecifică, iar granulocitele neutrofile un proces inflamator acut sau reacție la chimioterapie. Un număr ridicat de hematii ne indică fie un accident de puncție, fie o hemoragie cerebrală, fie o leziune neoplazică.

În citologia malignă în afară de elementele celulare enumerate anterior apar și celule cu caractere de malignitate și aceasta numai dacă tumora face efracție spre spațiile în care circulă lichidul. În LCR apar în general puține celule maligne. În cazul pacienților cu cancer, numai la 5- 8% dintre ei se găsesc leziuni neoplazice în spațiul subarahnoidian.

Sensibilitatea examenului citologic depinde cantitatea de lichid examinat, de numărul de probe, locul unde este prelevat (lombar sau cisternal).

Citodiagnosticul ridică probleme de diagnostic diferențial între o citologie reacțională și una neoplazică, rezultat ce trebuie corelat și cu celelalte investigații.

R16. A preliminary study on the CSF proteomic analysis

Ileana Funduc

Fundeni Clinical Institute

The proteomic analysis aims at the discovery of biomarkers - proteins respectively - reflecting a particular state at a certain time. CSF is directly related to the central nervous system, so it interacts with the brain space and reflects any biochemical change it has. The proteomic analysis of CSF identifies biomarkers which diagnose and monitor the neurological disease. Proteomic analysis methodology is described comprising preanalytical phase and separation methods, identification and validation. It shows the distribution of major protein of normal CSF to be compared with plasma, also biomarkers that characterize various neurological diseases. Finally, research directions indicated on the identification

and biomarkers application for diagnosis and prognosis (peptidomics, posttranslational proteomics modification and metabolome) are shown.

R16. Studiu preliminar privind analiza proteomică a LCR

Ileana Funduc

Institutul Clinic Fundeni

Analiza proteomică are ca scop descoperirea de biomarkeri - respectiv proteine – care să reflecte o anumită stare la un moment dat. LCR fiind în directă legătură cu sistemul nervos central, interacționează cu spațiul creierului și reflectă orice modificare biochimică a acestuia. Analiza proteomică a LCR identifică biomarkerii care diagnostichează și monitorizează boala neurologică. Se descrie metodologia analizei proteomice ce cuprinde faza preanalitică și metodele de separare, identificare și validare. Se arată distribuția proteică majoră a LCR normal comparativ cu cea a plasmei și biomarkerii care caracterizează diferitele boli neurologice. În final se precizează direcțiile de cercetare privind identificarea și aplicarea biomarkerilor pentru diagnostic și prognostic (peptidomul, modificarea posttranslațională a proteomului și metabolomul).

R17. Autoantibodies and the utility of their predictive value in the diagnose of autoimmune diseases

Camelia Grigore¹, Nicolae Grigore²

1. Children`s Hospital, Sibiu; 2. University Lucian Blaga, Sibiu

The autoantibodies have a pathogenic role and a diagnostic role. If we found autoantibodies in asymptomatic patients serum, the question is: "is this a false positive reaction?" or "is the patient going to develop an autoimmune disease in the years to come?". Long term studies proved that autoantibodies exist in patients' serum many years before the onset of the disease, proving their predictive value. Asymptomatic patients, with anti mitochondrial antibodies were followed-up for many years, showing that after 5 years 50% were symptomatic and after 20 years, 95 % were symptomatic for primary billiary cirrhosis. For Addison's disease 50% of the patients with positive serum anti adrenal antibodies developed the disease in 13 years and for the children 70% of the patients with positive serum anti adrenal antibodies developed the disease in 10 years. A 15 years retrospective study, made on SLE patients proved that 88% were autoantibody positive 7-9 years before the onset of the disease.

For reumathoid arthritis 9 % were RF positive, 21% were CCP antibodies positive and 19 % had both antibodies positive before the clinical diagnosis. The RF showed up 11 years before the diagnosis, with a media of 4-5 years and CCP antibodies were positive in some patients 14 years before the clinical diagnose. For celiac disease the clinical studies followed 22.346 newborns with HLA DQ2/DQ8 typing and 386 were HLA positive and were followed with IgA antitransglutaminase antibodies for 7 years. 40 patients were positive and 19 were symptomatic for celiac disease in the next 7 years.

In many other autoimmune diseases, such as thyroid diseases, diabetes, antiphospholipidic syndrome, psychosis and depression we find the early onset of autoantibodies and in others the antibodies presence

can anticipate the complications of the disease (i.e. antinucleozom antibodies, anti ADNdc or anti C1q , can anticipate the lupic nephritis).

All these studies proved that the detection of autoantibodies in asymptomatic patients has to be followed by the long term surveillance of these patients in order to use their predictive value in the diagnosis of autoimmune diseases.

R17. Autoanticorpii și utilizarea valorii lor predictive în diagnosticul bolilor autoimune

Camelia Grigore¹, Nicolae Grigore²

1. Spitalul clinic de Pediatrie, Sibiu; 2. Universitatea Lucian Blaga, Sibiu

Autoanticorpii au dovedit rolul lor în patogenia și diagnosticul bolilor autoimune. Apariția unor autoanticorpi în serul unor pacienți asimptomatici ridică întrebarea dacă acest fapt este o reacție fals pozitivă sau dacă bolnavul va dezvolta în următorii ani o boală autoimună. Studiile au dovedit că prezența autoanticorpilor în serul pacienților precede cu un număr de ani instalarea simptomelor bolilor autoimune, dovedind valoarea predictivă a acestora. Au fost urmăriti pacienți asimptomatici care prezentau autoanticorpi antimitocondriali, punându-se în evidență faptul că 50% dintre acești deveneau simptomatici pentru ciroza biliară primitivă într-un interval de 5 ani, iar după 20 ani 95 % erau simptomatici. În cazul Bolii Addison 50 % dintre adulții cu autoanticorpi prezenți au dezvoltat boala într-un interval de 13 ani, iar în cazul copiilor 70% dintre cei cu autoanticorpi prezenți au dezvoltat boala într-un interval de 10 ani. Un studiu retrospectiv făcut pe serul pacienților cu LES, pe o perioadă de 15 ani, a dovedit că 88% dintre aceștia au avut autoanticorpi prezenți cu 7-9 ani înaintea diagnosticului clinic. În cazul artritei reumatoide 9% au avut Factor reumatoid pozitiv și 21% au avut anticorpi CCP pozitivi și 19 % au avut pozitivi ambele tipuri de anticorpi anterior diagnosticului clinic. Pozitivarea anticorpilor CCP s-a făcut cu 14 ani înaintea instalării simptomelor, iar prezența Factorului reumatoid a precedat cu 11 ani diagnosticul clinic de AR, media apariției acestor anticorpi fiind de 4-5 ani. În cazul bolii celiace au fost luați într-un studiu prospectiv 22.346 nou născuți la care s-a făcut determinarea pentru HLA DQ2/DQ8 și au fost găsiți 386 pacienți HLA pozitivi, iar aceștia au fost urmăriti timp de 7 ani cu testul pentru anticorpi IgA antitransglutaminază; dintre cei 40 pacienți care au avut testul pozitiv, 19 au fost diagnosticați cu boală celiacă în următorii 7 ani. În multe alte boli autoimune, cum sunt bolile tiroidiene, diabetul zaharat, sindromul antifosfolipidic, psihoza și depresiile, se constată apariția precoce a autoanticorpilor, iar în altele prezența acestora poate anticipa instalarea unor complicații (ex. anticorpii antinucleozomi, anti ADNdc sau anti C1q , care pot anticipa nefrita lupică).

Toate aceste studii dovedesc că depistarea unor autoanticorpi la pacienți asimptomatici trebuie să ducă la supravegherea pe termen lung a acestora, utilizand valoarea lor predictiva pentru stabilirea unui diagnostic precoce al acestor boli.

C17. Evolution of techniques for HbA1c dosage during the last decade: comparing chromatographic and photometric methods

Nemes-Nagy Enikő¹, Al-Aisa Abtessam Nariman², Al-Aissa Zahra³, Fazakas Zita¹, Victor Balogh-Sămărghițan¹, Simon-Szabó Zsuzsánna¹, Cosmina Uzun¹, Minodora Dobreanu⁴, Deborah Reid⁵, Trefor Higgins⁵

1. University of Medicine and Pharmacy, Tîrgu Mureș, Romania, Department of Medical Biochemistry; 2. University of Medicine and Pharmacy, Tîrgu Mureș, Romania, student; 3. Semmelweis Medical University, Budapest, doctoral student; 4. University of Medicine and Pharmacy, Tîrgu Mureș, Romania, Department of Clinical Laboratory; 5. Dynalifedx Diagnostic Laboratory, Edmonton, Canada

Glycosylated hemoglobin (HbA1c) is a key parameter in monitoring diabetes. **The aim** of the study was to present the evolution of techniques available for the determination of HbA1c during the last decade. **Methods:** The study was conducted between 2005-2015 using four chromatographic methods (Variant I, II, Micromat II, In2It) and one photometric (Nycocard Reader II). Were evaluated advantages/disadvantages of the methods and correlation between the values obtained. **Results and discussion:** The reference method for the HbA1c dosage is HPLC, such as the high capacity automatic analyzer Variant II and its predecessor, the semiautomatic Variant I. The small capacity semiautomatic analyzer Micromat II was replaced by the In2It (disadvantage: cartridge errors and high costs). Photometric methods are cheaper, using automatic biochemistry analyzers (ex. Konelab), or special devices like Nycocard Reader II (gives error in anemia). Results depend on storage conditions and precision of pipetting of the samples. Some chromatographic procedures (ex. Biomidi kit) are not sufficiently precise, HbA1c and HbF co-elute on the chromatographic column. Values obtained using the Biomidi kit and Variant I showed good correlation ($r=0.9582$, $p<0.05$) except for patients with persistent HbF, which causes falsely elevated HbA1c using the Biomidi kit. Correlation of the results was good in case of Micromat II and Variant I analyzers ($r=0.9742$, $p<0.05$). **Conclusions:** The most appropriate methods for the determination of HbA1c are automatic chromatographic procedures, having minimized pipetting errors. There is good correlation between the values obtained by the methods compared. HbA1c dosage by photometric methods is quite cheap and increasingly used.

Project financed from internal research grant no. 7 / 12.23.2014 of the University of Medicine and Pharmacy Tîrgu Mures, Romania.

C 17. Evoluția tehnicilor de dozare a HbA1c în ultimul deceniu: compararea unor metode cromatografice și fotometrice

Nemes-Nagy Enikő¹, Al-Aisa Abtessam Nariman², Al-Aissa Zahra³, Fazakas Zita¹, Victor Balogh-Sămărghițan¹, Simon-Szabó Zsuzsánna¹, Cosmina Uzun¹, Minodora Dobreanu⁴, Deborah Reid⁵, Trefor Higgins⁵

1. Universitatea de Medicină și Farmacie, Tîrgu Mureș, Disciplina de Biochimie; 2. Universitatea de Medicină și Farmacie, Tîrgu Mureș, student; 3. Universitatea Medicală Semmelweis, Budapesta, doctorand; 4. Universitatea de Medicină și Farmacie, Tîrgu Mureș, Departamentul Laborator clinic; 5. Dynalifedx Diagnostic Laboratory, Edmonton, Canada

Hemoglobina glicozilată (HbA1c) este un parametru esențial în monitorizarea diabeticilor. **Scopul** studiului a fost prezentarea evoluției tehnicilor disponibile pentru dozarea HbA1c în ultimul deceniu.

Metodă: Studiul s-a desfășurat între 2005–2015 utilizând patru metode cromatografice (Variant I, II, Micromat II, In2It) și una fotometrică (Nycocard Reader II). S-au evaluat avantajele/dezavantajele metodelor și corelația dintre valorile obținute. **Rezultate și discuții:** Metoda de referință pentru dozarea HbA1c este HPLC, cum ar fi analizorul automat Variant II de mare capacitate și predecesorul său semiautomat Variant I. Analizorul semiautomat de capacitate mică Micromat II a fost înlocuit cu aparatul In2It (dezavantaj: erori de cartuș și cost ridicat). Metodă mai ieftină este cea fotometrică, utilizând analizoare automate de biochimie (de ex. Konelab), sau aparate speciale ca Nycocard Reader II (apar erori la anemici). Rezultatele obținute depind de condițiile de păstrare a probelor și precizia pipetării. Unele metode cromatografice (ex. setul Biomidi) nu sunt suficient de precise, pe coloana cromatografică se coeluează HbA1c cu HbF. Valorile obținute utilizând setul Biomidi și Variant I au arătat corelație bună ($r=0,9582$, $p<0,05$) cu excepția pacienților cu HbF persistent, la care am obținut cu setul Biomidi valori fals ridicate ale HbA1c. Corelația rezultatelor a fost bună și în cazul analizatoarelor Variant I cu Micromat II ($r=0,9742$, $p<0,05$). **Concluzii:** Cele mai adecvate metode pentru dozarea HbA1c sunt cele cromatografice automate, la care erorile de pipetare sunt minimizate. Există corelație bună între valorile obținute prin metodele comparate. Metodele fotometrice de dozare a HbA1c sunt destul de ieftine și tot mai des utilizate.

Proiect finantat din Grantul intern de cercetare nr. 7/23.12.2014 de Universitatea de Medicină și Farmacie din Tirgu Mureș, Romania.

C18. A label-free impedance immunosensor for high-sensitivity C-reactive protein (CRP) detection

Savin Mihaela¹, Mihailescu Carmen-Marinela², Stan Dana⁴, Iosub Rodica³, Muscalu George³, Moldovan Carmen³

1. Department of Physical Chemistry, Faculty of Chemistry, University of Bucharest, Bd. Regina Elisabeta, No. 4–12, Bucharest, Romania;
2. DDS Diagnostic, Gh.Sincai Street no.9A, 040312, Bucharest, Romania;
3. National Institute for R&D in Microtechnologies (IMT), 126A Erou Iancu Nicolae, 077190, Bucharest, Romania;
4. Telemedica, Str. Ion Calin, No.13, Bucharest, Romania

This paper proposes accuracy determination of an immunosensor for direct electrochemical detection of hsCRP. The principle of this sensor is: interaction between monoclonal antibodies and protein CRP from human serum resulting in a change in electron transfer resistance directly proportional to the amount of protein CRP in the samples. These antibodies were previously covalently immobilized onto interdigitated gold electrodes through mixed self assembled monolayers. Currently CRP is diagnosed with ELISA, nephelometry and turbidimetry assays. The major advantages of this immunosensor comparative with the conventional methods are the possibility to transform into a point of care device (POC), rapidity of detection and high sensitivity. For the accuracy, human serum samples from 100 patients were tested by the immunoturbidimetry as reference method and also with the immunosensor by electrochemical method. CRP was determinate for 100 patients with reference method, yielding values between 0.1–21 mg / L (3.15 ± 0.35 mg / L). This immunosensor could be used only for patients with values below 3 mg / L since the linearity range for detection of hsCRP is between 0.01– 3 mg / L. The values obtained with the immunosensor were between 0.097–3 mg/L (1.09 ± 0.10 mg/L). The least square regression equation and

correlation coefficient were computed for the immunosensor in comparison with the reference method and the correlation coefficient is 0.98. The development of sensors represent, thanks to its advantages, a very promising alternative to current methods for detection of hsCRP especially due the possibility to it transform into a POC device with very small size.

Acknowledgments. This work was published with the financial support of the project PN-II-PT-PCCA-2011-3.2-0649 (IMUNOPLAT).

C18. Imunosenzor bazat pe detecția directă impedimetrică de proteină C reactivă de înaltă sensibilitate (hsCRP)

Savin Mihaela¹, Mihăilescu Carmen-Marinela², Stan Dana⁴, Iosub Rodica³, Muscalu George³, Moldovan Carmen³

1. Departamentul de Fizică-Chimie, Facultatea de Chimie, Universitatea din București, Bd. Regina Elisabeta, Nr. 4-12, București, Romania; 2. DDS Diagnostic, Bulevardul Șincai nr.9A, 040312, București, România; 3. Institutul Național pentru Cercetare și Dezvoltare în Microtehnologii (IMT), 126A, Erou Iancu Nicolae, 077190, București, România; 4 Telemedica, Str. Ion Călin, Nr.13, București, România

În acest studiu s-a propus determinarea acurateții unui imunosenzor pentru detecția directă de hsCRP folosind semnal electrochimic. Principiul este următorul: interacția dintre anticorpii monoclonali anti-CRP și proteina CRP din probele de ser uman conduc la modificarea rezistenței de transfer electronic la suprafața traductorului direct proporțională cu cantitatea de proteină CRP din probe. Acești anticorpi au fost anterior imobilizați covalent pe electrozii interdigitați de aur prin monostraturi auto-asamblate mixte.

În prezent, CRP este dozată prin ELISA, nefelometrie și turbidimetrie. Avantajele majore ale acestui imunosenzor comparativ cu metodele convenționale sunt: posibilitatea de a se transforma într-un dispozitiv portabil, rapiditatea și sensibilitatea ridicată. Pentru determinarea acurateții, probe de ser uman provenite de la 100 pacienți au fost testate prin metoda imunoturbidimetrică și respectiv prin metoda electrochimică. S-a determinat proteina C-reactivă pentru 100 de pacienți cu metoda de referință obținându-se valori între 0.1 - 21 mg / L ($3, 15 \pm 0, 35$ mg / L). Imunosenzorul poate fi utilizat numai pentru pacienții cu valori sub 3 mg / L, deoarece intervalul de liniaritate pentru detectarea hsCRP este între 0,01-3 mg / L. Valorile obținute au fost cuprinse între 0.097-3 mg / L ($1,09 \pm 0,10$ mg / L). S-a calculat ecuația de regresie liniară și coeficientul de corelare între metoda de referință și metoda electrochimică aplicată pe imunosenzor și s-a obținut un coeficient de corelare de 0.98. Realizarea de imunosenzori reprezintă, datorită avantajelor sale, o alternativă foarte promițătoare la metodele actuale pentru dozarea de hsCRP în special datorită posibilității de a se transforma într-un dispozitiv portabil de dimensiuni foarte mici.

C19. Volatile organic compounds: detection methods in health and disease

Bogdan Calenic, Daniela Miricescu, Justina Virlean, Alexandra Totan, Radu Radulescu, Maria Greabu

Department of Biochemistry, Faculty of Dental Medicine, University of Medicine and Pharmacy Carol Davila, Bucharest, Romania

Introduction: Exhaled breath of healthy humans contains a large number of volatile organic compounds (VOCs) derived from cellular metabolism, released by microorganisms or taken up from the

environment. Qualitative or quantitative changes in their composition are associated with diseases and various pathological conditions. The present study is focusing on assaying a breath test that can allow for a non-invasive assessment of different specific enzymes' phenotypic functionality. The aim of the present study was to test alcohol dehydrogenase activity.

Methods: In the study volunteers received 2-propanol that was converted to d3-acetone by alcohol dehydrogenase. The enzyme activity was analyzed indirectly at different time points using proton transfer reaction time-of-flight mass spectrometry.

Results: D3-acetone exhaled breath concentrations up to 30 ppb (at maximum). Parallel consumption of ethanol seems to reduce the activity of the enzyme, resulting in approximately 15–30% reduction of the produced d3-acetone.

Conclusion:

High sensitivity analytical technologies, such as proton transfer reaction time-of-flight mass spectrometry, enable the detection of different volatile targets at very low concentrations and can be used for phenotypic determination of different enzyme activities.

Compuși organici volatili: metode de detecție în condiții normale și patologice

Bogdan Calenic, Daniela Miricescu, Justina Virlean, Alexandra Totan, Radu Radulescu, Maria Greabu

Catedra Biochimie, Facultatea Medicină Dentară, UMF Carol Davila, București, Romania

Introducere: Aerul expirat conține un număr mare de compuși organici volatili derivat din metabolismul celular, eliberați de microorganisme sau preluați din mediul înconjurător. Schimbările calitative sau cantitative în compoziția aerului expirat sunt asociate cu diferite afecțiuni patologice. Studiul de față se concentrează pe analiza unui test respirator care poate permite o evaluare non-invazivă a unor enzime umane. Scopul studiului este de a testa activitatea alcool dehidrogenazei.

Metode: În protocolul de studiu voluntarii au primit 2-propanol, care a fost convertit la acetonă de către alcool dehidrogenaza. Activitatea enzimei a fost analizată în mod indirect la diferite momente de timp utilizând PTR-TOF-MS (proton transfer reaction time-of-flight mass spectrometry).

Rezultate: Acetona a fost decelată în aerul expirat în concentrații de până la 30ppb până la 30 de minute după ingestie. Consumul de etanol în paralel pare să reducă activitatea enzimei, cu aproximativ 15-30%.

Concluzie: Tehnologiile analitice de mare sensibilitate, cum ar fi PTR-TOF-MS permit detectarea diferitelor markeri volatili la concentrații foarte mici și pot fi folosite pentru determinarea în timp real a activității enzimatică.

P36. Is INF γ A874T gene a risk factor or a predictive factor in non-Hodgkin lymphoma?

George Crauciuc, Florin Tripon, Anda Ștefan, Cristina Radu, Claudia Bănescu

University of Medicine and Pharmacy of Tîrgu-Mureș

Background: It is possible that a single nucleotide polymorphism (SNP) in the Interferon gamma (INF γ) gene with the A to T substitution in 874 position could be involved in non-Hodgkin lymphoma (NHL) development, response to treatment and prognostic.

Objective: The aim of the study was to see if there are some correlation between INF γ A874T gene mutation and NHL. In addition we investigated if the variant genotype affects the evolution, stages and the prognostic of the disease. **Material and methods:** We performed a case-control study which included a control group with 131 healthy persons, with no history of any malignancy and a patients group with 78 NHL cases. The genomic DNA was amplified using specific primers and ARMS - PCR technique.

Results: The genotypes found in the control group were: 20.6% TT, 56.4% AT, 22% AA on the other hand in the patients group we found the following genotypes variants: 27.9% TT, 58.5% AT, 27.9% AA. In statistically terms the A allele is not a risk factor to develop NHL ($p=0.83$; $OR=0.9$; $CI95\%=0.39-2.04$) but we observed that 66.13% and 47.37% of patients with this allele was in the 3/4 Ann Arbor ($p=0.871$, $OR=0.93$ $CI95\%=0.49-1.77$) respectively ECOG ($p=1.00$, $OR=1.00$, $CI95\%=0.507-1.97$) stages. Moreover, 84.21% of NHL patients with A allele have a 2-3 times higher LDH value ($p=0.05$, $OR=1.96$, $CI95\%=1.02-3.76$). We analyzed the survival rate, duration of remission and treatment response but the mutation of this gene from the statistically point of view is not associated with NHL. **Conclusion:** The presence of A allele in INF γ 874 position is not a risk or a prognostic factor in NHL patients. The LDH value is influenced by the mutant allele but future studies with a large number of patients can prove our results.

P36. Este gena INF γ A874T un factor de risc sau de prognostic în limfomul non-Hodgkin?

George Crauciuc, Florin Tripon, Anda Ștefan, Cristina Radu, Claudia Bănescu

Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu-Mureș

Introducere: Este posibil ca polimorfismul unei singure nucleotide în gena INF γ A874T, produsă prin substituția unui nucleotid de A cu T în poziția 874 să poată avea un rol în apariția limfomului non-Hodgkin (LNH), răspunsului la tratament și în prognosticul bolii. **Obiective:** Scopul studiului a fost să evidențiem existența unei posibile corelații între mutația genei INF γ A874T și LNH. În al doilea rând am urmărit implicarea în evoluția, stadiu și în prognosticul bolii a variației genotipurilor. **Materiale și metodă:** Am realizat un studiu caz-control format din 131 de persoane fără vreo malignitate, care au format grupul control, și 78 de pacienți diagnosticați cu LNH. ADN-ul a fost amplificat utilizând primeri specifici și tehnica ARMS – PCR. **Rezultate:** În grupul control frecvența genotipurilor a fost: 20.6% TT, 56.4% AT, 22% AA iar în lotul pacienților: 27.9% TT, 58.5% AT, 27.9% AA. Din punct de vedere statistic

alela A nu reprezintă un factor de risc în apariția LNH ($p=0.83$; $OR=0.9$; $CI95\%=0.39-2.04$) dar am observat 66.13% respectiv 47.37% dintre pacienții care au prezentat această alelă au fost în stadiul 3-4 Ann Arbor ($p=0.871$, $OR=0.93$ $CI95\%=0.49-1.77$) respectiv ECOG ($p=1.00$, $OR=1.00$, $CI95\%=0.507-1.97$), însă fără să fie semnificativ statistic. În funcție de valoare LDH, s-a observat că pacienții cu LNH și cu alela A au o valoare de 2-3 ori mai mare a LDH-ului în 84.21% din cazuri față de cei cu alela normală ($p=0.05$, $OR=1.96$, $CI95\%=1.02-3.76$). Analizând rata de supraviețuire, durata de remisiune și răspunsul la tratament din punct de vedere statistic nu există asociere între mutația acestei gene și LNH. **Concluzie:** Prezența alelei A în poziția 874 a genei $INF\gamma$ nu este factor de risc sau de prognostic în cazul pacienților cu LNH. Valoarea LDH este influențată de alela mutantă însă studii viitoare pe un număr mai mare de pacienți sunt necesare pentru a verifica rezultatele noastre.

P37. Tumor Necrosis Factor- α , a Risk Factor for Acute Myeloid Leukemia Development

George-Valeriu Moldovan, Carmen Duicu, Alina Bogliș, Andrei Crauciuc, Florin Tripon, Claudia Bănescu

University of Medicine and Pharmacy Tîrgu-Mureș

Background: Tumor necrosis factor- α (TNF- α) gene encodes important immunoregulatory cytokines that are critical mediators of inflammation and apoptosis, therefore being suitable candidates for leukemogenesis. The involvement of polymorphisms at position -308 in the promoter region of TNF- α gene have not been previously reported in acute myeloid leukemia (AML) patients.

Material and method: The present study aims to evaluate the influence of TNF- α -308 G/A polymorphism as a possible risk factor for acute myeloid leukemia (AML) development.

We performed a case-control study, which included 45 AML patients and 90 healthy controls, with no history of malignancy. The genetic polymorphism of TNF- α -308 G/A was assessed by ARMS-PCR followed by agarose gel electrophoresis.

Results: Genotyping revealed the presence of wild-type homozygous G/G in 33.33% (15/45) of AML patients and 52.22% (47/90) of healthy controls. A frequency of 66.67% (30/45) ($p=0.05$, $OR=2.23$, $95\%CI=1.06-4.72$) was observed for the heterozygous G/A AML patients, while in the control group G/A was identified in 46.66% (42/90) of individuals. Unexpectedly, no variant homozygous A/A were observed in the patients group, while one healthy control presented this genotype. No association ($p>0.05$) between patients' genotype and FAB classification was found.

Conclusion: Our data suggest that TNF- α -308 G/A polymorphism might be a risk factor associated to acute myeloid leukemia (AML) occurrence.

Acknowledgement: This work was supported by Internal Research Grants of the University of Medicine and Pharmacy Tîrgu-Mures, Romania, Project no. 19/11.12.2013.

P37. Factorul de Necroză Tumorală- α , un Factor de Risc Pentru Dezvoltarea Leucemiei Acute Mieloide

George-Valeriu Moldovan, Carmen Duicu, Alina Bogliș, Andrei Crauciuc, Florin Tripon, Claudia Bănescu

Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu-Mureș

Introducere: Gena factorului de necroză tumorală- α (TNF- α) codifică importante citokine imunomodulatoare, mediatori critici ai inflamației și apoptozei, fiind deci un posibil candidat pentru studiul apariției și progresiei leucemiilor. Implicarea polimorfismelor din poziția -308 a regiunii promotor a genei TNF- α nu au fost raportate anterior la pacienții cu leucemie acută mieloidă (LAM).

Material și metodă: Prezentul studiu evaluează influența polimorfismului TNF- α -308G/A ca posibil factor de risc pentru dezvoltarea LAM. Am efectuat un studiu caz-control, incluzând 45 de pacienți cu LAM și 90 de persoane sănătoase, fără patologie malignă. Polimorfismul genetic al TNF- α -308G/A fost evaluat folosind ARMS-PCR, urmat de electroforeză în gel de agaroză.

Rezultate: Genotiparea a evidențiat prezența homozigoților normali G/G în 33,33% (15/45) dintre pacienții cu LAM și în 52,22% (47/90) dintre martori. O frecvență de 66,67% (30/45) ($p = 0,05$, OR = 2,23, 95% CI = 1,06-4,72) a genotipului heterozigot G/A fost observată la pacienții cu LAM, în timp ce în grupul de control, genotipul G/A a fost identificat în 46,66% (42/90) dintre cazuri. În mod neașteptat, homozigoții mutați A/A nu au fost evidențiați în grupul LAM, în timp ce un martor sănătos a prezentat acest genotip. Nu a fost evidențiată asociere ($p > 0,05$) între clasificarea FAB și genotipul pacienților.

Concluzie: Datele noastre sugerează că polimorfismul TNF- α -308G/A ar putea reprezenta un factor de risc în apariția leucemiei acute mieloide.

Studiul a fost parțial susținut de Grantul de Cercetare Internă al Universității de Medicină și Farmacie Tîrgu-Mureș, România. Contract nr.19/11.12.2013.

P38. Platelets phagocytosis by myeloma cells. Case report.

Mariana Pațiu, Cristina Selicean, Delia Dima, Bogdan Fetica, Mihnea Zdrengea

Oncology Institute Prof. Dr. I. Chiricuță, Cluj-Napoca

Thrombocytopenia is an uncommon finding in multiple myeloma at diagnosis. It is usually reported during follow-up (secondary to bone marrow replacement by malignant plasma cells or to chemotherapy, including therapy related myelodysplasia, rarely immune mediated).

We report a myeloma patient with severe thrombocytopenia and important platelets phagocytosis by myeloma cells.

A 63-year-old male dialyzed for a recent diagnosed renal failure, was admitted in our department for hemorrhagic complication. Complete blood count at admission showed a normocytic normochromic anemia (Hgb 8,8 g/dl, MCV 82 fL) and severe thrombocytopenia ($44 \times 10^3/\mu\text{L}$). Other relevant investigations were: increased total proteins (13,2 g/dl), serum creatinine (9,24 mg/dl), IgG (6821 mg/dl), and decreased IgA (30 mg/dl) and IgM (4 mg/dl). Serum immunoelectrophoresis revealed monoclonal IgG - λ .

Bone marrow cytology showed a heavy infiltration (90%) with atypical plasma cells, which exhibited evident hemophagocytosis (mainly platelets, rare erythrocytes, neutrophils and even myeloma cells).

Diffuse CD 138+ plasma cells infiltration with prominent lambda monoclonality was demonstrated in a bone marrow biopsy.

Hemophagocytosis by myeloma cells has been rarely reported and the mechanism is still unknown. Severe cytopenias in multiple myeloma are plurifactorial and hemophagocytosis should be considered as a possible cause.

P38. Trombocitofagocitoză în mielom multiplu. Prezentare de caz.

Mariana Pațiu, Elena-Cristina Selicean, Delia Dima, Bogdan Fetica, Mihnea Zdrengea

Institutul Oncologic Prof. Dr.I. Chiricuță, Cluj-Napoca

Trombocitopenia este o modificare neobișnuită la debutul mielomului multiplu. Se descrie de obicei în cursul evoluției bolii (datorită infiltratului medular cu celule mielomatoase, chimioterapiei, mielodisplaziei secundare acesteia, rareori mediată imun).

Prezentăm un caz de mielom multiplu cu trombocitopenie severă și trombocitofagocitoză importantă la nivelul celulelor mielomatoase.

Un pacient de sex masculin, 63 de ani, dializat pentru o insuficiență renală recent diagnosticată, s-a prezentat în serviciul nostru pentru complicații hemoragice. Hemograma la internare a arătat anemie normocitară normocromă (Hgb 8,8 g/dl, VEM 82 fL) și trombocitopenie severă ($44 \times 10^3 / \mu\text{L}$). Investigațiile biochimice relevante au arătat hiperproteinemie (13,2 g/dl), valori crescute ale creatininei serice (9,24 mg/dl) și ale Ig.G (6821 mg/dl). Ig.A și Ig.M au prezentat valori scăzute. Imunelectroforeza cu imunofixare a demonstrat monoclonalitate Ig.G - lambda.

Examenul microscopic al măduvei a arătat un infiltrat major (90%) cu plasmocite atipice, care prezentau hemofagocitoză importantă (trombocite, rar eritrocite, segmentate neutrofile și chiar celule mielomatoase). Imunohistochimia efectuată pe biopsia osteo-medulară a arătat un infiltrat difuz cu plasmocite CD138+, cu monoclonalitate lambda.

Hemofagocitoza în celulele mielomatoase este un eveniment foarte rar descris, cu mecanism încă neelucidat. Citopeniile severe în mielomul multiplu sunt cel mai frecvent plurifactoriale și hemofagocitoza poate fi unul din mecanismele implicate.

P39. Effects of the *TNF-α* gene on the lymphoma development, prognosis and outcome: a case-control study

Florin Tripon, George Crauciuc, Cristina Radu, Anda Ștefan, Claudia Bănescu

University of Medicine and Pharmacy Tîrgu Mureș

Background: As the promoter variants of Tumor Necrosis Factor alpha (*TNF-α*), an important regulator of immune and inflammation responses, might be implicated in lymphoma development and prognosis, we studied the *TNF-α* G308A gene polymorphism in patients with malignant lymphoma, Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma. **Material and methods:** We performed a case-control study which included 80 lymphoma patients and a control group with 103 healthy persons. The *TNFα* G308A single nucleotide polymorphism was determined by ARMS technique utilizing specific primers. **Results:** In the control group we found the following genotypes: 59 GG- wild-type, 43 GA-heterozygous and 1

AA- homozygous variant. In the patients' group 48 were homozygous wild type, 30 heterozygous and 2 homozygous variant. The variant A allele is not statistically associated with the risk of developing lymphoma ($p=0.58$; OR: 2.45; CI 95%: 0.21-27.95). The lymphoma patients with this allele have an increased survival rate, the overall survival at 5 years from diagnosis in similar conditions of treatment (chemotherapy and radiotherapy) excluding other causes of death according to the genotype is GG 79.17%; GA 83.37% and AA 100% ($p<0.0001$, OR: 0.0034, CI 95%: 0.002-0.05). The patients resistant to treatment (chemotherapy and radiotherapy) have the following genotypes: 63.88% GG, 33.33% GA and 2.79% AA. The complete remission of disease according to the genotypes was: 54.54% GG, 36.36% GA and 9.1% AA ($p=0.07$, OR: 0.65, CI 95%: 0.406-1.04). **Conclusions:** The variant A allele resulted after an single nucleotide polymorphism (SNP) is not a risk factor to developing lymphoma. Moreover, the effects of this SNP are beneficial in lymphoma patients. Future studies with a larger number of patients are needed.

P39. Efectele genei TNF- α în apariția, prognosticul și remisia limfoamelor: studiu caz-control

Florin Tripon, George Crauciuc, Cristina Radu, Anda Ștefan, Claudia

Bănescu

Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș

Introducere: Variantele promotorului genei Factorului de Necroză Tumorală alpha (TNF α), un important factor reglator al imunității și al răspunsului inflamator, pot să fie implicate în apariția, prognosticul și remisia limfoamelor. În acest scop am investigat polimorfismul genei TNF- α G308A la pacienți cu limfoame Hodgkin și non-Hodgkin. **Materiale și metodă:** În acest studiu caz-control au fost incluși un număr de 80 de pacienți cu limfoame și un grup control format din 103 persoane sănătoase. Polimorfismul uninucleotidic al genei TNF- α G308A a fost determinat folosind primeri specifici și tehnica ARMS pentru amplificare. **Rezultate:** În grupul control am găsit următoarele genotipuri: 59 GG-”tipul sălbatic”, 43 GA-heterozigoți și 1 AA-homozigot mutant, iar în grupul de pacienți cu limfoame 48 de pacienți au avut ”tipul sălbatic”, 30 au fost heterozigoți și 2 homozigoți mutanți. Din punct de vedere statistic alela A nu este asociată cu riscul de apariție a limfoamelor ($p=0.58$; OR: 2.45; IC 95%: 0.21-27.95), dar pacienții cu această alelă au o rată de supraviețuire mai mare. Supraviețuirea globală la 5 ani de la diagnostic, în condiții similare de tratament (chimioterapie și radioterapie), și excluzând alte cauze de deces, are următoarea distribuție în funcție de genotip: GG 79.17%; GA 83.37% și AA 100% ($p<0.0001$, OR: 0.0034, CI95%: 0.002-0.05). Pacienții care au dezvoltat rezistență la tratament (chimioterapie și radioterapie) au avut următoarele genotipuri: 63.88% GG, 33.33% GA și 2.79% AA. Remisia completă a bolii versus genotipul pacienților a avut următoarea distribuție: 54.54% GG, 36.36% GA și 9.1% AA ($p=0.07$, OR: 0.65, CI95%: 0.406-1.04). **Concluzii:** Alela A, rezultat al unui polimorfism uninucleotidic nu este un factor de risc în apariția limfoamelor, mai mult decât atât, efectele acestui polimorfism sunt benefice în cazul acestor pacienți. Studii viitoare cu un număr mai mare de pacienți ar putea confirma acestea.

P40. EDTA (etilendiaminotetraacetic acid) induced pseudothrombocytopenia – case report

Adriana Diaconu¹, Tudor Neamțu², Ana-Maria Marcu¹, Marina Constantin¹, Marius Iulian Ungureanu¹, Horațiu Vultur¹, Georgiana Nicolae¹, Georgiana Bălan¹

1. „Carol Davila” University of Medicine and Pharmacy Bucharest, Pediatric Clinic, Fundeni Clinical Institute 2. Pediatric Clinic, Fundeni Clinical Institute

Introduction: EDTA induced pseudothrombocytopenia is defined as a low platelet count induced by agglutinating antibodies that cause „in vitro” platelet clumping, in the presence of an EDTA type anticoagulant.

Aims: We present the case of a male toddler, aged 2 years and 5 months admitted in Fundeni Pediatric Department for chronic thrombocytopenia.

Methods: Patient with no significant pathological history is transferred in our Clinic for thrombocytopenia without hemorrhagic syndrome at the clinical exam. Blood has been collected in an EDTA vial that was processed after 30 minutes with an automated analyzer (Sysmex XT 2000I). The „flag” raised by the automated analyzer and the low platelet count result (37000/mm³) points to the suspicion of platelet clumps in the examined sample. By analyzing the contrast between the absence of a hemorrhagic syndrome and the low platelet count it has been decided to do a platelet count using two other methods: the optical microscopy count and the automated analyzer count using heparin. The discrepancy between the results of the automated count with EDTA (37000/mm³) and those of the automated count with heparin (136000/mm³) and the optical microscopy count (215000/mm³) was noticed. The bone marrow aspirate revealed normal aspects. The coagulation tests were within normal range.

Conclusions: Even though EDTA induced pseudothrombocytopenia occurs with an incidence of approximately 0.1% in the general population, we recommend that an optical microscopy platelet count be performed for every patient with severe thrombocytopenia and no clinical manifestation.

P40. Pseudotrombocitopenia indusă de acidul etilendiaminotetraacetic (EDTA)

Adriana Diaconu¹, Tudor Neamțu², Ana-Maria Marcu¹, Marina Constantin¹, Marius Iulian Ungureanu¹, Horațiu Vultur¹, Georgiana Nicolae¹, Georgiana Bălan¹

1. „Carol Davila” University of Medicine and Pharmacy Bucharest, Pediatric Clinic, Fundeni Clinical Institute 2. Pediatric Clinic, Fundeni Clinical Institute

Introducere: Pseudotrombocitopenia indusă de acidul etilendiaminotetraacetic (EDTA) este definită ca un număr fals scăzut de trombocite, indusă de anticorpi care provoacă aglutinarea „in vitro” a plachetelor, în prezența unui anticoagulant de tipul EDTA.

Scopul lucrării: Prezentăm cazul unui pacient de 2 ani și 5 luni internat în Clinica de Pediatrie a Institutului Clinic Fundeni pentru trombocitopenie.

Material și metodă: Pacient fără antecedente personale patologice semnificative este transferat în Clinica noastră pentru trombocitopenie. S-a recoltat o probă de sânge pe EDTA care s-a lucrat după aproximativ 30 de minute pe analizorul automat (Sysmex XT 2000I). Datorită apariției unui „flag” pe

rezultatul indicat de analizorul automat și a numărului scăzut de trombocite (37000/mm³) se ridică suspiciunea existenței unor aglutinate trombocitare în proba recoltată. Analizând contrastul între absența sindromului hemoragipar și numărul redus de trombocite determinat la analizorul automat s-a decis numărarea trombocitelor utilizând alte două metode: prin microscopie optică și la analizorul automat din proba de sânge recoltată pe heparină. S-a observat astfel diferența între rezultatele obținute din proba recoltată pe EDTA (37000/mm³) și cele prin numărătoare directă la microscopul optic (215.000/mm³), precum și din proba de sânge recoltată pe heparină pe analizorul automat (136000/mm³). Frotiul de aspirat medular nu a evidențiat aspecte patologice. Probele de coagulare au fost în limite normale.

Concluzii: Deși această situație apare cu o incidență de aproximativ 0,1% în populația generală, se recomandă efectuarea numărătorii directe a trombocitelor prin microscopie optică la orice pacient cu trombocitopenie severă fără manifestări clinice.

P41. Cytogenetic abnormalities in pediatric patients with multiple congenital anomalies

Alina Bogliș¹, Claudia Bănescu², Andrea Kulcsar¹, Valeriu Moldovan²

Emergency Clinical County Hospital of Târgu Mureș; 2. Department of Genetics, University of Medicine and Pharmacy of Târgu Mureș

Objectives: Determine the frequency and types of chromosomal abnormalities identified by conventional cytogenetics in children with multiple congenital anomalies.

Material and methods: The study group includes 469 pediatric age patients in which cytogenetic analysis was performed, in the genetic office of the Emergency Clinical County Hospital of Tg. Mures, between 2006 and 2015, showing three or more birth defects with/without mental retardation or growth retardation, abnormal sexual development. Were initiated short-term cell culture (lymphocytes) from peripheral blood and GTG banding was performed in obtained metaphases.

Results: Our sample consisted of 469 children, 257 females and 212 males; cytogenetic anomalies were observed in 194 patients (41.4%), of which 180 (38.4%) had complete aneuploidies, 14 (3%) had mosaic and 28 (6%) had structural abnormalities. As for the chromosomal anomalies, 166 (35.4%) were numerical anomalies: autosomal in 163 patients (133 patients had trisomy 21, 6 had trisomy 13, 2 with trisomy 18, 2 patients had mosaicism of trisomy 8) and 31 (6.6%) were sex chromosome abnormalities, of which 22 (4.7%) with Turner syndrome. The most common structural abnormalities were deletions (1.7%) and inversions (1%). Chromosomal abnormalities were detected mainly in women.

Conclusion: Routine cytogenetic analysis is required to investigate children with multiple congenital malformations of unknown cause to confirm the clinical diagnosis and granting genetic counseling of patients and families.

P41. Anomalii citogenetice la pacienții pediatrici cu multiple anomalii congenitale

Alina Bogliș¹, Claudia Bănescu², Andrea Kulcsar¹, Valeriu Moldovan²

Spitalul Clinic Județean de Urgență, Târgu Mureș 2. Departamentul de Genetică, Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu-Mureș

Obiective: Determinarea frecvenței și analizarea tipurilor de anomalii cromozomiale depistate prin citogenetică clasică la copii cu multiple malformații congenitale.

Material și metode: Lotul de studiu cuprinde 469 pacienți de vârstă pediatrică la care s-a efectuat analiza cromozomială convențională, în cadrul cabinetului de genetică al Spitalului Clinic Județean de Urgență Tg. Mureș în perioada 2006-2015, prezentând trei sau mai multe malformații congenitale cu/fără retard mental, respectiv retard de creștere, tulburări de diferențiere sexuală. S-au inițiat culturi celulare (limfocite) de scurtă durată, din sângele periferic și s-a efectuat bandarea GTG a metafazelor obținute.

Rezultate: Eșantionul nostru a constatat în 469 copii, 257 de sex feminin, 212 de sex masculin; anomaliile cromozomiale s-au observat la 194 pacienți (41,4%), dintre care 180 (38,4%) au fost aneuploidii omogene, 14 (3%) mozaicisme și 28 (6%) fiind anomalii structurale. La 166 pacienți (35,4%) au fost anomalii cromozomiale numerice: autozomale la 163 pacienți (133 pacienți cu trisomie 21, 6 cu trisomie 13, 2 cu trisomie 18, 2 pacienți cu trisomie 8 în mozaic), respectiv anomalii heterozomale 31 (6,6%) dintre care 22 (4,7%) cu sindrom Turner. Cele mai frecvente anomalii structurale sunt delețiile (1,7%) și inversiile (1%). Anomaliile cromozomiale au fost identificate preponderent la sexul feminin.

Concluzie: Analiza citogenetică de rutină este necesară pentru investigarea copiilor cu multiple malformații congenitale de cauză necunoscută pentru confirmarea diagnosticului clinic, respectiv acordarea sfatului genetic pacienților și familiei.

P42. Investigation of the Pleural Fluid and Blood in the Diagnosis of Pulmonary Diseases

Ana-Maria Drăgan

University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy Municipal Hospital „dr. Gavril Curteanu”, Oradea

Introduction: Pleural fluid may be transudative and exudative. The study consisted in the biochemical and cytological investigation of the pleural fluid and blood in patients in the Pulmonology and Phtisiology ward. **Materials and methods:** The study included 286 patients (mostly men-164), aged 3-90 years, enrolled in two groups: Group I: 260 patients who underwent biochemical and cytological examination of the pleural fluid; the tests performed concerned: protein, LDH (lactate dehydrogenase), glucose and ADA (adenosine deaminase) in 154 patients; cytological examination was performed on Giemsa-stained smears. Group II: 26 patients (15 children) in whom the ADA level in the blood was determined. **Results:** Group I: The biochemical examination of the pleural fluid showed protein values of 69.23% > 3 mg/dl, in most patients (180); LDH values were > 200U/l in 149 patients; glucose values were > 60 mg/dl in 231 patients, between 60-10mg/dl in 18 patients; < 10mg/dl in 11 patients; ADA values in pleural fluid were above the reference value in 38.96% of the patients (60). The cytological

examination revealed inflammatory changes in most patients (175), intense inflammatory changes in 35 patients and suggested malignant changes in 26 patients. Group II: All patients in the study had ADA values higher than the reference value (18U/l). **Conclusions.** Increased values of ADA (in the pleural fluid and blood) and of the proteins and the predominance of lymphocytes support the idea of specific etiology. The evaluation of the biochemical tests in combination with the cytological examination allow for determining the etiology of the pleural fluid. The evaluation of ADA level in the blood of patients without pleural effusion in a clinical context directs the diagnosis towards a specific etiology.

P42. Investigarea lichidului pleural și a sângelui în diagnosticul pneumopatiilor

Ana-Maria Drăgan

Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie Spitalul Clinic Municipal „dr. Gavril Curteanu”, Oradea

Introducere. Lichidul pleural poate fi transudat și exudat. Studiul a cuprins investigarea biochimică și citologică a lichidului pleural și a sângelui la pacienții din secția de Pneumoftiziologie. **Material și metode.** S-au luat în studiu 286 pacienți (majoritatea bărbați-164) cu vârsta între 3-90 ani, cuprinși în două loturi: I: 260 pacienți la care s-a efectuat examen biochimic și citologic al lichidului pleural; testele urmărite au fost: proteine, LDH, glucoza și ADA (adenozindeaminaza) la 154 pacienți; examenul citologic s-a realizat pe frotiuri colorate Giemsa. II: 26 pacienți (15 copii) la care s-a determinat ADA din sânge. **Rezultate.** Lotul I: La examenul biochimic al lichidului pleural valorile proteinelor au fost la majoritatea pacienților (180), 69,23% >3mg/dl; valorile LDH au fost >200U/l la 149 pacienți; valorile glucozei au fost >60 mg/dl la 231 pacienți, între 60-10 mg/dl la 18 pacienți; < 10mg/dl la 11 pacienți; valorile ADA din lichidul pleural au fost peste valoarea de referință la 38,96% din pacienți (60). Examenul citologic a evidențiat modificări inflamatorii la majoritatea pacienților (175); intens inflamatorii la 35 pacienți și a sugerat modificări maligne la 26 pacienți. Lotul II. La toți pacienții luați în studiu valoarea ADA a fost mai mare decât referința (18U/l). **Concluzii.** Valorile crescute ale ADA (în lichidul pleural și sânge), proteinelor și predominanța limfocitelor, pledează pentru etiologie specifică. Evaluarea testelor biochimice în asociere cu examenul citologic permit stabilirea etiologiei lichidului pleural. Evaluarea ADA din sânge la pacienții fără revărsat pleural în context clinic, orientează diagnosticul spre etiologie specifică.

P43. Evaluation of KRAS mutations in colorectal cancers by pyrosequencing method

Eva Fischer-Fodor^{1,2}, Loredana Bălăcescu^{1,2}, Gabriel Lazăr¹, Călin Căinap^{1,2}, Bogdan Fetică¹, Piroska Virág¹, Ovidiu Bălăcescu¹

¹ Institute of Oncology „Prof.Dr.I.Chiricuta” Cluj-Napoca, RO-400015, Romania; ² „Iuliu Hatieganu” University of Medicine and Pharmacy Cluj-Napoca, RO-400012, Romania

Introduction: Metastatic colon cancer represents one of the major cause of death from cancer among both men and women. The inhibition of epidermal growth factor receptor by monoclonal antibody

represents nowadays the best therapeutically strategy for patients with metastatic colon cancer harboring wild-type status of K-ras. Although there are several approaches to detect K-ras mutations, none of them is considered the best for clinical routine. In this study we investigated the accuracy of pyrosequencing method to detect K-ras mutations in metastatic colon cancers. **Methods:** Forteen samples from metastatic colon cancer were used in this study. Tumor DNA was extracted with Qiagen All Prep and quantified with NanoDrop ND-1000 spectrofotometer. The K-ras amplicons were synthesized with PyroMark KRAS kit (QIAGEN) and the quality of amplicons was evaluated with Bioanalyzer 2100 (Agilent). Pyrosequencing reaction was performed with PyroMark Q24 (Qiagen) device from 10 ng of DNA. Results were analyzed with the Q24 KRAS v 2.0 software. **Results:** By pyrosequencing assesment were detected mutations at codons 12/13 in 8 samples (57.14%) and one mutation at codon 61 (7.14%). Four types of mutations: GTT (n = 3) GAT (n = 3), AGT (n = 1) and GAC (n = 1) were identified in codons 12/13 while one CGA mutation was detected in codon 61. All mutations were identified with high accuracy, with a minimum of 30 relative light units (RLU). **Conclusion:** Pyrosequencing represents a specific and sensitive method for the analysis of K-ras mutations in metastatic colorectal cancers.

The present study was supported by the UEFISCDI PN-II-ID-PCE-2011-3-1057 research grant, and partially financed by POSDRU grant no. 159/1.5/S/138776 with the title: "Collaborative institutional model for translation of biomedical scientific research into clinical practice".

P43. Evaluarea mutațiilor KRAS în carcinoamele colorectale prin metoda de pirosecvențiere

Eva Fischer-Fodor^{1,2}, Loredana Bălăcescu^{1,2}, Gabriel Lazăr¹, Călin Căinap^{1,2}, Bogdan Fetică¹, Piroska Virág¹, Ovidiu Bălăcescu¹

¹ *Institutul Oncologic „Prof.Dr.I.Chiricuță” Cluj-Napoca, RO-400015, România;* ² *Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca, RO-400012, România*

Introducere: Cancerul de colon metastatic reprezintă una dintre cauzele majore de mortalitate cauzate de cancer, atât la bărbați cât și la femei. Una dintre principalele opțiuni terapeutice ale cancerului de colon metastatic include utilizarea terapiei de inhibare a receptorilor de creștere epidermali (EGFR) cu anticorpi monoclonali. Prezența mutațiilor în gena KRAS, prin care se transmite semnalul de la EGFR către nucleu, reprezintă un predictor important al rezistenței la terapia cu anticorpi monoclonali. În acest studiu am investigat acuratețea analizei de pirosecvențiere pentru evaluarea mutațiilor KRAS în cancerele de colon metastatice. **Metoda:** În acest studiu s-au utilizat 14 cancere de colon metastatice. ADN-ul tumoral a fost extras cu kitul Qiagen All Prep și cuantificat cu spetrofotometru Nanodrop-ND 1000. Pentru sinteza ampliconilor K-ras s-a utilizat kitul PyroMark KRAS (QIAGEN) iar pentru controlul de calitate al acestora Bioanalizorul 2100 (Agilent). Reacția de pirosecvențiere s-a realizat cu aparatul PyroMark Q24 (Qiagen) din 10 ng de ADN total. Rezultatele au fost analizate cu softul Q24 KRAS v 2.0. **Rezultate:** Prin analiza de pirosecvențiere au fost puse în evidență mutații la nivelul codonilor 12/13 în 8 probe (57,14%), respectiv o mutație la nivelul codonului 61 (7,14%). Patru tipuri de mutații: GTT (n=3), GAT (n=3), AGT (n=1) și GAC (n=1) au fost identificate la nivelul codonilor 12/13 în timp ce mutația CGA a fost detectată în codonul 61. Toate mutațiile au fost identificate cu o acuratețe ridicată, cu un minim de 30 unități relative de lumină (RLU). **Concluzii:** Pirosecvențierea reprezintă o

metodă specifică și sensibilă pentru analiza mutațiilor K-ras în cancerule colorectale metastatice și are potențial de aplicabilitate clinică.

Acest studiu a fost finanțat de proiectele UEFISCDI PN-II-ID-PCE-2011-3-1057, respectiv POSDRU nr. 159/1.5/S/138776 "Model colaborativ instituțional pentru translarea cercetării științifice biomedicale în practica clinică-TRANSCENT".

P44. RET/PTC Rearrangements in Patients with Advanced Papillary Thyroid Carcinoma

O. Popa, S. Schipor, D. Manda, A. Padure, S. Vlădoiu, D. Ioachim, A. Caragheorgheopol, C. Badiu

"C.I.Parhon" National Institute of Endocrinology, Bucharest, Romania

Background: Papillary Thyroid Carcinoma (PTC) is the most frequently endocrine cancer, with a worldwide rising incidence. BRAF V600E mutation is recognized as an independent prognostic signal in patients with severe PTC. RET gene rearrangements are often involved in PTC occurrence. **Objective:** To study BRAF V600E mutation and RET/PTC rearrangements in the tumor thyroid tissues of patients with advanced PTC. **Patients and methods:** BRAF status was determined by PCR-RFLP and direct sequencing in an extensive group of 55 patients diagnosed with different types of PTC, as follows: 20 patients – classic PTC, 28 patients – follicular variant of PTC, 7 patients – aggressive PTC, and in a group of 50 patients with multinodular goiter (MNG). RET/PTC analysis was done using FISH technique. For FISH protocol optimization (pretreatment time, hybridization time and temperature) 4 cases were selected: 1 case of PTC cribriform-morular variant (PTC-CMV), 2 cases of PTC classic stage IVB, and 1 case of PNG. For each patient a minimum of 50 nuclei were studied. **Results:** 8 from 55 patients were BRAF-positive. In one patient (PTC-CMV) BRAF mutation was negative, but RET/PTC rearrangements were identified in 92% of the analyzed nuclei. The 2 cases with classic PTC were BRAF-positive and had a breaking degree of 48-50%. No rearrangements were identified in MNG patient (BRAF-negative). **Conclusion:** Beside BRAF status analysis, RET/PTC rearrangements identification is a complementary method aiming to individualize the therapy in aggressive forms of PTC.

This study was funded by UEFISCDI grant PN-II- PT-PCCA-2011-3.2 no.135/2012

P44. Rearanjamentele RET/PTC la pacienți cu stadii avansate ale carcinomului papilar tiroidian

O. Popa, S. Schipor, D. Manda, A. Pădure, S. Vlădoiu, D. Ioachim, A. Caragheorgheopol, C. Badiu

Institutul Național de Endocrinologie "C.I.Parhon" București, România

Introducere: Carcinomul papilar tiroidian (PTC) este cel mai frecvent cancer endocrin cu o incidență în creștere la nivel global. Mutația BRAF V600E este recunoscută ca semnal independent de prognostic la pacienți cu carcinom papilar tiroidian cu evoluție severă. Rearanjamentele genei RET sunt implicate frecvent în apariția PTC. **Obiectiv:** Identificarea mutației BRAF V600E și a rearanjamentelor RET/PTC în țesutul tiroidian tumoral la pacienți cu PTC cu stadii avansate. **Pacienți și metode:** A fost determinat

statusul BRAF (PCR-RFLP și secvențiere directă) la un lot extins de 55 pacienți cu diferite forme PTC (20 PTC classic, 28 PTC varianta foliculară, 7 PTC agresiv) și respectiv, un lot de 50 pacienți cu gușă polinodulară (GPN). Analiza RET/PTC s-a efectuat cu tehnica FISH. Pentru optimizarea protocolului (timpul de pretratament, de hibridizare și temperatură) au fost selectate 4 cazuri: 1 caz PTC varianta cribriform-morulară (PTC-CMV), 2 cazuri PTC clasic stadiul IVB și 1 caz GPN. S-au studiat minimum 50 de nucleu pentru fiecare pacient. **Rezultate:** 8 din 55 pacienți au fost BRAF-pozitivi. Cazul PTC-CMV a fost BRAF-negativ, însă la 92% din nucleii analizați s-a identificat prezența rearanjamentelor RET/PTC. Cele 2 cazuri PTC clasic au fost BRAF-pozitive și au avut un grad de rupere de 48-50%. Nu s-au evidențiat rearanjamente la pacientul cu GPN, BRAF-negativ. **Concluzie:** Identificarea rearanjamentelor RET/PTC constituie o metoda complementară, alături de analiza statusului BRAF, pentru individualizarea terapiei în cazurile agresive de PTC.

Studiul a fost finanțat din proiectul UEFISCDI PN-II- PT-PCCA-2011-3.2 no.135/2012

P45. Possible ABCB1 gene polymorphisms associated with epileptic romanian children

Anamaria Todoran-Butilă ¹, Anca Sin ², Elisabeta Racoș Szabo ³, Cristian Micheu ⁴, Septimiu Voidăzan ⁵, Claudia Bănescu ¹

1. Department of Genetics, University of Medicine and Pharmacy, Târgu Mureș, Romania; 2. Department of Cell Biology, University of Medicine and Pharmacy, Târgu Mureș, Romania;
3. Department of Psychiatry, University of Medicine and Pharmacy, Târgu Mureș, Romania;
4. Clinic of Pediatric Neurology and Psychiatry Târgu Mureș, Romania; 5. Department of Epidemiology, University of Medicine and Pharmacy, Târgu Mureș, Romania

Background: It is known that multidrug resistance gene ABCB1 encodes a drug efflux transporter (p-glycoprotein) which is expressed in the blood brain barrier-BBB. This transporter reduces brain penetration of antiepileptic drugs. Overexpression of Pgp in BBB in epileptic patients is supposed to play a role in pharmacoresistance. Starting from this idea were carried out many studies that have tried to identify a link between ABCB1 gene polymorphism and antiepileptic drug resistance. **The aim** of this study was to look for an association between C3435T, C1236T and G2677T polymorphisms of ABCB1 gene and different type of epilepsy in Romanian children. **Materials and methods:** A total of 3 candidate SNPs of ABCB1/MDR1 gene were genotyped in 347 Romanian children, divided in 194 epileptic patients (drug responsive and drug resistant) and 153 healthy control group. Genotype and allele distribution in both groups or subgroups were compared. DNA was extracted from whole blood and genetic polymorphism was assayed by PCR-RFLP. **Results:** There were significant differences in the distribution of 3435CT in generalized epilepsy (p=0.01, OR: 0.32, 95% CI: 0.13-0.78) and 1236CT in partial forms (p=0.03, OR: 0.20, 95% CI: 0.05-0.86) between resistant and responsive groups. No significant differences were observed in allelic frequencies of these three polymorphisms between the two groups. **Conclusions:** This study is in accordance with other using Caucasian population but the first who using these 3 SNPs in association in Romanian population. **Acknowledgements.** "This paper was published under the frame of European Social Fund, Human Resources Development Operational Programme 2007-2013, project no. POSDRU/159/1.5/S/136893".

P45. Asocierea posibilă între diferite polimorfisme ale genei ABCB1 și epilepsiile la copiii din România

Anamaria Todoran-Butilă¹, Anca Sin², Elisabeta Racoș Szabo³, Cristian Micheu⁴, Septimiu Voidăzan⁵, Claudia Bănescu¹

Departamentul Genetică, Universitatea de Medicină și Farmacie, Târgu Mureș, Romania; 2.

Departamentul Biologie celulară, Universitatea de Medicină și Farmacie, Târgu Mureș, Romania; 3.

Departmentul de Psihiatrie, Universitatea de Medicină și Farmacie, Târgu Mureș, Romania; 4. Clinica de Neurologie și Psihiatrie Pediatrică, Târgu Mureș, Romania; 5. Departmentul de Epidemiologie,

Universitatea de Medicină și Farmacie, Târgu Mureș, Romania

Introducere: Este binecunoscut faptul ca gena MDR1 (gena de rezistență multidrog) codifică un transportor de eflux de substanțe: glicoproteina p (Pgp) cu expresie la nivelul barierei hematoencefalice. Acest transportor reduce penetrarea creierului de către medicația antiepileptică. Supraexprimarea Pgp la nivelul barierei hematoencefalice în cazul pacienților epileptici poate juca un rol important în farmacorezistență. Pornind de la această idee au fost realizate multe studii în care s-a încercat identificarea unei legături între polimorfismul în gena ABCB1 și rezistența la tratamentul antiepileptic. Scopul acestui studiu a fost acela de a căuta o asociere între 3 polimorfisme ale genei ABCB1 (C3435T, C1236T și G2677T) și diferite tipuri de epilepsii la copiii din România. **Material și metodă:** S-a realizat genotiparea pentru 3 mutații punctiforme în gena ABCB1 pe un lot de 374 de copii din România. Lotul a fost format din 194 copii cu epilepsie (subîmpărțiți în responsivi și neresponsivi la tratamentul antiepileptic) și 154 copii sănătoși. S-a analizat și comparat frecvența alelică și a genotipurilor în cele două grupuri. **Rezultate:** comparând grupul rezistent cu cel responsabil la tratament, s-au observat diferențe semnificativ statistice ale distribuției genotipului 3435CT în epilepsiile generalizate (p-0.01, OR:0.32, 95% CI:0.05-0.86) și a celui 1236CT în epilepsiile parțiale (p-0.03, OR:0.20, 95% CI:0.05-0.86). **Concluzii:** rezultatele sunt în concordanță cu cele obținute în alte studii în populația caucaziană fiind însă primul studiu care studiază aceste 3 polimorfisme într-o populație pediatrică în România. **Acknowledgements.** "This papers was published under the frame of European Social Found, Human Resources Development Operational Programme 2007-2013, project no. POSDRU/159/1.5/S/136893".

P46. ABCB1 C3435T polymorphism in epileptic and healthy children from central region of Romania

Anamaria Todoran-Butilă¹, Anca Sin², Elisabeta Racoș Szabo³, Katalin Csep¹, Valeriu Moldovan¹, Claudia Bănescu¹

1. Department of Genetics, University of Medicine and Pharmacy, Tîrgu Mureș, Romania;

2. Department of Cell Biology, University of Medicine and Pharmacy, Tîrgu Mureș, Romania;

3. Department of Psychiatry, University of Medicine and Pharmacy, Tîrgu Mureș, Romania

Background: One third of epileptic patients do not respond to antiepileptic treatment. Association between overexpression of P-glycoprotein and drug resistance remains controversial subject and numerous studies continue to look for the right answer. **The aim** of this study were to analyze whether C3435T ABCB1 gene were associated with pharmacoresistant epilepsy in children from central region

of Romania. **Materials and methods:** A total of 194 children with epilepsy, patients hospitalized in the Clinic of Pediatric Neurology Tîrgu Mureş were included in this observational case-control study. In this group, 122 were responders and 72 were nonresponders to antiepileptic drugs. Allele and genotypes of C3435T ABCB1 gene were detected using polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism technique (PCR-RFLP). The allele, genotype and diplotype frequencies in rs1045642 were compared between drug resistant and drug responsive subjects. **Results:** the analysis of the distribution of allele and genotypes in epileptic patients showed that T allele and CT genotype were more frequent (52.1% and 43.3% respectively) but not statistical significant. Regarding the total epilepsy, epileptic resistant patients were significantly more likely to have CC genotype than CT genotype in comparison with epileptic responsive patients ($p=0.01$, OR-0.35, 95%CI-0.16-0.76). The same situation was observed under stratification of epilepsies by aetiology (symptomatic vs idiopathic) or by type of seizures (generalized vs partial). **Conclusions:** Association between this polymorphic variation and nonresponders epileptic pediatric patients it was not confirmed. **Acknowledgements.** "This papers was published under the frame of European Social Found, Human Resources Development Operational Programme 2007-2013, project no. POSDRU/159/1.5/S/136893".

P46. Studiul polimorfismului genei ABCB1 C3435T la copiii epileptici și sănătoși din centrul României

Anamaria Todoran-Butilă¹, Anca Sin², Elisabeta Racoș Szabo³, Katalin Csep¹, Valeriu Moldovan¹, Claudia Bănescu¹

1. Departamentul Genetică, Universitatea de Medicină și Farmacie, Tîrgu Mureş, Romania; 2. Departamentul Biologie Celulară, Universitatea de Medicină și Farmacie, Tîrgu Mureş, Romania; 3. Departamentul Psihiatrie, Universitatea de Medicină și Farmacie, Tîrgu Mureş, Romania

Introducere: O treime dintre pacienții epileptici rămân neresponsivi la tratamentul antiepileptic adecvat. Asocierea dintre supraexprimarea P-glicoproteinei, codificată de gena MDR1, cu rezistența la tratamentul medicamentos rămîne un subiect controversat, în acest sens numeroase studii continuând să caute răspunsul potrivit. **Scopul** acestui studiu este acela de a analiza distribuția polimorfismului C3435T în gena ABCB1 la copiii cu epilepsie refractară. **Material și metodă:** studiul de tip observational caz-control a inclus 194 de copii cu epilepsie, internați în Clinica de Neurologie Pediatrică Tîrgu Mureş. Dintre aceștia, 122 au răspuns la tratamentul antiepileptic, la un număr de 72 de pacienți crizele neputînd fi controlate în ciuda unui tratament adecvat. Pentru determinarea frecvenței alelice și a genotipurilor s-a utilizat tehnica PCR-RFLP. A fost analizată comparativ între epilepticii responsivi și neresponsivi frecvența alelelor, a genotipurilor și diplotipurilor. **Rezultate:** frecvența alelei T și a genotipului heterozigot CT a fost mai mare (52.1% and 43.3% respectiv) dar fără o semnificație statistică. Pacienții refractari la tratament au fost identificați cu un genotip CC (homozigot wild type), semnificativ statistic mai frecvent decât CT ($p=0.01$, OR-0.35, 95%CI-0.16-0.76). Același lucru a fost observat și după sudvizarea epilepsiilor în funcție de etiologie (idiopatice sau simptomatice) și după tipul de crize convulsive (parțiale sau generalizate). **Concluzii:** nu a fost confirmată o asociere între acest polimorfism al genei MDR1 (C3435T – rs1045642) și formele rezistente de epilepsii la copiii din centrul României. **Acknowledgements.** "This papers was published under the frame of European Social Found, Human Resources Development Operational Programme 2007-2013, project no. POSDRU/159/1.5/S/136893".

P47. Relation of the carotid intima-media thickness and adhesion molecules in myocardial infarction patients

Ramona Gligor, Dana Zdremțan, Ioan Crîșnic, Florina Sisinie Gligor-Dincă, Adina Pop-Moldovan

“Vasile Goldiș” Western University of Arad Faculty of Medicine, Pharmacy and Dental Medicine, General Medicine Department

Introduction: Atherosclerosis, in general, it could be considered a chronic inflammation of the arterial wall, resulting from the interaction between the modified lipoproteins LDL-oxidized, monocytes/macrophages, lymphocytes and normal cells. In our study we looked at the behavior of the soluble endothelial adhesion molecules and their relation with the lipidic metabolism parameters and with the carotid intima-media thickness (IMT) in patients with acute myocardial infarction (AMI).

Material and method: There were taken into study 36 subjects, distributed as follows: cohort I – 13 patients with AMI, cohort II – 13 patients with high blood pressure (HBP) and 10 subjects representing the control cohort. In all subjects there were determined the parameters of the lipidic metabolism, adhesion molecules (vascular adhesion molecule VCAM-1, intercellular adhesion molecule ICAM-1), thorough ELISA method, and the IMT through ultrasonography, was also measured.

Results: Statistically significant differences were obtained when comparing the HDL cholesterol in AMI patients and the HBP patients with the control ($p < 0,0001$), the mean values of the triglycerides in AMI ($143,74 \pm 42,03$ mg/dl) were significantly increased statistically as compared to the control group ($92,40 \pm 26,41$ mg/dl, $p = 0,002$). The mean values of LDL cholesterol were significantly increased in cohort I and II compared to the control cohort ($p < 0,05$). Mean values of the VCAM-1 and ICAM-1 were also significantly higher statistically in cohort I and II compared to the control cohort ($p < 0,0001$). The IMT values in cohort I and II had approximately equal values ($0,992 \pm 0,17$ vs $0,977 \pm 0,19$), but significantly higher statistically compared to the control cohort ($p < 0,0001$). VCAM-1, ICAM-1 are positively correlated with IMT.

Conclusion: The correlation of the IMT with soluble endothelial adhesion molecules show their implication in the early development of the atherosclerotic plaque.

P47. Relația indice intimă medie carotidian și moleculele de adeziune la pacienții cu infarct miocardic

Ramona Gligor, Dana Zdremțan, Ioan Crîșnic, Florina Sisinie Gligor-Dincă, Adina Pop-Moldovan

Universitatea de Vest „Vasile Goldiș” din Arad, Facultatea de Medicină, Farmacie și Medicină Dentară, Departamentul Medicină Generală

Introducere: Ateroscleroza, în general, poate fi considerată ca o inflamație cronică la nivelul peretelui arterial, rezultată din interacțiunea dintre lipoproteinele modificate – LDL-oxidat, monocite/macrofage, limfocite și celule normale. În studiul nostru am urmărit comportamentul moleculelor solubile de adeziune endotelială și relația acestora cu parametrii metabolismului lipidic și cu indicele intimă medie la pacienții cu infarct miocardic acut (IMA).

Material și metodă: S-au luat în studiu un număr de 36 de subiecții împărțiți astfel: lot I – 13 pacienții cu IMA, lot II – 13 pacienții cu hipertensiune arterială (HTA) și 10 subiecți reprezentând lotul martor. La toți subiecții s-au determinat parametrii metabolismului lipidic, molecule de adeziune (molecula de adeziune vasculară VCAM-1, molecula de adeziune intercelulară ICAM-1) prin metoda ELISA și s-a măsurat indicele intima-medie carotidian (IMT) prin ultrasonografie.

Rezultate: Diferențe semnificativ statistice au fost obținute în compararea HDL-colesterolului la pacienții cu IMA și HTA față de martor ($p < 0,0001$), valorile medii ale trigliceridelor la pacienții cu IMA ($143,74 \pm 42,03 \text{ mg/dl}$) au fost semnificativ statistic mai mari decât la lotul martor ($92,40 \pm 26,41 \text{ mg/dl}$, $p = 0,002$). Valorile medii ale LDLc au fost semnificativ statistice mai mari la lotul I și II față de martor ($p < 0,05$). Valorile medii ale VCAM-1 și ICAM-1 au fost de asemenea semnificativ statistic mai mari la lotul I și II față de martor ($p < 0,0001$). Valorile IMT la lotul I și II au avut valori aproximativ egale ($0,992 \pm 0,17$ vs $0,977 \pm 0,19$), dar semnificativ statistic mai mari decât la martor ($p < 0,0001$). VCAM-1, ICAM-1 sunt corelate pozitiv cu IMT.

Concluzii: Corelarea IMT cu moleculele de adeziune arată implicarea acestora în dezvoltarea precoce a plăcii aterosclerotice.

P48. The sensitization to food allergens and pneumoallergens

Mateiu Maria Mirabela^{1,3}, Botnariuc Mihaela¹, Florea Calipsia^{2,3}, Debita Mihaela^{2,4}, Tutunaru Dana^{2,4}, Romila Aurelia^{2,4}, Dobre Michaela^{2,3}, Gurau Gabriela^{2,3}

1. Faculty of Medicine and Pharmacy "Ovidius" Constanța; 2. Faculty of Medicine and Pharmacy "Dunărea de Jos", Morphological and Functional Sciences Department, Galați; 3. Emergency Clinical Hospital for Children, "St. John", Galați; 4. Clinical Emergency County Hospital, Galați

Objective: The aim of this study was to investigate the degree of sensitivity to pneumoallergens and food allergens in children and adolescents. We also tried to establish the correlation between respiratory, digestive and dermatological diseases and IgE-mediated allergies.

Materials and methods: The group was represented by 479 patients (252 boys and 227 girls), with the average age of $6,05 \pm 3,95$ years, hospitalized in the hospital "St. John" in Galați during the period 2014-2015. Patients were grouped into 3 age groups: 0-3 years (107/479); 3.1-6.0 years (164/479) and 6.1-19 years (208/479). Determination of IgE antibody was performed using the EUROLINE Immunoblot Kit.

Results: In the lot of study 50.60% subjects were sensitivities to food allergens and 49.40% to pneumoallergens. The frequency of sensitization varied with the type of allergen (cow's milk and milk protein 15.45%, potatoes 17.48%, peanuts 6.08%, egg white 4.63%, egg yolk 4.25%, Dermatophagoides pteronyssinus 11.20%, Dermatophagoides farinae 17.73%, Alternaria 9.37% pollen 19.80%, and cat epithelium 3.93%). Frequency sensitized patients to allergens which varies with age, being of 80.29% for age group > 6.1 years, 85.97% for group 3.1-6.0 years and 71.03% for children aged 0-3.0 years.

Conclusions: Quantitative determination of allergen-specific IgE is necessary for detection of associated diseases with atopy, for diagnosis of diseases that have allergic manifestations. Application of a pediatric allergy panel becomes a national necessity which would help a faster diagnosis.

P48. Sensibilizarea la alergeni alimentari și pneumoalergeni

Mateiu Maria Mirabela^{1,3}, Botnariuc Mihaela¹, Florea Calipsia^{2,3}, Debita Mihaela^{2,4},
Tutunaru Dana^{2,4}, Romila Aurelia^{2,4}, Dobre Michaela^{2,3}, Gurău Gabriela^{2,3}

1. Facultatea de Medicină și Farmacie "Ovidius", Constanța; 2. Facultatea de Medicină și Farmacie Dunărea de jos, Departamentul de Științe morfologice și funcționale, Galați; 3. Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii "Sf. Ioan", Galați; 4. Spitalul Clinic Județean de Urgență, Galați

Obiectiv: Scopul acestui studiu a fost acela de a investiga gradul de sensibilizare la pneumoalergeni și alergeni alimentari la copii și adolescenți. De asemenea, am încercat să stabilim corelația dintre manifestările respiratorii, digestive, dermatologice și alergiile mediate IgE.

Materiale și metode: Lotul a fost reprezentat de 479 de pacienți (252 băieți și 227 fete), cu vârsta medie de 6.05 ± 3.95 ani, internați în Spitalul "Sf. Ioan" din Galați în perioada 2014-2015. Pacienții au fost grupați în 3 grupe de vârstă: 0-3 ani (107/479); 3.1-6.0 ani (164/479) și 6.1-19 ani (208/479). Determinarea anticorpilor IgE s-a făcut cu ajutorul kitului Imunoblot EUROLINE.

Rezultate: În lotul de studiu 50.60% subiecți au fost sensibilizați la alergeni alimentari și 49.40% la alergeni inhalanți. Frecvența sensibilizării a variat cu tipul de alergen (lapte de vacă și proteine din lapte 15.45%, cartofi 17.48%, arahide 6.08%, albuș de ou 4.63%, gălbenuș de ou 4.25%, Dermatophagoides pteronyssinus 11.20%, Dermatophagoides farinae 17.73%, polen 19.80%, Alternaria 9.37%, epitelium pisică 3.93%. Frecvența pacienților sensibilizați la alergeni a variat cu vârsta, fiind de 80.29% pentru grupa de vârstă >6.1 ani, de 85.97% pentru grupa 3.1-6.0 ani și de 71.03% pentru copii cu vârsta cuprinsă între 0-3.0 ani.

Concluzii: Determinarea cantitativă a IgE alergen specific se impune pentru depistarea bolilor asociate cu atopia, în scopul diagnosticării unor afecțiuni care au și manifestări alergice. Aplicarea unui panel pediatric de alergie devine o necesitate națională ceea ce ar ajuta la o diagnosticare mai rapidă.

P49. ELISA - specific and sensitive method for biomarkers determination in the diagnosis of periodontal disease

M. Grigorian¹, C. Nucă¹, L.C. Petcu¹, A. Caraiane¹, C.F. Badea¹, A.D. Brânză¹, G. Gegiu¹, M.D. Radu², D.P. Balaban¹, V. Badea¹

1. Ovidius University from Constanta, Faculty of Dental Medicine; 2. Ovidius University from Constanta, Faculty of Natural Sciences

Introduction: Aggressive periodontitis (AgP) has as main causes bacteria presence, immune status and the extent of inflammatory phenomenon. The ELISA method is one of the most valuable and used identifying mean based on the complementarity principle between the antigen and the antibody structures.

Objective: The purpose of this study is to evaluate the sensitivity and specificity levels for the ELISA method applied in quantifying two of the most important biomarkers used in the diagnosis and monitoring of AgP.

Material and methods: In the study 54 subjects were comprised, 17 were clinically oro-dental healthy and 37 subjects with AgP. The ELISA method was used to quantify the salivary biomarkers: 8-hidroxy-2-deoxy guanosine (8-OHdG) as a marker of oxidative stress (competitive technique) and Interleukine-1beta (IL-1beta) as a pro-inflammatory cytokine (sandwich technique). To compare the

sensitivity and specificity of the ELISA method used for the two biomarkers we used ROC curve analysis by IBM SPSS Statistics 20.

Results: For the 8-OHdG biomarker we identified at a level of sensitivity (Se.) of 97.3% and specificity (Sp.) of 94.1%, a cut-off value (which defines the healthy vs. sick values of the biomarker) of 1.43ng/mL; $p=0.0001$. For IL-1beta I we obtained for a level of Se. of 86.5% and Sp. of 94.1% a cut-off value of 30.001 pg/mL; $p=0.0001$. Comparing the ROC curves plotted for the two biomarkers we obtained a difference between areas of 0.039 and a level of statistical significance $p=0.231$, which means that the two ELISA techniques are substantially the same.

Conclusions: Using ELISA method by both techniques can be applied to quantify the two biomarkers in the diagnosis of AgP.

P49. ELISA – metodă specifică și sensibilă privind determinarea biomarkerilor în diagnosticul bolii parodontale

M. Grigorian¹, C. Nucă¹, L.C. Petcu¹, A. Caraiane¹, C.F. Badea¹, A.D. Brânză¹, G. Gegiu¹, M.D. Radu², D.P. Balaban¹, V. Badea¹

1. Universitatea Ovidius din Constanța, Facultatea de Medicină Dentară 2. Universitatea Ovidius din Constanța, Facultatea de Științele Naturii

Introducere: Boala parodontală agresivă (BPA) are ca principale cauze prezența bacteriilor, statusul imun și amplitudinea fenomenului inflamator. Metoda ELISA este una din cele mai valoroase și utilizată modalitate de identificare bazată pe principiul complementarității dintre structura antigenului și cea a anticorpului.

Obiectiv: Scopul acestui studiu este de a evalua nivelul de sensibilitate și specificitate a metodei ELISA aplicată în cuantificarea a doi dintre cei mai importanți biomarkeri utilizați în diagnosticul și monitorizarea BPA.

Material și metode: În studiu au fost cuprinși 54 de subiecți, 17 fiind sănătoși clinic oro-dentar și 37 subiecți prezentând BPA. Metoda ELISA a fost folosită pentru cuantificarea biomarkerilor salivari: 8-hidroxideoxiguanzina (8-OHdG) ca marker de stres oxidativ (prin tehnica competitivă) și interleukina-1 beta (IL-1beta) ca citokină proinflamatorie (prin tehnica sandwich). Pentru a compara nivelul de sensibilitate și specificitate al metodei ELISA utilizată pentru cei doi biomarkeri am folosit analiza curbelor ROC cu IBM SPSS Statistics 20.

Rezultate: Pentru biomarkerul 8-OHdG s-a identificat la un nivel al sensibilității (Se.) de 97.3% și specificității (Sp.) de 94.1%, o valoare cut-off (care delimitează valoarea biomarkerului sănătoși vs. bolnavi) de 1.43ng/mL; $p=0.0001$. Pentru IL-1 am obținut la un nivel de Se. de 86.5% și Sp. de 94.1% o valoare cut-off de 30.001 pg/mL; $p=0.0001$. Comparând curbele ROC trasate pentru cei doi biomarkeri am obținut o diferență între arii de 0.039 și un nivel de semnificație statistică $p=0.231$, ceea ce semnifică faptul că cele două tehnici ELISA sunt sensibil egale.

Concluzii: Folosirea metodei ELISA prin ambele tehnici poate fi aplicată pentru cuantificarea celor doi biomarkeri în diagnosticul BPA.

P50. Type 2 cytokines modulate the expression of calcitriol receptor VDR in bronchial epithelial cells

M.T. Zdrengea^{*1}, A.G. Telcian^{*2}, C. Bagacean¹, S.L. Johnston², L.A. Stanciu^{1,2}

^{*}equal contribution

1. Iuliu Hatieganu University of Medicine and Pharmacy Cluj Napoca, Romania; 2. Airway Disease Infection Section, Imperial College London, UK

Background: 1,25-dihydroxy vitamin D3/1,25(OH)2D3/calcitriol, acting via its receptor VDR, modulates the levels of enzymes involved in its own metabolism. We recently found that bronchial epithelial cells, the main host cells for viruses, constitutively express VDR and that type 2 cytokines decrease VDR expression. Since VDR is the main determinant of calcitriol function, these data suggest that treatment with calcitriol would be less effective in diseases with increased levels of type 2 cytokines including parasitoses, asthma, lymphoma.

Objectives of our study were to investigate in vitro the effect of calcitriol on VDR in respiratory bronchial epithelial cells exposed or not to type 2 cytokines

Methods: BEAS-2B cells (a bronchial epithelial cell line) and human primary bronchial epithelial cells (HPBEC) infected with rhinoviruses (RV1B or RV16) in the absence/presence of IL-13 were treated with calcitriol 100nM for up to 72h. VDR and virus gene expression were determined by qRT-PCR and cytokines RANTES, IL-8 and IL-6 were measured by ELISA.

Results: Type 2 cytokines IL-4 and IL-13 decreased VDR expression in BEAS-2B and HPBE cells. Calcitriol decreased VDR expression in BEAS-2B cells and this effect was enhanced by IL-13, at 48h. Calcitriol significantly decreased expression of VDR in HPBEC in a dose-response manner.

Conclusions: As previous shown in other cell types, we found that calcitriol regulates its own metabolism in respiratory epithelial cells, by down-regulating VDR receptor (involved in the modulation of its metabolic enzymes). Calcitriol down-regulation of VDR expression was increased in a type 2 cytokine environment.

P50. Citokinele de tip 2 modulează expresia receptorului pentru calcitriol în celule epiteliale bronșice

M.T. Zdrengea^{*1}, A.G. Telcian^{*2}, C. Bagacean¹, S.L. Johnston², L.A. Stanciu^{1,2}

^{*}contributie egală

1. Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu", Cluj Napoca, Romania; 2. Airway Disease Infection Section, Imperial College London, UK

Introducere: 1,25-dihidroxivitamina D3/1,25(OH)2D3/calcitriol, acționând via receptorul sau VDR, modulează enzime implicate în propriul său metabolism.

Am găsit recent ca VDR este exprimat constitutiv în celulele epiteliale bronșice, principala gazdă pentru virusurile respiratorii, și că citokinele de tip 2 scad expresia VDR.

VDR fiind principalul determinant al funcției calcitriolului, aceste date sugerează că tratamentul cu calcitriol ar fi mai puțin eficient în boli asociate cu nivele crescute de citokine de tip 2 (parazitozele, astmul, limfoamele).

Obiectivele studiului nostru au fost investigarea in vitro a efectului calcitriolului asupra VDR în celule epiteliale bronsice expuse sau nu citokinelor de tip 2.

Metode: Celule BEAS-2B (linie celulara epiteliala bronsica) și celule umane primare epiteliale bronsice (HPBEC) infectate cu rinovirusuri (RV1B sau RV16) în absența/ prezența IL-4 și IL-13 au fost tratate cu calcitriol 100nM pentru perioade de până la 72 h. Expresia genelor VDR și a celor virale a fost determinată prin qRT-PCR, și nivelul citokinelor RANTES, IL-8 și IL-6 prin ELISA.

Rezultate: Citokinele de tip 2 IL-4 și IL-13 au scăzut expresia VDR în celulele BEAS-2B și HBPEC. Calcitriolul a scăzut VDR în celulele BEAS-2B și acest efect a fost amplificat de IL-13, la 48h. Calcitriolul a scăzut semnificativ expresia VDR în HPBEC într-o relație doză-dependentă.

Concluzii: Dupa cum s-a arătat în alte tipuri celulare, calcitriolul își reglează propriul metabolism și în celulele epiteliale respiratorii, prin scăderea receptorului VDR (implicat în modularea enzimelor sale metabolice). Scăderea VDR de către calcitriol a fost crescută într-un mediu bogat în citokine de tip 2.

AUTHORS INDEX

Index de autori

A

Al-Aisa Abtessam Nariman 96
Al-Aissa Zahra 96
Antohe Felicia 54

B

Bacărea Anca 73, 82
Bacărea Vladimir 73
Baciu Ginel 21
Badea Aurelian 79
Badea C.F. 116
Badea Daniela 79
Badea V. 17, 116
Badelita Sorina 80
Badel Sorina 77
Bădițoiu Luminița 49
Badiu C. 110
Bagacean C. 118
Baghiu Maria Despina 82
Bagoly Zsuzsa 82
Balaban D.P. 17, 116
Bălăceanu Alice 86
Bălăcescu Loredana 108
Bălăcescu Ovidiu 108
Bălan Georgiana 86, 105
Bălașa Rodica 84
Balogh-Sămărghițan Victor 22, 90, 96
Bănescu Claudia 84, 100, 101, 103, 106, 111, 112
Barabas Eniko 45
Barabás Hajdu Enikő 90
Bârsan Monica 34
Beastall Graham H. 71, 88
Berceanu-Văduva Delia 49, 55, 57, 58
Berceanu Văduva Marcel 55
Bilcă Doina 64, 68, 69
Birsan Cristina 37
Bogdaneanu Violeta 34
Bogliș Alina 101, 106
Borcan Elvira 59, 75
Botnariuc Mihaela 115
Brânză A.D. 116
Brătilă Elvira 18, 40

Brudașcă Ioana 91
Brzezinski Piotr 37
Buzea Mariana 67

C

Căinap Călin 108
Calenic Bogdan 30, 98
Caragheorgheopol A. 110
Caraiane A. 17, 116
Carasevici Eugen 14
Cheregi Simona 46
Chesaru Bianca 21
Chiriac Anca 36, 37
Cioloca Petru 36
Ciupea Daniela 51
Codiță Irina 54, 61
Codreanu Ioana Coralia 39
Coldea Ileana-Luminița 54
Coliță Adriana 76
Coliță Dan 76
Comandașu Diana-Elena 16, 18, 40
Constantinescu Emanuela 34
Constantinescu Maria 29
Constantinescu Maria Zinaida 16, 18
Constantin Marina 86, 105
Coriu Daniel 76, 77, 80
Crăciun Elena Cristina 20
Crăciunescu Mihaela 49
Crăciun M. Alexandra 25
Crauciuc Andrei 101
Crauciuc George 100, 103
Crețu O. 27
Creț Victoria 20
Crișan Carmen 51
Crîșnic Ioan 114
Cristea Violeta Corina 41, 60
Csath Mária 23
Csep Andrei 43, 44, 46
Csep Katalin 112
Cucuianu Mircea 91, 92
Czajka Maria 69

D

Daina Lucia 52
Damian Maria 54
Danciu Corina 47
David Bianca-Andreea 20
David Remona Eliza 22, 72
Debita Mihaela 50, 115
Dehelean Cristina 47
Deleanu C. 31
Delianu Carmen 72
Demeter Réka 90
Diaconu Adriana 86, 105
Dima Delia 102
Dimitriu Cristina 37
Dobreanu Minodora 23, 32, 68, 72, 73, 82, 84, 96
Dobre Michaela 21, 50, 115
Dorobăț Olga Mihaela 63, 65
Drăgan Ana-Maria 107
Dragomirescu Cristiana Cerasella 54
Drăgulescu Elena-Carina 54
Dricu A. 25
Dronca Eleonora 20
Dugășescu Dorina 47, 49
Duicu Carmen 101
Dumitrașcu Alina 41
Dumitra Simona 51
Dumitrescu Irina 34
Dusilova Sulkova Sylvie 89
Duțescu Monica 86

E

Ene Corina 23, 32

F

Faur Alexandra 27
Fazakas Zita 22, 90, 96
Ferrari Maurizio 13, 15
Fetică Bogdan 102, 108
Filipov Marilena 67
Fischer-Fodor Eva 108
Florea Calioptia 50, 115
Fodor Márta Andrea 23
Foia Liliana 36, 37
Funduc Ileana 93

G

Găman V. 75
Gegiu G. 116
Genunche Amelia 79
Gheorghe R. Simona 25
Gherasim Petru 34
Gligor-Dincă Florina Sisinie 26, 114
Gligor Ramona 26, 114
Gotia Laura Smaranda 27
Greabu Maria 29, 30, 98
Grigore Camelia 94
Grigore Nicolae 94
Grigorian M. 17, 116
Gurău Gabriela 21, 50, 115

H

Higgins Trefor 96
Hnidei Rodica 34
Hogea Elena 49, 57, 58
Horhat Florin 47
Hudák Renáta 82
Huțanu Adina 23

I

Iftimi Isabela 67
Ilyés Magdolna 23
Ioachim D. 110
Iosub Rodica 97
Iovan Ciprian 39
Ispas Mihaela 84

J

Janjua Sameen 64
Jardan Cerasela 77
Johnston S.L. 118

K

Kappelmayer János 82
Kovács Zsolt 22
Kovács Zsuzsa Réka 90
Kudor-Ferice Boldizsár 90
Kulcsar Andrea 106

L

Laitinen Päivi 87, 88
Lazăr Gabriel 108
Leordean Viorica 26
Leucuța Daniel-Corneliu 20
Lică Daniela 59
Licker Monica 47, 49, 55, 57, 58
Lighezan Rodica 27
Lixandru Brândușa-Elena 54
Lixandru Daniela 16, 18
Lupeanu Elena 34

M

Maier Adrian 90
Maier Ioana 45
Maier Smaranda 84
Makkai Alina 14
Man Adrian 45, 90
Manda D. 110
Marcu Ana-Maria 86, 105
Mare Anca 45
Mărginean Alina 68, 84
Maria Mohora 18
Maris Lavinia 51
Maris M. 17
Marușca Patricia 46
Mateiu Maria Mirabela 50, 115
Micheu Cristian 111
Mihai A. 63
Mihail Badea 79
Mihailescu Carmen-Marinela 97
Miricescu Daniela 16, 18, 29, 30, 98
Mohora Maria 16, 29, 40
Moldovan Carmen 97
Moldovan George-Valeriu 101
Moldovan Roxana 47, 49, 55, 57, 58
Moldovan Valeriu 106, 112
Molnar Eniko 82
Muntean Delia 47, 49, 55, 57, 58
Muscalu George 97
Muscurel Corina 18

N

Neagoe C. 75
Neamțu Tudor 86, 105
Nemes-Nagy Enikő 22, 90, 96

Nicolae Georgiana 105
Nicolescu A. 31
Nițu Florin 32
Nucă C. 116

P

Padure A. 110
Palicka Vladimir 89
Pațiu Mariana 102
Petcu L.C. 17, 116
Pilat Luminița 51
Piluț Ciprian 55, 57, 58
Pinteală Tudor 36
Plăiașu Vasilica 86
Popa C. 75
Popa D. 75
Popa Mihaela 49
Popa O. 110
Popa R. M. 75
Popescu Laura Anca 16, 18
Popescu Monica 80
Pop Marian 73
Pop-Moldovan Adina 114
Pop Nicoleta 23, 82
Popoiu M. 63
Pricop Roxana Gabriela 41
Pușchiță Maria 26

R

Rachita Mariana 34
Racoș Szabo Elisabeta 111, 112
Rada Maria 55, 57, 58
Radu Cristina 100, 103
Rădulescu Ariadna 92
Rădulescu Matilda 55, 57, 58
Rădulescu Radu 30, 98
Radu M.D. 116
Rafla Alexandru 63, 65
Reid Deborah 96
Roditis Doina 34
Romila Aurelia 21, 50, 115
Roșu L. 31
Rotaru Rodica 67
Rusu Răzvan 20

S

Sali Vera 35
Sava C. 46
Savin Mihaela 97
Schipor S. 110
Selicean Cristina 102
Simion Paula 59
Simon-Szabó Zsuzsánna 22, 90, 96
Sin Anca 111, 112
Șoica Codruța 47
Sorescu G. 75
Spineanu R. 46
Stanciu L.A. 118
Stancu Camelia 59
Stănculescu Ruxandra 40
Stan Dana 97
Stângă Livia 55, 57, 58
State Doina 34
Ștefan Anda 100, 103
Ștefan L.I. 31
Streinu-Cercel Adrian 65
Șular Floredana-Laura 68, 84
Szász Izabella 64, 69
Székely Edit 64, 68, 69
Szekely Melinda 22

T

Talapan Daniela 63, 65
Tanaseanu Cristina 41
Țăruși Mariana 84
Telcian A.G. 118
Tenea C. 63
Tiron Crina E. 14
Tirziu R. 27

Todoran-Butilă Anamaria 111, 112
Toma Felicia 45
Totan Alexandra 29, 30, 98
Tripon Florin 100, 101, 103
Tripon Robert 22
Tudor Bianca 32
Tutunaru Dana 21, 50, 115

U

Ungureanu Marius Iulian 86, 105
Uzun Cosmina 22, 96

V

Velimirovici Dana 55, 57, 58
Vermeer C. 25
Vidita Gurban Camelia 27
Virág Piroska 108
Virgolici Bogdana 16, 18, 29, 40
Virgolici Horia 16
Virlan Justina 98
Vizitiu Ileana 59
Vladoiu S. 110
Voicu Georgeta 59
Voidăzan Septimiu 32, 111
Vranceanu Anca-Raluca 14
Vultur Horațiu 86, 105

Z

Zaha Dana Carmen 39, 52
Zdremțan Dana 26, 114
Zdrenghea Mihnea 102
Zdrenghea M.T. 118
Zlatian O. 31

Information and guidelines for authors

Manuscript submission

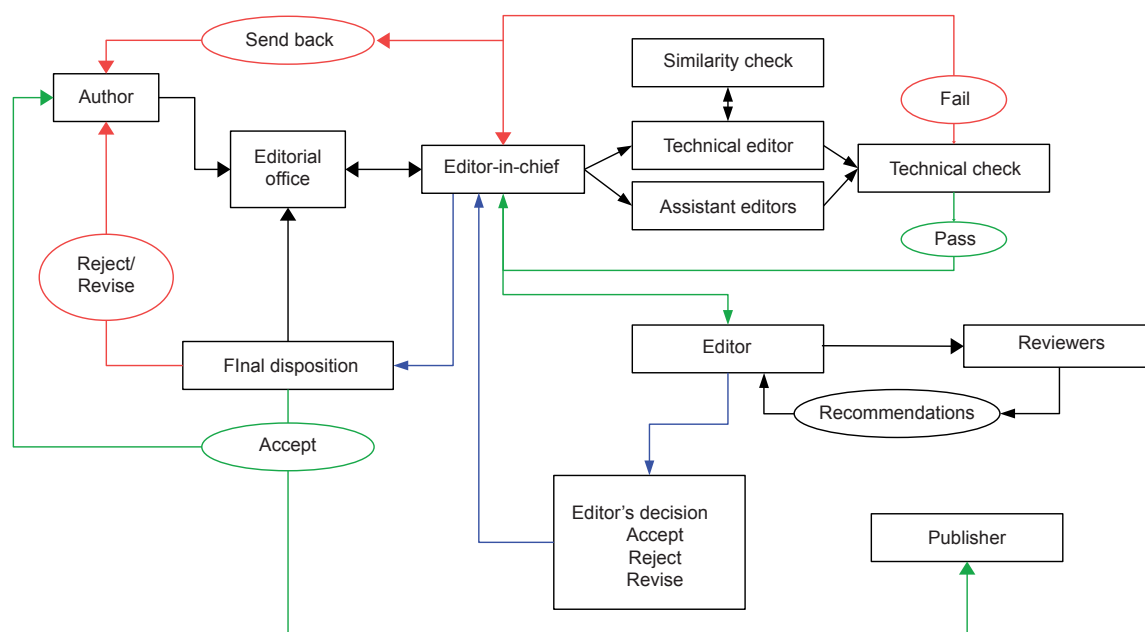
Manuscripts and all attached files (tables and illustrations) should be submitted in electronic form, using the on-line manuscript submission system Editorial Manager available for Romanian Review of Laboratory Medicine at <http://www.editorialmanager.com/rrlm>.

Please note that general reviews and course notes are invited by the editor. Questions may be directed to Editor of this Journal at minodora.dobreanu@rrml.ro.

Submission documents

At the time of submission, the *Romanian Review of Laboratory Medicine* requires an explicit statement (**License to publish**) by the corre-

sponding 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



Workflow of the editorial process

are responsible for obtaining permission to reproduce copyrighted material from other sources and send an authenticated copy of the permission to the Editorial Board.

Each author must provide a clear **statement on potential conflicts of interest** in which he or she may be involved. The statement should include sources of funding, including internal support or grants from non-commercial institutions. The absence of funding should also be declared. The statement on conflicts of interest will be published at the end of the paper. Scanned copies sent electronically and fax submissions are not acceptable.

Authorship

All named authors should meet the criteria for authorship as stated in the „Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication” issued by the International Committee of Medical Journal Editors (www.icmje.org):

„Authorship credit should be based on 1) substantial contributions to conception and design, acquisition of data, or analysis and interpretation of data; 2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content; and 3) final approval of the version to be published. Authors should meet conditions 1, 2, and 3. [...]

All persons designated as authors should qualify for authorship, and all those who qualify should be listed.”

The *Romanian 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 “**Cover letter**” (page 288) that will be signed, attached to and sent by e-mail (office@rrml.ro) together

with the “**License to publish**” form, as soon as possible.

Individuals who supplied reagents, strains or facilities should not be listed as authors, but may be recognized in the *Acknowledgements* section. Individuals who gave advice on the manuscript should be acknowledged, but are not considered authors.

Research involving human subjects or experimental animals

If the scientific project involves human subjects or experimental animals, authors must state in the manuscript that the protocol has been approved by the Ethics Committee of the institution within which the research work was undertaken. Experiments on live vertebrates or higher invertebrates must be demonstrated to be ethically acceptable and in accordance with institutional and national guidelines or regulations for laboratory animals. If the manuscript reports medical research involving human subjects, authors must include a statement confirming that informed consent was obtained from all subjects, according to the World Medical Association Declaration of Helsinki, revised in 2000, Edinburgh.

Manuscript preparation

Before submitting a paper, please assure that the manuscript fit in one of the journal category described by the Journal’s Editorial Policy.

The following article types are accepted: Review, Original research article, Original professional paper, Short Communication, Case study / Series case studies, Course Notes, and Letter to the Editor. Advertisements, news, and special issues are also acceptable as non-indexed publications.

The following article types are accepted, with their formatting limitations:

Article type	Manuscript word limit	Maximum number of references	Maximum number of figures and tables	Abstract (max 250 words)	Supplemental data (online only)
Review	5000	70	6	Yes	Yes
Original research article	3500	40	6	Yes	Yes
Original professional paper	3000	30	5	Yes	Yes
Short Communication	2500	25	4	Yes	No
Case study / case series	2000	25	3	Yes	No
Course Notes	2000	15	3	No	No
Letter to the Editor	1500	10	1	No	No
Editorial	2000	10	1	No	No

Manuscripts must be written in English and prepared in conformity to the “Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication” issued by the International Committee of Medical Journal Editors (www.icmje.org). Romanian authors will also provide a copy of the title, affiliation, abstract and keywords translated into Romanian.

Authors should consult someone proficient in the English language, if they feel it is necessary. If the manuscript is not conform to accepted standards of English usage, the manuscript will be rejected.

Articles must be written in Microsoft Word, Style: Normal + Justified, Font: Times New Roman, font size 12. All manuscripts must be typed double-spaced. Original source files, not PDF files, are required. In text editing, authors should not use spacing with spacebar, tab or paragraph mark, but use the indentation and spacing options in Format → Paragraph. Automatic paging is preferred.

Please do not import tables or figures into the text document, but only specify their insertion in text (e.g. *Table No 3 insertion*). They have to be sent in separate files. Files should be labeled with appropriate and descriptive file names, **without diacritics** (e.g. *Imunofluorescenta.doc*, *Imunofluorescenta Fig1.tiff*, *Imunofluorescenta*

Table2.doc). **The file names must not contain any self-revealing information** (e.g. authors' name).

Charts and tables should be designed in black and white or in greyscale, unless color reproduction is essential for the understanding of the message.

The preferred format for all digital image files is TIFF (Tagged Image File Format). PNG format is also acceptable. Resolution of images must be at least 300 dpi at the size they will appear in the print. Any special instructions regarding sizing should be clearly noted. Scanned images should be free of technical faults (e.g. shadows, wrong orientation). Authors should state the coloration technique and the magnification factor of all images of microscopic samples. Test your figures by sizing them to their intended dimensions and then printing them on your personal printer. The result should not look fuzzy, jagged, pixelated, or grainy.

Manuscript organization

The text of original papers will be organized in one document, in a so-called “IMRAD” structure: introduction (no more than 25% of the text), material and methods, results, comments or discussions and acknowledgements. **The manuscript should not include any self-re-**

vealing information. All information about the author(s), affiliation, contact, as well as the abstract and keywords, will be provided only within the online submission process.

Material and methods have to be described in enough detail to permit reproduction by other teams. The same product names should be used throughout the text (with the brand name in parentheses at the first use). **Results** should be presented concisely. Tables and figures should not duplicate text. The **discussion** should set the results in context and set forth the major conclusions of the authors. Information from the Introduction or Results should not be repeated unless necessary for clarity. The discussion should also include a comparison among the obtained results and other studies from the literature, with explanations or hypothesis on the observed differences, comments on the importance of the study and the actual status of the investigated subject, unsolved problems, and questions to be answered in the future. In addition to the customary recognition of non-authors who have been helpful to the work described, the **acknowledgements** section must disclose any substantive conflicts of interest.

Abbreviations shall be preceded by the full term at their first apparition in text. A list of all abbreviations used shall be made at the end of the article.

Separate documents: tables, graphics, pictures and schemes will appear on separate documents. Tables will have a reasonable number of rows and columns. The tables, charts, schemes etc. should be sent in their original file format (for example, XLS files if they were created in Microsoft Excel), together with the main manuscript, via on line system (<http://www.editorial-manager.com/rrlm>).

References should be numbered consecutively in the order in which they are first mentioned in the text. Identify references in text, tables, and legends by Arabic numerals in paren-

theses. References cited only in tables or figure legends should be numbered in accordance with the sequence established by the first identification in the text of the particular table or figure. The titles of journals should be abbreviated according to the style used in *Index Medicus*. Consult the list of Journals Indexed for MEDLINE, published annually as a separate publication by the National Library of Medicine. Authors are responsible for the accuracy and completeness of all references and are also responsible for ensuring that references are not used out of context.

For journal articles use the following form: authors' surnames and first names initials, article's title, the journal abbreviation according to the *Index Medicus*, year, volume, starting and ending pages of the article. If there are more than six authors, list the first six and add et al. We recommend to automatically insert the references using dedicated reference management solutions (e.g. Zotero, Microsoft word bibliography, Endnote web), according to **Vancouver citation style**.

e.g. "Zimmermann MB, de Benoist B, Corigliano S, Jooste PL, Molinari L, Moosa K, et al. Assessment of iodine status using dried blood spot thyroglobulin: development of reference material and establishment of an international reference range in iodine-sufficient children. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 Dec;91(12):4881-7"

For books or monographs: the names of the cited chapter's authors, chapter's title, the editors, the title of the book or monograph, the name and location of the publisher, the year of the appearance and pages.

Editorial process and peer review

The whole peer-review workflow is performed in the Editorial Manager online system. Manuscript submitted should contain original work, focused on the aims of this journal, should

be clearly and correctly written in English, and should contain all essential features of a scientific publication. Submitted manuscripts are screened for completeness and quality of files and will not enter the review process until all files are satisfactory. In order to evaluate similarities with scientific literature, specialized text-matching software is used to screen all manuscripts accepted for scientific evaluation. The Secretariat will announce the corresponding author about the receipt and the status of the manuscript.

Authors may suggest reviewers for their manuscript, whether invited to do so by the Editor or not. The Editor may choose to use one or more of these reviewers, but is under no obligation to do so. Authors may ask that certain people not be asked to review their manuscript, but Editors are not held to accept these requests either. The articles are sent to reviewers with expertise in the laboratory medicine area, without revealing the authors' names and positions. Also, the reviewers' identities are not known by the authors. Following the reviewers' recommendations, the Editors decide if a paper is published or not. Submissions may be declined without external review as deemed appropriate by the Editor-in-Chief and the members of the Editorial Board. The authors of the manuscripts that have been rejected or need revision will be announced. Revised manuscripts should be re-submitted as soon as possible, but not later than 6 weeks. Although unusual, a resubmission may be rejected after revision if the response to suggestions and requests is considered inadequate.

Authors will receive a PDF file with the edited version of their manuscript for final proof-reading. This is the last opportunity to view an article before its publication. The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness and accuracy of the text, tables and figures. Substantial changes in content are not allowed without the approval of the Editor. The authors are requested to return

the corrected proofs within 7 days after their delivery or notify the Editors that no corrections are required. After online publication, further changes can only be made in the form of an Erratum, which will be hyperlinked to the article. The corresponding author will receive a printed issue of the Journal free of charge.

Scientific misconduct / Corrections / Retraction Policy

Scientific fraud are rare events; however, they have a very serious impact on the integrity of the scientific community. Scientific misconduct is defined by the Office of Research Integrity as "fabrication, falsification, plagiarism, or other practices that seriously deviate from those that are commonly accepted within the academic community for proposing, conducting, or reporting research". In cases where there is a suspicion or allegation of scientific misconduct or fraudulent research in manuscripts submitted or published, the Editors reserve the right to impose sanctions on the authors, such as: immediate rejection of the manuscript, banning author(s) from submitting manuscripts to the journal for a certain period of time, retracting the manuscript, bringing the concerns to the authors' sponsoring or funding institution or other appropriate authority for investigation

If the Editorial Board uncovers possible evidence of such problems it will first contact the corresponding author in complete confidence, to allow adequate clarification of the situation. If the results of such interactions are not satisfactory, the Board will contact the appropriate official(s) in the institution(s) from which the manuscript originated. It is then left to the institution(s) in question to pursue the matter appropriately. Depending on the circumstances, the *Romanian Review of Laboratory Medicine* may also opt to publish errata, corrigenda, or retractions.

Serious errors in a published manuscript and infringements of professional ethical codes will result in an article being retracted. This will occur where the article is clearly defamatory, or infringes others' legal rights, or where the article is, or there is good reason to expect it will be, the subject of a court order, or where the article, if acted upon, might pose a serious health risk. In any of these cases all coauthors will be informed about a retraction. A Retraction Note detailing the reason for retraction will be linked to the original article.

Publication fee

A publication fee of 100 EUR will have to be paid for articles accepted for evaluation by editorial board of Romanian Review of Laboratory Medicine (invited contributions excepted). The fee will be paid when the manuscript acceptance for scientific evaluation is prompted by the Editorial Office. The author will bear the cost of publication for color illustrations, if their

number exceeds two color figures (invited contributions excepted). The charge is 25 EUR (or equivalent in RON) for each color figure, starting with the third color illustration). The authors will also bear the cost of English supervision (if the manuscript needs assistance). If reasonable corrections are necessary the charge is 10 EUR (or equivalent in RON)/ supervised page.

The total charge for color figures and English supervision will be communicated by the Editorial Secretariat upon acceptance of the manuscript for publication.

All payments will be operated in 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, Romania. Please e-mail (office@rrml.ro) or fax a copy of the bank draft at the Editorial Secretariat (+40 265 217 425).

Cover letter and authors' contribution

According to the ICMJE, the Romanian Review of Laboratory Medicine recommends that authorship be based on the following criteria:

1. Substantial contributions to the conception or design of the work; or the acquisition, analysis, or interpretation of data for the work;
2. Drafting the work or revising it critically for important intellectual content;
3. Final approval of the version to be published;
4. Agreement to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Those who meet all four criteria can be identified as authors; otherwise they should only be acknowledged.

Title

--

The authors attest that

- This paper has not been published previously;
- The manuscript is an original work without fabrication, fraud, or plagiarism;
- Have read the complete manuscript and takes responsibility for the content of the manuscript;
- There is no potential conflict of interest (employment, consultancies, stock ownership, equity interests, and patent-licensing arrangements);

Authors' contribution

Authors	Contributions	Signatures

Acknowledgements

--

Erată: Posterul P17 a fost omis din greșeală.**The profile of cardiovascular risk factors and metabolic syndrome in patients with degenerative aortic stenosis**

Dana Velimirovici¹, Delia Berceanu Vaduva¹, Matilda Radulescu¹, Livia Stanga¹, M. Velimirovici¹, M. Berceanu Vaduva¹, I. Gogoasa², Maria Rada¹

1. University of Medicine and Pharmacy "Victor Babes", Timisoara, Romania; 2. University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine of Banat "Regele Mihai I al Romaniei" Timisoara

Purpose: Establishing the incidence of metabolic syndrome (MS) and cardiovascular risk factors (CVRF) in patients with degenerative aortic stenosis (AS) with and without associated coronary artery disease.

Materials and methods: There were 110 patients included in the study after aortic valve replacement. We determined the parameters that defined MS as IDF: waist circumference > 94cm for men and > 80cm or BMI $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ - WHO to those who have been determined waist circumference, TG $\geq 150 \text{ mg/dl}$, HDL cholesterol < 40 mg/dl for men and < 50 mg/dl for women, TA $\geq 130/85 \text{ mmHg}$ or specific therapy and the fasting $\geq 100 \text{ mg/dl}$ (including diabetes) and other principal CVRF. Statistical processing: mean $\pm$ standard deviation, % lot, unpaired t test.

Results and discussion: Patients were randomized into two groups: A to MS (43.63%) and B without MS (56.36%). The incidence of coronary artery disease in patients with MS was 52.08% versus 32.25% in those without MS. Statistically significant differences MS components were noted in all variables determined, particularly: triglycerides ($174.4 \pm 106.5 \text{ mg/dl}$ vs $115.2 \pm 51.8 \text{ mg/dl}$; $p < 0.001$), fasting glucose ($105.9 \pm 20.1 \text{ mg/dl}$ vs $92.7 \pm 13.4 \text{ mg/dl}$, $p < 0.001$) and HDL cholesterol levels in females ($44.6 \pm 10.6 \text{ mg/dl}$ vs $54.3 \pm 14.2 \text{ mg/dl}$; $p < 0.001$).

Conclusions: MS components involved in the atherosclerotic process are common in patients with degenerative AS incidence MS was significantly increased in patients with coronary heart disease associated. MS is a predictive factor of increased risk of atherosclerotic process, independent of traditional risk factors.

Profilul factorilor de risc cardiovascular și sindromul metabolic la pacienții cu stenoză aortică degenerativă

Dana Velimirovici¹, Delia Berceanu Văduva¹, Matilda Rădulescu¹, Livia Stângă¹, M. Velimirovici¹, M. Berceanu Văduva¹, I. Gogoasă², Maria Rada¹

1. Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș", Timișoara, România; 2. Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară "Regele Mihai I al României", Timișoara, România

Scop: Stabilirea incidenței sindromului metabolic (SM) și a factorilor de risc cardiovascular (FRCV) la pacienții cu stenoză aortică (SAo) degenerativă cu și fără boală coronariană asociată.

Material și metodă: Au fost incluși în studiu 110 pacienți postînlocuire valvulară aortică. S-au determinat toți parametrii care definesc SM conform IDF: circumferința taliei > 94cm la bărbați și > 80cm sau IMC $\geq 30 \text{ kg/m}^2$ - conform OMS la cei care nu a fost determinată circumferința taliei, TG $\geq 150 \text{ mg/dl}$, HDL-colesterol < 40 mg/dl pentru bărbați sau < 50 mg/dl pentru femei, TA $\geq 130/85 \text{ mmHg}$ sau terapie specifică și glicemia a jeun $\geq 100 \text{ mg/dl}$ (inclusiv diabet zaharat), precum și ceilalți principali FRCV. Prelucrarea statistică: media $\pm$ deviație standard, % lot, testul t nepereche.

Rezultate și discuții: Pacienții au fost randomizați în două grupe: A cu SM (43,63%) și B fără SM (56,36%). Incidența bolii coronariene la cei cu SM a fost de 52,08% versus 32,25% la cei fără SM. Diferențe statistic semnificative ale componentelor SM s-au semnalat la toate variabilele determinate, în special: trigliceridele ($174,4 \pm 106,5 \text{ mg/dl}$ vs $115,2 \pm 51,8 \text{ mg/dl}$; $p < 0,001$), glicemia a jeun ($105,9 \pm 20,1 \text{ mg/dl}$ vs $92,7 \pm 13,4 \text{ mg/dl}$, $p < 0,001$), precum și HDL colesterol la femei ($44,6 \pm 10,6 \text{ mg/dl}$ vs $54,3 \pm 14,2 \text{ mg/dl}$; $p < 0,001$).

Concluzii: Componentele SM implicate în procesul aterosclerotic sunt frecvent întâlnite la pacienții cu SAo degenerativă, incidența SM fiind semnificativ mai crescută la pacienții cu boală coronariană asociată. SM este un factor predictiv de risc crescut al procesului aterosclerotic, independent de factorii de risc tradiționali.