

**REVISTA ROMÂNĂ DE
MEDICINĂ DE LABORATOR**

Supliment 1 la Vol. 27, Nr. 2, Aprilie, 2019

Advisory Board

William Au (University of Texas, USA, Shantou University Medical College, China)
Maurizio Ferrari (Univ. „Vita-Salute San Raffaele”, Milan, Italy)
Steliana Huhulescu (Institut für med. Mikrobiologie und Hygiene, Viena, Austria)
Trefor Higgins (DynaLIFE Dx Laboratories, Edmonton, Canada)
Janos Kappelmayer (Univ. Debrecen, Hungary)
Gabor Kovacs (Univ. Pecs, Hungary)
Laszlo Muszbek (Univ. Debrecen, Hungary)
Manuela Neuman (Institute of Drug Research, Univ. of Toronto, Canada)
Francisco Nogales (Universidad de Granada, Spain)
Vladimir Palicka (Univ. Hradek Kralove, Praga, Czech Republic)
Grazyna Odrowaz-Sypniewska (Nicolaus Copernicus University, Torun, Poland)
Dan Simionescu (Clemson University, USA)
Ana Maria Simundic (Univ. Zagreb, Croatia)
Cristina Skrypnyk (Arabian Gulf University, Manama, Bahrain)
Robert Soslow (Memorial Sloan Kettering Cancer Center, New York, USA)
Horia Stănescu (University College London, UK)
Cătălina Suzana Stîngu (Universitätsklinikum Leipzig, Germany)
Franc Strle (University Medical Centre Ljubljana, Slovenia)
Alexandru Șchiopu Jr. (Lund University, Malmö, Sweden)
Angela Borda (UMFST Târgu Mureş)
Eugen Carasevici (UMF „Gr. T. Popa” Iaşi)
Petru Cianga (UMF „Gr. T. Popa” Iaşi)
Daniel Coriu (UMF „Carol Davila” Bucureşti)
Alis Dema (UMF „Victor Babeş” Timişoara)
Olga Dorobăt (Institutul Național de Boli Infectioase „Matei Balș”)
Vlad Gorduza (UMF „Gr. T. Popa” Iaşi)
Nicolae Hâncu (UMF „Iuliu Hatieganu”, Cluj-Napoca)
Monica Licker (UMF Timișoara)
Claudiu Mărgăritescu (UMF Craiova)
Marius Măruşteri (UMFST Târgu Mureş)
Ioana Neagoe (UMF „Iuliu Haţieganu” Cluj-Napoca)
Dan Otelea (Institutul Național de Boli Infectioase „Matei Balș”)
Ioan Victor Pop (UMF „Iuliu Haţieganu” Cluj-Napoca)
Adrian Streinu-Cercel (UMF „Carol Davila” Bucureşti)
Margit Ţerban (UMF „Victor Babeş” Timișoara)

ASOCIAȚIA DE MEDICINĂ DE LABORATOR DIN ROMÂNIA
CCAMF - UMF Tîrgu Mureș
Str. Gh. Marinescu 38, Et 3, Cam. 107,
Tîrgu Mureș, 540139
Tel/fax 40 265 20 89 42/40 265 20 89 52
www.rrml.ro, www.almr.ro, www.raml-conference.ro



REVISTA ROMÂNĂ DE MEDICINĂ DE LABORATOR

Romanian Journal of Laboratory Medicine

Publicație Oficială a ASOCIAȚIEI DE MEDICINĂ DE LABORATOR DIN ROMÂNIA
Supliment 1 la Vol. 27, Nr. 2, Aprilie, 2019

Comitetul de redacție

Redactor șef
Minodora Dobreanu

Redactor adjunct
Adrian Man

Secretariat redacție
Floredana Șular

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

Redactori tehnici
Adrian Man
Mihaela Iancu
Adrian Năznean
Aurora Pașcan
Anișoara Pop
Emanuela Tegla
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 2017: 0.400
Index Copernicus Master journal List - din anul 2009.

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

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

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

Directory of Open Access Journals (DOAJ) - Începând cu 2016 RRML este indexată în DOAJ.

Table of contents

A Treia Conferință a Asociației de Medicină de Laborator din România, cu Participare Internațională	S5
Organizers /Organizatori	S6
Abstracts / Rezumate[*]	S7
Authors Index / Index de autori	S113
Information and Guidelines for Authors	S117

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



Asociația de Medicină de Laborator din România



EUROPEAN FEDERATION OF CLINICAL CHEMISTRY
AND LABORATORY MEDICINE

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

**05-07 IUNIE 2019
IASI**

SUB AUSPICIILE IFCC ȘI EFLM

Organizatori | Organizers

Asociația de Medicină de Laborator din România AMLR
 Universitatea de Medicină și Farmacie *Grigore T. Popa* Iași
 Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie Târgu Mureș
 Universitatea de Medicină și Farmacie *Iuliu Hațieganu* Cluj Napoca
 Universitatea de Medicină și Farmacie *Carol Davila* București
 Universitatea de Medicină și Farmacie din Timișoara

Parteneri | Partners

Societatea Română de Hematologie
 Societatea Română de Microbiologie

Comitet de organizare - Organizing Committee

Iași
 Cristina DIMITRIU
 Daniela JITARU

Tîrgu Mureș
 Minodora DOBREANU
 Adina HUȚANU
 Oana OPREA
 Eliza DAVID

Cluj Napoca
 Ioana BRUDAŞCĂ (președinte)
 Mariana PAȚIU
 Cristina SELICEAN

București
 Daniela MIRICESCU (secretar AMLR)
 Ariadna RĂDULESCU (trezorier AMLR)
 Constanța POPA (presedinte OBBCSSR)

Timișoara
 Monica LICKER
 Camelia VIDIȚĂ-GURBAN

Comitet științific - Scientific Committee

Claudia BĂNESCU

Ioana BRUDAŞCĂ

Eugen CARASEVICI

Petru CIANGA

Dan COLIȚĂ

Daniel CORIU

Cristina DIMITRIU

Minodora DOBREANU

Olga DOROBĂȚ

Maria GREABU

Adrian MAN

Mariana PAȚIU

Cristina SELICEAN

MIERCURI 05.06.2019

PLENARY SESSION 1 - MICROBIOLOGY

R1 VIRUS B HEPATITIS, PARTICULAR SEROLOGICAL PROFILES - DIAGNOSIS DIFFICULTIES

Luminița Smaranda Iancu

University of Medicine and Pharmacy „Grigore” T. Popa, Iași, National Institute of Public Health - Regional Center for Public Health Iasi

Virus B hepatitis (HBV) remains a public health challenge, despite vaccination, affecting 350-400 million people globally, with 1 million deaths annually. Although most cases evolve according to the classical dynamics of specific markers, different mutations in the open reading frames (ORF) of the viral genome induce particular serological profiles. Mutations in the preC/C region, also detected in our area, are predictive, along with those in the restricted major histocompatibility complex (MHC) region, for an unfavorable progression to cirrhosis and liver cancer. Most mutations reported in the preC region are associated with low (or even absence) of HBeAg level or low HBV replication in seropositive patients. In the C region, mutations are preferentially located in the immuno-reactive regions (MHC I and II) and less frequently in the immuno-inactive regions. The importance of knowing these particular serological profiles, most frequently induced by point mutations in the preC/C region, is related to the modulation of the therapeutic strategy, as HBeAg negative but persistently infected patients are partially responding to alpha-interferon treatment.

On the other hand, HBV forms, with no detectable HBsAg, require additional testing in Blood Donation Centers, in order to correct donors screening, and the five types of mutations in the preS/S region should lead to routine testing to highlight them as they can induce unfavorable developments, requiring rigorous monitoring of these patients.

Keywords: HVB, mutations, diagnosis.

HEPATITA CU VIRUS B, PROFILURI SEROLOGICE PARTICULARE - DIFICULTĂȚI DE DIAGNOSTIC

Hepatita cu virus B (HVB) rămâne o problemă de sănătate publică, în pofida vaccinării, afectând la nivel mondial, 350-400 milioane de personae, cu 1 milion de decese anual. Deși majoritatea cazurilor evoluează conform dinamicii clasice a markerilor specifici, diferite mutații în secvențele deschise de citire ale genomului viral, induc profiluri serologice particulare. Mutațiile în regiunea preC/C, puse în evidență și în zona noastră, sunt predictive, împreună cu cele din regiunea restricționată a complexului major de histocompatibilitate (CMH), pentru o evoluție nefavorabilă spre ciroză și cancer hepatic. Majoritatea mutațiilor raportate în regiunea preC sunt asociate cu niveluri reduse de HBeAg (sau chiar absența acestuia) sau cu replicarea redusă a virusului hepatic B (VHB) la pacienții seropozitivi. În regiunea C, mutațiile sunt localizate, preferențial, în regiunile imuno-reactive (CMH I și II) și mai rar, în regiunile

imuno-inactive. Importanța cunoașterii acestor profiluri serologice particulare, induse cel mai frecvent de mutații punctiforme în regiunea preC/C este legată de modularea strategiei terapeutice, dat fiind că pacienții AgHBe negativ, dar cu infecție persistentă, răspund parțial la tratamentul cu alfa-interferon.

Pe de altă parte, formele de HVB, fără AgHBs decelabil, impun în Centrele de donare de sânge, introducerea de teste suplimentare, în vederea trierii corecte a donatorilor, iar cele cinci tipuri de mutații din regiunea preS/S, ar trebui să conducă la testarea de rutină pentru evidențierea lor, deoarece pot induce evoluții nefavorabile, ce impun monitorizarea riguroasă a acestor pacienți.

Cuvinte cheie: HVB, mutații, diagnostic.

R2 ACINETOBACTER SPP. – THE KILLING BAD BUG THAT WE NEED TO KNOW BETTER

Irina Codiță, Elena-Carmina Drăgușescu, Brândușa-Elena Lixandru

National Institute for Medical and Military Research and Development “Cantacuzino”, București,
România

Introduction: The bacteria of the future taxonomic group *Acinetobacter* were first described by Morax (1896) and Axenfeld (1897). In the last 3 decades this taxonomic group with originally controversial pathogenicity stood out as one of the fearsome aetiological agents of nosocomial infections due to a remarkable versatility in gaining virulence factors and antibiotic resistance under the pressure of improper or excessive use of broad spectrum antibiotics.

Material and method: The internet and Medline database were consulted via PubMed using *Acinetobacter*, hospitals, Romania as keywords. We found 20 items. The following aspects were pursued: resistance to antibiotics, resistance genes, molecular epidemiology.

Results: There are no data at national level on antimicrobial resistance and molecular epidemiology of *Acinetobacter* strains circulating in Romania. There are isolated reports, including a limited number of strains, which highlight the presence of antibiotic-resistant strains. Starting with 2005-2006, different carbapenem resistance genes (OXA-23, OXA-58, OXA-72, VIM), extended-spectrum beta-lactamases (eg PER-1), etc. have been reported for the first time. In a study on 13 isolates from 3 hospitals from the South-Western regions of Romania, 11 strains were included in the international clone I.

Conclusions: sporadic occasional studies on geographically and numerically limited samples showed the circulation of several strains with extensive antibiotic resistance and highly epidemic potential. In this context, there is a stringent need for surveillance and control programs to identify sources and routes of transmission in order to limit the circulation of epidemic and / or endemic clones.

Keywords: Acinetobacter, Romania, molecular epidemiology

ACINETOBACTER SPP. – BACTERIA UCIGAŞĂ PE CARE E NEVOIE SĂ O CUNOAȘTEM MAI BINE

Introducere: Bacterii din viitorul grup taxonomic *Acinetobacter* au fost descrise pentru prima oară de Morax (1896) și Axenfeld (1897). În ultimele 3 decenii, acest grup taxonomic cu patogenitate inițial controversată s-a afirmat ca unul dintre agenții etiologici de temut ai infecțiilor nosocomiale, ca urmare

a unei remarcabile versatilități în ce privește căștigarea de factori de virulență și rezistență la antibiotice, sub presiunea utilizării nepotrivite sau excesive a antibioticelor cu spectru larg.

Material și metodă: A fost consultată baza de date Medline via PubMed și internet-ul folosindu-se cuvintele cheie *Acinetobacter*, spitale, România. Au fost găsite 20 de articole. S-au urmărit următoarele aspecte: rezistență la antibiotice, gene de rezistență, epidemiologie moleculară.

Rezultate: În România nu există date la nivel național privind epidemiologia moleculară a tulpinilor de *Acinetobacter spp.* Există raportări izolate, cuprinzând un număr limitat de tulpini, care evidențiază prezența tulpinilor cu rezistență extinsă la antibiotice. Începând cu anii 2005-2006 încep să fie semnalate pentru prima oară diferite gene de rezistență la carbapeneme (OXA-23, OXA-58, OXA-72, VIM), beta-lactamaze cu spectru extins (ex. PER-1) etc. Într-un studiu efectuat pe 13 tulpini izolate din 3 spitale din sud-vestul țării, 11 tulpini au fost încadrate în clona internațională I.

Concluzii: Studiile ocasionale sporadice, asupra unor eșantioane limitate din punct de vedere geografic și numeric evidențiază circulația unor tulpini cu rezistență extinsă la antibiotice și înalt potențial epidemic. În acest context, se impune cu stringență existența unor programe de supraveghere moleculară, pentru identificarea surselor și căilor de transmitere, în vederea limitării circulației clonelor epidemice și/sau endemice.

Cuvinte cheie: *Acinetobacter*, Romania, epidemiologie moleculară

R3. ANTIMICROBIAL RESISTANCE: TRENDS AND MULTIMODAL APPROACHES

Monica Licker^{1,2}, Luminița Bădițoiu¹, Delia Muntean^{1,2}

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

2. „Pius Brinzeu” Emergency Clinical County Hospital Timișoara, România

The main catalysts for the emergence and spread of antimicrobial resistance (AMR) are the excessive use of antibiotics (which exerts selective pressure on bacteria), as well as the reduced infection prevention and control (IPC) activities, which favors the further spread of these resistant bacteria in hospitals and community.

The 2017 Surveillance Report of AMR in Europe (published in November 2018) states that resistance rates are higher for Gram-negative bacilli (GNB). Respectively, carbapenem resistance remains rare in *E. coli*, but many countries report over 10% of *K. pneumoniae* carbapenem resistant strains and even higher values in *P. aeruginosa* and *Acinetobacter spp.* Concerning Gram-positive cocci, *S. aureus* has a decline in the percentage of methicillin-resistant strains, with an average value that dropped significantly from 19.6% in 2014 to 16.9% in 2017, with similar trends in over one quarter of the states participating in the survey. The increasing trend of vancomycin-resistant *E. faecium* strains is worrying, from 10.4% in 2014 to 14.9% in 2017, in about one third of the participating countries.

„Pius Brinzeu” Emergency Clinical Hospital in Timisoara faces increasing resistance trends, especially in GNB, such as *Klebsiella*, *Proteae*, *Acinetobacter* species, isolated mainly from bronchial aspirates and blood cultures of patients admitted to intensive care units.

These resistance trends justify a multimodal approach: implementing diagnostic guidelines, improving AMR testing methods and healthcare associated infections diagnosing, education of prescribers, restrictions and pre-authorization in prescribing antibiotics, multidisciplinary approach, etc.

Keywords: trend, resistance, Gram-negative bacilli

REZistență LA ANTIMICROBIENE: TRENDURI ȘI ABORDĂRI MULTIMODALE

Principalii catalizatori ai apariției și răspândirii rezistenței la antimicrobiene (AMR) sunt utilizarea excesivă a antibioticelor (care exercită o presiune selectivă asupra bacterilor), precum și activitățile reduse de prevenție și control a infecțiilor (IPC), care favorizează răspândirea ulterioara a acestor bacterii rezistente în spitale și comunitate.

Raportul de supraveghere al AMR în Europa pentru anul 2017 (publicat în noiembrie 2018) precizează faptul că procente de rezistență sunt mai mari pentru bacilii Gram negativi (GNB). Carbapenem rezistență rămâne rară la *E. coli*, dar numeroase țări raportează peste 10% tulpini carbapenem rezistente de *K. pneumoniae*, cu valori chiar mari la *P. aeruginosa* și *Acinetobacter* spp. În privința cocilor Gram pozitivi, la *S. aureus* se remarcă declinul procentului de tulpini meticilino-rezistente, cu o valoare medie care a scăzut semnificativ de la 19.6% în 2014 la 16.9% în 2017, cu tenduri similare la peste o pătrime din statele participante la studiu. Este îngrijorător însă trendul cresător al tulpinilor de *E. faecium* rezistente la vancomicina, de la 10.4% în 2014 la 14.9% în 2017, la aproximativ o treime din țări.

Spitalul clinic Județean de Urgență "Pius Brinzeu" din Timișoara se confruntă cu tenduri crescute de rezistență în special la specii de GNB de tipul: *Klebsiella*, *Proteae*, *Acinetobacter*, izolate mai ales din aspirate bronșice și hemoculturi ale pacienților internați în secțiile de terapie intensivă.

ACEste tenduri de rezistență justifică o abordare multimodală: implementarea ghidurilor de diagnostic, îmbunătățirea metodelor de testare a AMR și diagnostic al infecțiilor asociate asistenței medicale, educația prescriptorilor, restricții și preautorizare în prescrierea antibioticelor, abordarea multidisciplinară.

Cuvinte cheie: trend, rezistență, bacili Gram negativi

R4 ROLE OF TOXOPLASMA GONDII IGA ANTIBODIES FOR THE DIAGNOSIS OF TOXOPLASMOSIS

Tudor Rareș Olariu

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

Toxoplasma gondii is a ubiquitous protozoan that has the capacity to cross the placenta and infect the fetus when pregnant women are primarily infected during gestation. Timing of infection during pregnancy should be determined since the risk of transmission and severity of disease depends upon the gestational age at which maternal infection was acquired. Currently, the optimal approach is to investi-

gate each pregnant woman for the presence of *T. gondii* IgG and IgM antibodies as soon as pregnancy is recognized. We have recently demonstrated that pregnant women with *T. gondii* IgA antibodies are more likely to have had an acute infection compared to pregnant women without *T. gondii* IgA antibodies. *Toxoplasma* IgA antibody testing may improve the accuracy of a serologic panel for the diagnosis of acute toxoplasmosis during pregnancy; physicians who order testing only for *T. gondii* IgG and IgM should also request additional testing for IgA and IgG avidity, if both IgG and IgM are positive.

In infants born to mothers primarily infected during gestation, tests for the presence of IgA and IgM should be carried out on the peripheral blood. Congenital toxoplasmosis is confirmed if *T. gondii* IgA and/ or IgM antibodies are demonstrated in infant's sera. Neonatologists and pediatricians should order serologic testing for *T. gondii* IgA and/ or IgM antibodies in infants suspected to have a congenital infection.

The usefulness of adding the *T. gondii* IgA test to the serologic panel of tests performed with the aim of diagnosing toxoplasmosis is discussed.

Key-words: IgA, toxoplasmosis, serology

ROLUL ANTICORPILOL ANTI-TOXOPLASMA GONDII IGA ÎN DIAGNOSTICUL TOXOPLASMOZEI

Toxoplasma gondii este un protozoar ubicuitar care are capacitatea de a traversa placenta și de a infecta fătul atunci cand femeile gravide sunt infectate în timpul sarcinii. Determinarea momentului infectării în timpul sarcinii este esențială, deoarece riscul transmiterii și severitatea bolii depind de vîrstă gestațională la care a fost dobândită infecția maternă. În prezent, abordarea optimă este de a investiga fiecare femeie însărcinată pentru prezența anticorpilor anti-*T. gondii* IgG și IgM imediat după confirmarea sarcinii. Recent, am aratat că femeile însărcinate cu anticorpi anti-*T. gondii* IgA, au avut cel mai probabil o infecție acută, comparativ cu cele fără anticorpi anti-*T. gondii* IgA prezente. Determinarea anticorpilor anti-*T. gondii* IgA poate îmbunătăți acuratețea panelului serologic de teste utilizat pentru diagnosticarea toxoplasmozei acute în timpul sarcinii; medicii care solicită doar testarea anticorpilor anti-*T. gondii* IgG și IgM ar trebui, de asemenea, să solicite testarea suplimentară pentru IgA și aviditate-IgG, dacă IgG și IgM sunt pozitive.

La nou-născuții din mame infectate în timpul sarcinii, testarea pentru prezența IgA și IgM ar trebui efectuată din sângele periferic. Toxoplasmoza congenitală este confirmată dacă anticorpii anti-*T. gondii* IgA și/sau IgM sunt prezente în serum nou-născutului. Neonatologii și pediatrii ar trebui să solicite testarea serologică pentru anticorpii anti-*T. gondii* IgA și/sau IgM la sugarii suspectați de infecție congenitală.

Utilitatea adăugării testului *T. gondii*-IgA la panelul serologic de teste efectuate în scopul diagnosticării toxoplasmozei va fi discutată.

Cuvinte cheie: IgA, toxoplasmoză, serologie

C1. HEPATIC CYSTIC ECHINOCOCCOSIS IN ARAD COUNTY: A 12-YEAR RETROSPECTIVE STUDY

Ana Alexandra Păduraru ^{1,2}, Maria Alina Lupu^{1,3}, Alin Gabriel Mihu^{4,5}, Dan Andrei Korodi ^{4,5}, Bogdan Totolici ^{4,5}, Alexandru Dumnicu ^{4,5}, Edith Hornung ⁴, Tudor Rareş Olariu ^{1,2}

1. „Victor Babeş” University of Medicine and Pharmacy Timișoara, Romania

2. Municipal Clinical Emergency Hospital, Timișoara, Romania

3. Institute of Cardiovascular Medicine, Timișoara, Romania

4. Clinical Emergency County Hospital, Arad, Romania

5. “Vasile Goldis” Western University of Arad, Romania

Introduction: Cystic echinococcosis is a parasitic disease caused by the larval stage of taenia *Echinococcus granulosus*. The hydatid cyst grows slowly and remains asymptomatic for a long period of time. The most commonly involved organ is the liver, followed by the lungs. The aim of the study was to assess the epidemiological, clinical, paraclinical and therapeutic aspects of hepatic hydatidosis in hospitalized patients from Arad County.

Material and method: This retrospective study included 55 consecutive patients hospitalized at County Clinical Emergency Hospital, General Surgery Clinics, in Arad, between 01.01.2007 and 31.12.2018. Data were collected from patients' medical records and surgery protocols.

Results: The 55 patients aged 17 to 90 years (mean=47.8), 28 (50.9%) were females and 31(56.4%) were from rural area. The mean length of hospital stay was 13.8 days. The most frequent presenting symptoms were right upper-quadrant pain (54.5%), nausea (16.4%) and vomiting (16.4%). The cysts were located in the right lobe and segment VIII, in 43 (78.2%) and 34 (61.8%) patients, respectively. Of the 13 (23.63%) patients presenting complications (biliary fistula, angiocholitis, mechanical jaundice, peritonitis, bacterial superinfection), 10 were admitted through the emergency department. All 55 patients underwent a preoperative ultrasound. The most common procedure was Lagrot partial pericystectomy in 50 (90.9%) cases, followed by cystectomy and atypical hepatectomy, in three (5.5%) and two (3.6%) cases, respectively.

Conclusions: Cystic echinococcosis remains a neglected public health problem in Arad County. Advances in knowledge and implementing control programmes are essential tools in reducing the prevalence of this zoonotic disease.

Keywords: *Echinococcus* spp., hepatic hydatidosis, epidemiology

ECHINOCOCOZA CHISTICĂ HEPATICĂ ÎN JUDEȚUL ARAD: UN STUDIU RETROSPECTIV PE 12 ANI

Introducere: Echinococoza chistică este o boală parazitară produsă de forma larvară a teniei *Echinococcus granulosus*. Chistul hidatid evoluează lent, rămânând asimptomatic o lungă perioadă de timp. Organul cel mai frecvent implicat este ficatul, fiind urmat de plămani. Studiul nostru evaluează aspectele epidemiologice, clinice, paraclinice și terapeutice la pacienții internați cu hidatidoză hepatică în județul Arad.

Material și metodă: Studiul retrospectiv a inclus 55 pacienți consecutivi internați în Spitalul Clinic Județean de Urgență, Secțiile de Chirurgie Generală, Arad, în perioada 01.01.2007-31.12.2018. Datele au fost colectate din foile de observație și din protocoalele operatorii.

Rezultate: Din cei 55 pacienți cu vârstă cuprinsă între 17-90 ani (media=47.8), 28(50.9%) au fost de sex feminin și 31(56.4%) au provenit din mediul rural. Durata medie a spitalizării a fost de 13.8 zile. Cele mai frecvente simptome au fost durerea în hipocondrul drept (54.5%), greața (16.4%) și vărsăturile (16.4%). Chisturile au fost localizate în lobul drept și segmentul VIII la 43(78.2%) respectiv 34(61.8%) pacienți. Treisprezece pacienți (23.63%) au prezentat complicații (fistulă biliară, angiocolită, icter mechanic, peritonită, suprainfecție bacteriană), zece (18.2%) fiind internați prin departamentul de urgență. Toți cei 55 de pacienți au fost supuși preoperator unei ecografii. Cea mai frecventă procedură practicată a fost perichistectomia parțială de tip Lagrot în 50(90.9%) cazuri, urmată de chistectomie și hepatectomie atipică la trei (5.5%), respectiv doi (3.6%) pacienți.

Concluzii: Echinococcoza chistică rămâne o problemă de sănătate publică neglijată în județul Arad. Progresele în cunoaștere și implementarea unor programe de control sunt elementele esențiale în vederea reducerii prevalenței acestei boli zoonotice.

Cuvinte cheie: *Echinococcus* spp., hidatidoză hepatică, epidemiologie

C2 STUDY OF DEMODICOSIS PREVALENCE IN WESTERN ROMANIA

Rodica Lighezan ¹, Alina Maria Lupu ¹, Livius Tirnea ¹, Ionut Capraru ¹, Diana Luisa Lighezan ², Narcisa Mederle ³, Doina Nitu ⁴, Oana Jurovits ⁴, Tudor Rares Olariu ¹

1. Department of Parasitology, Faculty of Medicine, "Victor Babeș" University of Medicine and Pharmacy, Timișoara, Romania

2. Department of Hematology, Faculty of Medicine, "Victor Babeș" University of Medicine and Pharmacy, Timișoara, Romania

3. Department of Parasitology, Faculty of Veterinary Medicine, Banat's University of Agricultural Science and Veterinary Medicine "King Michael I of Romania, Timișoara, Romania

4. Clinical Laboratory, Municipal Clinical Emergency Hospital, Timișoara, Romania

Introduction: Demodicosis is a parasitic disease caused by *Demodex* spp, mites that live mainly in the pilosebaceous unit, on the human face. For the vast majority of individuals, these arachnids are harmless, but in certain cases, their presence has been associated with rosacea-like dermatitis, folliculitis and blepharitis.

Aim: to determine the prevalence of demodicosis in Western Romania.

Material and Method: Between January 2016 and June 2017, 259 patients with suspected demodicosis were examined by direct microscopy of fresh sebaceous glands secretions, obtained through skin scraping, at the Dermatology Clinic of the Municipal Emergency Hospital Timișoara. The patients were divided in 3 groups according to their age.

Results: The mean age of the 259 patients was 57.2 years (range 22 – 96 years), 35.5% were males. The presence of *Demodex* mites was demonstrated in 127 individuals (49%) and tended to increase with age. The prevalence of demodicosis increased from 33% in the 22-39 age group, to 45.4% in the 40 - 59

age group and 64.5% in those aged over 60. Mites were located especially on the nose, cheeks, forehead and chin.

Conclusion: The prevalence of demodicosis in the studied group was 49.0% and increased with age. In most of the individuals, the ectoparasites of *Demodex spp.* were located on the nose and cheeks. Further epidemiological studies are needed to identify the risk factors associated with *Demodex spp.* infestation in humans in order to establish efficient prevention methods.

Keywords: *Demodex spp.*, prevalence, Romania

STUDIU DESPRE PREVALENȚA DEMODICOZEI IN VESTUL ROMÂNIEI

Introducere: Demodicoza este o boală parazitară produsă de acarieni din specia *Demodex*, care trăiesc în principal în unitățile pilosebacee din pielea umană. Pentru mareea majoritate a persoanelor, aceste arahnid sunt inofensive, dar în anumite cazuri, prezența lor a fost asociată cu rozacea, dermatita, foliculita sau blefarita.

Scop: Determinarea prevalenței demodicozei în vestul României.

Material și metodă: În perioada ianuarie 2016-iunie 2017, un număr de 259 pacienți suspecti de demodicoză au fost investigați la Clinica de Dermatologie a Spitalului Clinic Municipal de Urgență Timișoara prin metoda microscopică directă a secreției glandelor sebacee, obținută prin răclaj. Pacienții au fost împărțiți în 3 grupuri, în funcție de vîrstă.

Rezultate: Vîrsta medie a pacienților din lotul studiat a fost 57,2 ani (fiind cuprinsă între 22 – 96 ani), iar 35,5 % dintre pacienți au fost bărbați. Prezența acarienilor din specia *Demodex* a fost demonstrată la 127 indivizi (49%) iar prevalența a fost de 33% în grupul de vîrstă 22-39 ani, de 45.4% în grupul de vîrstă 40-59 ani și de 64,5% la cei peste 60 de ani. Prezența acarienilor a fost identificată mai ales pe nas, obrajii, frunte și bărbie.

Concluzie: Prevalența demodicozei în grupul studiat a fost de 49.0% și a crescut odată cu vîrsta. În majoritatea cazurilor, localizarea ectoparaziților aparținând *Demodex spp.* a fost pe aripile nasului și pe obrajii. Sunt necesare studii epidemiologice suplimentare pentru a identifica factorii de risc asociați infestației cu *Demodex spp.* și pentru a stabili cele mai eficiente metode de prevenție.

Cuvinte cheie: *Demodex spp.*, prevalență, România

C3 SEROPREVALENCE OF TOXOPLASMA GONDII INFECTION IN ROMANIAN HOSPITALIZED CHILDREN

Maria Alina Lupu, Ionut Dragos Capraru, Florin Horhat, Tudor Rares Olariu
„Victor Babes” University of Medicine and Pharmacy Timisoara, Romania

Introduction: Limited data are available regarding the prevalence of *Toxoplasma gondii* infection in Romanian children. A case-control study was undertaken to evaluate *T. gondii* seroprevalence among hospitalized children from Western Romania.

Material and Methods: The study group included 571 consecutive children hospitalized at “Louis Turcanu” Children’s Clinical Emergency Hospital in Timisoara between January and July 2018. The

control group included 441 consecutive children referred, for routine laboratory investigations, to the Outpatient Clinic of the same hospital between January and March 2018. In both groups, children aged 1-18 years. Serum samples from both groups were screened for *T. gondii* IgG and IgM antibodies.

Results: In the study group, the mean age was 8.3 years, 44.5% (245/571) were females, 46.8% (267/571) were residents of rural areas. In the control group, the mean age was 7.5 years, 52.4% (231/441) were females, 49.2% (217/441) were from rural regions. The overall seroprevalence of *T. gondii* infection was 17.7% (101/571) in the study group and 16.6% (73/441) in the control group. *T. gondii* seropositivity tended to increase with age in both groups. No significant difference in seroprevalence was found between the study group and controls, regarding age, gender or area of residence. *T. gondii* seroprevalence was higher in patients with mental, behavioral or neurodevelopmental disorders (34%, 17/50) and neoplasms (26.7%, 12/45) compared to controls (16.6%, 73/441) ($p=0.005$ and $p=0.09$, respectively).

Conclusions: This study provides new valuable data on *T. gondii* seroprevalence in hospitalized children from Western Romania. Results suggest that *T. gondii* infection may be associated with mental, behavioral or neurodevelopmental disorders.

Keywords: *Toxoplasma gondii*, seroprevalence, hospitalized children

PREVALENȚA INFECȚIEI CU TOXOPLASMA GONDII LA COPIII SPITALIZAȚI DIN ROMÂNIA

Introducere: Datele privind prevalența infecției cu *Toxoplasma gondii* la copiii din România sunt limitate. Un studiu caz-control a fost realizat pentru a evalua seroprevalența *T. gondii* în rândul copiilor spitalizați din vestul României.

Material și metodă: Grupul de studiu a inclus 571 copii spitalizați consecutiv la Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii „Louis Țurcanu” din Timișoara în perioada ianuarie-iulie 2018, iar cel de control 441 copii prezentați consecutiv, pentru investigații de rutină, la Ambulatoriul același spital în perioada ianuarie-martie 2018. În ambele grupuri, copiii au avut vîrste cuprinse între 1-18 ani. Toate serurile au fost testate pentru detectarea anticorpilor IgG și IgM anti-*T.gondii*.

Rezultate: În grupul de studiu, vîrstă medie a fost 8.3 ani, 44.5% (245/571) au fost de sex feminin, 46.8% (267/571) din mediul rural. În grupul de control, vîrstă medie a fost 7.5 ani, 52.4% (231/441) au fost de sex feminin, 49.2% (217/441) din mediul rural. Seroprevalența *T. gondii* a fost de 17.7% (101/571) în grupul de studiu și 16.6% (73/441) în grupul de control. Seropozitivitatea *T. gondii* a avut o tendință de creștere cu vîrstă în ambele grupuri. Nu s-a observat o diferență semnificativă a seroprevalenței între cele două grupuri, în ceea ce privește vîrstă, sexul sau mediul de proveniență. Seroprevalența *T. gondii* a fost mai mare la pacienții cu tulburări mentale, comportamentale sau de neurodezvoltare (34%, 17/50) și neoplasm (26.7%, 12/45) comparativ cu lotul martor (16.6%, 73/441) ($p=0.005$ și $p=0.09$, respectiv).

Concluzii: Studiul oferă date noi despre seroprevalența *T. gondii* la copiii spitalizați din vestul României. Rezultatele sugerează că infecția cu *T. gondii* poate fi asociată cu tulburări mentale, comportamentale sau de neurodezvoltare.

Cuvinte cheie: *Toxoplasma gondii*, seroprevalență, copii internați

SESIUNE DE POSTERE 1 - MICROBIOLOGIE

P1 THE INFLUENCE OF *HELICOBACTER PYLORI* INFECTION ON IRON METABOLISM

Elena Cojocaru ^{1,2}, Cătălina Luncă ¹, Gabriela Bordeianu ¹

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

2. Netconsult Laboratory, Iași

Introduction: A link between *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) infection and the iron deficiency was illustrated by some studies. The aim of this study was to determine if the presence of *H. pylori* infection correlates with changes in serum ferritin and hemoglobin level. Serum ferritin was used as a marker for total body iron.

Materials and methods: Serum ferritin, hemoglobin, and *H. pylori* antigen stool were assessed in 91 subjects aged over 14 y. The study was conducted between 2017 and 2019. The lab tests were performed according to standardized methods.

Results: The study comprised 23 men (mean age- 45.7 y) and 68 women (mean age- 43.7 y). *H. pylori* stool antigen tests were positive (HP+) in 6 men (26.1%) and 26 women (38.2%) respectively (p=0,93). In all patients, the mean serum ferritin value was lower than the target value - 117.5 ng/ml at men HP+ and 93.4 ng/ml at men with *H. pylori* stool antigen tests negative (HP-) versus 118 ng/ml and 45.6 ng/ml at women HP+ and 29.8 ng/ml at women HP- versus 67 ng/ml. This finding may reflects a characteristic of population.

Conclusions: Female gender is associated with an increased risk of *H. Pylori* infection. No statistical significance was found in patients with *H. pylori* antigen positive and patients with *H. pylori* antigen negative regarding the mean hemoglobin and mean serum ferritin level. Possible implications of *H. pylori* infection on serum ferritin and hemoglobin levels need further investigation.

Keywords: *H. pylori*, ferritin, hemoglobin

INFLUENȚA INFECȚIEI CU *HELICOBACTER PYLORI* ASUPRA METABOLISMULUI FIERULUI

Introducere: O legătură între infecția cu *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) și deficitul de fier a fost evidențiată în câteva studii. Scopul prezentului studiu a fost de a determina dacă prezența infecției cu *H. pylori* se corelează cu modificări ale valorilor feritinei serice și ale hemoglobinei. Feritina serică a fost utilizată ca marker pentru statusul fierului în organism.

Materiale și metode: Feritina serică, hemoglobina și antigenul *H. pylori* au fost determinate la 91 de persoane cu vârstă peste 14 ani. Studiul s-a desfășurat în perioada 2017- 2019. Testele de laborator au fost luate prin metode standardizate.

Rezultate: Studiul a cuprins 23 de bărbați (vârstă medie- 45.7 ani) și 68 de femei (vârstă medie- 43.7 ani). Antigenul *H. pylori* din materiile fecale a fost pozitiv (HP+) la 6 bărbați (26.1%) și 26 de femei (38.2%), (p=0,93). La toți pacienții, valoarea medie a feritinei serice a fost mai mică decât valoarea țintă- 117.5 ng/ml la bărbații HP+ și 93.4 ng/ml la bărbații cu antigen *H. pylori* negativ (HP-) versus 118 ng/ml și 45.6 ng/ml la femeile HP+ și 29.8 ng/ml la femeile HP- versus 67 ng/ml. Această constatare poate evidenția o caracteristică a populației.

Concluzii: Femeile au prezentat un risc crescut de infecție cu *H. pylori*. Nu a existat nicio semnificație statistică la pacienții care au avut antigen *H. pylori* pozitiv și la pacienții cu antigen *H. pylori* negativ în ceea ce privește valorile medii ale hemoglobinei și ale feritinei serice. Posibile implicații ale infecției cu *H. pylori* asupra valorilor feritinei serice și ale hemoglobinei trebuie evaluate în cercetări ulterioare.

Cuvinte cheie: *H. pylori*, feritină, hemoglobină

P2 INVESTIGATION OF NASAL AND PHARINGEAL CARRIAGE OF BETA-HEMOLYTIC STREPTOCOCCI AMONG DENTAL STUDENTS

Gabriela Băncescu ¹, Bogdan Dabu ¹, Carmen Pânzaru ², Adrian Băncescu ¹

1. University of Medicine and Pharmacy "Carol Davila", București

2. University of Medicine and Pharmacy "Gr. T. Popa", Iași

Introduction: The aim of the study was to investigate the nose and pharynx carriage of beta-hemolytic streptococci among dental students.

Material and method: In the academic year 2017-2018, pharyngeal and nasal swabs were collected from 181 healthy students from the last 2 series of the 2nd year, at the Faculty of Dentistry, „Carol Davila” University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, who did not take antibiotics in the last 3 months. After seeding onto Columbia blood-agar (BioMérieux, France), the swabs were introduced into Pike broth and seeded onto blood-agar after 24h of incubation at 35°C. The primary plates and the plates seeded after enrichment were anaerobically incubated for 48h. The presumptive beta-hemolytic streptococcal isolates were identified at gender and species level by conventional methods and Rapid ID 32 STREP (BioMérieux, France).

Results: Four strains of beta-hemolytic streptococci were isolated and identified as *Streptococcus anginosus*. Two isolates were non-groupable, one isolate belonged to group C and another one to group F. The group F strain and a non-groupable strain became alpha'-hemolytic in subcultures. The other non-groupable strain developed colonies of 1.5 mm and was polyagglutinable.

Conclusions: No carriers of *S. pyogenes*, *S. equi* or *S. dysgalactiae* were found, but dental students should be informed about the risk of transmission of these microorganisms from carriers to susceptible persons. The possibility of isolation of beta-hemolytic *S. anginosus* strains of group A, C or G, possibly with atypical colonies in size, calls for increased attention from microbiologists regarding the correct identification of pyogenic streptococcal isolates.

Keywords: carriage, beta-hemolytic streptococci, *S. anginosus*

INVESTIGAREA PORTAJULUI NAZAL ȘI FARINGIAN DE STREPTOCOCI BETA-HEMOLITICI ÎN CAZUL STUDENȚILOR STOMATOLOGI

Introducere: Scopul studiului a fost investigarea portajului nazal și faringian de streptococi beta-hemolitici în cazul studenților stomatologi.

Material și metodă: În anul universitar 2017-2018, au fost recolțate tampoane faringiene și nazale de la 181 de studenți sănătoși, din ultimele 2 serii ale anului II, Facultatea de Medicină Dentară, Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila” - București, care nu și-au administrat antibiotice în ultimele 3 luni. După însămânțarea pe geloză-sânge Columbia (BioMérieux, Franța), tampoanele au fost introduse în bulion Pike și însămânțate pe geloză-sânge, după 24h de incubare la 35°C. Plăcile primare și plăcile însămânțate după îmbogățire au fost incubate anaerob, 48h. Izolatele prezumtive de streptococi beta-hemolitici au fost identificate la nivel de gen și specie, prin metode convenționale și Rapid ID 32 STREP (BioMérieux, Franța).

Rezultate: Au fost izolate 4 tulpi faringiene de streptococi beta-hemolitici, identificate drept *Streptococcus anginosus*. Două izolate au fost negrupabile, un izolat a aparținut grupului C, iar altul grupului F. Tulpina de grup F și o tulpină negrupabilă au devenit alfa prim-hemolitice în subculturi. Cealaltă tulpină negrupabilă a dezvoltat colonii de 1,5mm și a fost poliaglutinabilă.

Concluzii: Nu au existat purtători de *S. pyogenes*, *S. equi* sau *S. dysgalactiae*, dar este necesar ca studenții stomatologi să fie informați despre riscul transmiterii acestor microorganisme de la purtători la persoanele susceptibile. Posibilitatea izolării unor tulpi de *S. anginosus* beta-hemolitice de grup A, C sau G, eventual cu colonii atipice ca dimensiune, reclamă atenție sporită din partea microbiologilor, privind identificarea corectă a izolatelor de streptococi piogeni.

Cuvinte cheie: portaj, streptococi beta-hemolitici, *S. anginosus*

P3 SCREENING FOR DETECTION OF PATIENTS WITH MDR BACTERIES IN THE REGIONAL INSTITUTE OF ONCOLOGY IASI

Florina Fotache, Raluca Filimon, Brîndușa Copăcianu, Emanuela Achiței

Regional Institute of Oncology Iași

Introduction: Romania is a country with high prevalence of pathogens with increased antibiotic resistance MDR bacteria representing a public health problem. The most common types of resistance are: ESBL, carbapanemase production, vancomycin-resistant enterococci and methicillin-resistant *S. aureus*.

Material and Method: Recommended samples for screening include: rectal or perirectal swab and nasal swab. In the Microbiology Laboratory at IRO Iași, screening is performed by cultivation on chromogenic culture media (Biomerieux) for the detection of ESBL, VRE, carbapanemaze and MRSA. Confirmation of resistance mechanisms is performed at the request of the clinician in a MicroScan automated system (CMI), disk diffusion and manual methods: m-CIM (modified carbapenem inactivation method) and e-CIM (modified carbapenem EDTA) CLSI 2018, Carba NP (Biomerieux) and immunochromatographic tests (CORIS - RESIST -3 for OXA 48, KPC and NDM).

Results: The data were collected between December 2018 and February 2019, there were 165 requests for rectal screen screening (131 negative / 34 positive) and 136 requests for nasal secretion (108 negative / 9 positive).

Conclusions: After analyzing the collected data, MDR bacterial the positive rate are approximately 21% in rectal swab and 6,6% in nasal secretion. Strains of *Enterobacteriaceae* with ESBL, producing carbapanemases, enterococci resistant to vancomycin, and methicillin-resistant *S. aureus* were isolated. Current MDR strains that cause problems in IRO Iasi are predominantly represented by ESBL.

Keywords: Screening, MDR, chromogenic culture media.

SCREENING-UL PENTRU DEPISTAREA PACENȚILOR COLONIZAȚI CU BACTERII MDR ÎN INSTITUTUL REGIONAL DE ONCOLOGIE IAȘI

Introducere: România este o țară cu prevalență ridicată a agenților patogeni cu rezistență crescută la antibiotice bacteriile MDR reprezentând o problemă de sănătate publică. Tipurile de rezistență cele mai frecvent întâlnite sunt: rezistență prin BLSE, producerea de carbapanemaze, enterococi rezistenți la vancomicina și *S. aureus* meticilino-rezistent.

Material și metodă: Probele recomandate pentru screening includ: tampon rectal sau perirectal și secreție nazală. În laboratorul de Microbiologie din cadrul IRO Iași prelucrarea probelor se realizează prin înșământarea pe medii de cultură cromogene (Biomerieux) pentru detecția ESBL, VRE, carbapanemaze și MRSA. Confirmarea mecanismelor de rezistență se efectuează, la cererea clinicianului, în sistem automat MicroScan (CMI), testare difuzimetrică și prin metode manuale: m-CIM (metoda modificată de inactivare a carbapenemelor) și e-CIM (metoda modificată cu EDTA de inactivare a carbapenemelor) conform CLSI 2018, Carba NP (Biomerieux) și teste imunocromatografice (CORIS - RESIST -3 pentru OXA 48, KPC și NDM).

Rezultate: Datele au fost colectate în perioada decembrie 2018 – februarie 2019, s-au înregistrat un număr de 165 cereri pentru screening tampon rectal (131 negative / 34 pozitive) și 136 cereri pentru secretie nazala (108 negative / 9 pozitive).

Concluzii: În urma analizării datelor colectate, portajul de bacterii MDR este de aproximativ 21 % în tamponul rectal și 6,6% în secreția nazală. Au fost izolate tulpini de *Enterobacteriaceae* cu ESBL, producătoare de carbapanemaze, enterococi rezistenți la vancomicina și *S. aureus* meticilino – rezistent. Actual tulpinile MDR care pun probleme în IRO Iași sunt reprezentate predominant de bacilii Gram negativi ESBL.

Cuvinte cheie: Screening, MDR, medii cromogene

P4 IMPLICATIONS OF *HELICOBACTER PYLORI* INFECTION IN PATHOLOGY

Emilia Bucel¹, Ali Sevigean¹, Claudiu Ionescu¹, Mihaela Botnarcicu^{1,2}, Lavinia Daba^{1,2}

1. Clinical County Hospital "Sf Apostol Andrei" Constanța

2. Ovidius University Constanța

Introduction: *Helicobacter pylori* infection and its consequences have acquired a global importance . In economically-developed countries its prevalence is lower, while in emerging countries it reaches 90%. In Romania, data published so far indicate a prevalence higher than 70%, the infection mainly appearing in young adults.

Materials and Methods: We performed a retrospective study on two groups of subjects, following the presence of *Helicobacter pylori* infection , and the connections between infection and other digestive disorders.

The first group consists of 78 asymptomatic subjects (26%) and the second one is formed by 223 patients (74%) presenting gastrointestinal symptomatology.

Methods used: detection of *H. pylori* antigen in feces, detection of antibodies by rapid immunochromatographic test, serological testing by ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

Results: We performed 109 tests for fecal antigen, observing 10% positive results, in the remaining cases (90%) the infection not being detected.

In the case of antibody detection by rapid test, 25 tests performed, 13 persons (52%) had negative results and 12 (48%) were positive.

Regarding ELFA testing, we noticed from the 89 tests , 61 subjects (68%) had positive results, 7 results (8%) were equivocal and the remaining 21 (24%) were negative.

Conclusions: The prevalence of infection in the studied symptomatic population is higher than the prevalence in asymptomatic subjects, the main symptom being epigastric pain. *H. pylori* is involved in the pathogenesis of peptic ulcer in adults, especially gastric ulcer. It determines the majority of chronic gastritis cases in the studied population, having a predominantly antral localisation. The presence of *H. pylori* significantly increases the risk of producing histological preneoplastic modifications in the gastric mucosa.

The female sex (64% asymptomatic vs 55.95% symptomatic) had higher prevalence compared to males (men 44.05% asymptomatic and 36% symptomatic) in the case of epigastric pain. Gastric ulcer was detected in 7.31% of patients, 6.09% with acute gastritis, gastric cancer at 4.88%, duodenal ulcer at 3.65%, and gastric polyps and non-Hodgkin lymphoma were detected each at 1.22% of patients.

Keywords: *Helicobacter pylori*, diagnosis, *H. pylori*-positive gastritis

IMPLICAȚIILE INFECTIEI CU *HELICOBACTER PYLORI* ÎN PATOLOGIE

Introducere: Infecția cu *Helicobacter pylori* și evoluția ei au dobândit o importanță globală prin impactul major social și economic. În țările dezvoltate economic, prevalența infecției este mai scăzută, în timp ce în țările în curs de dezvoltare ajunge până la 90%. În România, datele publicate indică o prevalență de peste 70%

Material și metodă: Am efectuat un studiu retrospectiv pe două loturi de subiecți, urmărind prezența infecției cu *Helicobacter pylori* în populația sănătoasă și la pacienții simptomatici, căutând și legătura dintre infecție și alte patologii digestive.

Primul lot cuprinde 78 de subiecți asimptomatici (26%), iar al doilea cuprinde 223 de pacienți (74%) cu simptomatologie gastrointestinală.

Metode utilizate: detectarea antigenelor *H. pylori* în materialele fecale, detectarea anticorpilor prin test rapid imunocromatografic, testul serologic prin ELFA (Enzyme Linked Fluorescent Assay).

Rezultate: Prezența antigenelor de *H. Pylori*; din cele 109 testări realizate la lotul de persoane simptomatische, 90% au avut rezultat negativ și 10% pozitiv. În cazul detectării anticorpilor prin teste rapide imunocromatografice din 25 testări efectuate, 13 persoane (52%) au avut rezultat negativ și 12 (48%) au fost pozitive. La testarea prin ELFA, din cele 89 teste realizate, 61 subiecți (68%) au avut rezultat pozitiv, 7 rezultate (8%) au fost echivoce, iar restul de 21 (24%) negative.

Concluzii: Prevalența infecției în populația simptomatică studiată este crescută, simptomul dominant fiind durerea epigastrică. Determină majoritatea cazurilor de gastrită cronică la nivelul populației

studiate, cu predominanța localizării antrale. Prezența *H. pylori* crește semnificativ riscul de producere a modificărilor histologice preneoplazice la nivelul mucoasei gastrice. Sexul feminin (femei asimptomatice 64% și 55,95 % simptomatic) are o prevalență mai mare față de sexul masculin (bărbați asimptomatici 36 % și 44,05 % simptomatici). Ulcerul gastric a fost detectat la 7,31 % din pacienți, gastrita acută la 6,09 % ,cancerul gastric la 4,88 % ,ulcerul duodenal la 3,65 % iar polipii gastrici cât și limfomul non-Hodgkin au fost detectate fiecare la 1,22% pacienți.

Cuvinte cheie: *Helicobacter pylori*, diagnostic, gastrită *H. pylori*-pozitivă

P5 INTESTINAL CARRIAGE OF EXTENDED SPECTRUM BETA-LACTAMASE PRODUCING *KLEBSIELLA* STRAINS AND THEIR HIERARCHICAL RELATIONSHIP

Ionela Anca Pintea-Simon, Cristina Nicoleta Ciurea, Anca Mare, Adrian Man

Department of Microbiology, University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology of Târgu Mureș

Background: Intestinal carriage of antibiotic-resistant strains may precede infection during hospitalization, and may spread to other hospitalized patients. A pilot study was conducted in order to analyze the hierarchical similarity of antibiotic-resistant strains isolated from patients recently admitted to the hospital.

Materials and methods: As part of a screening program for Extended Spectrum Beta-Lactamase producing *Enterobacteriaceae*, 57 *Klebsiella* spp. were isolated from patients who have been recently admitted to the Mureș Clinical County Hospital, between January to April 2017. The bacterial isolates were preserved in glycerol stocks. Of these, 23 randomly selected isolates were processed by ERIC-PCR in order to establish the potential relationship among them. Clinical data of the patients were also collected.

Results: The gender distribution of ESBL-producing *Klebsiella* spp. carriers showed that 69.55% of the patients were females, while 30.43% were males. Most were aged between 50-90 years, plus one child. Most samples originated from patients admitted in pulmonology (33.3%), infectious disease (29%) and surgery (12.5%) clinics, who were diagnosed with a pulmonary disease (37.5%) or sepsis (25%). Antibiotics were equally administered both in patients with documented infection (43.5%) and as prophylaxis (43.5%); only three patients did not receive any antibiotics (13%). ERIC-PCR based dendrogram showed a high diversity of *Klebsiella* isolates. Four major clusters were identified, including 12, 5, 4, respectively 2 isolates, with many secondary nodes.

Conclusions: At admittance, there were no significant relationships between the ESBL-producing *Klebsiella* strains isolated from feces samples. The few identical strains that were identified may have been contacted/selected by the patients during their previous hospitalizations, considering their age, comorbidities and antibiotic use.

Keywords: ERIC-PCR, ESBL, intestinal carriage

PORAJUL INTESTINAL AL TULPINILOR DE *KLEBSIELLA* PRODUCĂTOARE DE BETA-LACTAMAZE CU SPECTRU EXTINS ȘI RELAȚIA LOR IERARHICĂ

Introducere: Portajul intestinal de tulpini bacteriene multirezistente față de antibiotice poate reprezenta o sursă de infecție atât pentru pacientul în cauză, cât și pentru alți pacienți spitalizați. Studiul curent propune analiza ierarhică a similarității tulpinilor multirezistente izolate de la pacienți recent internați în spital.

Material și metodă: În cadrul unui program de screening privind portajul de enterobacterii producătoare de Beta-Lactamaze cu Spectru Extins (BLSE), 57 de tulpini de *Klebsiella spp.* au fost izolate de la pacienți internați în perioada Ianuarie-Aprilie 2017 în Spitalul Clinic Județean Mureș. Tulpinile izolate au fost congelate în soluție de glicerol. Dintre acestea, 23 de tulpini selectate randomizat au fost analizate prin ERIC-PCR, pentru a stabili relația ierarhică dintre ele. Date clinice ale pacienților au fost de asemenea colectate.

Rezultate: Distribuția pe sexe a arătat că 69,55% din persoanele de la care s-au identificat tulpini de *Klebsiella* BLSE sunt de sex feminin, în timp ce 30,43% din pacienți sunt de sex masculin. Majoritatea pacienților s-au încadrat în grupa de vârstă de 50-90 ani, un singur pacient fiind copil de 2 ani. Cele mai multe probe au provenit de la pacienți din secția de pneumologie (33,3%), Clinica de Boli Infecțioase (29%) și Chirurgie (12,5%), fiind diagnosticati cu afecțiuni pulmonare (37,5%) sau sepsis (25%). Tratamente antibiotice au fost prescrise atât în scop curativ în infecții bacteriene documentate (43,5%), cât și în scop preventiv (43,5%). Doar 13% dintre pacienți nu au primit antibioterapie. Dendrograma obținută în urma ERIC-PCR a ilustrat neomogenitatea izolatelor, fiind identificate 4 grupuri principale alcătuite din 14, 5, 4, respectiv 2 izolate, cu multe noduri secundare.

Concluzii: La momentul internării, nu s-a observat nici o similaritate semnificativă între izolatele de *Klebsiella spp.* din probe de materii fecale. Puținele tulpini identificate ca identice fie au colonizat pacienții, fie au fost selecționate, probabil în timpul internărilor anterioare, având în vedere vârsta înaintată, comorbiditățile și antibioterapia din aceste perioade.

Cuvinte cheie: ERIC-PCR, BLSE, portaj intestinal.

P6. INFLUENCE OF GLUCOSE, FRUCTOSE AND METFORMIN ON *CANDIDA* SPP. BIOFILM DEVELOPMENT

Cristina Nicoleta Ciurea, Ionela Anca Pintea-Simon, Anca Mare, Adrian Man

Department of Microbiology, University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology of Târgu Mureș

Introduction: The virulence of *Candida* cells is highly influenced by their ability to organize in architecturally complex biological systems named “biofilms”. The aim is to assess the adhesion capability of *Candida* spp. in presence of glucose, fructose (a common dietary substituent in diabetics), and metformin (a common antidiabetic drug), as candidiasis is known to be frequently associated with Diabetes Mellitus.

Material and method: To assess the biofilm production, clinical isolates of each *C.albicans*, *C.krusei*, *C.parapsilosis* and *C.glabrata* were mixed in RPMI-1640 medium containing either 250 mg%

glucose, 250 mg% fructose, or 4 µg/ml metformin, at a concentration of approximately 10^6 cells/ml. A sample with no added substances served as control. From each mix, 100 µl were transferred in triplicate in wells of a polystyrene microtiter plate, then incubated for 18 hours at 35°C. The adherent cells were stained using crystal violet and then solubilized with acetic acid. The resulted optical densities were read spectrophotometrically at 490 nm. The data were normalized against control.

Results: *C.albicans* biofilm was enhanced in all conditions (indexes of 1.43 in presence of glucose/fructose, 1.13 in the presence of metformin). The biofilm development was also increased for *C.krusei* (index 1.86 for glucose, 2.13 for fructose, 1.12 for metformin) and *C.glabrata* (index 1.50 for glucose/fructose, 1.04 for metformin). Conversely, *C.parapsilosis* biofilm was increased (index 1.53) in the presence of glucose, but decreased in the presence of fructose and metformin (index 0.82, respectively 0.73).

Conclusions: Glucose, fructose, and metformin influence the ability of *Candida* cells to form biofilms, mostly by increasing it. However, biofilm development is different for each species. Further studies are required to clarify these observations, which may connect the high prevalence of candidiasis in diabetics.

Keywords: Candida, biofilm, virulence

INFLUENȚA GLUCOZEI, FRUCTOZEI ȘI METFORMINULUI ASUPRA FORMĂRII DE BIOFILME DE CĂTRE CANDIDA SPP.

Introducere: Virulența tulpinilor de *Candida* este semnificativ influențată de capacitatea acestora de a se organiza în sisteme biologice complexe arhitectural numite "biofilme". În contextul în care candidozele sunt frecvent asociate Diabetului Zaharat, studiul curent evaluatează capacitatea de aderare a *Candida* spp. în prezența glucozei, fructozei (un substituent dietetic comun la diabetici) și a metforminului (un antidiabetic comun).

Material și metodă: Pentru a aprecia formarea de biofilme, tulpini izolate clinic de *C.albicans*, *C.krusei*, *C.parapsilosis* și *C.glabrata* au fost omogenizate în mediu RPMI-1640 în prezența a 250 mg% glucoză, 250 mg% fructoză, respectiv a 4 µg/ml metformin, la o densitate de aproximativ 10^6 celule/ml. O probă fără adăos de substanță a fost considerată drept control. Din fiecare probă s-au transferat 100µl, în triplicat, în godeurile unei plăci de microtitrare din polistiren, apoi s-au incubat timp de 18 ore la 35°C. Celulele aderente au fost colorate cu cristal-violet, apoi solubilizate în acid acetic. Densitățile optice rezultante au fost citite spectofotometric la 490nm. Datele au fost normalizate față de control.

Rezultate: Producerea de biofilme de către *C.albicans* a fost stimulată în toate condițiile studiate (indici de 1,43 în prezența glucozei/fructozei, 1,13 în prezența metforminului). Formarea biofilmului a fost de asemenea stimulată la *C.krusei* (indici de 1,86 pentru glucoză, 2,13 pentru fructoză, 1,12 pentru metformin), precum și la *C.glabrata* (indici de 1,50 pentru glucoză/fructoză, 1,04 pentru metformin). În schimb, dacă în cazul *C.parapsilosis* glucoza a stimulat producerea de biofilm (indice 1,53), fructoza și metforminul au exercitat efecte inhibitorii (indice 0,82, respectiv 0,73).

Concluzii: Glucoza, fructoza și metforminul sunt în general factori stimulatori ai capacitații *Candida* spp. de a forma biofilme. Cu toate acestea, producerea biofilmelor este diferită pentru fiecare specie. Sunt necesare studii suplimentare pentru a elucida aceste observații care ar putea explica parțial prevalența ridicată a candidozelor la diabetici.

Cuvinte cheie: Candida, biofilm, virulență

JOI 06.06 2019**PLENARY REPORTS 2 - BIOMARKERS****R5 KILLER IG-LIKE RECEPTORS (KIR) AND HLA-C HAPLOTYPES****Petru Ciangă^{1,2}**

*Department of Immunology, University of Medicine and Pharmacy “Grigore T. Popa” Iasi
Laboratory of Immunology, “St. Spiridon” Hospital, Iasi*

Natural Killer (NK) cells belong to a group of cells named Innate Lymphoid Cells (ILC), which are derived from the common lymphoid progenitor. NK cells are mostly involved in the killing of virally infected cells and of malignantly transformed cells. The engagement of a target cell depends upon the balance between the activating and inhibitory receptors signaling. Among these receptors, the Killer Ig-like Receptors (KIR) are of particular interest as some behave as activating and others as inhibitory receptors. The activating receptors recognize various cell surface proteins collectively termed “stress-induced self”. The inhibitory receptors are mostly dedicated to molecules constitutively expressed, as for instance the Major Histocompatibility-I (MHC-I) molecules and any expression decrease of such molecules can be sensed by the NK cells. The KIR genes display a remarkable polymorphism and the result is that individuals vary considerably in this respect, expressing a large number of different combinations of activating and inhibitory KIRs. Even though it is not clear yet what are the advantages generated by this impressive polymorphism, the KIRs offer the explanation to why the recipient’s NK cells act as a barrier against transplanted cells, as these receptors will no longer recognize self MHC molecules on the donor cells surface.

KIRs can engage both classical and non-classical human MHCs. Out of the classical ones, only some Human Leukocyte Antigen (HLA)-A and HLA-B proteins can interact with the receptors, while all the HLA-C molecules bind KIRs, thus revealing the specialized role of this MHC in regulating human NK cells.

Keywords: NK, KIR, HLA-

HAPLOTIPURILE KIR (KILLER IG-LIKE RECEPTOR) ȘI HLA-C

Celulele Natural Killer (NK) aparțin unui grup de celule denumite Innate Lymphoid Cells (ILC), care sunt derivate din progenitorul limfoid comun. Celulele NK sunt implicate în special în uciderea celulelor infectate viral și a celulelor transformate malign. Atacarea unei ținte depinde de echilibrul dintre semnalizarea prin receptorii activatori și cei inhibitori. Printre acești receptori, receptorii KIR (Killer Ig-like Receptors) prezintă o importanță particulară deoarece unii funcționează ca receptori activatori, iar alții ca receptori inhibitori. Receptorii activatori recunosc diferite proteine de suprafață denumite generic “self induced de stress”. Receptorii inhibitori sunt majoritar dedicați unor molecule exprimate în

mod constitutiv, precum moleculele MHC (Complex Major de Histocompatibilitate) de clasă I și orice scădere a expresiei acestora este înregistrată de către celulele NK. Genele KIR prezintă un remarcabil polimorfism iar rezultatul este că indivizii umani sunt foarte diferenți între ei din acest punct de vedere, deoarece exprimă un număr foarte mare de combinații diferite de receptorii KIR activatori și inhibitori. Deși nu este clar care sunt avantajele generate de acest polimorfism, receptorii KIR, oferă o explicație de ce celulele NK ale primitořului funcționează ca o barieră în calea celulelor transplantate, prin aceea că acești receptori nu mai recunosc moleculele MHC self de pe suprafața celulelor donatorului.

KIR-urile pot lega MHC-uri clasice sau non-clasice. Dintre cele clasice, doar unele proteine HLA (Human Leukocyte Antigen)-A și B pot interacționa cu receptorii, în timp ce toate moleculele HLA-C leagă KIR, ceea ce subliniază rolul specializat al acestor MHC-uri în reglarea celulelor NK umane.

Cuvinte cheie: NK, KIR, HLA-C

R6 BONE MARKERS IN PATIENTS ON HAEMODIALYSIS

Vladimir Palicka, Sylvie Dusilova Sulkova

University Hospital and School of Medicine Hradec Kralove, Czech Republic

The influence of different dialysis procedures on bone turnover markers and hormonal changes is not well established. Changes of dialysis solutions technical procedures could influence the levels of bone turnover markers, PTH, calcium and other analytes during the haemodialysis procedure by different ways.

Background: Bone markers are deeply influenced by the bone disease in end-stage renal failure and also by the type of dialysis procedure. Contrary to classic haemodialysis on-line haemodiafiltration significantly decreases serum levels of CTx, with marginal decrease of serum P1NP. Influence of the type of dialysis solution on bone markers during haemodiafiltration wasn't studied yet.

Methods: We have studied patients with end-stage renal failure on maintenance dialysis by haemodiafiltration (more permeable membrane, combining diffusive and convective transport in comparison with classic haemodialysis). Two different dialysis solutions were used: bicarbonate with 3 mmol/l of acetate (BIC, 8 men) and bicarbonate with 0.8 mmol/l of acetate (BIK, 22 men). Both procedures: 4 hours, dialysate Ca concentration 1.5 mmol/l, polysulphone membrane 1.8m². CTx (µg/l), and P1NP (µg/l) were determined by immunoassay, Roche; PTH (PTH 1-84, pmol/l) by immunoanalysis, DiaSorin, Italy. All test were performed just before the dialysis procedure and immediately after haemodiafiltration.

Results: Higher concentration of acetate in dialysis solution (BIK vs BIC) leads to deeper decrease of CTx and PTH. Decrease of concentrations of P1NP was comparable in both groups.

Comments: Different dialysis procedures and different composition of dialysis solution deeply influence the serum levels of PTH and bone markers. As the pre-dialysis differences were not significant, the effect is probably only temporary. However, the interpretation of results must be based of the knowledge of the dialysis procedures.

Supported by MH CZ-UHHK, 00179906 and Program Q40

Keywords: bone markers, haemodialysis, PTH

R7 SFLT-1 AND PLGF – PEPTIDIC MARKES IN EVALUATION AND MONITORING PLACENTAR DISORDERS

Daniela Cristina Dimitriu, Elena Mihălceanu, Demetra Gabriela Socolov, Ioan Tudor Lazăr

University of Medicine and Pharmacy «Grigore T. Popa» Iași

Angiogenesis represents the formation of blood vessels from endothelial cells and is classified in branching and nonbranching stages. Branching angiogenesis occurs primarily in the first and early second trimesters and lead to the formation of an immature villous. Branching angiogenesis continues until the mid second trimester, when there is a transition to nonbranching angiogenesis. Abnormal pregnancy is the result of the imbalance between angiogenic and antiangiogenic factors in placenta. Expression studies show that the human placenta is richly endowed with angiogenic growth factors and receptors. The soluble vascular endothelial growth receptor-1 (sFlt-1) induces endothelial dysfunction by inhibiting pro-angiogenic factors like placental growth factor (PIGF) and vascular endothelial growth factor (VEGF). Maternal blood levels of sFlt-1 are correlated with the severity of preeclampsia (PE). VEGF and PIGF levels were decreased in patients with severe symptoms compared to normal pregnancies. Alterations in sFlt-1 and PIGF are also more pronounced in early onset in comparison to late onset PE. The ratio of soluble fms-like tyrosine kinase 1 (sFlt-1) to placental growth factor (PIGF) is elevated in pregnant women before the clinical onset of preeclampsia, but its predictive value in women with suspected preeclampsia is unclear. Few studies have analyzed the role of placental angiogenic factors in predicting poor pregnancy outcomes due to placental insufficiency: uterine apoplexy, fetal growth restriction, in utero fetal death, early pregnancy loss and some cases of preterm delivery. Measurement of sFlt, PIGF in maternal blood and their ratio are useful for the efficient management of risk pregnancy.

Keywords: pregnancy, placental growth factor, soluble vascular endothelial growth receptor-1.

SFLT-1 ȘI PLGF MARKERI PEPTIDICI MODERNI ÎN EVALUAREA ȘI MONITORIZAREA PATOLOGIEI PLACENTARE

Angiogeneza reprezintă formarea vaselor sanguine din celule endoteliale trecând prin stadiile de ramificare și fără ramificare (non ramification). Angiogeneza prin ramificare apare în stadiile inițiale, în trimestrul I și II de sarcină, ducând la formarea vilozitaților imature. Angiogeneza prin ramificare continuă în trimestrul II când se face tranziția spre etapa nonramificantă. Patologia placentată apare în urma dezechilibrului între factorii proangiogenici și cei inhibitori de la nivel placental. Studiile au arătat că la nivelul placentei umane este un nivel crescut de factori proangiogenici și receptorii lor. Factorul de creștere solubil endotelial (sFlt-1) induce disfuncție endotelială prin blocarea acțiunii factorului de creștere placental (PIGF) și factorul de creștere endotelial (VEGF). Nivelul matern de sFlt-1 este corelat cu severitatea preeclampsiei; nivelele de PIGF și VEGF sunt scăzute la pacientele cu preeclampsie severă. Nivelele de sFlt-1 și PIGF sunt modificate acolo unde debutul preeclampsiei este precoce. Raportul sFlt-1 / PIGF este crescut înaintea debutului simptomatologiei hipertensive, fără a putea fi folosit ca factor predictiv la pacientele cu risc hipertensiv. Câteva studii au corelat nivelurile factorilor angiogenici cu

prognosticul rezervat al sarcinilor cu insuficiență placentară: apoplexie utero-placentară, restricția de creștere intrauterină, moartea fătului în uter, avortul precoce și nașterea prematură. Creșterea numărului de studii ce utilizează determinarea în serul matern a sFlt, PIGF precum și a raportului lor arată eficiența utilizării lor în managementul sarcinii cu risc.

Cuvinte cheie: sarcină, factor de creștere placental, factorul de creștere solubil endotelial.

POSTER SESSION 2 - BIOCHIMISTRY

P7 AKT/MTOR PATHWAY ACTIVATION IN DENTAL PULP CELLS FOLLOWING POLYMERIC NANOPARTICLES EXPOSURE

Anca Calenic, Bogdan Calenic, Daniela Miricescu, Alexandra Totan, Radu Radulescu, Catalina Radulescu, Iulia-Ioana Stanescu, Maria Greabu

PhD, Department of Biochemistry, Faculty of Dental Medicine, UMF Carol Davila, Bucharest, Romania

Introduction: In the past decade, research in nanodentistry represented an area of intense scientific research. However, up to date there are insufficient results on the effects of polymeric nanoparticles on molecular pathways that govern the homeostasis of the dental pulp. The main purpose of the present study is to assess different checkpoints along the AKT/mTOR molecular (**a key pathway in controlling cell differentiation, proliferation and adhesion**) following dental pulp cells incubation with polymeric nanoparticles.

Methods: Dental pulp cells were incubated with 5 μ g/mL of poly lactic-co-glycolic acid (PLGA) polymeric nanoparticles. Following 24 hours of incubation the cell lysate was analysed for AKT/mTOR pathway molecules using Multiplex. Negative controls were dental pulp cells not exposed to nanoparticles).

Results: Statistically significant results ($p<0.05$, T-test) were observed for several molecules along the AKT/mTOR pathway. Thus, key pathway checkpoints such as AKT, mTOR or PTEN (an inhibitor of this pathway) were activated in dental pulp cells exposed to nanoparticles when compared to their respective negative controls. **Conclusion:** AKT/mTOR pathway is activated in dental pulp cells after 24 hours of incubation with polymeric nanoparticles.

Keywords: nanoparticles; dental pulp cells; AKT/mTOR

ACTIVAREA CĂII AKT / MTOR ÎN CELULELE DIN PULPA DENTARĂ DUPĂ EXPUNEREA LA NANOPARTICULE POLIMERICE

Introducere: În ultimul deceniu, cercetarea în domeniul nanotehnologiei a reprezentat o zonă de cercetare științifică intensă. Cu toate acestea, până în prezent nu există rezultate suficiente privind efectele nanoparticulelor polimerice asupra căilor moleculare care guvernează homeostazia pulpei dentare. Scopul principal al studiului este de a evalua diferite puncte de control de-a lungul căii moleculare AKT / mTOR (cale metabolică implicată în diferențierea celulelor, proliferare și adeziune) după incubarea celulelor pulpei dentare cu nanoparticule polimerice.

Materiale și metode: Celulele din pulpa dentară au fost incubate cu 5 μ g/mL de acid poli-lactic-co-glicolic (PLGA) nanoparticule polimerice. După 24 de ore de incubare lizatul celular a fost analizat pentru moleculele din cadrul căii moleculare AKT/mTOR, folosind Multiplex. Lotul de control (controale negative) a constat în celulele pulpare dentare neexpuse la nanoparticule.

Rezultate: Rezultate semnificative statistic ($p < 0.05$, T-test) au fost observate pentru moleculele cheie din calea moleculară AKT/mTOR. Astfel, punctele de control ale căilor cheie, cum ar fi AKT, mTOR sau PTEN (un inhibitor al acestei căi), au fost activate în celulele pulpe dentare expuse la nanoparticule în comparație cu controalele negative respective.

Concluzie: Calea moleculară AKT/mTOR este activată în celulele pulpare după 24 de ore de incubare împreună cu nanoparticulele polimerice.

Cuvinte cheie: Nanoparticule polimerice, celule pulpare dentare, AKT/mTOR

P8 BIOCHEMICAL SERUM AND URINARY PARAMETERS ASSOCIATED OF PREGNANCY-INDUCED ARTERIAL HYPERTENSION

**Dana Tutunaru, Nicoleta-Maricica Maftei, Silvia Robu, Gabriela Gurău, Aurelia Romilă,
Aurel Nechita**

University «Dunărea de Jos» Galați, Faculty of Medicine and Pharmacy

Introduction: The aim of the study was to evaluate changes in some biochemical serum and urinary parameters related changes and being occasionally assigned to increased blood pressure in the pregnancy (triglycerides, albumin, uric acid, serum electrolytes, respectively proteins and urine electrolytes).

Materials and Methods: The study was conducted for 6 months and included the pregnant women admitted at the Clinical Department of Obstetrics and Gynecology of County Emergency Clinical Hospital „Sfântul Apostol Andrei” Galați. The measurement of the biochemical parameters was performed in the Clinical Laboratory of Medical Analysis. A number of 1629 of patients were analyzed, from which 195 were diagnosed with pregnancy- induced arterial hypertension P- IAH.

Results: At the end of the study it was found that at 112 (57.45%) patients had triglyceride level > 250 mg/dl (normal values < 150 mg/dl) and a 1.27 serum triglyceride/albumin ratio (normal ratio < 0.083). Also, increased values of urea (in 84.10% of patients), creatinine (85.64% of the patients) and uric acid (81.02% of the patients). Increased proteinuria in all patients (24.10% with mild proteinuria, 35.89% with mean proteinuria and 40% with severe proteinuria) and decreased urinary electrolytes (sodium in 70.25% of patients, potassium in 68.71% of patients, chloride in 51.83% of the patients, total calcium in 58.38% of the patients, uric acid in 52.82% of the patients, creatinine in 51.28% of the patients and urobilinogen in 31.28% of patients) were observed. Significant differences ($p < 0.05$) were observed between P- IAH and normotensive patients.

Conclusions: Based on the results, it can be established that the analyzed biochemical parameters can contribute to the management of P- IAH diagnosis.

Keywords: triglycerides, electrolytes, pregnancy- induced arterial hypertension

PARAMETRI BIOCHIMICI SERICI ȘI URINARI ASOCIAȚI HIPERTENSIUNII ARTERIALE INDUSĂ DE SARCINĂ

Introducere: Obiectivul studiului a fost reprezentat de evaluarea modificărilor unor parametri biochimici serici și urinari, modificări asociate și uneori determinate de creșterea presiunii săngelui în sarcină (trigliceride, albumine, acid uric, electrolizi serici, respectiv proteine și electrolizi urinari).

Materiale și metode: Studiul, desfășurat pe o perioadă de 6 luni, a fost realizat asupra gravidelor interne în Secția clinică de Obstetrică-Ginecologie, toate determinările biochimice fiind efectuate în cadrul Laboratorului Clinic de Analize Medicale al Spitalului Clinic Județean de Urgență „Sfântul Apostol Andrei” Galați. Numărul pacientelor analizate a fost de 1629, din care 195 au fost diagnosticate cu Hipertensiune arterială indusă de sarcină (HTA-IS).

Rezultate: La finalul studiului s-a constatat că la 112 (57,45%) dintre paciente valoarea trigliceridelor a fost > 250 mg/dl (valori normale <150mg/dl) și raportul trigliceride /albumine serice a fost de 1,27 (valori normale < 0,083). S-au mai înregistrat valori crescute ale ureei (84,10% dintre paciente), creatininei (85,64% dintre paciente), acidului uric (81,02% dintre paciente); creșterea proteinuriei în cazul tuturor pacientelor (24,10% prezentând proteinurie ușoară, 35,89% proteinurie medie și 40% proteinurie severă); scăderea electrolitilor urinari (sodiu la 70,25% paciente, potasiu la 68,71% paciente, clor la 51,83% paciente, calciu total la 58,38% paciente, acid uric la 52,82% paciente, creatinina la 51,28% paciente și urobilinogenul la 31,28% paciente). Diferențe semnificative ($p<0,05$) au fost observate între pacientele diagnosticate cu HTA-IS comparativ cu cele normotensive.

Concluzii: Pe baza rezultatelor obținute putem considera că parametrii biochimici analizați pot contribui la aplicarea unei conduite corecte în diagnosticarea HTA-IS.

Cuvinte cheie: trigliceride, electroliti, hipertensiune arterială indusă de sarcină

P9 INFLUENCE OF OMEGA-3 PRECONDITIONING ON M2/M1 MACROPHAGE POLARIZATION IN PERIPHERAL IMMUNE TISSUES AFTER CEREBRAL ISCHEMIA

Adina Huțanu^{1,2}, Emőke Horváth³, Alex Orădan⁴, Daniela Lucia Muntean⁵, Előd-Ernő Nagy⁶, Septimiu Voidăzan⁷, Minodora Dobreașu^{1,2}

1. Center for Advanced Medical and Pharmaceutical Research, University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology Tîrgu Mureş

2. Department of Laboratory Medicine, University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology Tîrgu Mureş

3. Department of Pathology, University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology Tîrgu Mureş

4. Laboratory Animal Facility-Center for Experimental Medicine, Iuliu Hațieganu University of Medicine and Pharmacy Cluj-Napoca

5. Department of Analytical Chemistry and Drug Analysis, University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology Tîrgu Mureş

6. Department of Biochemistry, University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology Tîrgu-Mureş

7. Department of Epidemiology, University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology Tîrgu-Mureş

Introduction: The aim of the study was to analyze the influence of Omega-3 fatty acid (PUFA) supplementation on M2/M1 monocyte polarization in bone marrow, and the possible correlation to peripheral cytokines, after experimental induced cerebral ischemia in rats.

Materials and methods: Wistar male adult rats randomly divided into sham (n=10), ischemic (saline) (n=10) and Omega-3 (3.5ml/kg/day for 3 weeks) (n=10) group, underwent tMCAO using a silicone thread technique. Ischemia was verified 24 hrs after reperfusion by MRI investigation and neurological assessment. Thereafter, animals were sacrificed and blood, spleen and bone marrow were harvested in order to evaluate peripheral, morphological and immunological changes induced by ischemia. After incubation with anti-iNOS2 and anti-Arg-1 polyclonal antibodies and DAB treatment, the spleen and bone marrow sections were scanned and examined using specific software. Cytokines were assessed in plasma EDTA using a rat multiplex panel (IL-6, TNF-alfa, MCP-1, TIMP-1), on Flexmap 3D analyzer.

Results: The active hematopoietic surface in bone marrow was higher in Omega group compared to sham/saline group, with mild granulocytic proliferation. There was a significantly higher expression for M1 phenotype in saline compared to Omega group, while Arg1/iNOS2 ratio was significantly higher in Omega group. iNOS2 shows a stronger expression in the ischemic group, while the FO preconditioning causes a significant M1/M2-phenotype shift in favor of the Arg1 in the white-pulp/red-pulp interface of the spleen. Additionally, a strong correlation between IL-6 and Arg1/iNOS2 ratio in saline group was found.

Conclusions: Omega-3 favors the shift in M2/M1 ratio in favor of M2 anti-inflammatory subpopulation, with potentially protective effects.

Keywords: MCAO, n-3 PUFA, M2 polarization

INFLUENȚA PRECONDITIIONĂRII CU OMEGA-3 ASUPRA POLARIZĂRII M2/M1 A MACROFAGELOR LA NIVELUL SISTEMULUI IMUN PERIFERIC DUPĂ ISCHEMIA CEREBRALĂ INDUSĂ EXPERIMENTAL

Introducere: Scopul studiului a fost analiza influenței suplimentării Omega-3 asupra polarizării monocitelor/macrofagelor din măduva osoasă spre fenotipurile M2/M1 și posibilele corelații cu citokinele periferice, după ischemia cerebrală experimentală la șobolani.

Material și metodă: Șobolani masculi rasa Wistar, împărțiți în sham (n=10), ischemic (saline) (n=10) și Omega-3 (3,5ml/kg/zi, 3 săptămâni) (n=10), au fost supuși ischemiei cerebrale prin obstrucția tranzitorie a arterei cerebrale medii. Verificarea ischemiei s-a făcut prin teste imagistice și neurologice, la 24 ore de la reperfuzie. După sacrificarea animalelor, s-au recoltat sânge, splina și măduvă osoasă în vederea analizării modificărilor morfológice și imune periferice. După incubare cu anticorpi polyclonali anti -iNOS2 și anti-Arg-1 și incubare cu DAB, secțiunile din splină și măduva hematogenă au fost scanate și analizate cu un soft specializat. Determinarea citokinelor periferice s-a făcut prin tehnica xMAP (IL-6, TNF-alfa, MCP-1, TIMP-1) pe analizorul Flexmap 3D.

Rezultate: La nivelul măduvei osoase, suprafața hematopoietică activă a fost mai mare la grupul Omega comparativ cu sham/salin, cu proliferare moderată granulocitară. Expresia fenotipului M1 a fost semnificativ mai mare la grupul salin comparativ cu Omega, în timp ce raportul Arg1/iNOS2 a fost semnificativ mai mare la grupul Omega. La nivelul interfeței dintre pulpa roșie/albă splenică expresia iNOS2 a fost mai accentuată la grupul ischemic, în timp ce la Omega s-a observat o modificare semnificativă a raportului M1/M2 în favoarea Arg-1. Adițional, am găsit o strânsă corelație între IL-6 și raportul Arg-1/iNOS2 la grupul ischemic (salin).

Concluzii: Omega-3 favorizează modificarea raportului M2/M1 în favoarea fenotipului antiinflamator M2 în populația monocitelor/macrofagelor, cu potențiale efecte protective.

Cuvinte cheie: ischemia experimentală, acizi grași polinesaturați *n*-3, polarizare M2.

P10 VITAMIN E-PLGA-NPS ASSOCIATED TO PREDNISONE TREATMENT HAD HEPATOPROTECTIVE EFFECT IN HIGH FAT DIET WISTAR RATS

Mihaela Balaban¹, Adriana Dinu¹, Bogdana Virgolici¹, Elvira Gagniuc², Daniela Miricescu¹, Alexandra Totan¹, Maria Greabu¹, Giulia Adelina Dinu³, Maria Mohora¹

1. Department of Biochemistry, University of Medicine and Pharmacy "Carol Davila" Bucharest

2. Faculty of Veterinary Medicine Bucharest

3. Student at University of Medicine and Pharmacy "Carol Davila" Bucharest

Introduction: Glucocorticosteroids are drugs used in the treatment of many inflammatory and autoimmune disease. Their administration can be associated with various adverse effects, similar to those of the metabolic syndrome (including hepatic steatosis). Serum albumin level can influence the level of free cortisol. Vitamin E has beneficial effects in fatty liver and poly lactic-co-glycolic acid nanoparticles (PLGA) PLGA -NPs represent a good delivery system of vitamin E to the liver and spleen. The aim of this study is to analyse the effects of vitamin E charged PLGA-NPs associated to exogenous cortisone on hepatic status and on antioxidative status.

Materials and methods: Wistar male rats (n=15, age 10-12 months), on hypercaloric/hyperlipidic diet were randomised in three groups, for 6 weeks as: group O without any treatment, group OP was treated with Prednisone (1 mg/kg/day) by oral gavage and group OPN received Prednisone (1 mg/kg/day) and vitamin E-charged PLGA-NPs (1 mg/kg/day) by oral gavage. The control group included 5 one year old rats on a standard diet. We measured serum albumin, vitamin E, catalase and ALT activity, serum uric acid (as a marker of the antioxidative defence) and we assessed the histopathological aspect of the liver.

Results: In the OPN group versus OP group, higher levels ($p<0.05$) for serum albumin, vitamin E and catalase activity were demonstrated and lower levels ($p<0.05$) for uricemia and ALT activity were measured. The histopathological aspect of the liver was medium hepatopathy in OP group and minor hepatopathy in the OPN group.

Conclusions: The association of PLGA-NPs to Prednisone had hepatoprotective effect demonstrated by the increased liver albumin synthesis and by the improved histological liver aspect. .

Keywords: Prednisone; Vitamin E, PLGA nanoparticles

EFFECTUL HEPATOPROTECTOR AL PLGA-NP ÎNCĂRCATE CU VITAMINĂ E, ASOCIAȚE TRATAMENTULUI CU PREDNISON LA ȘOBOLANI WISTAR HRĂNIȚI CU O DIETĂ HIPERLIPIDICĂ

Introducere: Glucocorticosteroizii sunt medicamente importante, folosite în tratamentul afecțiunilor inflamatorii și autoimune. Administrarea acestora poate fi asociată cu diferite efecte adverse, similare sindromului metabolic (inclusiv steatoza hepatică). Nivelul seric al albuminei poate influența nivelul

cortisolului liber. Vitamina E a dovedit efecte benefice pe ficatul gras, iar nanoparticulele (NP) poly-lactic-co-glycolic acid (PLGA) reprezintă un sistem optim de transport al vitaminei E către ficat și splină. Scopul acestui studiu a fost acela de a analiza efectele PLGA-NP încărcate cu vitamina E, asociate tratamentului glucocorticoid asupra statusului hepatic și a apărării antioxidantă.

Material și metodă: Un număr de 15 șobolanii Wistar masculi (vârstă=10-12 luni), hrăniți cu o dietă hiperlipidică, hipercalorică, au fost randomizați în 3 grupuri, timp de 6 săptămâni: grupul O fără tratament, grupul OP a primit prednison (1 mg/kg/zi) prin gavaj oral, iar grupul OPN a primit prednison (1 mg/kg/zi) și PLGA-NP încărcate cu vitamina E (1 mg/kg/zi) prin gavaj oral. Un grup de 5 șobolani masculi, cu vîrstă de 1 an, pe dietă standard, a fost considerat lotul martor. Au fost măsurate albumina serică, vitamina E, activitatea catalazei și a ALT, acidul uric (ca marker al apărării antioxidantă) și s-a examinat aspectul histopatologic al ficatului.

Rezultate: In grupul OPN versus grupul OP ($p<0.05$), au fost demonstrează niveluri mai crescute ale albuminei serice, ale vitaminei E și ale activității catalazei, cât și niveluri mai scăzute ($p<0.05$) ale uricemiei și ALT. Aspectul histopatologic al ficatului a arătat o hepatopatie medie în grupul OP și hepatopatie minoră în grupul OPN.

Concluzii: Asocierea PLGA-NP încărcate cu vitamina E tratamentului cu prednison a avut efecte hepatoprotectoare, demonstrează prin creșterea sintezei hepatice a albuminei și prin îmbunătățirea aspectului histopatologic al ficatului.

Cuvinte cheie: Prednison; Vitamina E, PLGA nanoparticule.

P11 COMPARATIVE EFFECT OF NATURAL, SYNTHETIC VITAMIN E AND VITAMIN E CHARGED IN NANOPARTICLES ON VISCERAL FAT

Adriana Dinu¹, Giulia Adelina Dinu², Mihaela Balaban¹, Bogdana Virgolici¹, Daniela Miricescu¹, Alexandra Totan¹, Maria Greabu¹, Maria Mohora¹

1. Department of Biochemistry, University of Medicine and Pharmacy "Carol Davila" Bucharest

2. Student at University of Medicine and Pharmacy "Carol Davila" Bucharest

Introduction: The aim of this study is to evaluate which form of Vitamin E- natural, synthetic or nanoparticles Poly Lactic-Co-Glycolic Acid (PLGA-NPs)-associated to Prednisone, prevent the visceral fat development.

Material and method: Wistar rats (age 10-12 months) were fed with a hypercaloric diet (100 kcal/day/rat above the normal energy intake) for 6 weeks. They were divided in four equal groups in accordance to the treatment (done by gavage) which was associated to the diet. Group OP received Prednisone (1mg/kg/day), group OE received Prednisone (1mg/kg/day) and synthetic Vitamin E (1mg/kg/day), and group ON received Prednisone and Vitamin E (1mg/kg/day) PLGA-NPs while group OM was without treatment. Two other groups (OAS and OA) with more energy intake (195 kcal/day/rat above the normal energy intake provided by 15 g peanuts/day/rat) were formed. Group OAS also received Prednisone.

Results: The average value for visceral fat weight/rat weight was 0.0325 in group OAS and 0.017 in group OA ($p<0.01$). The ratio was 0.0275 in OP and 0.021 in group OM ($p<0.04$). The ratio was 0.021 in

OE ($p<0.04$) and 0.018 in ON groups ($p<0.01$). Vitamin E association to Prednisone resulted in a lesser amount of visceral fat.

Conclusion: Prednisone increases the visceral fat development and all forms of Vitamin E—natural, synthetic and charged in nanoparticles associated to Prednisone can prevent fat development. The weakest effect was demonstrated for the synthetic form of Vitamin E.

Keywords: PLGA-nanoparticles; Prednisone; Vitamin E; Visceral fat

EFFECTUL COMPARATIV AL VITAMINEI E NATURALE, SINTETICE ȘI ÎNCARCATE ÎN NANOPARTICULE ASUPRA GRĂSIMII VISCERALE

Introducere: Scopul acestui studiu este de a evalua care formă de Vitamină E—naturală, sintetică sau sub formă de nanoparticule Poly Lactic-Co-Glicolic Acid (PLGA-NPs) - asociate administrației de Prednison, previne dezvoltarea grasimii viscerale.

Material și metodă: Sobolani Wistar (10-12 luni) au fost hrăniți cu dietă hipercalorică (100 kcal/zi/animal peste aportul energetic normal) pentru 6 săptămâni. Au fost impărțiți în patru grupe egale în funcție de tratamentul (gavaj) asociat dietei. Grupul OP a primit Prednison (1mg/kg/zi), grupul OE a primit Prednison (1mg/kg/zi) și Vitamina E (1mg/kg/zi), grupul ON a primit Prednison (1mg/kg/zi) și Vitamina E (1mg/kg/zi) PLGA-NPs și grupul OM nu a primit tratament. Alte două grupuri (OAS și OA) au avut un aport energetic mai mare (195 kcal/zi/animal peste aportul energetic hipercaloric), energie ce provine din 15 grame de arahide pe zi/animal. Grupul OAS a primit Prednison iar grupul OA nu au primit.

Rezultate: Media valorilor raportului greutății grăsimii viscerale/greutatea sobolanului a fost 0.0325 în grupul OAS și 0.017 în grupul OA ($p<0.01$). Același raport 0.0275 pentru grupul OP și 0.021 pentru OM ($p<0.04$). Raportul a fost 0.021 în grupul OE ($p<0.04$) și 0.018 în grupul ON ($p<0.01$). Rezultatul asocierii vitaminei E la tratamentul cu Prednison a constat în reducerea grăsimii viscerale.

Concluzie: Prednisonul crește dezvoltarea grăsimii viscerale și toate formele de vitamină E—naturală, sintetică sau cea sub formă de nanoparticule asociată administrației de Prednison pot preveni dezvoltarea grăsimii viscerale. Cel mai slab efect a avut-o forma sintetică a vitaminei E.

Cuvinte cheie: PLGA-nanoparticule, vitamină E, grăsimi viscerale

P12 PLGA NANOPARTICLES – A PROMISING ALTERNATIVE TO IMPROVE THE BIOLOGICAL ACTIVITY OF LUTEIN AND VITAMIN E

**Cătălina Rădulescu¹, Daniela Miricescu¹, Alexandra Totan¹, Radu Rădulescu¹, Iulia Stănescu¹,
Bogdana Virgolici¹, Maria Mohora², Maria Greabu¹**

1. Department of Biochemistry, Faculty of Dental Medicine “Carol Davila” Bucharest

2. Department of Biochemistry, Faculty of General Medicine ‘Carol Davila’ Bucharest

Introduction: Currently, Polylactic-co-glycolic acid (PLGA) is one of the most effective biodegradable polymeric nanoparticles (NPs) approved by the FDA as delivery systems for many drugs in the treatment of cancer, osteoporosis, cardiovascular and neurodegenerative diseases.

The aim of our study was to evaluate the antioxidant effect of PLGA NPs loaded lutein and vitamin E in Wistar male rats that received hypercaloric diet during 21 days.

Methods: PLGA NPs was prepared by the emulsion-solvent evaporation method. 15 Wistar male rats were divided into 3 groups, each containing 5 rats that received daily hypercaloric diet (group C), hypercaloric diet with PLGA-vitamin E (group E) and hypercaloric diet with PLGA-lutein (group L) (daily 50mg/kg body weight).

Oxidative stress biomarkers such as glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA), total antioxidant capacity (TAC) advanced human oxidation protein products (AOPP) and vitamin E were analyzed in liver tissue homogenates using ELISA and spectrophotometric methods.

Results: Our results showed important modifications in redox status in liver revealed by statistically significant lower values for MDA and AOPP and higher values for GSH and TAC in groups L and E versus group C ($p<0.01$).

Results of our study revealed statistically significant increased levels of vitamin E in group E versus group C ($p<0.01$).

MDA levels are 0.068 ± 0.009 nmol/g protein for C group; 0.017 ± 0.004 nmol/g protein for L group and 0.048 ± 0.009 nmol/g protein for E group.

GSH levels are 1.314 ± 0.01 nmol/g protein for C group; 0.63 ± 0.07 nmol/g protein for L group and 1.348 ± 0.01 nmol/g protein for E group.

TAC levels are 85 ± 14.19 nmol/g nmol/g protein for C group; 156.34 ± 1.22 nmol/g protein for L group and 140.66 ± 14.19 nmol/g protein for E group.

AOPP levels are 2.73 ± 0.23 nmol/g protein for C group; 2.56 ± 0.45 nmol/g protein for L group and 2.53 ± 0.23 nmol/g protein for E group.

Conclusions: The PLGA NPs loaded lutein and vitamin E may be considered as a promising approach to enhance the antioxidant defense system in treatment of many diseases with high efficacy and few side effects.

Keywords: nanoparticles, lutein, vitamin E

NANOPARTICULE PLGA – O ALTERNATIVĂ PROMIȚĂTOARE PENTRU ÎMBUNĂTĂȚIREA ACTIVITĂȚII BIOLOGICE A LUTEINEI SI VITAMINEI E

Introducere: În prezent, acidul polilactic-co-glicolic (PLGA) este unul din cele mai eficiente nanoparticule polimerice (NP) aprobată de FDA datorită capacitatea de eliberare a mai multor medicamente în tratamentul cancerului, osteoporozei, bolilor cardiovasculare și neurodegenerative.

Scopul studiului a fost de a evalua efectul antioxidant al NP PLGA încărcate cu luteină și vitamina E la șobolanii Wistar care au primit dietă hipercalorică timp de 21 zile.

Metode: NP PLGA au fost preparate prin metoda evaporare-emulsie-solvent. 15 șobolani masculi Wistar au fost împărțiți în 3 grupe, fiecare conținând 5 șobolani, cărora li s-a administrat o dietă hipercalorică zilnică (grupul C), o dietă hipercalorică cu PLGA-vitamina E (grupul E) și o dietă hipercalorică cu luteină PLGA (grupul L) (zilnic 50 mg / kg greutate corporală).

S-au analizat biomarkeri de stres oxidativ cum ar fi glutationul (GSH), malondialdehyda (MDA), capacitatea totală de antioxidantă (TAC), produsele avansate de proteine oxidante umane (AOPP) și vitamina E în omogenatele ţesuturilor hepatice folosind ELISA și metode spectrofotometrice.

Rezultate: Rezultatele noastre au arătat modificări importante ale statusului redox în ficat, evidențiate prin valori semnificativ mai mici pentru MDA și AOPP și valori mai mari pentru GSH și TAC în grupurile L și E, față de grupul C ($p<0,01$).

Rezultatele studiului au evidențiat și nivele semnificativ crescute din punct de vedere statistic ale vitaminei E în grupul E față de grupul C ($p<0,01$).

Valorile MDA sunt 0.068 ± 0.009 nmol/g proteină pentru grupul C; 0.017 ± 0.004 nmol/g proteină pentru grupul L și 0.048 ± 0.009 nmol/g proteină pentru grupul E.

Valorile GSH 1.314 ± 0.01 nmol/g proteină pentru grupul C; 0.63 ± 0.07 nmol/g proteină pentru grupul L și 1.348 ± 0.01 nmol/g proteină pentru grupul E.

Valorile TAC 85 ± 14.19 nmol/g proteină pentru grupul C; 156.34 ± 1.22 nmol/g proteină pentru grupul L și 140.66 ± 14.19 nmol/g proteină pentru grupul E.

Valorile AOPP 2.73 ± 0.23 nmol/g proteină pentru grupul C; 2.56 ± 0.45 nmol/g proteină pentru grupul L și 2.53 ± 0.23 nmol/g proteină pentru grupul E.

Concluzii: NP-urile PLGA încărcate cu luteină și vitamina E pot fi considerate o abordare promițătoare pentru îmbunătățirea sistemului de apărare antioxidant în tratamentul multor boli, cu eficacitate ridicată și puține efecte secundare.

Cuvinte cheie: nanoparticule, luteina, vitamina E

P13.CORRELATIONS BETWEEN THE BLOOD LEVEL OF CARDIAC MARKERS AND LIPID STATUS IN UNSTABLE ANGINA

Camelia-Vidița Gurban^{1,2}, Marilena Motoc^{1,2}, Alina Crăciun², Mariana Peterka², Iuliana Radu², Mirela Racu², Mihaela Mușat², Velemir Erdelean², Adriana-Cristina Gîrjoabă², Tudor Rareș Olariu^{1,2}

1. University of Medicine and Pharmacy "Victor Babeș" Timișoara

2. Municipal Emergency Hospital Timișoara, Laboratory of medical analysis

The purpose of the study was to assess blood levels of the cardiac biomarkers, myoglobin (MYO), cardiac troponin I (cTNI), creatinkinase MB (CK-MB) and the lipid status in patients investigated for unstable angina (UA).

Material and Methods: This study included 317 consecutive patients hospitalized at Municipal Clinical Hospital in Timisoara and suspected of UA. Patients were aged 45-72 years (mean 58.3 years), 169 were females (53.3%). Clinical and laboratory investigations were performed in these patients, including ECG and ECO-CV-Doppler. Blood levels of MYO and cTNI were measured using the Panell-Alere-Triage-Profiler-SOB Immunofluorescence Assay. CK-MB serum levels and serum lipid status including total cholesterol (CT), HDL-cholesterol (HDL), LDL-cholesterol (LDL), and triglycerides (TG) were measured by an automated colorimetric enzymatic technique. The Atherogenic Index of plasma (AIP) was calculated according to the formula AIP= log(TG/HDL).

Results: Of the 317 patients, 185 (58.5%) were diagnosed with UA. In patients with UA there was a significant increase in the blood levels of MYO (308.84 ± 177.73 ng/ml; $p<0.0002$), cTNI (6.55 ± 3.12 ng/ml; $p<0.05$) and CK-MB (64.6 ± 12.2 U/L; $p<0.001$) compared to the group of patients without UA

(MYO: 70.74 ± 11.8 ng/ml; cTNI: 0.05 ± 0.016 ng/ml; CK-MB: 18.5 ± 7.4 U/L). The lipid status indicated an increase of the AIP in all patients with UA ($p < 0.05$) compared to those without UA. In patients with UA, there was a significant positive correlation between the increased blood levels of cardiac markers and LDL (MYO: $r = 0.620$; cTNI: $r = 0.586$; CK-MB: $r = 0.772$) and a negative correlation with HDL ($r = -0.420$, $r = -0.564$, respectively $r = -0.570$).

Conclusion: In patients with AI, blood levels of markers that show a cardiac lesion (MYO, cTNI and CK-MB) are positively correlated with atherogenic risk factors (increased AIP and serum LDL). These modern cardiac markers may contribute to a reduce number of false-positive/false-negative UA diagnoses in patients with high atherogenic risk.

Keywords: myoglobin, troponin, unstable angina.

CORELATII ÎNTRE NIVELELE SANGUINE ALE MARKERILOR CARDIACI ȘI STATUSUL LIPIDIC ÎN ANGINA INSTABILĂ

Scopul studiului a fost evaluarea nivelele sanguine ale biomarkerilor cardiaci: mioglobina (MYO), troponina I (cTNI), creatinkinază CK-MB și statusul lipidic la pacienții investigați pentru angina instabilă (AI).

Material și metode: Acest studiu a inclus 317 pacienți consecutivi internați în Spitalul Clinic Municipal din Timișoara și suspectați a avea AI. Pacienții aveau vârstele între 45-72 ani (media 58.3 ani), 169 au fost femei (53.3%). La acești pacienți au fost efectuate investigații clinice și de laborator, ECG și ECO-CV-Doppler. Nivelele sanguine ale MYO și cTNI au fost determinate folosind testul de imunofluorescență Panoul-Alere-Triage-Profiler-SOB. Nivelele serice ale CK-MB și statusul lipidic seric: Colesterol-total (CT), HDL-colesterol (HDL), LDL-colesterol (LDL), Trigliceridele (TG) au fost măsurate prin tehnica enzimatică automatizată. Indexul aterogen al plasmei (AIP) a fost calculat conform formulei $AIP = \log(TG/HDL)$.

Rezultate: Din cei 317 pacienți, 185 (58.5%) au fost diagnosticați cu AI. La pacienții cu AI s-a observat o creștere semnificativă a nivelor sanguine ale MYO (308.84 ± 177.73 ng/ml; $p < 0.0002$), cTNI (6.55 ± 3.12 ng/ml; $p < 0.05$) și CK-MB (64.6 ± 12.2 U/L; $p < 0.001$) comparativ cu grupul de pacienți fără AI (MYO: 70.74 ± 11.8 ng/ml; cTNI: 0.05 ± 0.016 ng/ml; CK-MB: 18.5 ± 7.4 U/L). Statusul lipidic a indicat o creștere a AIP la toți pacienții cu AI ($p < 0.05$) comparativ cu cei fără AI. La pacienții cu AI a existat o corelație pozitivă semnificativă între nivelele sanguine crescute ale markerilor cardiaci și LDL (MYO: $r = 0.620$; cTNI: $r = 0.586$; CK-MB: $r = 0.772$) și o corelație negativă cu HDL ($r = -0.420$, $r = -0.564$, respectiv $r = -0.570$) la pacienții cu AI.

Concluzie: La pacienții cu AI creșterea nivelor sanguine ale markerilor care evidențiază o leziune cardiacă (MYO, cTNI și CK-MB) sunt corelați pozitiv cu factorii de risc aterogen (creșterea AIP și a LDL-ului seric). Acești markeri cardiaci moderni pot contribui la reducerea numărului de diagnostice fals-pozițive/false-negative la pacienții cu risc aterogen crescut.

Cuvinte cheie: mioglobina, troponina, angina instabilă.

P14 BILE ACID ASSAY IN THE MANAGEMENT OF PREGNANCY CHOLESTASIS

Dănilă Elena Petrescu, Raluca Ștefania Stănescu, Gabriela Bordeianu,
Corina Paraschiva Ciobanu, Afrodita Doina Mărculescu, Daniela Cristina Dimitriu

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

Introduction: Intrahepatic cholestasis of pregnancy usually occurs during the last semester of pregnancy and is associated with an increased risk of preterm delivery and respiratory distress in newborns. The aim of the study was to investigate the correlation between maternal bile acid levels, the best indicator of cholestasis severity, and the risk of fetal distress.

Material and method: We conducted a retrospective study that included 2785 pregnant women admitted at „Cuza Voda” Obstetrics and Gynecology Hospital Iasi, between January - December 2018. For 280 patients with pruritus, a biochemical profile suggestive for pregnancy cholestasis was performed: aminotransferases (ALT and AST), alkaline phosphatase (ALP), total and direct bilirubin (TB, DB), and bile acids.

Results: The following mean values were obtained: ALT - 85,4 UI/L ± 21,2, AST - 99 UI/L ± 36, ALP - 466,6 UI/L ± 101,2, TB - 1,25 mg/dL ± 0,25, DB - 0,51 mg/dL ± 0,25. 120 patients had elevated bile acid levels (39,3 µmol/L ± 12,2) compared to the other 160 patients that had normal levels (4,3 µmol/L ± 0,1, p <0,001). Only the high levels of bile acids were correlated with findings suggestive for fetal distress.

Conclusions: The levels of bile acids in patients with intrahepatic cholestasis of pregnancy are positively correlated with the risk of pathology of the neonate. These findings recommend the use of bile acid testing in diagnosis, as well as their serial monitoring with the purpose of risk stratification and deciding the optimal timing of delivery.

Keywords: cholestasis of pregnancy, bile acids, fetal distress.

ROLUL DETERMINĂRII ACIZILOR BILIARI ÎN MANAGEMENTUL COLESTAZEI DE SARCINĂ

Introducere: Colestaza intrahepatică de sarcină apare de obicei în al treilea trimestru de sarcină și în unele cazuri este asociată cu un risc crescut de nașteri premature și de detresă respiratorie la nou născut. Studiul a urmărit corelarea între nivelurile acizilor biliari materni, indicatorul cel mai util al severității colestazei, și riscul de suferință fetală.

Materiale și metodă: Studiu retrospectiv, pe 2785 de gravide, interne la Spitalul de Obstetrică și Ginecologie „Cuza Vodă” din Iași, în perioada ianuarie – decembrie 2018. La 280 de gravide, care au prezentat prurit, s-a solicitat bilanț biochimic specific colestazei de sarcină: dozarea activității aminotransferazelor (ALAT și ASAT), fosfatazei alcaliene (FA), bilirubinei totale și directe (BT și BD) și acizilor biliari (Bilea).

Rezultate: S-au înregistrat următoarele valori medii: ALAT - 85,4 UI/l ± 21,2, ASAT - 99 UI/l ± 36, FA - 466,6 UI/l ± 101,2, BT - 1,25 mg/dl ± 0,25, BD - 0,51 mg/dl ± 0,25. Pentru Bilea, la 120 de gravide s-au înregistrat valori crescute (39,3 µmol/l ± 12,2), comparativ cu celelalte 160 de paciente care au avut

valori normale ($4,3 \mu\text{mol/l} \pm 0,1$, $p < 0,001$). Doar valorile crescute ale Bilea s-au corelat cu modificări sugestive pentru suferința fetală.

Concluzii: Nivelurile acizilor biliari materni în colestană intrahepatică de sarcină se coreleză pozitiv cu riscul de complicații la nou-născut, recomandând dozarea acizilor biliari nu doar pentru stabilirea diagnosticului, ci și monitorizarea lor în dinamică în scopul stratificării riscului fetal și alegerii momentului potrivit pentru inducerea nașterii.

Cuvinte cheie: colestană de sarcină, acizi biliari, suferință fetală.

P15. QUANTIFICATION AND BIOLOGICAL PROFILE OF NON-ENZIMATIC ANTIOXIDANTS IN SMOKERS VERSUS NON-SMOKERS WITH PSYCHIATRIC DISORDERS

Mona Cioroiu, Letitia Trofor, Ioana Buculei, Bogdan Cioroiu, Roberta Cernat, Antigona Trofor

Clinical Hospital of Pneumophthisiology Iași

University of Medicine and Pharmacy "Grigore T. Popa" Iași, Romanian Academy Iași

Introduction: Psychiatric disorders such as depression and anxiety, as well as smoking are accompanied by reduced antioxidant activity in plasma. Uric acid and vitamin C have neuroprotective effects, due to their antioxidants properties.

Material and methods. Vitamin C and uric acid in serum were measured in 31 patients (19 smokers and 12 non-smokers) diagnosed with depression and anxiety. Uric acid was determined by enzymatic (uricase) colorimetric test on Roche Cobas Integra 400. Vitamin C was measured by HPLC (High Performance Liquid Cromtography). The method was verified in terms of specificity, linearity, limit of detection, limit of quantification. In smokers, nicotine dependence was assessed by the Fagerström test as low, medium or severe.

Results: Profile of Vitamin C concentrations in plasma was under reference range among 90% of both smokers ($1,32 \pm 0,9 \text{ mg/L}$) and non-smokers ($1,10 \pm 0,6 \text{ mg/L}$), $p < 0,05$. For smokers, uric acid concentrations were lower ($5,08 \pm 1,45 \text{ mg/dL}$) compared to non-smokers patients ($6,00 \pm 1,3 \text{ mg/dL}$), $p < 0,001$. Study results showed a decrease in antioxidants concentrations depending on level of nicotine dependence; thus, in severe nicotine dependent patients we determined low Vitamin C ($1,17 \pm 0,67 \text{ mg/L}$) and uric acid levels ($5,05 \pm 1,55 \text{ mg/dL}$), compared to low nicotine dependent patients (Vitamin C = $1,38 \pm 0,8 \text{ mg/L}$, uric acid = $5,8 \pm 1,03 \text{ mg/dL}$), $p < 0,05$.

Conclusions: Lower levels of Vitamin C and uric acid in patients with depressive disorders were associated with oxidative stress due to environmental factors and especially to tobacco smoking.

Keywords: antioxidants, oxidative stress, anxiety

CUANTIFICAREA ȘI PROFILUL BIOLOGIC AL ANTIOXIDANȚILOR NON-ENZIMATICI LA FUMĂTORI ȘI NEFUMĂTORI CU TULBURĂRI PSIHIATRICE

Introducere: Tulburările psihiatric cum ar fi depresia și anxietatea sunt însotite de reducerea activității antioxidantă în plasmă. Acidul uric și vitamina C prezintă efecte neuroprotective datorită proprietăților antioxidantă.

Material și metodă: Vitamina C și acidul uric seric s-au determinat în cazul a 31 de pacienți (19 fumători și 12 nefumători) diagnosticăți cu depresie și anxietate. Acidul uric a fost determinat colorimetric prin metoda enzimatică utilizând analizorul Cobas Integra 400. Determinarea vitaminei C s-a realizat utilizând Cromatografia de Lichide de Înaltă Presiune. S-au verificat specificitatea, liniaritatea, limita de detecție și limita de cantificare. În cazul pacienților fumători, dependența de nicotină a fost evaluată prin aplicarea testului Fagerström iar rezultatele au fost raportate în termeni de dependență scăzută, medie și severă.

Rezultate: Profilul concentrațiilor de vitamina C în plasmă a fost mai mic decât intervalul de referință pentru 90% dintre pacienții fumători ($1,32 \pm 0,9$ mg/L) și nefumători ($1,10 \pm 0,6$ mg/L), $p < 0,05$. Pentru pacienții fumători, valorile concentrațiilor de acid uric seric ($5,08 \pm 1,45$ mg/dL), au fost mai mici decât în cazul pacienților nefumători ($6,00 \pm 1,3$ mg/dL), $p < 0,001$. Rezultatele studiului au punctat o scădere a concentrațiilor de antioxidantii în funcție de nivelul de dependență nicotinică; astfel la pacienții cu dependență crescută s-au determinat concentrații mici de vitamina C ($1,17 \pm 0,67$ mg/L) și acid uric ($5,05 \pm 1,55$ mg/dL) în comparație cu pacienții cu o dependență scăzută de tutun (vitamina C = $1,38 \pm 0,8$ mg/L, acid uric = $5,8 \pm 1,03$ mg/dL, $p < 0,05$).

Concluzii: Concentrații scăzute ale antioxidantilor precum vitamina C și acidul uric seric la pacienții cu tulburări depresive au fost asociate cu existența stresului oxidativ datorat factorilor de mediu și în special fumatului.

Cuvinte cheie: antioxidantii, stres oxidativ, anxietate

P16. THE COMPARABILITY OF RESULTS FOR URINE ANALYSIS USING LABUMAT AND ATELLICA IN CLINICAL LABORATORY OF EMERGENCY COUNTY HOSPITAL OF MUREŞ

Oana Pavelea ¹, Oana Oprea ^{1,2}, Mihaela Zaharia ¹, Minodora Dobrea ^{1,2}

1. Central Laboratory of Emergency Clinical County Hospital Târgu Mureş
2. University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology Târgu Mureş, Department of Laboratory Medicine

Introduction: The aim of this study is to evaluate if there are any differences between: LabUMat and Attelica, used in our laboratories for urine analysis, according to ISO 15189:2013 Standard.

Materials and methods: In 100 urine samples, we analyzed 10 parameters: the presence of blood (RBC), WBC, bilirubin, glucose, ketones, pH, proteins, specific gravity, urobilinogen and nitrites. The urinary sediment was performed on both analyzers and by optic microscopy. The semi-qualitative results of the complete urine analysis were statistically analysed with MedCalc software, except for nitrites that were evaluated as negative/positive. The urine sediment results were expressed as unitar intervals (negative-4+) in order to match the high power field (hpf) of the optic microscope (MO).

Results: Between the two systems there were some differences: at RBC values were between 10-50 RBC/ µl, RBC count was lower on Attelica than on LabUMat; whereas WBC had higher values on Attelica. For the proteins, differences were noticed when protein level was close to the lower limit of detection. In 4 cases we found more WBC using the MO than with both systems, whereas in other 4 cases the bacteria found on the MO were not reported on Urised, but were reported on Attelica. In the urine

sediment the presence of mucus can affect the detection of the bacteria, whereas in microscopy there is a tendency to overestimate the number of WBC if there are more than 10 wbc/hpf.

Conclusion: In spite of the differences on the two equipments, there is no impact on the clinical decision for none of the parameters, except for the proteins (some patients may be reported as false positive).

Keywords: urine sediment, comparability, urinary proteins

COMPARABILITATEA REZULTATELOR EXAMENULUI COMPLET DE URINA INTRE SISTEMELE LABUMAT ȘI ATELICA IN LABORATORUL CLINIC AL SCJU MURES

Introducere: Potrivit standardului ISO 15189:2013 laboratoarele trebuie să cunoască comparabilitatea sistemelor utilizate. Scopul acestui studiu este să determine dacă cele două sisteme utilizate în laborator, LabUMat respectiv Atellica, oferă rezultate comparabile.

Material și metodă: Studiul a fost efectuat pe un eșantion de 100 de probe. Au fost analizați 10 parametri: sânge, leucocite, bilirubină, glucoză, corpi cetonici, pH, proteine, densitate urinară, urobilinogen și nitriți. În cazul sedimentului urinar probele au fost efectuate pe ambele instrumente și prin microscopie optică. Rezultatele semicantitative ale sumarului de urină au fost analizate statistic programul MedCalc cu excepția nitrițiilor care au fost evaluați ca pozitiv/negativ. Rezultatele sedimentului au fost exprimate ca intervale unitare (negativ-4+) astfel încât să corespundă câmpului vizual din M.O.

Rezultate: Între cele 2 instrumente au fost constatate diferențe: în cazul eritrocitelor, la pragul de valori 10-50/ μ l, Atellica a furnizat valori mai mici decat LabUMat ; leucocitele au avut valori constant mai mari pe instrumentul Atellica iar proteinele au prezentat diferențe pentru valorile aflate la limita inferioară de detecție. În 4 cazuri a fost raportat un număr crescut de leucocite la MO iar în alte 4 cazuri s-au observat rare bacterii acestea nefiind raportate de instrumentul Urised. În cazul sedimentului prezența mucozităților poate interfera cu detectarea bacteriilor. În cazul MO s-a observat o tendință de supraapreciere a numărului de leucocite când acestea sunt >10/cv(ob.400x).

Concluzii: Deși s-au constatat diferențe între parametrii studiați pe cele două echipamente, acestea nu influențează decizia clinică pentru nici unul din parametri, cu excepția proteinelor (unii pacienți ar putea fi raportați ca fals pozitivi).

Cuvinte cheie: sediment urinar, comparabilitate, proteine urinare

P17. COMPARABILITY OF HS-CRP RESULTS OBTAINED USING SNIBE-MAGLUMI 800 AND ABBOTT-ARCHITECT CI 4100

Andreea Oltean ¹, Minodora Dobrea ^{1,2}

1. Central Laboratory of Emergency Districtual Hospital Tîrgu Mureș

*2. Department of Laboratory Medicine, University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology
Tîrgu Mureș*

Introduction: The goal of this study was to analyze comparability between hsCRP (high sensitive C reactive protein) results obtained from two analyzers: Snibe–Maglumi 800 (CLIA – chemiluminescence immunoassay) and Abbott-Architect Ci 4100 (Immunoturbidimetry).

Material and Method: 65 consecutive serum samples with normal and pathological values were collected in emergency laboratory of districtual hospital Tîrgu-Mureş. We verified the distribution of the differences of the values obtained by the two methods using Shapiro-Wilk test and the correlation between the results obtained using the Passing-Bablok regression. To appreciate the differences between the pairs of values we used the Bland Altman method. We decided to sub-analyze the hsCRP results into five groups of ranges, according to the clinical decision thresholds: 0-1.0 mg/l; 1.0-3.0 mg/l; 3.0-10.0 mg/l; > 10.0 mg/l and above 30 mg/l.

Results: There was a good correlation for the hsCRP results obtained by the two analyzers ($R=0.9891$). Overall a positive bias was obtained with Bland Altman method on Snibe-Maglumi for values above 3 mg/L. The higher the CRP value, the more pronounced was the positive bias (Architect-Maglumi= $0.5543 - 0.1871^*$ mean values); > 10.0 mg/l and above the macro-inflammation threshold of >30mg/l the differences are significantly influencing the positive predictive value (PPV): the PPV was 40% and negative predicted value was 82%.

Conclusion: For results over 3 mg/l both Abbott-Architect and Snibe-Maglumi have very good performance for rule-out patients with inflammation.

Keywords: correlation, bias, Bland Altman

COMPARABILITATEA REZULTATELOR PROTEINEI C REACTIVE-HS OBȚINUTE PE ANALIZOARELE SNIBE-MAGLUMI 800 ȘI ABBOTT-ARCHITECT CI 4100

Introducere: Scopul acestui studiu a fost analiza comparabilității rezultatelor hsPCR (proteina hsC reactivă înalt sensibilă) obținute pe analizoarele Snibe-Maglumi 800 (CLIA) și Abbott-Architect Ci 4100 (Immunoturbidimetrie).

Material și metodă: 65 de seruri consecutive cu valori normale și patologice au fost colectate în Laboratorul de Urgență al Spitalului Județean Tîrgu-Mureș. Am verificat distribuția diferențelor dintre valorile obținute prin cele două metode utilizând testul Shapiro-Wilk și corelația dintre rezultatele obținute utilizând regresia Passing-Bablok. Pentru a aprecia diferențele dintre perechile de valori am folosit metoda Bland Altman. Am decis să subanalizăm rezultatele hsPCR în cinci grupe de intervale, conform pragurilor de decizie clinică: 0-1,0 mg/l; 1,0-3,0 mg/l; 3,0-10,0 mg/l; > 10,0 mg/l și peste 30 mg/l.

Rezultate: A existat o corelație bună pentru rezultatele hsPCR obținute de cele două analizoare ($R=0.9891$). În general, utilizând metode Bland Altman s-a obținut un bias pozitiv pentru Snibe-Maglumi, pentru valorile peste 3mg/l. Cu cat valorile de concentrație au fost mai mari, biasul a fost mai accentuat (Architect-Maglumi= $0.5543 - 0.1871^*$ media valorilor); peste 10,0 mg/l și mai ales peste pragul de macro-inflamație de > 30mg/l, diferențele influențează semnificativ valoarea predictivă pozitivă (VPP): VPP a fost de 40%, iar valoarea predictivă negativă a fost de 82%.

Concluzii: Pentru rezultate peste 3 mg/l, atât Abbott-Architect, cât și Snibe-Maglumi au o performanță foarte bună pentru excluderea pacienților cu inflamație.

Cuvinte cheie: corelație, bias, Bland Altman

P18. COMPARABILITY FOR IGE RESULTS FROM SERUM AND PLASMA ON BN PROSPEC NEPHELOMETER

Dávid-Róbert Kodori¹, Amália Berta Bartalus¹, Maria Molnar¹, Minodora Dobrea^{1,2}

1. Central Medical Laboratory of Districtual Emergency Hospital Târgu Mureş

2. Dept Laboratory Medicine, University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology Târgu Mureş, Romania

Introduction: Considering the difficulty of collecting biological samples in neonatology and pediatrics, as well as the quality of the samples and pre-analytical issues (hemolysis, icterus), we decided to assess whether serum, as a primary biological material, can be replaced by plasma (EDTA/citrate) when measuring specific proteins by BN ProSpec (Siemens) nephelometry. The citrated plasma was not checked by the producer as a possible test material.

Method: We analysed 30 concomitant sample sets of serum, EDTA plasma and citrated plasma, in which we measured immunoglobulin E level using the N Latex IgE mono kit by Siemens. After correcting for dilution in the citrated tube, the results were compared using the Passing-Bablok and Bland-Altman method, as well as the Shapiro-Wilk test to verify the normality for the distribution of differences.

Results: After eliminating outliers and obtaining the normal distribution of the differences, 27 pairs of values were usable. There is a very strong correlation between the results of serum/EDTA plasma ($R^2=0.9979$), serum/citrated plasma ($R^2=0.9837$) and EDTA plasma/citrated plasma ($R^2=0.9954$). At the decision limit set by Siemens (100 IU/ml) there were no significant differences between the three types of biological products. In the case of pathological values, the size of the bias increases, but the difference doesn't create diagnostic problems.

Conclusion: The three forms of biological products: serum/EDTA plasma/citrated plasma, can be used interchangeably at the recommended diagnosis threshold.

Keywords: Nephelometry, Bland-Altman, citrated plasma

COMPARABILITATEA REZULTATELOR IGE DETERMINATE DIN SER SI PLASMA PE NEFELOMETRUL BN PROSPEC

Introducere: Având în vedere dificultatea de obținere a produselor biologice în neonatologie și pediatrie, respectiv a calității probelor și a problemelor preanalitice (hemoliză, icter) ale anumitor produse biologice ne-am propus verificarea în ce măsură serul - ca și material biologic primar - poate fi înlocuit cu plasmă (EDTA/citrat) la dozarea proteinelor specifice pe nefelometrul BN ProSpec (Siemens). Plasma citratată nu a fost verificată de către producător ca material de testat posibil.

Material și metodă: S-au analizat 30 de eșantioane concomitente de ser, plasmă EDTA și plasmă citratată, pe care s-a analizat concentrația imunoglobulinei E folosind kitul N Latex IgE mono (Siemens). După aplicarea corecției pentru diluția din tubul citratat s-au comparat rezultatele folosind metoda Passing-Bablok și Bland-Altman respectiv Shapiro-Wilk la verificarea normalității pentru distribuția diferenței.

Rezultate: După eliminarea outlier-ilor și obținerea distribuției normale a diferențelor, 27 de perechi de valori au putut fi utilizate. Există o corelație foarte bună între rezultatele obținute din ser/plasmă EDTA ($R^2=0.9979$), ser/plasmă citratată ($R^2=0.9837$), respectiv plasmă EDTA/plasmă citratată ($R^2=0.9954$). La

pragul de decizie conform producătorului Siemens (100 UI/ml) nu au existat diferențe semnificative între cele trei tipuri de produse biologice. Pentru valori patologice mărimea biasului se accentuează fără ca diferența să creeze probleme diagnostice.

Concluzii: Cele trei forme a produsului biologic: ser/plasmă EDTA/plasmă citratată pot fi folosite interschimbabil la valoarea recomandată a pragului de diagnostic.

Cuvinte cheie: Nefelometrie, Bland-Altman, plasmă citratată

POSTER SESSION 3 GENETICS, MISCELLANEA

P19 46,XX MALE PHENOTYPE AND 46,XY FEMALE PHENOTYPE - DISORDERS OF SEXUAL DEVELOPMENT: CASES PRESENTATION

Oana Popa, Ioana Nedelcu, Elena Braha

National Institute of Endocrinology "C.I. Parhon" - București

Introduction: 46,XX karyotype for a men and 46,XY karyotype for a women are rare conditions that occurs in 1:20000 newborn male respectively 1:80000 newborn female named disorder of sexual development (DSD).

Aim: We present 4 cases, 2 male phenotype and 2 female phenotype, which were referred to our laboratory for karyotype determination because of infertility, hypogonadism or primary amenorrhea.

Material and method: Patients were endocrinologically evaluated in the institute. Karyotypes were performed from peripheral blood using a standard protocol for lymphocyte culture. Slides with metaphases were stained using GTG chromosomal banding technique and fluorescence *in situ* hybridization (FISH) for SRY region using commercial probes.

Results: From 120 karyotypes performed in 2018, two karyotypes were 46,XX with male phenotype, and two were 46,XY with female phenotype. We considered that for 46,XX male phenotype, one of the X chromosomes might have a SRY region. The presence of SRY on the short arm of X chromosome was confirmed by FISH. For the two cases with 46,XY female phenotype, SRY region was present on the short arm of Y chromosome which may lead to the complete androgen insensitivity syndrome (CAIS) diagnosis. Sequencing for androgen receptor is in progress.

Discussions and conclusions: The presence of SRY locus translocated on the short arm on X chromosome reveal the importance of SRY in male differentiation. Clinical management of XY female includes prophylactic gonadectomy to prevent malignant transformation, followed by hormone replacement therapy. FISH determination followed by sequencing are important in differential diagnostic of DSD.

Keywords: DSD, SRY, FISH

CARIOTIP 46,XX FENOTIP MASCULIN ȘI 46,XY FENOTIP FEMININ – TULBURĂRI DE DEZVOLTARE SEXUALĂ – PREZENTĂRI DE CAZ

Introducere: Cariotipurile 46,XX pentru bărbați și 46,XY pentru femei, sunt patologii genetice rare cu incidentă 1:20000 nou-născuti cu fenotip masculin, respectiv 1:80000 nou-născuti cu fenotip feminin, denumite tulburări de dezvoltare sexuală (DSD).

Scop: Prezentăm 4 cazuri, 2 cu fenotip masculin și 2 cu fenotip feminin cu infertilitate, hipogonadism sau amenoree primară, îndrumăți către laboratorul nostru pentru analize citogenetice.

Material și metodă: Pacienții au fost evaluați endocrinologic în institut. Cariotipurile au fost realizate din sânge periferic utilizând un protocol standard de prelucrare a culturilor de limfocite. Cromozo-

mii metafazici au fost bandați folosind tehnica de marcare GTG iar hibridizarea fluoresceină *in situ* (FISH) pentru regiunea SRY, utilizând sonde comerciale.

Rezultate: Din 120 cariotipuri determinate în 2018, două au fost 46,XX cu fenotip masculin, și două au fost 46,XY cu fenotip feminin. Am suspectat pentru 46,XX fenotip masculin că unul dintre cromozomii X ar avea translocată o regiune SRY. Prezența SRY pe brațul scurt al cromozomului X a fost confirmată prin FISH. Pentru cele două cazuri cu 46,XY fenotip feminin, regiunea SRY a fost prezentă pe brațul scurt al cromozomului Y, ceea ce poate conduce la diagnosticul sindromului de insensibilitate completă la androgeni (CAIS). Secvențierea receptorului de androgeni este în curs de desfășurare.

Discuții și concluzii: Prezența SRY translocat la nivelul cromozomului X relevă importanța regiunii în diferențierea masculină. Managementul clinic pentru 46,XY și fenotip feminin include gonadectomie profilactică pentru a preveni transformarea malignă, urmată de terapia de substituție hormonală. Identificarea FISH urmată de secvențiere este importantă în diagnosticul diferențial al DSD.

Cuvinte cheie: DSD, SRY, FISH

P20. HLA HAPLOTYPES AND LINKAGE DISEQUILIBRIUMS

Carina Cenusa², Silvia Miron², Cora Carp², Georgiana Stirbu², Bianca Antohe², Mariana Pavel-Tanasă^{1,2}, Dana Constantinescu^{1,2}, Corina Cianga^{1,2}, Camelia Mihaila², Petru Cianga^{1,2}

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

2. Laboratory of Immunology, "St. Spiridon" Clinical Hospital, Iasi, Romania

Introduction: The human major histocompatibility complex (MHC) is referred as HLA – human leukocyte antigen. It represents a large group of genes clustered within a continuous stretch of DNA on the 6th chromosome. The HLA genes are organized in three distinctive regions, correspondent to three classes of molecules, and display a high polymorphism. Hence, a remarkable number of allelic variants were characterized so far. As these genes are tightly packed, they tend to be transmitted as a set, named HLA haplotype. This type of inheritance tends to perpetuate certain combinations of HLA alleles, referred as linkage disequilibriums.

Materials and Methods: Two HLA I genes (A, B) and one HLA-II gene (DRB1) were routinely investigated by PCR amplification or by PCR and hybridization. A number of 1046 family members were considered and a number of 1892 haplotypes could be thus identified. SPSS Statistics (version 25) led to the characterization of 487 distinctive haplotypes and to the identification of a set of linkage disequilibriums. The results were further compared with the HLA allele frequencies described for the population of Romania and, respectively, for the population of Moldova.

Conclusions: This is the first study performed in Romania aimed to identify both the most frequent HLA haplotypes as well as the linkage disequilibriums. The data are of outmost importance as the HLA compatibility between the donor and the recipient is critical for the kidney and bone marrow transplant and the non-random association of HLA alleles enhances the probability of identifying a suitable non-related donor.

Keywords: HLA, linkage disequilibrium, haplotypes

HAPLOTIPURI HLA ȘI DEZECHILIBRE DE ÎNLĂNȚUIRE

Introducere: Complexul major de histocompatibilitate uman (MHC) este denumit HLA - antigen leucocitar uman. Acesta reprezintă un grup mare de gene grupate într-o secvență continuă de ADN la nivelul cromozomului 6. Genele HLA sunt organizate în trei regiuni distincte, care corespund celor trei clase de molecule și prezintă un polimorfism ridicat. Prin urmare, un număr remarcabil de variante alelice au fost caracterizate până acum. Deoarece aceste gene sunt extrem de apropiate, ele tind să fie transmise ca un set, numit haplotip HLA. Acest tip de moștenire tinde să perpetueze anumite combinații de alele HLA, denumite dezechilibre de înlănțuire.

Materiale și metode: Două gene HLA I (A, B) și o genă HLA-II (DRB1) au fost investigate de rutină prin amplificare PCR sau prin PCR și hibridizare. Au fost luați în considerare 1046 de membri ai unor familii și un număr total de 1892 haplotipuri au putut fi identificate. Folosind softul de statistică SPSS (versiunea 25) au fost caracterizate 487 de haplotipuri distincte și un set important de dezechilibre de înlănțuire. Rezultatele au fost în continuare comparate cu frecvențele alelor HLA descrise pentru populația României și, respectiv, pentru populația Moldovei.

Concluzii: Acesta este primul studiu realizat în România care vizează identificarea atât a haplotipurilor HLA cele mai frecvente cât și a dezechilibrelor de înlănțuire. Datele sunt de o importanță deosebită, deoarece compatibilitatea HLA între donator și receptor este critică pentru transplantul de rinichi și măduvă osoasă, iar asocierea non-aleatorie a alelor HLA sporește probabilitatea identificării unui donator neînrudit adecvat.

Cuvinte cheie: HLA, dezechilibre de înlănțuire, haplotipuri

P21. KIR HAPLOTYPES CHARACTERIZATION BY PCR-SSP

Vlad-Andrei Cianga ¹, Anca-Lavinia Postolache ², Cristina Rusu ³

Hematology Clinic, Regional Institute of Oncology, Iași

Onco-Hematology Clinic, "Sf. Maria" Emergency Children's Hospital, Iasi

Department of Genetics, "Grigore T. Popa" University of Medicine and Pharmacy, Iași

Introduction: Natural Killer (NK) cells, which are included today within the Innate Lymphoid Cells (ILC) group, represent the first line of defense targeting virally and malignantly transformed cells. Even though they do not possess antigen receptors, they express a wide set of receptors, out of which some have activatory and others have inhibitory effects. The NK activity is determined by the balance between these two categories of receptors. Amongst these, the Killer Ig-like Receptors (KIR) are encoded by a family of genes able to generate in humans nearly 30 different haplotypes. As a consequence, KIRs can display important differences between individuals.

Materials and Methods: DNA was extracted from peripheral blood mononuclear cells, either with adsorption columns, either automatically, by magnetic separation. The blood samples were harvested from healthy volunteers. KIR genotyping was performed at low level resolution by the PCR –SSP technique (Sequence Specific Primers), using commercial kits from three vendors: InnoTrain, Olerup and BAGHealthcare. Each such kit required distinct amplification conditions. Furthermore, each kit targeted slightly different variants of the KIR genes, hence employed different primer pairs.

Conclusions: This study, aiming at characterizing the KIR haplotypes in our population, presents the modality by which the results obtained with three different commercial kits can be pooled together in order to generate a homogeneous characterization, that can further allow statistical interpretation.

Keywords: NK cells, KIR, genotyping

CARACTERIZAREA HAPLOTIPURILOR KIR PRIN TEHNICA PCR-SSP

Introducere: Date recente plasează celulele Natural Killer (NK) în cadrul unui grup de celule denumite ILC (innate lymphoid cells – celule limfoide ale sistemului innăscut). Ele reprezintă prima linie de apărare îndreptată împotriva celulelor infectate viral și a celor transformate malign. Deși nu prezintă receptori specifici pentru antigen, precum limfocitele B și T, celulele NK exprimă un număr mare de receptori diferenți. Aceștia exercită efecte activatorii sau inhibitorii, iar balanța dintre cele 2 seturi de receptori determină activitatea celulară. Dintre acești receptori, KIR (Killer Immunoglobulin Like Receptors) sunt codificați de o familie de gene ce are capacitatea de a genera aproximativ 30 de haplotipuri diferențiate la om. Ca urmare, subiecții umani prezintă multiple diferențe din punct de vedere al expresiei KIR.

Materiale și metode: ADN-ul a fost extras din celule mononucleate din sângele periferic, fie manual, cu ajutorul unor coloane de adsorbție, fie automat, prin separare magnetică. Sângele a fost recoltat de la donatori voluntari sănătoși. Genotiparea KIR a fost realizată la nivel de joasă rezoluție prin tehnica PCR – SSP (Sequence Specific Primers), folosind kit-uri comerciale achiziționate de la trei companii: InnoTrain, Olerup și BAGHealthcare. Kiturile au impus condiții de amplificare distincte. În plus, fiecare a ținut variante ușor diferențiate ale genelor KIR, cu ajutorul unor perechi diferențiate de primere.

Concluzii: Acest studiu, a cărui țintă este caracterizarea haplotipurilor KIR în populația noastră, prezintă modalitatea prin care rezultatele generate prin utilizarea a trei kit-uri comerciale diferențiate pot fi armonizate, pentru a contura profiluri omogene, ce se pretează pentru interpretare statistică.

Cuvinte cheie: Celule NK, KIR, genotipare

P22 THYROID NODULES MOLECULAR DIAGNOSTIC

Dana Manda¹, Susana Vlădoiu¹, Sorina Schipor¹, Cătălina Picu^{1,4}, Adriana Pădure¹, Andrei Mureșan¹, Șerban Radian^{1,2}, Ionela Baciu^{1,2}, Cosmin Giulea³, Dumitru Ioachim¹, Dan Niculescu^{1,2}, Dana Terzea^{1,2}, Andra Caragheorgheopol^{1,2}

1. National Institute of Endocrinology "C.I.Parhon"
2. University of Medicine and Pharmacy "Carol Davila"
3. University Emergency Hospital „Elias”
4. University of Bucharest

Introduction: Thyroid nodules, with increasingly incidence, are 7-15% malignant. They can determine differentiated thyroid cancer (DTC), medullary thyroid carcinoma (MTC) or undifferentiated carcinoma. The molecular diagnostic is helpful for surgery decision, therapy response evaluation, prognostic or prophylaxis, for familial disease.

Objective: The aim of the study was to evaluate the incidence of BRAF V600E mutation in DTC and RET mutations in MTC in Romanian patients.

Materials and methods: 112 patients, 70 with papillary thyroid cancer (PTC) and 42 with follicular adenoma (AF) were enrolled and tested for BRAF V600E. DNA was extracted from thyroid tissue with cu Genomic DNA extraction kit (Invitrogen), amplified and sequenced (CEQ 8000, Beckman Coulter). RET mutations were identified in genomic DNA from blood (Promega kit). Exons 5,8,10,11,13,14,15,16 were sequenced. 271 patients were tested for RET mutations.

Results: BRAF V600E mutation was found only in PTC classical form in 8/27 patients and in 2/8 patients with aggressive form. cPTC patients were in tumoral stage T3 (6 patients) and T4 (2 patients).

RET mutations: 39 from 271 patients carried RET mutations. We extended RET sequencing to their families and found another 69 clinically affected subjects with mutations and 27 asymptomatic carriers.

Conclusions: BRAF V600E mutation indicates a more rapid progression of the disease. We are testing the utility of BRAF V600E in thyroid fine needle aspiration biopsy. As RET mutation is are germinal ones, this molecular test is crucial for identifying the affected relatives.

Keywords: Thyroid cancer, BRAF, RET

DIAGNOSTICUL MOLECULAR AL NODULILOR TIROIDIENI

Introducere: Nodulii tiroidieni, cu incidență în creștere, au un procent de malignitate de 7-15% și pot determina carcinoame tiroidiene diferențiate (DTC), carcinoame medulare (MTC) sau carcinoame tiroidiene nediferențiate. Stabilirea unui diagnostic molecular orientează clinicianul în recomandarea intervenției chirurgicale, evaluarea răspunsului terapeutic, a prognosticului și profilaxiei, în cazul tumorilor familiale.

Obiectiv: Evaluarea incidenței mutațiilor BRAF V600E în DTC și ale genei RET în MTC la pacienți din România.

Materiale și metode: 112 pacienți din care 70 cu carcinom papilar (PTC) și 42 cu adenom folicular (AF) au fost testați pentru BRAF V600E. ADN din țesut tiroidian a fost extras cu Genomic DNA extraction kit (Invitrogen) urmat de amplificare și secvențiere (CEQ 8000, Beckman Coulter). Mutatiile genei RET au fost identificate din ADN genomic din sânge periferic (kit Promega) prin secvențierea exonilor 5,8,10,11,13,14,15,16. Pentru studiul RET au fost testați 271 pacienți.

Rezultate: Mutatia BRAF V600E a fost identificată numai în PTC forma clasică (cPTC) 8/27 pacienți și în forme histologice agresive 2/8 pacienți. Pacienții cPTC BRAF V600E au avut stadiul tumoral T3 (6 pacienți) sau T4 (2 pacienți).

Mutatiile RET: Din 271 pacienți testați, 39 au prezentat mutații. Extinderea testării la familiile probanzilor a identificat încă 69 de subiecți afectați clinic, cu mutații și 27 de purtători asimptomatici.

Concluzie: Prezența mutației BRAF V600E în DTC este un indicator al evoluției mai rapide a bolii. În prezent testăm utilitatea determinării mutației BRAF V600E în aspiratul de punctie tiroidiană. În cazul mutațiilor RET, mutații germinale, testarea este crucială pentru identificarea rudenilor afectate.

Keywords: cancer tiroidian, BRAF, RET

P23 RS1042522 AS A RISK FACTOR FOR ACUTE MYELOID LEUKEMIA

Florin Tripon ^{1,2}, George Crauciuc ^{1,2}, Adriana Cosma ¹, Alina Bogliș ^{1,2}, Smaranda Demian ^{3,4}, Erzsebet Lazar ^{4,5}, Delia Dima ⁶, Adrian Trifa ^{7,8}, Claudia Bănescu ^{1,2}

1. Discipline of Medical Genetics, University of Medicine Pharmacy, Sciences and Technology of Târgu Mureş, Romania

2. Genetics Laboratory, Center for Advanced Medical and Pharmaceutical Research (CCAMF) , University of Medicine Pharmacy, Sciences and Technology of Târgu Mureş

3. Medical Clinic I- Hematology, Districtual Emergency Hospital Târgu Mureş, Romania

4. Department M3. , Internal Medicine of University of Medicine Pharmacy, Sciences and Technology of Târgu Mureş

5. Medical Clinic III- Hematology, Transplant, Districtual Emergency Hospital Târgu Mureş, Romania

6. Hematology Department, Oncologic Institute "Prof. Dr. Ion Chiricuță" Cluj-Napoca, Romania

7. Department of Genetics Exploration, Oncologic Institute "Prof. Dr. Ion Chiricuță" din Cluj-Napoca, România

8. Discipline of Medical Genetics, University of Medicine Pharmacy "Iuliu Hațieganu" din Cluj-Napoca, România

Introduction: The single nucleotide polymorphism (SNP) of *TP53* gene, rs1042522, is one of the most studied polymorphism on cancer. Even so, the results are contradictory and the role of the mentioned SNP remain unclear. The aim of our study was to evaluate in a case-control study if the mentioned SNP represent a risk factor for acute myeloid leukemia (AML).

Material and methods: We enrolled 733 persons divided into two groups, the patients group consisting in 316 AML patients and the control group consisting in 417 healthy subjects. Specific primers and enzyme for RFLP-PCR technique were used for genotyping.

Results: In the control group the wild type genotype was found on 223 persons while in AML group on 173 patients. The heterozygous genotype was found on 156 persons from the control group, and in 93 AML patients. The distribution of the heterozygous genotypes between the groups was similar. The homozygous genotype with the variant allele was found on 38 persons from the control group, and in 50 patients from AML group. A statistical difference distribution of the variant homozygous genotype for rs1042522 was observed between the groups ($p=0.03$, OR: 1.696, CI95%: 1.064-2.704).

Conclusion: The homozygous genotype with the variant allele of rs1042522 represent a risk factor for developing AML.

Acknowledgement: This work was supported by an internal grant of the University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology of Targu Mures, Romania, no. 615/1/17.01.2019.

Keywords: rs1042522, SNP, AML

POLIMORFISMUL RS1042522 ESTE UN FACTOR DE RISC PENTRU LEUCEMIA ACUTĂ MIELOIDĂ

Introducere: Polimorfismul mononucleotidic (SNP), rs1042522, al genei *TP53*, este unul dintre cele mai studiate polimorfisme din neoplazii. Însă rezultatele studiilor sunt contradictorii iar rolul acestui

polimorfism a rămas neclarificat. Scopul acestui studiu este de a evalua printr-un studiu caz-control dacă polimorfismul menționat este un factor de risc pentru dezvoltarea leucemiei acute mieloide (LAM).

Materiale și metode: Am inclus în acest studiu un număr de 733 de persoane divizate în 2 grupuri, cel al pacienților în care am inclus 316 pacienți cu LAM și grupul control în care am inclus 417 persoane sănătoase. Pentru genotiparea acestora am folosit tehnica PCR-RFLP cu primeri și o enzimă specifică.

Rezultate: În grupul control genotipul homozigot "wild type" a fost identificat la 223 de persoane iar în grupul pacienților la 173 de pacienți. Genotipul heterozigot a fost identificat la 156 de persoane sănătoase, respectiv la 93 de pacienți. Distribuția acestui genotip între cele două grupuri a fost similară. Genotipul homozigot cu varianta alelică a fost identificat la 38 de persoane și la 50 de pacienți. Distribuția acestui genotip a fost diferită între cele două grupuri fiind semnificativ diferită din punct de vedere statistic ($p=0.03$, OR: 1.696, IC95%: 1.064-2.704).

Concluzie: Genotipul homozigot cu varianta alelică a rs1042522 reprezintă un factor de risc pentru dezvoltarea LAM.

Mulțumiri: Acest studiu a fost finanțat dintr-un grant intern al Universității de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie din Târgu Mureș, România, numărul 615/1/17.01.2019.

Cuvinte cheie: rs1042522, SNP, LAM

P24 . CYSTIC FIBROSIS MUTATION SPECTRUM IN POPULATION FROM THE NORTH-EAST OF ROMANIA

Mihaela Dănilă¹, Roxana Popescu^{2,3}, Monica Pânzaru^{2,3}, Eva Gavril¹, Cristina Rusu^{2,3}

1. Clinical Hospital of Obstetrics and Gynecology «Cuza-Vodă», Iași

2. Clinical Emergency Hospital for children «Sf. Maria» - Regional Center of Medical Genetics Iași

3. University of Medicine and Pharmacy "Grigore T. Popa" - Department of Medical Genetics Iași

Cystic fibrosis (CF) is an autosomal recessive disorder characterized by elevated sweat chloride levels and mucus secretions which cause severe damage to the lungs and the digestive system. The most common mutation is F508del, a relatively common cause of CF among Caucasians. This mutation is related to a severe clinical phenotype with a high early mortality rate. The aim of this study was to determine the CF mutation spectrum among Romanian patients from the North-East. Methods: The mutations of Cystic Fibrosis Transmembrane Conductance Regulator gene (CFTR) were detected through the amplification of target sequences, reverse-hybridization and color development using Cystic fibrosis 38 mutation kit (NLM-Italia). We analysed the clinical presentation and screened the coding region of the CFTR gene for 66 patients. Results: 41 Patients were 0-10 years old and 23 patients were 10-20 years old at the time of diagnosis with CF. The concentration of chloride in patients sweat ranged from 66 mmol/l to 133 mmol/l in 41 cases. Some patients had gastrointestinal symptoms, but most of them had pulmonary symptoms. We identified 25 heterozygous mutations (one with G542X; two with 5T and six of them F508 in combination with 1677delTA; G542X; R1158X; 621+1G>7; 3849+10kbC>T) and 8 homozygous CFTR mutations. In conclusion, early diagnosis is necessary to improve care and establish the prognosis. Our results will be useful in the development of an adequate molecular diagnostic test for CF in Romania and a right treatment for the patients.

Keywords: Cystic fibrosis, CFTR (Cystic Fibrosis Transmembrane conductance Regulator), mutations.

SPECTRUL MUTAȚIILOR FIBROZEI CHISTICE IN POPULAȚIA DIN PARTEA DE NORD-EST A ROMANIEI

Fibroza chistică (FC) este o patologie autosomal recesivă ce se caracterizează prin nivel crescut de clorură sodică cu o secreție mucos-vâscoasă ce se acumulează și afectează sever sistemul pulmonar și digestiv. Cea mai des întâlnită mutație în FC este F508del, specifică zonei Caucaziene. Această mutație este asociată cu un fenotip clinic sever, cu o rată înaltă de mortalitate precoce. Scopul acestui studiu a fost de a determina spectrul de mutații pentru pacienții cu FC din partea de Nord-Est a României. Metode: Mutată genei (*CFTR*- reglator al conductanței *transmembranare* pentru fibroza chistică) a fost detectată prin amplificarea secvenței întării, urmată de hibridizare inversă pe strip și detectare colorimetrică, utilizând kitul pentru 38 de mutații (NLM-Italia). Am analizat manifestările clinice și regiunile codante ale genei CFTR a 66 de pacienți. Rezultate: 41 pacienți aveau vârstă de la 0-10 ani în momentul diagnosticării cu FC și 23 aveau vârstă de 10-20 ani. Concentrații ridicate de clorură sodică începând cu 66 mmol/l până la 133 mmol/l au fost prezente în 41 de cazuri. Marea majoritate a pacienților aveau simptomatologie pulmonară, o parte mai mică gastrointestinală. Au fost detectate în lotul studiat 25 mutații heterozigote (una fiind G542X; două 5T; săse din acestea au fost mutații heterozigote compuse F508 în combinație cu 1677delTA; G542X; R1158X; 621+1G>7; 3849+10kbC>T) și 8 mutații homozigote. În concluzie, diagnosticul precoce este necesar pentru optimizarea tratamentului și a prognosticului. Rezultatele noastre vor fi utile pentru dezvoltarea adevărată a diagnosticului (selecția testelor moleculare de primă intenție) a FC în România și un tratament cât mai precoce pentru pacienți.

Cuvinte cheie: Fibroză chistică, CFTR, mutații.

P25 . MOLECULAR AND PHENOTYPIC ASPECTS IN A PATIENT WITH X-LINKED INTELLECTUAL DISABILITY

Adriana-Stela Cosma ¹, Alina Bogliș ^{1,2,3}, Florin Tripon ^{1,2,3}, Claudia Bănescu ^{1,2,3}

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

2. Department of Genetics, University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology of Târgu Mureş, Romania

3. Laboratory of Molecular Biology/Genetics, Center for Advanced Medical and Pharmaceutical Research, University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology of Târgu Mureş, Romania

Introduction: X-linked intellectual disability (XLID) represents a heterogeneous condition and is distinguished by different degrees of intellectual disability (ID) produced by mutations in various genes present on the X chromosome. More than 100 genes are connected with XLID. Our purpose was to identify the molecular and phenotypic characteristics in a patient with ID.

Material and Methods: We report a male patient who was referred to the Genetics Laboratory of the Clinical Emergency County Hospital, Târgu Mureş, Romania in 2018 due to a mild ID and positive family history of ID. The genomic DNA was extracted from fresh peripheral blood and DNA sample was

evaluated through Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA) analysis by using SALSA MLPA probemix P106-C1 MRX kit (MRC-Holland®, Amsterdam, Netherlands).

Results: On clinical examination, the patient presented a mild intellectual disability, facial dysmorphism, and behavioral problems. The MLPA analysis confirmed the XLID caused by a deletion in the *OPHNI* gene.

Conclusions: We highlight the value of MLPA technique, a low cost and rapid method in detection of mutations in mild ID patients and is recommended as initial screening in XLID patients. Further molecular analysis are required to confirm the diagnosis.

Acknowledgment: This work was funded by The University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology of Târgu Mureş, Research Grant number 615/6/17.01.2019.

Keywords: X-linked intellectual disability, MLPA, *OPHNI* gene

ASPECTE MOLECULARE ȘI FENOTIPICE LA UN PACIENT CU DIZABILITATE INTELECTUALĂ LEGATĂ DE CROMOZOMUL X

Introducere: Insuficiența intelectuală legată de cromozomul X (XLID) reprezintă o stare heterogenă și se distinge prin grade diferite de dizabilitate intelectuală produse de mutații în diferite gene prezente pe cromozomul X. Mai mult de 100 de gene sunt conexe la XLID. Scopul nostru a constat în identificarea caracteristicilor moleculare și fenotipice ale unui pacient cu dizabilitate intelectuală.

Material și metodă: Raportăm un pacient de sex masculin care s-a prezentat în Laboratorul de Genetică Medicală al Spitalului Clinic Județean de Urgență Târgu Mureș, România în 2018, datorită unei dizabilități intelectuale ușoare și a unor antecedente heredocolaterale pozitive pentru dizabilitate intelectuală. ADN-ul genomic a fost extras din sânge periferic proaspăt, iar proba ADN a fost evaluată prin analiză Multiplex Ligation-Dependent Probe Amplification (MLPA) prin utilizarea kitului SALSA MLPA probemix P106-C1 MRX (MRC-Holland®, Amsterdam, Netherlands).

Rezultate: La examenul clinic, pacientul a prezentat o dizabilitate intelectuală ușoară, dysmorfism facial și probleme comportamentale. Analiza MLPA a confirmat XLID provocat de o delecție în gena *OPHNI*.

Concluzii: Evidențiem valoarea tehnicii MLPA, ca fiind o metodă ieftină și rapidă în detectarea mutațiilor la pacienții cu dizabilitate intelectuală ușoară și este recomandată ca screening inițial la pacienții cu XLID. Sunt necesare analize moleculare suplimentare pentru confirmarea diagnosticului.

Mulțumiri: Această lucrare a fost finanțată de Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie din Târgu Mureș, Proiectul numărul 615/6/17.01.2019.

Cuvinte cheie: dizabilitatea intelectuală legată de cromozomul X, MLPA, gena *OPHNI*

P26 . CYTOGENETIC AND MOLECULAR DIAGNOSIS IN TWO PATIENTS WITH CHARGE SYNDROME

Alina Bogliș ^{1,2,3}, Florin Tripon ^{2,3}, Adriana-Stella Cosma ³, Beata Magdolina Balla ³,
Claudia Bănescu ^{1,2,3}

1. Medical Genetics Laboratory, Emergency County Hospital Târgu Mureş, România

2. Genetics Laboratory, Center for Advanced Medical and Pharmaceutical Research, University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology Târgu Mureş, România

3. University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology Târgu Mureş, România

Introduction: Phenotypic spectrum of CHARGE syndrome (CS) has a variable expressivity. The major causes of CS are the *de novo* mutations in the *CHD7* gene, but mutations in other genes are involved in CS and structural chromosomal anomalies respectively. We aimed to investigate the genetic mutation aspects of CS through the clinical features and genetic analyses of the patients with CS.

Material and methods: We present clinical, cytogenetic and molecular aspects of two patients with CS suspicion. The patients were investigated through conventional cytogenetic analysis (GTG-banding), array comparative genome hybridization (array CGH), multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) analysis and the sequencing of the *CHD7* gene exon 8, respectively.

Results: For case 1, the karyotype identified an interstitial deletion at the level of chromosome 13q confirmed by array CGH analysis. The karyotype in case 2 was normal, and MLPA analysis using SAL-SA MLPA P201 CHARGE probemix kit was without modifications for mutations at the level of 8q12.2. We continued with mutations analysis of the exon 8 in the *CHD7* gene through gene sequencing and was detected a novel frameshift mutation of the *CHD7* gene. The parents of both cases were investigated, but without modifications at karyotype, array CGH analysis and gene sequencing.

Conclusion: The CS was confirmed in both patients by using genetics techniques, namely karyotype, and *CHD7* gene sequencing respectively.

Keywords: MLPA; sequencing; CHARGE syndrome

Acknowledgement: This work was supported by a grant of The University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology of Târgu Mureş, CIGCS, contract no. 615/6/17.01.2019.

DIAGNOSTICUL CITOGENETIC ȘI MOLECULAR LA DOI PACIENTI CU SINDROM CHARGE

Introducere: Sindromul CHARGE (SC) prezintă un spectru larg și variabil de modificări fenotipice. Cauzele majore ale SC sunt mutațiile *de novo* în gena *CHD7*, dar sunt implicate și mutații în alte gene, respectiv anomalii structurale cromozomiale. Scopul lucrării de față a fost să investigăm aspectele mutațiilor genetice din SC prin trăsăturile fenotipice și analizele genetice la pacienții cu SC.

Material și metodă: Prezentăm aspectele clinice, citogenetice și moleculare a doi pacienți cu suspiciunea de SC. Pacienții au fost investigați folosind analiza citogenetică convențională (bandarea GTG), tehnica array de hibridizare comparativă genomică (array CGH), analiza multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA) - amplificării multiplex cu probe de înaltă specificitate a regiunii de interes, respectiv secvențierea genei *CHD7*, exonul 8.

Rezultate: Pentru cazul 1 cariotipul a evidențiat o deleție interstitială la nivelul cromozomului 13q, confirmată prin analiza array CGH. Cariotipul pentru cazul 2 a fost normal, iar analiza MLPA folosind kitul SALSA MLPA P201 CHARGE probemix pentru analiza mutațiilor de la nivelul 8q12.2 a fost fără modificări. S-a continuat cu analiza mutațiilor la nivelul genei *CHD7* prin secvențiere și a evidențiat o mutație de novo care a determinat decalarea cadrului de lectură de la nivelul genei *CHD7*. Părinții ambelor cazuri au fost investigați, fiind fără modificări la cariotip, array CGH și secvențiere.

Concluzie: SC a fost confirmat la ambii pacienți, prin utilizarea tehniciilor de genetică și anume cariotip, respectiv secvențierea genei *CHD7*.

Cuvinte cheie: MLPA; secvențiere; sindrom CHARGE.

Mulțumiri: Lucrarea este susținută de proiectul finanțat de Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie Târgu Mureș, proiect CIGCS, contract nr. 615/6/17.01.2019

P27. AXIN GENE VARIANTS IN CONGENITAL HEART DISEASE

Andrei Crauciuc ¹, Florin Tripon ¹, Cristina Blesneac ², Rodica Togănel ², Claudia Bănescu ¹

1. Genetics Laboratory, Center for Advanced Medical and Pharmaceutical Research, University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology of TîrguMureș, Romania

2. Institute of Cardiovascular Disease and Transplantation, Clinic of Pediatric Cardiology, Tîrgu Mureș, Romania

Introduction: Congenital heart disease (CHD) are the most frequent congenital anomalies diagnosed at birth. According with mechanism of embryonic development, the cause of this disease is multiple including genetic factors. AXIN1 and AXIN2 genes are a central component of WNT pathway with a major role in cardiogenesis. The aim of our study was to evaluate whether the variant of these two genes contribute to CHD susceptibility.

Material and method: Two variant (rs370681, rs2240308) in AXIN1 and AXIN2 were genotyped in 83 patients and 43 healthy subjects using predesigned TaqMan assays and 7500 Real-Time PCR System.

Results: Insignificant differences of the genotypes between groups was revealed ($p>0.05$). Distribution of rs370681 and rs2240308 were approximatively similar without association for CHD risk ($OR=0.583$; $95\%IC=0.186-1.821$; $p=0.404$ respectively $OR=1.571$; $95\%IC=0.463-5.326$; $p=0.547$). The distribution of combined variant genotypes of the mentioned variants was similar between the groups (for rs370681 G allele vs T allele and for rs2240308 G allele vs A allele), with statistically insignificant results.

Conclusions: According with our results, despite of our groups size, rs370681 and rs2240308 are not associated with CHD risk. We will continue to characterize the risk of this congenital disease and we will include new subject and gene variants in future studies.

Acknowledgement: This work was supported by Internal Research Grants of the University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology of Tîrgu Mureș, Romania, Project no. 615/4/17.01.2019.

Keywords: congenital heart disease, AXIN, gene variants.

VARIANTELE GENELOR AXIN ÎN AFECȚIUNILE CARDIACE CONGENITALE

Introducere: Malformațiile cardiace congenitale (MCC) reprezintă cea mai frecventă afecțiune congenitală diagnosticată la naștere. Având în vedere mecanismele de dezvoltare embrionară, cauzele acestor malformații pot fi multiple, inclusiv factorii genetici. Genele AXIN I și AXIN II sunt implicate în reglarea căii WNT cu rol major în cardiogeneză. Scopul studiului nostru a fost de a evalua dacă variante ale celor două gene pot fi implicate în apariția MCC.

Material și metodă: Variantele (rs370681, rs2240308) de la nivelul genelor AXIN I și AXIN II au fost genotipate pentru 83 de pacienți și 43 de subiecți sănătoși folosind sondă TaqMan specifică și sistemul PCR Real-Time 7500.

Rezultate: Diferențe semnificative în distribuția genotipurilor celor două grupuri nu au fost evidențiate ($p>0.05$). Distribuția rs370681 și rs2240308 a fost aproximativ egală între cele două loturi, fără asociere cu riscul de apariție a unei MCC (OR=0.583; 95%IC=0.186-1.821; $p=0.404$ respectiv OR=1.571; 95%IC=0.463-5.326; $p=0.547$). Distribuția genotipurilor pe variante combinate a fost similară între cele două grupuri (pentru rs370681 alela G vs alela T și pentru rs2240308 alela G vs alela A) și nesemnificativă din punct de vedere statistic.

Concluzii: Conform rezultatelor noastre și având în vedere numărul subiecților incluși în studiu, rs370681 și rs2240308 nu sunt asociate cu riscul de apariție a unei MCC. În studiile viitoare vom continua să investigăm riscul acestor afecțiuni congenitale, inclusiv noi subiecți și variante genice.

Mulțumiri: Această lucrare este susținută de granturile de cercetare internă ale Universității de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie Târgu Mureș, România, Proiect nr. 615/4/17.01.2019.

Cuvinte cheie: malformații cardiace congenitale, AXIN, varianțe genetice.

P27BIS .THE ROLE OF MS-MLPA ANALYSIS IN THE INVESTIGATION OF ABERRANT METHYLATION IN BECKWITH-WIEDEMANN SYNDROME

Beáta Balla ¹, Alina Bogliș ^{1,2}, Florin Triponeanu ^{1,2}, Claudia Bănescu ^{1,2}

1. Genetics Laboratory, Center for Advanced Medical and Pharmaceutical Research, University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology of TîrguMureș, Romania

2. Institute of Cardiovascular Disease and Transplantation, Clinic of Pediatric Cardiology, Tîrgu Mureș, Romania

Introduction: Beckwith-Wiedemann Syndrome (BWS) is an overgrowth disorder characterized by macrosomia, hemihyperplasia, macroglossia, neonatal hypoglycemia, abdominal wall defects with omphalocele, and increased risk for embryonal tumor development. BWS associates changes in specific DNA regions, called imprinting centers (ICs) on chromosome 11p15. ICs regulate the methylation of certain genes that are involved in normal growth, including IGF2, CDKN1C, KCNQ1OT1 and H19.

Aberrant methylation disrupts the regulation of the aforementioned genes, which leads to the characteristic features seen in BWS. Molecular testing confirms the clinical diagnosis in 50-70% of patients.

Material and Method: We investigated a newborn with clinical diagnosis of BWS who was referred to the Genetics Department of Emergency County Hospital in Tîrgu Mureş. Methylation-specific Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MS-MLPA) analysis was performed following DNA extraction from blood sample, using ME030-C3 BWS Probemix kit from MRC-Holland.

Results: No copy number variation (CNV) for BWS 11p15 region was revealed by molecular genetic testing, but our case presented an aberrant methylation, namely hypomethylation at *KCNQ10T1* gene localized at imprinting center IC2 or KvDMR.

Conclusion: MS-MLPA analysis proves to be highly effective in early diagnosis of BWS by providing information regarding the methylation status of the KvDMR domains in the 11p15 BWS region.

Keywords: Beckwith-Wiedemann Syndrome, MLPA, methylation

ROLUL ANALIZEI MS-MLPA ÎN INVESTIGAREA ANOMALIILOR DE METILARE ALE SINDROMULUI BECKWITH-WIEDEMANN

Introducere: Sindromul Beckwith-Wiedemann (BWS) este o tulburare de creștere excesivă caracterizată prin macrosomie, hemihiperplazie, macroglossie, hipoglicemie neonatală, defecte de perete abdominal cu omfalocel și risc crescut de a dezvolta tumori embrionare. BWS asociază schimbări în regiuni ADN specifice, numite centre de imprimare (IC) pe cromozomul 11p15. IC-urile regleză metilarea mai multor gene care sunt implicate în creșterea normală, inclusiv IGF2, CDKN1C, KCNQ10T1 și H19. Metilarea anormală perturbă reglarea acestor gene, ceea ce duce la semnele caracteristice ale BWS. Diagnosticul clinic este confirmat prin teste moleculare la 50-70% dintre pacienți.

Material și Metodă: Am investigat cazul unui nou-născut cu diagnostic clinic de BWS direcționat către Departamentul de Genetică al Spitalului Județean de Urgență din Tîrgu Mureș. Analiza Methylation-specific Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MS-MLPA) a fost efectuată după extracția ADN din probele de sânge, utilizând kitul Probemix ME030-C3 BWS de la MRC-Holland.

Rezultate: Nici o variație a numărului de copii pentru regiunea BWS 11p15 nu a fost evidențiată prin testarea genetică moleculară, dar cazul nostru a prezentat o metilare aberantă, și anume hipometilare la nivelul genei KCNQ10T1 localizată la centrul de imprimare IC2 sau KvDMR.

Concluzii: Analiza MS-MLPA se dovedește a fi extrem de eficientă în diagnosticarea precoce a BWS prin furnizarea de informații privind starea de metilare a domeniilor KvDMR în regiunea BWS 11p15.

Cuvinte cheie: Sindrom Beckwith-Wiedemann, MLPA, metilare

P28. SETTING CONTROL RULES ACCORDING TO METHOD PERFORMANCE FOR AUTOMATED HEMATOLOGY INSTRUMENTS

Oana Oprea ^{1,2}, Oana Pavelea ¹, Adina Huțanu ^{1,2,3}, Minodora Dobrea ^{1,2,3}

1. Emergency Clinical County Hospital Târgu Mureş

2. University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology Târgu Mureş, Department of Laboratory Medicine

3. Center for Advanced Medical and Pharmaceutical Research, University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology of TîrguMures, Romania

Introduction: The aim of the study was to determine the most effective rule of statistical quality control and to evaluate the performance of the method for CBC count in medical laboratories.

Materials and methods: The Six-sigma performance was evaluated for parameters that are directly measured on two different hematology instruments (Sysmex XT-1800i and Cell-Dyne Ruby) during september-november 2018 in the Emergency Laboratory of SCJU Tîrgu Mureş. The data from statistical quality control (SQC): mean, DS and CV% were obtained by running 3 levels of commercial control blood for each instrument, every 8 hours. For Bias, data from proficiency testing of group mean were obtained: 13 values for each parameter/instrument/level were used for the mean value of the laboratory. For Six-sigma the formula used was: (TEa%-Bias%)/CV% and CLIA requirements were used for TEa (Allowable Total Error).

Results: TEa values for analyzed parameters were less than CLIA requirements, for both instruments. For Sysmex XT-1800i the Sigma performance was different, depending on the control level: for the normal level, the Sigma score was >5, for high-level Sigma was between 3-7 and for low-level between 2-10, for all parameters taken into account. For Cell-Dyne Ruby, Sigma score was between 4-7 for normal level, 3-6 for high-level and 2-6 for low-level.

Conclusions: According to recommendations, the Sigma score for multiparameter instruments must consider the Sigma value for „worst performer”, in order to establish the control rules that should be applied. A multi-rule SQC with $1_{3s}/2$ of $3_{2s}/R_{4s}/3_{1s}/6x$ rules and N=6 is recommended.

This study was supported by AMLR2018 research grant.

Keywords: Six-sigma, worst performer , TEa

STABILIREA REGULILOR DE CONTROL ÎN FUNCȚIE DE PERFOMANȚĂ PENTRU INSTRUMENTELE AUTOMATE DE HEMATOLOGIE

Introducere: Scopul studiului este identificarea celei mai eficiente reguli de interpretare a controlului intern de calitate și de evaluare a performanțelor de calitate pentru hemoleucogramă în laboratoarele medicale.

Material și metodă: Analiza performanței Six-sigma a fost făcută pentru parametrii măsurați direct pe două analizoare de hematologie (Sysmex XT-1800i și Cell-Dyne Ruby) în perioada septembrie-

noiembrie 2018, în Laboratorul de Urgență SCJU Tîrgu Mureș. În acest sens au fost analizate datele obținute (media, DS și CV%) după rularea a trei nivele de sânge de control intern dedicat, la interval de 8 ore. Pentru calcularea bias-ului fost alese eșantioane de control extern de calitate cu valori atribuite apropriate de cele ale săngelui de control intern (pentru fiecare nivel în parte); s-au analizat câte 13 determinări/eșantion/echipament cu determinarea mediei și bias-ului față de media grupului. Valoarea Six-sigma a fost calculată după formula $(TEa\% - bias\%)/CV\%$, valoarea erorii totale admise fiind preluată din cerințele CLIA.

Rezultate: Valoarea TEa% pentru parametrii analizați au fost sub cerințele CLIA pentru ambele echipamente studiate. Pentru Sysmex XT-1800i performanța Six-sigma a fost diferită în funcție de nivel: scor Sigma > 5 pentru săngele de control nivel normal, între 3-7 pentru nivelul patologic crescut și între 2-10 pentru săngele de control patologic scăzut (pentru toți parametrii analizați). Pentru Cell-Dyne Ruby, scorul Sigma s-a situat între 4-7 pentru nivelul normal, între 3-6 pentru nivelul patologic crescut și între 2-6 pentru nivelul patologic scăzut.

Concluzii: Conform recomandărilor, pe analizoare multiparametrice este util scorul Six-sigma pentru "worst performer" și aplicarea regulilor multiple Westgard: $1_{3s}/2$ din $3_{2s}/R_{4s}/3_{1s}/6x$.

Sursa finanțare: grant de cercetare AMLR.

Cuvinte cheie: Six-sigma, „worst performer”, TEa

P29. THE IMPACT OF USING DIFFERENT REFERENCE RANGES FOR PT AND APTT ASSAYS

Mihaela Zaharia ¹, Elena Binzari ², Valeriu Stefan Barbu ¹, Oana Oprea ^{1,2},
Minodora Dobrea ^{1,2}

1. Emergency Clinical County Hospital Târgu Mureș

2. University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology Târgu Mureș, Department of Laboratory Medicine

Introduction: Most laboratories use reference ranges provided by the reagent producers. However, these ranges might vary with laboratory conditions and population addressing one particular laboratory. The aim of this study is to verify the manufacturer's reference interval for the population addressing our laboratory.

Methods: Specimens from 162 healthy subjects were collected between December 5th and February 12th. After centrifugation for 20 minutes at 4000 rpm, PT and aPTT tests were performed on Sysmex CS 2000i, using Siemens reagents, within 4 hours from blood collection.

Reference range was determined with the non-parametric percentile method (according to CLSI C28-A3) using GraphPad Software. No outliers were detected. All results from coagulation tests performed for surgical wards over 2 months (2545 results) were compared with both ranges.

Results: Our reference ranges (a) are: PT 9.8-13.9sec/ INR 0.74-1.2/ aPTT 19.1-31.5 sec. Manufacturer's references ranges (b) are: PT 9.8-12.1 sec/ INR 0.85-1.19/ aPTT 23-31.9 sec. 1730 PT tests were performed, out of which 1235 were within range (a) and 744 within range (b) (difference of 491). Out of the 1694 INR 1345 were within range (a) and 1213 within range (b) (difference of 132). Out of the 815 aPTT tests performed 570 were within range (a) and 456 within range (b) (difference of 114).

Conclusions: The reference range determined for our laboratory is different from the range provided by the reagent manufacturer, thus changing the number of patients with abnormal results.

Keywords: reference range, PT, aPTT

IMPACTUL FOLOSIRII DIFERITELOR INTERVALE DE REFERINȚĂ PENTRU PT SI APTT

Introducere: Majoritatea laboratoarelor folosesc intervalele de referință furnizate de producătorii de reactivi. Scopul studiului este verificarea intervalului de referință furnizat pentru populația care se adresează laboratorului.

Metodologie: Între 5/12/2018 și 12/02/2019 au fost recolțate 162 de probe de sânge de la subiecți sănătoși. În maxim 4 ore de la recoltare, probele au fost centrifugate 20 de minute la 4000 rpm și s-au efectuat testele PT/INR și aPTT pe analizorul Sysmex CS-2000i, folosind reactivi Siemens.

Intervalul de referință a fost stabilit conform indicațiilor CLSI C28-A3 cu programul GraphPad. Toate rezultatele testelor de coagulare efectuate pentru secțiile chirurgicale în aceeași perioadă (2545 rezultate) au fost comparate cu intervalul de referință furnizat de producător și cu cel stabilit în laborator.

Rezultate: Intervalele de referință determinate în laborator (a) sunt: PT 9,8-13,9sec/ INR 0,74-1,2/ aPTT 19,1-31,5sec. Intervalele de referință ale producătorului (b) sunt: PT 9,8-12,1 sec/ INR 0,85-1,19/ aPTT 23-31,9 sec. S-au efectuat: 1730 de teste PT din care 1235 se încadrează în intervalul a, iar 744 de teste în intervalul b (diferență de 491); 1694 de teste INR din care 1345 se încadrează în intervalul a (diferență de 132), iar 1213 în intervalul b; 815 teste aPTT din care 570 se încadrează în intervalul a, iar 456 în intervalul b (diferență de 114).

Concluzii: Intervalul de referință determinat în laborator este diferit de cel furnizat de producător. Încadrarea pacienților în intervalul de referință al laboratorului modifică numărul pacienților clasificați în afara intervalului de referință.

Cuvinte cheie: interval de referință, PT, aPTT

P30 . HLA MISMATCHES AND IMMUNOSUPPRESSION MONITORING IN LIVER TRANSPLANTATION - A ONE CENTER EXPERIENCE

E Zaharia¹, C Irimia¹, C Cenușa¹, A Florea¹, S Miron¹, E Anisie¹, I Sandulescu¹, C Cianga^{1,2}, D Constantinescu^{1,2}, C Lupascu^{3,4}, I Garleanu^{5,6}, P Cianga^{1,2}

1. Imunology Laboratory , Clinical County Hospital “Sf. Spiridon”, Iași, România

2. Discipline of Imunology, University of Medicine and Pharmacy “Grigore T. Popa”, Iași, România

3. Surgery Clinic I, Clinical County Hospital “Sf. Spiridon”, Iași, România

4. Discipline of General Surgery, University of Medicine and Pharmacy “Grigore T. Popa”, Iași, România

5. Discipline of Internal Medicine, University of Medicine and Pharmacy “Grigore T. Popa”, Iași, România

6. Gastroenterology and Hepatology Institute, Iași, Romania

Introduction: Even though Human Leucocyte Antigen (HLA) matching is considered of secondary importance in liver transplantation and data literature shows that HLA mismatches have a minimum

impact in terms of graft survival, T cell mediated rejection is a rather common feature. Furthermore, the occurrence of *de novo* Donor Specific Antibodies seems to be rather associated with insufficient immunosuppressive regimens or immunosuppression withdrawal. The HLA mismatches can impact upon the early T cell mediated rejection, but it can also activate anti-tumor mechanisms.

Materials and Methods: Nine patients who underwent liver transplantation in the “St. Spiridon” Clinical Hospital Iasi and their corresponding cadaveric donors were included in this study. For most of them we have performed the HLA-A, B and DRB1 low resolution genotyping by the HLA-SSP technique. The preferred immunosuppressive drug was Tacrolimus and tacrolinemia was monitored on a daily basis by chemiluminescence, using the Architect platform.

Results: The HLA typing was performed for eight of the nine patients. For five of these pairs, no HLA match could be identified. One pair displayed a HLA-A in common, one pair a HLA-DRB1 and one pair shared a HLA-B and a HLA-DRB1. The tacrolinemia was monitored for a median of 12 months post-transplantation and data showed no direct correlation between the HLA-mismatches and the intensity of the immunosuppressive therapy.

Conclusions: These preliminary data are part of the immunosuppressed patients long term monitoring.

Keywords: HLA typing, liver transplant, tacrolinemia

NEPOTRIVIREA ALELELOR HLA ȘI MONITORIZAREA IMUNOSUPRESIEI ÎN TRANSPLANTUL HEPATIC – STUDIU UNICENTRIC

Introducere: Deși tiparea Human Leucocyte Antigen (HLA) este considerată ca având o importanță secundară în transplantul hepatic, iar literatura de specialitate arată că nepotrivirile HLA au un impact minim în ceea ce privește supraviețuirea grefei, rejetul mediat de celula T este o caracteristică destul de comună. În plus, apariția *de novo* a anticorpilor specifici anti-donatori pare a fi mai degrabă asociată cu doze insuficiente de imunosupresoare sau cu sistarea imunosupresiei. Anomaliiile HLA pot avea un impact asupra rejetului precoce mediat de celulele T, dar pot, de asemenea, să activeze mecanismele anti-tumorale.

Material și metodă: Nouă pacienți care au fost supuși transplantului hepatic la Sp. «Sf. Spiridon» Iași și donatorii cadaverici corespunzători au fost inclusi în acest studiu. Pentru majoritatea dintre aceștia am realizat genotiparea cu rezoluție mică HLA-A, B și DRB1 prin tehnica HLA-SSP. Medicamentul imunosupresor preferat a fost tacrolimus, iar tacrolinemia a fost monitorizată zilnic prin chemiluminescență, folosind platforma Architect.

Rezultate: Tiparea HLA a fost efectuată pentru opt dintre cei nouă pacienți. Pentru cinci dintre aceste perechi, nu a putut fi identificat niciun match HLA. O pereche a avut un HLA-A în comun, o pereche un HLA-DRB1 și o pereche un HLA-B și un HLA-DRB1. Tacrolinemia a fost monitorizată pentru un număr mediu de 12 luni post-transplant și datele nu au arătat nicio corelație directă între nepotrivirile HLA și dozele terapiei imunosupresoare.

Concluzii: Aceste date preliminare fac parte din monitorizarea pe termen lung a pacienților imunosuprazați.

Cuvinte cheie: tipare HLA, transplant hepatic, tacrolinemie

P31 RESULTS OF SEMEN ANALYSIS IN OUTPATIENTS

Oana Roxana Oprea, Lucian Răzvan Coșeriу

S.C. ULTRATEST S.R.L. Târgu Mureş

Introduction: Male infertility is responsible for 50% of the total of couple infertility but in most cases semen analysis is performed after female infertility causes are ruled out.

Matherials and methods. 109 semen analysis were performed between 2014-2018. Semen analysis consists of total sperm count, pH, semen volume and viscosity, presence of agglutinated spermatozoa, leucocyte count, and mobility (4 types of movement: rapid-progressive, low-progressive, non-progressive and imobile) after 1 hour from sampling. Viability is determined by safranine-dye. Two Dia-Fix Panoptic smears are evaluated for morphology according to WHO laboratory manual. Spermatozoa are categorized in: typical/atypical forms; atypical forms are categorized according to head, intermediary piece and tail form.

Results: According to age groups, 67% of patients were 31-40 years old, 20% were 18-30 old and 13% were over 40 years. Of them, only 23% had normozoospermia. Some patients had only one abnormality: 11% azoospermia, 26% teratozoospermia, 10% astenozoospermia, 9% oligozoospermia, while 21% of them had astenoteratozoospermia; 55% had >1 mil/ml leucocytes, and 51% frequent bacteria. Viability was $<75\%$ in 19% of cases, 44% had low mobility, while 77% had atypical morphology - head anomalies most frequent microcephalia; agglutinated spermatozoa were present in 10%.

Conclusions: When comparing results with WHO references intervals, 4/10 men have low sperm count, 1/10 men have azoospermia, 8/10 men have atypical morphology, and 5/10 low mobility. Considering that semen analysis is a non-invasive test, it should be performed in the early stages of diagnosis of couples infertility.

Keywords: normozoospermia, teratozoospermia, semen analysis

REZULTATELE SPERMOGRAMEI ÎN AMBULATORIU

Introducere: În cazul infertilității de cuplu în 50% dintre cazuri infertilitatea se datorează partenerului masculin, dar spermograma este adesea efectuată după ce toate cauzele infertilității feminine au fost excluse.

Material și metodă: În perioada 2014-2018 au fost analizate 109 de spermograme. La analiză au fost luate în considerare: numărul de spermatozoizi, pH-ul, vâscozitatea, volumul, prezența spermatozoilor aglutinați, numărul de leucocite și mobilitatea la 1h de la recoltare. Pentru evaluarea mobilității se analizează 4 categorii de mișcări: tipul A-rapid progresivi, tipul B-lent progresivi, tipul C-mobili dar neprogresivi și tipul D-imobili, în timp ce viabilitatea a fost evaluată cu safranină. Pentru morfologie s-au evaluat două frotiuri colorate cu Dia-Fix Panoptic Quick. Spermatozoizii au fost clasificați în tipici/ atipici în funcție de forma capului, piesei intermediare și cozii.

Rezultate: Marea majoritate a pacienților aveau între 31-40 ani. Doar 23% prezintau normozoospermie, o parte prezintau o singură modificare: 11% azoospermie, 26% teratozoospermie, 10% astenozoospermie, 9% oligozoospermie iar 21% multiple modificări (astenoteratozoospermie). Peste 55% au avut > 1 mil leucocite/ml, 51% frecvențe bacterii iar în 19% din cazuri viabilitatea a fost $<75\%$. Mobilitate scăzută (tip A+B<50%) au prezentat 44% dintre pacienți, 77% prezintau morfologie atipică, cele mai frecvențe fiind anomaliiile de cap (microcefalie), iar 10% au fost prezente spermatozoizi aglutinați.

Concluzii: Comparând rezultatele cu cele stabilite de OMS, 4/10 bărbați prezenta oligozoospermie, 1/10 prezenta azoospermie, 8/10 aveau morfologie atipică și 5/10 oligozoospermie. Având în vedere că spermograma este o investigație non-invazivă aceasta ar trebui efectuată în primele etape de diagnostic a infertilității de cuplu.

Cuvinte cheie: normozoospermie, teratozoospermie, spermogramă

P32 IMPEDIMETRIC BIOSENSOR FOR RAPID CD3+, CD4+, CD8+ T LYMPHOCYTES SUBPOPULATIONS COUNT

Hortensia Clara Rădulescu ¹, Carmen-Marinela Mihăilescu ¹, Dana Stan ¹, Marioara Avram ², Tiberiu Burinaru ², Diana Stan ¹, Vasilica Șchiopu ²

1. DDS Diagnostic, București

2. Național Institute for Research and Development în Microtehnology (IMT), București

Introduction: The CD3+, CD4+ and CD8+ T-cells counts reflect the status of the immune system in HIV, opportunistic infections, antitumor immunity and immune-related pathologies. In this work a functionalization methodology was applied for the electrochemical detection of CD3+, CD4+, CD8+ T-cells following optimisation of the antigen-antibody reaction at the surface of an impedimetric biosensor. Sensorial detection function was validated using real blood samples.

Materials and method: The active biosurface of the sensor was obtained through capturing the antibodies anti-CD3+, anti-CD4+, anti-CD8+ in a mixt matrix of 11-mercaptopoundecanoic acid and 3-mercapto-1-propanol. For accurate quantification, calibration curves were obtained using appropriate ranges of concentrations of the antigen. The lymphocytes from the blood samples used for validation were separated with Histopaque 1077 (Sigma-Aldrich). The next step was the quantification of the CD3+, CD4+ and CD8+ subpopulations on the bioactive area of the sensor by measuring the resistance of the electrode surface (Rct). All functionalisation steps of the biosensor were characterised by cyclic voltammetry and electrochemical impedance spectroscopy.

Results: The biosurfaces with captured antibodies presented the resistance of the electrode surface (Rct) of $50.16 \pm 5\text{k}\Omega$ for anti-CD4+ and anti-CD3+ and $*\text{Rct}$ of $10,40 \text{k}\Omega \pm 0,10\text{k}\Omega$ for anti-CD8+ with a coefficient of variation less than 15% for 10 biosensors tested, proving a good repeatability for the detection method.

Conclusions: The electrochemical detection of CD3+, CD4+ and CD8+ lymphocytes subpopulations has good analytic performances for the sensitivity and the limit of detection. Our work proved the efficiency and viability of such impedimetric biosensor technology for the rapid screening of the lymphocyte count.

Keywords: impedimetric biosensor, T-cell lymphocytes subpopulations, electrochemical impedance spectroscopy

Acknowledgments: This work was developed in the frame of a research grant, project number PN-III-P2-2.1- 46PTE/2016 (BIOLIMF), partially financed by UEFISCDI and co-financed by DDS Diagnostic.

BIOSENZOR IMPEDIMETRIC PENTRU NUMĂRAREA RAPIDĂ A SUBPOPULAȚIILOR LIMFOCITARE T CD3+, CD4+, CD8+

Introducere: Cuantificarea celulelor T CD3+, CD4+, CD8+ reflectă statusul sistemului imunitar în HIV, infecții oportuniste, imunitatea antitumorală și alte-afecțiuni cu componentă imună. În această lucrare s-a aplicat o metodologie de funcționalizare pentru detecția electrochimică a celulelor T CD3+, CD4+, CD8+, urmată de optimizarea la nivelul biosuprafeței senzorului impedimetric a reacției imune de recunoaștere antigen-anticorp. Funcția de detecție a biosenzorului a fost validată cu probe reale de sânge.

Materiale și metode: Biosuprafața activă a senzorului a fost obținută prin captarea anticorpilor anti-CD3+, anti-CD4+ și anti CD8+ într-o matrice mixtă de acid 11-mercaptopoundecanoic și 3-mercapto-1-propanol. Pentru cuantificarea cu precizie s-au obținut curbe de calibrare folosind intervale de concentrații specifice fiecărui antigen. Limfocitele din probele de sânge folosite pentru validare au fost separate cu Histopaque 1077 (Sigma-Aldrich). A urmat determinarea cantitativă a subpopulațiilor CD3+, CD4+, CD8+ pe aria bioactivă a senzorului prin măsurarea rezistenței la suprafața electrodului (Rct). Toate etapele de funcționalizare au fost caracterizate prin voltametrie ciclică și spectroscopie de impedanță electrochimică.

Rezultate: Biosuprafețele cu anticorpi imobilizați au prezentat o rezistență la suprafața electrodului (Rct) de $50.16 \pm 5 \text{ k}\Omega$ pentru anti-CD4+ și anti-CD3+ și $*\text{Rct}$ de $10,40 \text{ k}\Omega \pm 0,10 \text{ k}\Omega$ pentru anti-CD8+ cu un coeficient de variație mai mic de 15% pentru 10 biosenzori testați, demonstrând o bună repetabilitate a metodei de detecție.

Concluzii: Detecția electrochimică a subpopulațiilor T limfocitare CD3+, CD4+, CD8+ a prezentat performanțe analitice ridicate privind sensibilitatea și limita de detecție. Această lucrare a demonstrat eficiența și viabilitatea tehnologiei cu senzori impedimetrici pentru screening-ul rapid al subpopulațiilor limfocitare.

Cuvinte cheie: biosenzor impedimetric, subpopulații limfocitare T, spectroscopie de impedanță electrochimică

Mulțumiri: Această lucrare a fost realizată în cadrul proiectului PN-III-P2-2.1-46PTE/2016 (BIOLIMF), finanțat de UEFISCDI și cofinanțat de DDS Diagnostic.

POSTER SESSION 4 HEMATOLOGY

P33. STUDY REGARDING ERYTHROPOIETIN AND LABORATORY PARAMETERS IN MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASMS AND CHRONIC RENAL FAILURE

Raluca Răucescu ², Andra Rusea ², Alexandru Radu ², Petre Buciu ², Adina Ghiță ², Codruța Popa ^{1,2}

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

2. Center of Hematology and Bone Marrow Transplantation, Fundeni Clinical Institute, Bucharest, Romania.

Introduction: Erythropoietin (EPO) is a hormone mainly produced by the kidney tissue. As a response to low renal oxygen availability, erythropoietin stimulates the proliferation and differentiation of erythroid progenitor cells in the bone marrow.

The objective of our study is to identify some correlations, at the time of diagnostic, between erythropoietin, ferritin and other laboratory parameters in myeloproliferative neoplasms(MPN) and chronic renal failure(CRF).

Methods: We retrospectively evaluated 41 patients who were diagnosed with MPN or CRF from January 2017 to December 2018. We determined the following parameters with hematologic automatic analyzers: hematocrit, hemoglobin, erythrocytes, leukocytes, platelets, mean corpuscular volume(MCV). Ferritin levels were measured using a chemiluminescent immunoenzymatic assay while total bilirubin and lactate dehydrogenase(LDH) were determined using spectrometry. Serum erythropoietin levels were measured using enzyme linked immunoassay(ELISA) test and the reference value is 3.3-16 UI/L. The statistical analysis was performed using "R".

Results: In this study we have 32 patients with MPN and 9 patients with CRF. After the statistical analyze we observed that median age in MPN is 66 years with a distribution M:F=3:6 and in CRF is 79 years with a distribution M:F=19:13. In both diseases we found a positive correlation between serum erythropoietin and ferritin levels($r=0.66$, $p>0.05$). There are also positive correlations between serum erythropoietin and LDH levels($r=0.54$, $p>0.05$) and between serum erythropoietin and MCV($r=0.38$, $p>0.05$). A strong statistical correlation between low platelet count and high ferritin levels is revealed ($r=-0.41$, $p=0.004$). Serum erythropoietin and ferritin levels are higher in female patients with CRF.

Conclusions: Chronic inflammation found in patients with MPN and CRF alters some biological parameters and leads to strong correlations between serum erythropoietin and ferritin levels. A low platelet count is associated with increased ferritin levels and should lead to further investigations of the patient's renal function.

Keywords: erythropoietin, myeloproliferative neoplasms, chronic renal failure, ferritin

STUDIU PRIVIND CORELAȚIA DINTRE ERITROPOIETINĂ ȘI PARAMETRII DE LABORATOR ÎN BOLILE MIELOPROLIFERATIVE ȘI ÎN BOALA RENALĂ CRONICĂ

Introducere: Eritropoietina este un hormon secretat în special la nivel renal. Ca răspuns la disponibilitatea scăzută a oxigenului la nivel renal, eritropoietina stimulează proliferarea și diferențierea celulelor progenitoare eritroide din măduva osoasă.

Scopul studiului nostru este de a identifica anumite corelații, la momentul punerii diagnosticului, între eritropoietină, feritină și alți parametri de laborator în cadrul bolilor mieloproliferative cronice (BMP) și bolii cronice renale (BCR).

Metode: Am analizat retrospectiv 41 de pacienți diagnosticați cu BMP sau BCR între lunile ianuarie 2017 și decembrie 2018. Cu analizorul automat de hematologie au fost identificati următorii parametri: hematocrit, hemoglobină, eritrocite, leucocite, trombocite și volumul celular mediu. Nivelul de feritină a fost determinant folosind o metodă imunoenzimatică prin chemiluminescentă, iar bilirubina totală și lactat dehidrogenaza au fost dozate spectrofotometric. Eritropoietina serică a fost determinată prin metoda ELISA cantitativă, valorile de referință fiind cuprinse între 3.3 și 16 UI/L. Analiza statistică a fost realizată cu ajutorul programului „R”.

Rezultate: În acest studiu avem 32 de pacienți diagnosticați cu BMP și 9 pacienți diagnosticați cu BCR. În urma analizei statistice am observat că vârsta medie a pacienților cu BMP este de 66 de ani cu raportul B:F=3:6, iar a celor cu BCR este de 79 de ani cu un raport B:F=19:13. În ambele patologii am identificat corelații pozitive între nivelurile serice de eritropoietină și feritină ($r=0.66$, $p>0.05$). De asemenea există corelații pozitive între nivelurile serice de eritropoietină și LDH ($r=0.54$, $p>0.05$) și între nivelurile serice de eritropoietină și valoarea MCV ($r=0.38$, $p>0.05$). O valoare scăzută a numărului de trombocite se corelează semnificativ statistic cu valori crescute ale feritinei ($r=-0.41$, $p=0.004$). Nivelurile serice ale eritropoietinei și feritinei sunt mai ridicate la pacientele cu BCR.

Concluzii: Inflamația cronică prezentă atât în BMP, cât și în BCR modifică anumite constante biologice și determină existența corelațiilor pozitive puternice între nivelurile serice de eritropoietină și feritină. Un număr scăzut de trombocite asociat cu un nivel crescut de feritină ar trebui să conducă la investigații suplimentare ale funcției renale a pacientului.

Cuvinte cheie: eritropoietină, BMP, BCR, feritină

P 34 CLINICAL IMPACT OF THROMBOCYTOPENIA

Claudia Cristina Tărniceriu¹, Minela Aida Mărănducă¹, Raluca Jipu¹, Carmen Delianu¹,
Irina Grădinaru², Loredana Liliana Hurjui¹

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

2. Faculty of Dental Medicine, University of Medicine and Pharmacy «Grigore T. Popa», Iași

Introduction: Thrombocytopenia is one of the most common reasons for addressability to the hematologist. Causes of thrombocytopenia may be of central nature (medullary aplasia, dysmielopoiesis, toxicity, marrow infiltration, constitutional) and peripheral (excess destruction, consumption and distribution disorder). Thrombocytopenia is defined as the platelet count below 150.000 / mmc being

diagnosed on the basis of the blood count and the peripheral blood smear. The purpose of the study is to establish a correlation between the degree of thrombocytopenia and the occurrence of cutaneous mucosal hemorrhage syndrome.

Materials and Methods: Our study was conducted on a group of 200 patients who were enrolled in the Clinic of Hematology of St. Spiridon Hospital, Iasi who had thrombocytopenia. A coagulopathy was excluded, the coagulation profile being normal. Vasculopathies are suspected based on clinical appearance and when the platelet count and coagulation profile are normal. Five degrees of thrombocytopenia were established: Grade I ($TR = 150000-100000/\text{mmc}$), Grade II ($TR = 100000-50000/\text{mmc}$), Grade III ($TR = 50000-20000/\text{mmc}$), Grade IV ($TR = 20000-10000/\text{mmc}$), Grade V ($TR < 10000/\text{mmc}$). Statistical methods were used : F-Test-Two sample for Variances.

Results: 40% of patients enrolled in the study had thrombocytopenia Grade I, 24% - Grade II, 15% - Grade III, 6% - Grade IV and 15% had a severe thrombocytopenia (Grade V). There is a statistical correlation between the number of platelets and the occurrence of hemorrhage syndrome: $p = 0.000121$ ($p < 0.001$). The first clinical manifestations of haemorrhage syndrome occurred at a value of $70000/\text{mmc}$. There was no statistical correlation between patients' age and platelet count ($p = 0.0352$).

Conclusions: Not all thrombocytopenia is manifested by cutaneous mucosal haemorrhage syndrome. The occurrence of this haemorrhage syndrome is directly related to the decrease in platelet count.

Keywords: platelets, hemorrhage syndrome.

IMPACTUL CLINIC AL TROMBOCITOPENIEI

Introducere: Trombocitopenia reprezintă unul dintre motivele cele mai frecvente de adresabilitate la hematolog. Cauzele trombocitopeniilor pot fi de natură centrală (aplazia medulară, dismielopoieza, toxice, infiltrarea măduvei, constituționale) și periferică (exces de distrugere, consum și tulburare de repartiție). Trombocitopenia este definită ca fiind valoarea trombocitelor sub $150.000/\text{mmc}$ fiind diagnosticată pe baza hemoleucogramei și a frotiului de sânge periferic. Scopul studiului este stabilirea unei corelații între gradul trombocitopeniei și apariția sindromului hemoragipar cutaneo-mucos.

Material și metode: Studiul nostru s-a realizat pe un lot de 200 de pacienți din Sp. Sf. Spiridon- Hematologie, Iași care au prezentat trombocitopenie. A fost exclusă o coagulopatie, profilul de coagulare fiind normal. Vasculopatiile sunt suspectate pe baza aspectului clinic și când numărul de trombocite și profilul de coagulare sunt normale. Au fost stabilite 5 grade de trombocitopenie : gradul I ($TR = 150.000-100.000/\text{mmc}$), gradul II ($TR = 100.000-50.000/\text{mmc}$), gradul III ($TR=50.000-20.000/\text{mmc}$), gradul IV ($TR = 20.000-10.000/\text{mmc}$), gradul V ($TR < 10.000/\text{mmc}$). Au fost utilizate metode statistice- F Test-Two sample for Variances.

Rezultate: 40% au prezentat trombocitopenie gr. I, 24%- gradul II, 15% -gradul III, 6%- gradul IV iar 15% - trombocitopenie severă (gradul V). Există corelație statistică între numărul de trombocite și apariția sindromului hemoragipar cutaneo-mucos: $p=0.000121$ ($p<0.001$). Primele manifestări clinice au apărut la valoarea de $70.000/\text{mmc}$. Nu s-a obținut corelație statistică între vîrstă pacienților și trombocitopenie ($p=0.0352$).

Concluzii: Nu orice trombocitopenie se manifestă prin sindrom hemoragipar cutaneo- mucos. Apariția acestuia este în relație directă cu scăderea numărului de trombocite.

Cuvinte cheie: trombocite, sindrom hemoragipar.

P 35 THE EVOLUTION AND PROGNOSIS OF PATIENTS DIAGNOSED WITH LOW RISK MIELODYSPLASTIC SYNDROME WITH DEL (5Q)

Cristina Potre¹, Ema Borșă¹, Monica Pescaru^{1,2}, Miruna Samfireag¹, Ovidiu Potre¹

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

2. Hematology Department, Värnamo Hospital, Sweden

Background: Low-risk and intermediary-risk myelodysplastic syndromes (MDS) with del (5q) are considered to have a good prognosis in what concerns transformation to acute myeloblastic leukemia (AML). According to the International Prognosis Score (IPSS) and recently the Revised International Prognosis Score (IPSS-R), MDS are grouped in: low-risk MDS (very low risk, low risk and intermediary risk) and high-risk MDS (high and very high risk). One of the major complications of low-risk MDS are cytopenias which have a strong impact on both the quality of life and prognosis.

Methods: In this retrospective study were included 48 patients diagnosed with low-risk MDS (very low, low and intermediary) according to IPSS and IPSS-R and del (5q) from January 2013 to December 2018.

Results: Mean age was 68 years. Male to female ratio was 2:1. From the total of 48 patients analyzed, 7 (14,6%) were diagnosed with very low risk, 16 (33,3%) with low risk and 25 (52,1%) with intermediary risk. Mean overall survival was 4,3 years in very low risk patients, 4,1 years in low risk patients and 3,2 years in intermediary risk patients. The majority (84%) of the patients diagnosed with intermediary risk MDS became transfusion dependent while in the case of very low and low risk MDS patients just 26,08% needed transfusions. 29,91% of the patients received erythropoietin treatment, with favorable response. Moderate thrombocytopenia was present on 32% of the intermediary risk patients and in 18,5% from those with low risk. 37,5% of the patients died mainly due to infectious complications and severe anemia. Transformation to AML was present in 4,16% of patients.

Conclusion: This study revealed that del (5q) does not have a negative impact on the prognosis and survival of patients diagnosed with low risk MDS. Patients diagnosed with intermediary risk MDS and del (5q) have a higher predilection to developing transfusion dependent anemia.

Keywords: myelodysplastic syndrome, del (5q).

EVOLUȚIA ȘI PROGNOSTICUL PACENȚILOR CU SINDROM MIELODISPLAZIC CU RISC SCĂZUT CU DEL (5Q)

Introducere: Sindroamele mielodisplazice (SMD) cu risc scăzut și intermediu cu prezența del (5q) sunt considerate a avea un prognostic bun în ceea ce privește transformarea în leucemie acută mieloblastică (LAM). Conform Scorului Internațional de Prognostic (IPSS) și recent Scorului Internațional de Prognostic Revizuit (IPSS-R), SMD se grupează în: SMD cu risc scăzut (foarte scăzut, scăzut și intermediu) și SMD cu risc înalt (înalt și foarte înalt). Una dintre complicațiile majore ale SMD cu risc scăzut sunt citopeniile care au un impact puternic atât asupra calității vieții cât și a prognosticului.

Metode: În acest studiu retrospectiv au fost înrolați 48 pacienți diagnosticați cu SMD cu risc scăzut (foarte scăzut, scăzut și intermediu) conform IPSS și IPSS-R și del (5q) din ianuarie 2013 până în decembrie 2018.

Rezultate: Media de vârstă a fost de 68 ani. Proportia între bărbați și femei a fost de 2 :1. Din totalul de 48 pacienți analizați, 7 (14,6%) au fost încadrați în risc foarte scăzut, 16 (33,3%) în risc scăzut și 25 (52,1%) în risc intermediar. Supraviețuirea medie a fost de 4,3 ani în cazul pacienților cu risc foarte scăzut, 4,1 ani în cazul celor cu risc scăzut și 3,2 ani în cazul pacienților cu risc intermediar. Majoritatea (84%) dintre pacienții diagnosticați cu SMD risc intermediar au devenit dependenți de transfuzii în timp ce în cazul celor cu SMD risc foarte scăzut și scăzut doar 26,08% au necesitat transfuzii. 29,91% dintre pacienți au urmat doar tratament cu eritropoetină, cu răspuns favorabil. Trombocitopenia moderată a survenit la 32% dintre pacienții cu risc intermediar și la 18,5% dintre cei cu risc scăzut. Decesul a survenit la 37,5% dintre pacienți iar acesta s-a datorat în principal complicațiilor infecțioase și anemiei severe. Transformarea în LAM a survenit la 4,16% dintre pacienți.

Concluzii: Acest studiu a arătat că prezența del (5q) nu are un impact negativ asupra prognosticului și supraviețuirii în SMD cu risc scăzut. Pacienții cu SMD cu risc intermediar și del (5q) au o predispoziție mai crescută spre a dezvolta anemie dependentă de transfuzii.

Cuvinte cheie: Sindrom mielodisplazic, del (5q).

P 36 THE IMPACT OF MUTATIONS IN PATIENTS DIAGNOSED WITH MYELOFIBROSIS SECONDARY TO POLICYTEMIA VERA OR ESSENTIAL THROMBOCYTEMIA

Ovidiu Potre¹, Ema Borșă¹, Monica Pescaru^{1,2}, Miruna Samfireag¹, Cristina Potre¹

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

2. Hematology Department, Värnamo Hospital, Sweden

Background: Myelofibrosis (MF) is a Ph- chronic myeloproliferative neoplasm (MPN) which can be either idiopathic or secondary to polycytemia vera (PV) or essential thrombocytemia (ET). Usually secondary MF has a quick evolution with an increased transformation rate. The presence or the absence of gene mutations play a key role in the prognosis of this disease. The aim of this study was to evaluate the role of mutations on secondary myelofibrosis' prognosis.

Methods: This is a retrospective study on 42 patients diagnosed with PV or ET who developed secondary MF. The study was realized between January 2014-December 2018.

Results: The median age was 61 years. The male to female ratio was 3:1. From the total of 42 patients, 69,04% were diagnosed with PV and 30,96% with TE. A mutation in JAK₂V617F gene was present in 38,09% of the patients. In 30,95% of the patients was identified a mutation in CALR gene and in 11,90% a mutation in MPL gene. In 19,04% no gene mutation was identified, these patients being called triple negative. Triple negative patients had the most increased blast transformation rate (71,43%) followed by those with mutation in JAK₂V617F gene (48,27%).

Conclusion: This study reveals the role of genetics in the prognosis of the secondary MF. Triple negative patients, diagnosed with MF secondary to either PV or ET had a higher incidence of blasts transformation being followed by those with mutation in the JAK₂V617F gene.

Keywords: myelofibrosis, JAK₂V617F.

IMPACTUL MUTAȚIILOR LA PACIENTII DIAGNOSTICAȚI CU MIELOFIBROZA SECUNDARĂ POLICITEMIEI VERA SAU TROMBOCITEMIEI ESENȚIALE

Introducere: Mielofibroza (MF) este un neoplasm mieloproliferativ cronic (MPN) Ph- care poate surveni atât primar cât și secundar policitemiei vera (PV) sau trombocitopeniei esențiale (TE). MF secundară are în general o evoluție rapidă cu o rată de transformare crescută. Un rol important în prognosticul acestei boli îl are prezența sau absența mutațiilor genice. Obiectivul acestui studiu a fost de a evalua rolul mutațiilor în prognosticul mielofibrozei secundare.

Metode: Acesta este un studiu retrospectiv pe un lot de 42 pacienți diagnosticați cu PV sau TE care au dezvoltat secundar MF. Studiul a fost realizat în perioada ianuarie 2014- decembrie 2018.

Rezultate: Media de vîrstă a fost de 61 ani. Proporția între bărbați și femei a fost de 3:1. Din totalul de 42 pacienți, 69,04% au fost diagnosticați cu PV și 30,96% cu TE. Mutată în gena JAK₂V617F a fost prezentă la 38,09% dintre pacienți. La 30,95% dintre pacienți a fost identificată mutația în gena CALR și la 11,90% în gena MPL. În 19,04% din cazuri nu a fost identificată nici o mutație, aceștia fiind denumiți triplu-negativi. Rata cea mai crescută de transformare blastică a fost identificată la pacienții triplu negativi (71,43%) fiind urmată de cei cu mutația în gena JAK₂V617F(48,27%).

Concluzii: Acest studiu relevă rolul analizei genetice în prognosticul MF secundare. Pacienții triplu negativi, cu MF secundară atât PV cât și TE au avut o incidență crescută de transformare blastică fiind urmați de cei la care s-a identificat mutație în gena JAK₂V617F.

Cuvinte cheie: mielofibroză, JAK₂V617F.

P37 ASSESSMENT THE EFFECTIVENESS OF TRANSFUSION THERAPY IN PATIENTS WITH CHRONIC KIDNEY DISEASE AND SEVERE ANAEMIA

Mihaela Botnarciuc^{1,2}, Ali Sevigean², Lavinia Carmen Daba^{1,2}, Liliana Ana Tuță^{1,2}

1. «Ovidius» University Constanta

2. Emergency County Hospital «Sf. Apostol Andrei» Constanta

Anemia is a severe complication of chronic kidney disease (CKD) and often gets worse as CKD progresses. The benefits of red cell transfusions are in rapid correction of anemia in acute clinical conditions. In chronic anemia transfusion may outweigh the risks in patients whom ESA therapy is ineffective or with risk.

The work suggests assessing the effectiveness of transfusion therapy in these patients as well as establishing the degree of alloimmunisation in polytransfused ones. Backed RBC transfusion is indicated when Hb levels drop under 7 g/dl .

During 2018 , were transfused with packed red blood cells a number of 302 patients in the Nephrology ward, with the diagnosis of chronic renal disease and severe secondary anemia. Among them, a number of 53 patients were acute conditions and had Hb levels between 5,6 and 7 g/dl .

Of the total of 302 transfused patients, 174 were polytransfused, receiving between 2 and 6 transfusions at a single admission, in order to ensure anemia correction . The final Hb (post-transfusion) was over 9 g/dl and was maintained at least 21 days . There were not registered adverse reactions .

The determination of the Rh phenotype and the administration of the ABO isogroup and isophenotype was aimed to reduce the degree of immunisation and the efficiency of transfusions. Indirect Antibody Test, performed by LISS/Coombs and Enzyme card , detected IgG against Rh , Kell , Kidd and other antigens .

3. Corection of severe anemia in CKD patients is mandatory for the control of severe cardiovascular acute events, as well as the reduced degree of immunization is very important for the patients on the waiting list for kidney transplantation .

Keywords: transfusion, anaemia, chronic kidney disease

EVALUAREA EFICIENTEI TERAPIEI TRANSFUZIONALE LA PACIENTII CU BOALĂ CRONICĂ DE RINICHI ȘI ANEMIE SEVERĂ (P)

Anemia este o complicație severă a bolii cronice renale (BCR) și de multe ori se agravează pe măsură ce BCR progresează. Beneficiile transfuziei de concentrat eritrocitar sunt reprezentate în special de corectarea rapidă a anemiei în condiții clinice acute. În anemia cronică transfuzia este recomandată atunci când beneficiile pot depăși riscurile la pacienții care terapia cu eritropoietină este ineficientă sau comportă riscuri deosebite.

Lucrarea își propune evaluarea eficienței terapiei transfuzionale la pacienții cu BCR precum și stabilirea gradului de alloimunizare la politransfuzati. Hemoglobina mai mică de 7 g/dl constituie pragul de indicație de transfuzie de concentrat eritrocitar resuspendat (CER).

În decursul anului 2018, au fost transfuzati cu CER un număr de 302 pacienți din secția nefrologie, cu diagnosticul de boală cronică de rinichi și anemie secundară. Printre acestea, un număr de 53 de pacienți au fost cu condiții acute și care au avut hemoglobina cuprinsă între 5,6 si 7 g/dl . Alloimunizarea a fost testată prin depistarea anticorpilor iregulari (DAI), folosind cardurile LISS/Coombs and Enzyme, depot detecta anticorpi de clasă IgG anti Rh , Kell , Kidd .

Din totalul de 302 bolnavi transfuzati, 174 au fost politranfuzati, primind între 2 și 6 transfuzii la o singură internare, pentru a asigura corectarea anemiei. Nivelul obținut a fost de peste 9 g/dl , menținut în medie 21 zile . Nu s-au înregistrat reacții post-transfuzionale .

Determinarea fenotipului Rh și administrarea de concentrat eritrocitar izogrup ABO și izo-fenotip Rh au fost menite să reducă gradul de imunizare și să crească eficiența transfuziilor.

Corecția anemiei severe la pacienții cu BCR este obligatorie pentru controlul evenimentelor acute cardiovasculare, de asemenea un grad redus de imunizare este foarte important în special pentru pacienții aflați pe lista de așteptare pentru transplantul renal.

Cuvinte cheie: transfuzii , anemie, boală cronică de rinichi

P38 THE ROLE OF CYTOGENETIC FACTORS FOR MULTIPLE MYELOMA PATIENTS

**Ema Cristina Borși, Cristina Potre, Ovidiu Potre, Miruna Samfireag, Ioana Ioniță,
Hortensia Ioniță**

University of Medicine and Pharmacy "Victor Babeș", Timișoara

Introduction: Multiple myeloma (MM) is a heterogeneous disease with an increasing incidence, characterized by neoplastic proliferation of a single clone of plasma cells. The purpose of the study is to detect genetic mutations using the FISH technique in a group of patients with MM in order to accommodate increased, intermediate or standard cytogenetic risk.

Materials and Methods: In this study were included 38 patients diagnosed with MM, between January 2016-December 2018. Almost all myelomas have genetic abnormalities that can be detected by fluorescence in situ hybridization. To obtain the preparations for the diagnosis of MM by FISH, both bone marrow and peripheral blood are used.

Results: Patients with 17p deletion, t(14;16) are considered as high risk myeloma(27.7%) and represent the group of patients with an average survival rate of 2 years. The presence of t(4;14) reflects an intermediate risk level(33.8%) , while patients with t(11;14) or t(6;14) but also with hyperdiploidy are considered to belong to the standard risk group(38.5%). Patients with standard cytogenetic deletion or hyperdiploidy chromosome 13 are part of the intermediate risk group. These tests cannot be performed in all the Hematology Clinics, it is important to know the inclusion in the high cytogenetic risk factor group, in order to choose the suitable therapy.

Conclusions: The classification of the risk group has a great importance in evaluating the prognosis thus improving the survival rate. Combination of independent prognostic factors provides more information than any other factor alone.

Keywords: multiple myeloma, cytogenetic factors.

ROLUL FACTORILOR CITOGENETICI LA PACIENȚII CU MIELOM MULTIPLU

Introducere: Mielomul multiplu (MM) este o boală heterogenă cu o incidență în continuă creștere, se caracterizează prin proliferarea malignă a celulelor plasmocitare derivate dintr-o singură clonă, care invadă măduva osoasă. Scopul studiului este detectarea mutațiilor genetice prin tehnica FISH pe un lot de pacienți cu MM, în vederea încadrării riscului citogenetic crescut, intermediu sau standard.

Material și metodă: În acest studiu au fost inclusi 38 pacienți diagnosticați cu MM în perioada ianuarie 2016-decembrie 2018. Aproape toate mioamele prezintă anomalii genetice care pot fi detectate prin hibridizare in situ cu fluorescență interfazică. Pentru obținerea preparatelor pentru diagnosticul MM prin FISH se utilizează atât măduvă osoasă cât și sânge periferic.

Rezultate: Pacienți cu deleție 17p, t (14;16) sunt considerați cu mielom - risc crescut (27.7%) și reprezintă grupul de pacienți cu o rată medie de supraviețuire la 2 ani. Prezența t(4;14) reflectă un nivel

de risc intermediu (33.8%), în timp ce pacienții cu t(11;14) sau t(6;14) dar și cu hiperdiploidie sunt considerați a aparține grupei de risc standard (38.5%). Pacienții cu deleția cromozomului 13 cu citogenetică standard sau hiperdiploidie fac parte din grupa de risc intermediu. Aceste teste nu se pot efectua în toate clinicele de hematologie, fiind important să cunoaștem încadrarea în grupul cu factor de risc crescut citogenetic pentru alegerea terapiei optime.

Concluzii: Încadrarea în grupele de risc are importanță deosebită în evaluarea prognosticului respectiv pentru îmbunătățirea supraviețuirii. Combinarea factorilor de prognostic independenți furnizează mai multe informații decât oricare factor luat individual.

Cuvinte cheie: mielom multiplu, factori citogenetici.

P39 VITAMIN B12, PROGNOSTIC FACTOR IN MYELODISPLASTIC SYNDROMES

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

1. University of Medicine and Pharmacy "Victor Babeș", Timișoara, Romania

2. Hematology Clinic, Municipality Emergency Hospital of Timișoara, Romania

3. Hematology Clinic, Värnamo, Sweden

Introduction: Myelodysplastic syndromes (MDS) are represented by clonal diseases of the stem cell, characterized by peripheral cytopenia and ineffective hematopoiesis, with a trend towards progression to acute leukemia. Vitamin B12 deficiency is a common pathology, and its association with SMD is often an exclusive diagnosis, hard to distinguish.

Material and methods: We performed a retrospective study on a group of patients diagnosed with MDS in the Hematology Clinic from Timișoara during 2012-2018. This study was initiated in order to evaluate the efficacy of using serum vitamin B12 as a prognostic factor in MDS.

Results: We analyzed a sample of 86 patients: 52, 3% of them were male and 47.7% female, the mean age at diagnosis being 67.02 years. The mortality rate was 65.1%. At diagnosis, the mean hemoglobin level was 8.9 g / dL, and the mean serum vitamin B12 was at the upper limit of normal (187.09 pg /ml). The cases with dysplastic changes secondary to vitamin B12 deficiency were excluded after performing a bone marrow aspirate, which revealed that all of the patients enrolled in this study had dysplasia in at least two cell lines, in at least 10% of the cells.

Conclusions: One year after the diagnosis, the mean serum vitamin B12 level was 250 pg /ml after being treated with vitamin B12. The latest data reported by the World Health Organization (WHO) highlights 5 new cases of MDS diagnosed in the general population, reported in 100,000 inhabitants, with a higher incidence in men that increases with age. Based on our study, we noticed the inconsistent frequency of cases, with a predominance among male patients. Patients in the study group were initially diagnosed with MDS, and responded quickly to vitamin B12 treatment, therefore it can be used as a prognostic factor.

Keywords: MDS, vitamin B12, prognostic factor.

VITAMINA B12, FACTOR DE PROGNOSTIC ÎN SINDROAMELE MIELODISPLAZICE

Introducere: Sindroamele mielodisplazice (SMD) reprezintă afecțiuni clonale ale celulei stem, fiind caracterizate prin citopenie periferică respectiv prin hematopoieză neficientă, cu tendință de progresie spre leucemie acute. Deficitul de vitamina B12 reprezintă o patologie des întâlnită, iar asocierea acestuia cu SMD reprezintă de cele mai multe ori un diagnostic exclusiv, greu de deosebit.

Material și metodă: Am realizat un studiu retrospectiv pe un lot de pacienți diagnosticați cu SMD, în Clinica de Hematologie din Timișoara, în perioada 2012-2018. Acest studiu a fost inițiat în vederea evaluării eficacității utilizării nivelului seric de vitamina B12 ca factor de prognostic în SMD.

Rezultate: Am analizat un eșantion format din 86 de pacienți: 52, 3% dintre aceștia au fost de sex masculin, iar 47,7% de sex feminin, vîrstă medie la diagnostic fiind de 67,02 ani. Rata mortalității a fost de 65,1 %. La diagnostic, nivelul mediu al hemoglobinei a fost de 8,9 g/dL, iar cel seric mediu de vitamina B12 a fost la limita superioară a normalului (187,09 pg/ml). Cazurile cu modificări displazice secundare deficitului de vitamina B12 s-au exclus în urma efectuării aspiratului medular, care a relevat că toți pacienții înrolați în acest studiu au avut displazie în cel puțin două linii celulare, în cel puțin 10% din celule.

Concluzii: La un an de la diagnostic, nivelul seric mediu de vitamina B12 a fost de 250 pg/ml, după tratament cu vitamina B12. Ultimele date raportate de către Organizația Mondială a Sănătății (OMS) evidențiază 5 cazuri noi de SMD diagnosticate la nivelul populației generale, raportate la 100.000 locuitori, cu o incidență mai mare în ceea ce privește sexul masculin, ce crește cu vîrstă. În urma studiului efectuat, am remarcat frecvența inconstantă a cazurilor, cu o predominanță în rândul pacienților de sex masculin. Pacienții din lotul studiat au fost diagnosticați inițial cu SMD, și au răspuns rapid la tratamentul cu vitamina B12, prin urmare, aceasta poate fi folosită ca factor de prognostic.

Cuvinte cheie: SMD, vitamina B12, factor de prognostic.

P40. DOSAGE AND QUALITATIVE DETERMINATION OF MONOCLONAL PROTEINS FOR PATIENTS WITH MONOCLONAL GAMMOPATHIES

Anca Cristina Cecati, Daniela Jitaru, Alina Andreea Liteanu, Iuliu Cristian Ivanov

Regional Institute of Oncology, Iași, Romania

Introduction: Monoclonal gammopathies are a group of diseases characterized by the proliferation of a single clone of a plasmacytoid cell, which produces an homogeneous monoclonal protein ("M" paraprotein). The purpose of the study is to highlight the utility of immunofixation electrophoresis in hematology-oncology pathology.

Materials and method: The detection of the monoclonal protein was achieved through immunofixation, using the Sebia Hydrasys automated system. The quantitative dosage of the IgA, IgG and IgM heavy chains was made using the turbidimetric method with the Siemens ADVIA 1800 analyzer, and the dosage of light chains in serum and urine was done through nephelometry on the Siemens BN ProSpec machine.

Results: 50 patients diagnosed with multiple myeloma and Waldenstrom macroglobulinemia were investigated. 11 patients (22%) of the study group, despite having a concentration of immunoglobulins and/or λ and k light chains within the reference interval, presented monoclonal bands. In addition, 8% of patients which were dosed with high concentrations of immunoglobulins and/or λ and k light chains did not present monoclonal bands.

Conclusion: Immunofixation electrophoresis is a qualitative method which is essential in determining and identifying the nature of monoclonal gammopathies.

Keywords: monoclonal proteins, immunofixation, nephelometry

DOZĂRI ȘI DETERMINĂRI CALITATIVE ALE PROTEINELOR MONOCLONALE LA PACIENȚII CU GAMMAPATII MONOCLONALE

Introducere: Gammapatii monoclonale reprezintă un grup de afecțiuni caracterizate prin proliferarea unei singure clone de celule plasmocitare, care produce o proteină monoclonală omogenă (para-proteină "M"). Scopul studiului este de a arata utilitatea electroforezei prin imunofixare în patologia hemato-oncologică.

Material și metodă: Punerea în evidență a proteinei monoclonale s-a realizat prin imunofixare, folosind sistemul automat Sebia Hydrasis. Dozarea cantitativă a lanțurilor grele IgA, IgG, IgM s-a realizat prin metoda turbidimetrică, pe sistemul ADVIA 1800, Siemens, iar dozarea lanțurilor ușoare din ser și urină s-a realizat prin nefelometrie pe sistemul BN ProSpec, Siemens.

Rezultate: Au fost investigați 50 de pacienți, diagnosticăți cu mielom multiplu și macroglobulinemia Waldenstrom. Din lotul de studiu, 11 pacienți (22%) deși au avut o concentrație a imunoglobulinelor și/sau lanțurilor ușoare λ și k în intervalul de referință, au prezentat bandă monoclonală. Deasemenea, la 8% din pacienți, la care s-au dozat concentrații mari ale imunoglobulinelor și/sau lanțuri ușoare λ și k , nu au fost identificate benzi monoclonale.

Concluzii: Electroforeza cu imunofixare este o tehnică calitativă esențială în determinarea și identificarea tipurilor de gammapatii monoclonale.

Cuvinte cheie: proteine monoclonale, imunofixare, nefelometrie

P41 BIOMARKERS IN MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASMS

Cristina Mădălină Ștefan², Mihaela Loredana Dragoș¹, Mihaela Mențel², Mihaela Zlei^{1,2}, Oana Maria Pintilie¹, Iuliu Cristian Ivanov^{1,2}, Angela Dascalescu³, Ion Antohe³, Catalin Danaila³, Daniela Jitaru^{1,2}

1. Laboratory of Medical Analyses, Regional Institute of Oncology Iași, România

2. Research Center Trancend, Regional Institute of Oncology Iași, România

3. University of Medicine and Pharmacy "Gr.T.Popă" Iași, România

Introduction: Chronic myeloproliferative neoplasms (NMP) are clonal proliferations of hematopoietic stem cells, involving one or more cell lines of myeloid precursors, characterized by uncontrolled

development and accumulation of mature myeloid cells. Molecular testing is essential in the diagnosis of these diseases. Since 2008, the World Health Organization (WHO) classification uses molecular markers in major diagnostic criteria. The most important molecular markers for clinical entities included in NMP are Bcr-Abl1-t (9; 22) specific for chronic myelogenous leukemia (CML) and the Jak2V617F mutation, a major criterion in the diagnosis of chronic „Bcr-Abl1 negative myeloproliferation”. Since 2016, WHO has included two more markers, MPL and CALR in the diagnostic criteria for NMP „Bcr-Abl1 negative”.

Material and Method: In the study were included 160 patients, with chronic myeloproliferation, investigated between January and December 2018 in the Medical Diagnosis Laboratory of IRO Iasi. The identification of the V617F mutation in the JAK2 gene was performed by the RealTimePCR method and the CALR gene mutations by the electrophoretic migration PCR method in agarose gel.

Results: A percent of 45.03% (68 patients) was positive for the JAK2V617F mutation. Negative patients for Jak2 were tested to identify mutations in the CALR 9 exon. Two patients (3.63%) carry CALR mutations and 96.36% were negative.

Conclusion: Investigation of molecular markers allows in-depth diagnosis of the pathology allows new targeted therapy strategies and correct assessment of response to treatment.

Keywords: biomarkers, myeloproliferative neoplasms, targeted therapy

BIOMARKERI ÎN NEOPLASMELE MIELOPROLIFERATIVE

Introducere: Neoplasmele mieloproliferative (NMP) cronice sunt proliferări clonale ale celulei stem hematopoietice, ce implică una sau mai multe linii celulare de precursori mienoizi, caracterizate prin dezvoltare necontrolată și acumulare de celule mienoide mature. Testarea moleculară este esențială în diagnosticul acestor boli. Din 2008 clasificarea Organizației Mondiale a Sănătății (OMS) folosește markerii moleculari în criteriile majore de diagnostic. Cei mai importanți markeri moleculari pentru entitățile clinice incluse în NMP sunt: Bcr-Abl1, specific pentru leucemia mieloidă cronică (LMC) și mutația Jak2V617F, criteriu major în diagnosticul mieloproliferărilor cronice “Bcr-Abl1 negative”. Din 2016 OMS a inclus în criteriile de diagnostic pentru NMP BCR-ABL1 negative încă 2 markeri, MPL și CALR.

Material și metodă: În studiu au fost inclusi 160 pacienți cu suspiciune de mieloproliferare cronică, investigați în perioada ianuarie-decembrie 2018 în Laboratorul de Analize Medicale IRO Iași. Identificarea mutației V617F în gena JAK2 s-a realizat prin metoda Real Time PCR calitativ iar mutațiile genei CALR prin metoda PCR cu migrare electroforetică în gel de agaroză.

Rezultate: Din lotul de studiu 68(45,03%) pacienți au fost pozitivi pentru mutația JAK2V617F. Pacienții negativi pentru Jak2 au fost testați în vederea identificării mutațiilor în exonul 9 al genei CALR. Astfel au fost identificați 2(3,63%) pacienți purtători ai mutației CALR și 53 (96,36%) pacienți negativi.

Concluzie: Investigarea markerilor moleculari permite diagnosticarea în profunzime a patologiei, face posibilă utilizarea unor noi strategii de terapie țintită și permite evaluarea corectă a răspunsului la tratament.

Cuvinte cheie: biomarkeri, neoplasme mieloproliferative, terapie țintită

PLENARY REPORTS 3

HEMATOLOGY 1

R8 T CELL DYSFUNCTION IN ACUTE MYELOID LEUKEMIA

Ion Antohe ^{1,2}, Angela Dăscălescu ^{1,2}, Cătălin Dănilă ^{1,2}, Mihaela Zlei ³, Iuliu Ivanov ⁴, Adriana Sireteanu ⁴, Oana Boca ⁴, Petru Cianga ⁵

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

2. Regional Institute of Oncology Iași, România, Hematology Clinic

3. Regional Institute of Oncology Iași, România, Department of Immunophenotyping

4. Regional Institute of Oncology Iași, România, Department of Molecular Diagnostics

5. University of Medicine and Pharmacy "Grigore T. Popa", Iași, Immunology Discipline

T cells are essential effectors of antitumor immunity in acute myeloid leukemia (AML). T cell priming is modulated by a delicate balance of co-stimulatory and co-inhibitory signals provided by antigen presenting cells loaded with leukemia-derived peptides. B7 checkpoint ligands are key structures who govern the fate of T cell activation by delivering co-stimulatory or co-inhibitory signals.

We investigated by flow cytometry the expression of B7 checkpoint ligands (B7.1, B7.2, PD-L1, PD-L2, ICOS-L, B7-H3, B7-H4) on AML blasts from 30 newly diagnosed patients and PD-1, ICOS and CTLA-4 on bone marrow T cells. B7.1 expression was constantly absent. B7.2, PD-L1, PD-L2, ICOS-L, B7-H3, and B7-H4 were mainly co-expressed in various combinations, termed B7 checkpoint ligand signatures. We identified eight different signatures in 10 patients, who were classified as AML-NOS (not otherwise specified) and had intermediate European Leukemia Net risk. Patients with favorable-risk AML rarely expressed B7 molecules. 8 patients had isolated expression of B7 molecules. B7.2 was the most frequently expressed B7 molecule. All B7 signatures contained at least one co-inhibitory receptor (PD-L1 and PD-L2). B7 molecules and signatures were not correlated with WHO AML entities or ELN prognostic groups. CD4+ bone marrow T cells had a central memory phenotype in the majority of patients and expressed low levels of PD-1.

The investigation of B7 molecules and T cell dysfunction will provide further insight into the immune escape mechanisms of various AML subtypes and will likely guide patient-adapted immunotherapy strategies.

Keywords: AML, immunotherapy, immune escape, T cells, PD-1, ICOS

DISFUNCȚIA LIMFOCITARĂ T ÎN LEUCEMIA ACUTĂ MIELOBLASTICĂ

Limfocitele T sunt efectori esențiali ai imunității în leucemia acută mieloblastică (LAM). Acivarea limfocitelor T este modulată printr-un echilibru delicat dintre semnalele co-stimulatorii și co-inhibitorii transmise limfocitului T de către celulele prezentatoare de antigen. Moleculele din familia B7 sunt structuri esențiale ce controlează activarea limfocitelor T prin intermediul semnalelor co-stimulatorii sau co-inhibitorii.

Am investigat prin citometrie de flux expresia liganzilor moleculelor B7 (B7.1, B7.2, PD-L1, PD-L2, ICOS-L, B7-H3, B7-H4) pe celulele tumorale de la 30 de pacienți nou diagnosticați cu LAM și expresia PD-1, CTLA-4 și ICOS pe limfocitele T din aspiratul medular al pacienților. Expressia B7.1 a fost constant absentă. B7.2, PD-L1, PD-L2, ICOS-L, B7-H3, și B7-H4 au fost co-exprimate în diferite combinații, numite semnături moleculare B7. Am identificat 8 semnături diferite la 10 pacienți cu subtipul LAM-NOS (not otherwise specified) și risc European Leukemia Net intermediu. Pacienții cu risc favorabil au exprimat mai rar molecule B7. 8 pacienți au prezentat expresie izolată de molecule B7. B7.2 a fost cea mai frecvent exprimată moleculă B7, atât izolat, cât și în semnături. Toate semnăturile moleculare B7 au conținut minim o moleculă B7 cu rol co-inhibitor, în special PD-L1 și B7.2. Expressia moleculelor B7 nu a fost corelată cu tipurile OMS de LAM sau cu clasificarea ELN. Limfocitele T CD4+ au prezentat un fenotip tip memorie central și au exprimat niveluri reduse de PD-1.

Investigarea moleculelor B7 și a disfuncției limfocitare T va permite o mai bună cunoaștere a mecanismelor de evadare imună din LAM și va fi utilă în viitor în elaborarea unor strategii personalizate de imunoterapie.

Cuvinte cheie: LAM, imunoterapie, evadare imună, limfocite T, PD-1, ICOS

R9 FLOW CYTOMETRY AND MOLECULAR BIOLOGY TESTS FOR MONITORING ACUTE LEUKEMIA PATIENTS

A Dascalescu^{1,2}, A Titieanu², R Dumitru², E Dolachi², D Iovu², C Minciuna², M Timofte², I Antohe^{1,2}, I Ivanov², L Dragos², C Dănilă^{1,2}

1. UMF „Gr.T. Popa” Iași

2. Regional Institute of Oncology Iași

Acute leukemia therapy is now guided by the prognosis detected at diagnosis by flow cytometry and molecular biology techniques. Another important role is monitoring minimal residual disease. Current standards and 2017 European Leukemia Net Recomandations include flow cytometry and molecular biology in diagnosis af all acute leukemia patients.

The aim of our presentation is to evaluate different methods of monitoring minimal residual disease in acute leukemias and efficiency in monitoring acute leukemia patients in our departement.

Results of our study are detection of different pattern of presentation and monitoring evolution of 170 patients with acute leukemia from our center diagnosed between 2014-2018.

In summary annalysis of literature data and our practical results permits to present standards for evaluation of minimal residual disease in acute leukemias.

Keywords: flow cytometry, PCR, acute leukemia

RELEVANȚA TEHNICILOR DE CITOMETRIE DE FLUX ȘI DE BIOLOGIE MOLECULARĂ ÎN MONITORIZAREA PACIENȚILOR CU LEUCEMIE ACUTĂ

Tratamentul pacienților cu leucemie acută este din ce în ce mai mult ghidat de factorii de prognostic. Tehnicile de citometrie de flux și de biologie moleculară (PCR calitativ și cantitativ) au un rol important în diagnosticul și stabilirea impactului prognostic al leucemiilor acute precum și în monitorizarea bolii

minime reziduale. Standardele curente includ evaluarea la diagnostic a modificărilor moleculare și a fenotipului asociat leucemiei pentru a putea ulterior urmări boala minimă reziduală.

Sopul lucrării este trecerea în revistă a principalelor metode de detecție a bolii minime reziduale în leucemii acute, eficiența acestora și modul în care au fost folosite la pacienții din Clinica de Hemato-logică IRO Iași.

Rezultatele studiului nostru cuprind evaluarea la diagnostic și monitorizarea bolii minime reziduale a 170 de cazuri de leucemie acuta diagnosticate în serviciul nostru în perioada 2014-2018.

În final analiza datelor din literatura de specialitate ne permite să prezentăm standardele de monitorizare a bolii minime reziduale în leucemia acută.

Cuvinte cheie: citometrie în flux, PCR, leucemii acute

R10. GENETIC PROFILING FOR DIAGNOSIS, PROGNOSIS AND PERSONALIZED THERAPY IN ACUTE MYELOID LEUKEMIA

Claudia Banescu^{1,2}, Florin Tripon², Andrei Crauciuc², Valeriu Moldovan¹, Alina Boglis², Adrian Trifa³

1. Genetics Laboratory, Center for Advanced Medical and Pharmaceutical Research, University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology, Târgu Mureș, Romania

2. University of Medicine, Pharmacy, Science and Technology, Târgu Mureș, Romania

3. University of Medicine and Pharmacy „Iuliu Hatieganu” Cluj Napoca

Acute myeloid leukemia (AML) is a complex disorder with a poor prognosis and high relapse rate that predominantly affects people aged over 60 years. The heterogeneity of AML

involves cytogenetic aberrations and somatic mutations leading to a range of cytogenetic, molecular and clinical features and influencing the response to treatment and the disease relapse.

Cytogenetic analysis is mandatory in AML as long as in the WHO classification a distinct category „Acute myeloid leukemia with recurrent genetic abnormalities” is included.

Molecular genetic testing should include evaluation of: (1) mutations in *NPM1*, *CEBPA*, and *RUNX1* genes (since they define disease categories); (2) mutations in *FLT3* (for internal tandem duplications, ITDs and tyrosine kinase domain mutations) for prognostic, but also for treatment with tyrosine kinase inhibitors (*FLT3* inhibitors such as sorafenib, midostaurin, etc.) and (3) mutations in *TP53* and *ASXL1* because they are associated with adverse risk and identify patients with poor survival.

Novel promising target therapy was approved for relapsed or refractory AML patients and is represented by the inhibition of the metabolic enzymes IDH1 (ivosidenib) and IDH2 (enasidenib) that are frequently mutated in AML.

The therapy of AML remains a major challenge because the current approach even if it allows us for a correct prognostication and stratification of AML it can not really predict the treatment response.

Acknowledgement: This work was supported by the University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology of Târgu Mureş, Romania, Research Grant number 15609/13/29.12.2017”.

Keywords: acute myeloid leukemia, cytogenetic, somatic mutation, personalized treatment

PROFILUL GENETIC PENTRU DIAGNOSTICUL, PROGNOSTICUL ȘI TERAPIA PERSONALIZATĂ ÎN LEUCEMIA ACUTĂ MIELOIDĂ

Leucemia acută mieloidă (LAM) este o boala complexă, cu un prognostic slab și o rată de recidivă mare care afectează în mod predominant persoanele cu vîrstă de peste 60 de ani. Eterogenitatea LAM implică anomalii citogenetice și mutații somatice care determină o serie de trăsături citogenetice, moleculare și clinice și influențează răspunsul la tratament și recădere bolii.

Analiza citologică este obligatorie în LAM, acest lucru fiind susținut și de faptul că în clasificarea OMS este inclusă o categorie distinctă „Leucemia mieloidă acută cu anomalii genetice recurente”. Testarea genetică moleculară trebuie să includă evaluarea: (1) mutațiilor în genele NPM1, CEBPA și RUNX1 (deoarece acestea definesc anumite categorii de boli); (2) mutații în FLT3 (pentru duplicație în tandem, mutații ITD și mutații ale tirozin kinazei) pentru prognostic, dar și pentru tratamentul cu inhibitori tirozin kinazici (inhibitori FLT3 cum ar fi sorafenib, midostaurin etc.) și (3) mutații în genele TP53 și ASXL1, deoarece acestea sunt asociate cu prognostic rezervat și identifică pacienții cu supraviețuire redusă.

O nouă terapie țintită cu rezultate promițătoare a fost aprobată pentru pacienții cu LAM cu recădere sau refractare și este reprezentată de molecule inhibitorii ale enzimelor metabolice IDH1 (ivosidenib) și IDH2 (enasidenib), la nivelul genelor IDH1 și IDH2 apărând frecvent mutații în LAM. Terapia în LAM rămâne o provocare majoră, deoarece abordarea actuală, chiar dacă ne permite un prognostic și o stratificare corectă a LAM, nu poate preciza cu adevărat răspunsul la tratament.

Mulțumiri: Această lucrare este susținută de Universitatea de Medicină, Farmacie, Științe și Tehnologie din Târgu Mureș, grant de cercetare nr. 15609/13/29.12.2017”.

Cuvinte cheie: leucemia acută mieloidă, citogenetică, mutații somatice, terapie personalizată

C4 IG AND TCR MONOCLONALITY IN ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIAS

**Irina Cezara Văcărean-Trandafir^{1,2}, Loredana Mihaela Dragoș^{1,2}, Angela Dăscălescu⁵,
Ion Antohe⁵, Catalin Danaila⁵, Dumitru Cojocaru^{1,4}, Iuliu Cristian Ivanov^{2,3}, Daniela Jitaru^{2,3}**

1. University "Alexandru Ioan Cuza", Iași, România

2. Research Center Trancend, Regional Institute of Oncology Iași, România

3. Laboratory of Medical Analyzes, Regional Institute of Oncology Iași, România

4. Academy of Scientists, București, România

5. University of Medicine and Pharmacy "Gr.T.Popă" Iași, România

Introduction: The diagnosis of lymphoid malignancies is greatly facilitated by evaluation of the homogeneous vs heterogeneous nature of the Ig/TCR rearrangements (clonality testing). During early lymphoid differentiation, genes encoding the Ig and TCR molecules are formed by stepwise rearrangement of variable (V), diversity (D), and joining (J) gene segments, process referred to as V(D)J recombination. As a consequence, each lymphocyte has a unique antigen receptor molecule on its membrane. Cancer

cells are the progeny of a single malignantly transformed cell, and consequently, these cells are clonally related. The polymerase chain reaction of the antigen receptor genes has clinical utility in establishing clonality in lymphoproliferations.

Material and method: The current study presents a molecular screening on 37 patients with acute lymphoblastic leukemia B/T-ALL, 10 of which with atypical lymphoproliferation observed by flow-cytometry analysis. The method used consisted of DNA fragment analysis by capillary electrophoresis through which were identified B or T cells recombination using multiplex PCR with primer sets that target each type of the gene family.

Results and conclusions: Evaluations of the results were carried out in the clinical and interdisciplinary (molecular, hemato-pathological, flowcytometric) context. Multiplex PCR-based clonality testing has become a universal standard relatively easy to perform. Nevertheless, to avoid misinterpretation of the data, a careful evaluation of histopathologic and molecular findings is necessary for reaching an accurate interpretation of the oligo-/monoclonality results. Using these molecular markers we can discriminate between clonal/polyclonal cells and follow a clonal marker throughout the disease evolution.

Keywords: Ig/TCR, gene rearrangements, ALL

MONOCLONALITATEA IG ȘI TCR ÎN LEUCEMIILE ACUTE LIMFOBLASTICE

Introducere: Diagnosticul afecțiunilor maligne limfoide este facilitat în mare măsură prin evaluarea naturii omogene vs heterogene a rearanjamentelor Ig/TCR (testarea clonalității). În timpul diferențierii limfoide genele care codifică moleculele Ig/TCR se formează prin rearanjarea treptată a segmentelor genice variabile (V), de diversitate (D) și de joncțiune (J), proces denumit recombinare V(D)J. Prin urmare, fiecare limfocit are o moleculă unică de receptor de antigen pe membrană. Celulele canceroase sunt descendenții unei singure celule transformate malign și, în consecință, aceste celule sunt înrudite din punct de vedere clonal. Reacția de polimerizare în lanț a genelor pentru receptorii antigeni are utilitate clinică în stabilirea clonalității în limfoproliferări.

Material și metodă: Studiul actual prezintă un screening molecular realizat pentru 37 de pacienți cu leucemie acută limfoblastică LAL-B/T, dintre care 10 cu limfoproliferări atipice observate prin citometrie în flux. Metoda utilizată a constat în migrare de fragmente ADN în electroforeză capilară cu ajutorul căreia s-au identificat recombinări ale celulelor B /T utilizând un multiplex PCR cu seturi de primeri care vizează fiecare tip de familie de gene. Evaluările rezultatelor au fost efectuate în contextul clinic și interdisciplinar (molecular, hematopatologic, flow-cytometric).

Rezultate și concluzii: Testele bazate pe multiplex PCR privind clonalitatea au devenit un standard universal relativ ușor de realizat. Cu toate acestea, pentru a evita interpretarea greșită a datelor, este necesară o evaluare atentă a rezultatelor histopatologice și moleculare pentru obținerea unei interpretări corecte a fragmentelor oligo-/monoclonale. Utilizând acești markeri moleculari se poate diferenția între celulele clonale/policlonale și urmări un marker clonal pe toată durata evoluției bolii.

Cuvinte cheie: Ig/TCR, rearanjamente genice, LAL

C5. CORRELATION OF ABERRANTLY EXPRESSED MARKERS NG2 AND CD66C WITH THE GENETIC MODIFICATIONS IN B LIMPHOBLASTIC LEUKEMIA

Mihaela Mentel¹, Oana Maria Pintilie¹, Mihaela Zlei¹, Raluca Elena Oana¹, Alina Mirela Veringu¹, Loredana Mihaela Dragos^{1,2}, Irina Cezara Vacarean-Trandafir^{1,2}, Iuliu Cristian Ivanov¹, Adriana Sireteanu¹, Daniela Jitaru¹, Eugen Carasevici¹

1. Regional Institute of Oncology, Iasi, Romania

2. "Alexandru Ioan Cuza" University of Iași, Romania

Introduction: B lymphoblastic leukemia (B-ALL) is a malignant hematological disease that affects children in particular. The combination of immunophenotyping tests with molecular biology and cytogenetic tests ensures the correct diagnosis of this pathology. The purpose of this study was to correlate the expression of immunophenotypic markers with the presence of genetic modifications in patients diagnosed in our center.

Material and methods: 55 cases diagnosed with B-ALL were included in this study. Bone marrow or peripheral blood samples were analyzed by immunophenotyping using specific markers. In parallel, the samples were analyzed by molecular biology and cytogenetics to identify relevant genetic changes.

Results: The expression of aberrant markers on lymphoid B precursors was correlated with the presence of fusion genes identified by PCR or translocations evidenced by karyotype. Patients were divided into 3 groups: group I: 1-18 years (30); group II: 19-50 (10) and group III: 51-83 years (15). The B lymphoid precursors with the phenotype: NG2 positive, CD15 positive and CD10 negative were associated with the presence of the MLL-AF4 fusion gene that was identified in two cases from the first two groups. CD66c expression was identified in 29 patients and was associated with BCR-ABL gene expression in 10 cases from the last group. In the 10 cases, B lymphoid precursors co-expressed CD10 and CD34.

Conclusions: Immunophenotyping, together with cytology, represent the first step in the evaluation of acute leukemias, with an essential role in their classification. The presence of the immunophenotyping markers, correlated with the genetic modifications may be considered prognostic factors in the evaluation of hematological diseases.

Keywords: B-lymphoblastic leukemia; aberrant expressed markers; fusion genes.

EXPRESIA ABERANTĂ A MARKERILOR NG2 ȘI CD66C CORELATĂ CU MODIFICĂRILE GENETICE ÎN LEUCEMIA LIMFOBLASTICĂ B

Introducere: Leucemia limfoblastică B (LAL-B) este o boală hematologică malignă ce afectează în special copiii. Combinarea testelor de imunofenotipare cu teste de biologie moleculară și citogenetică asigură diagnosticarea corectă a acestei patologii. Scopul acestui studiu a fost să coreleze expresia markerilor imunofenotipici cu prezența modificărilor genetice la pacienții diagnosticati în centrul nostru.

Materiale și metode: 55 de cazuri diagnosticate cu LAL-B au fost introduse în acest studiu. Probele de aspirat medular sau sânge periferic au fost analizate prin imunofenotipare folosind markeri specifici.

În paralel, probele au fost analizate prin biologie moleculară și citogenetică pentru a identifica modificările genetice.

Rezultate: Expresia/prezența markerilor aberanți pe precursorii limfoizi B a fost corelată cu prezența genelor de fuziune identificate prin PCR sau a translocațiilor evidențiate prin cariotip. Pacienții au fost împărțiți pe 3 grupe de varstă: grupa I: 1-18 ani (30); grupa II: 19-50 (10) și grupa III: 51-83 ani (15). Fenotipul precursorilor limfoizi B: NG2 pozitiv, CD15 pozitiv și CD10 negativ a fost asociat cu prezența genei de fuziune MLL-AF4 care a fost identificată la două cazuri din primele 2 grupe. Expressia CD66c a fost identificată la 29 de pacienți și a fost asociată cu expresia genei BCR-ABL în 10 cazuri din ultima grupă. În cele 10 cazuri precursorii limfoizi B co-exprimau CD10 și CD34.

Concluzii: Imunofenotiparea, împreună cu citologia, reprezintă un prim pas în evaluarea leucemiei acute, având un rol esențial în clasificarea lor. Prezența markerilor imunofenotipici, corelată cu modificările genetice, pot fi considerate factori de prognostic în evoluția bolilor hematologice.

Cuvinte cheie: leucemia limfoblastică B; markeri aberanți; gene de fuziune

PLENARY REPORTS 4 - HEMATOLOGY 2**R11 IMPACT OF MOLECULAR TESTS IN CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA**

**C Dănilă^{1,2}, A Titieanu², R Dumitru², E Dolachi², D Iovu², C Minciuna², M Timofte²,
I Antohe^{1,2}, G Dorohoi², I Ivanov², L Dragos², A Dăscălescu^{1,2}**

1. UMF „Gr.T. Popa” Iași

2. Regional Institute of Oncology, Iasi, Romania

Prognosis and therapeutic decision in chronic lymphocytic leukemia is based on molecular tests at diagnosis or at the time of disease progression.

The aim of our presentation is to evaluate the main molecular tests with relevance in chronic lymphocytic leukemia prognosis and the impact of this tests on therapeutic decision for the patients with chronic lymphocytic leukemia from hematology department IRO Iasi.

Further we will present chronic lymphocytic leukemia patients with 17p deletion detected by FISH and the therapeutic decision for these patients.

In summary analysis of literature data and our practical results permits to present a therapeutic algorithm for patients with chronic lymphocytic leukemia.

Keywords: molecular testing, chronic lymphatic leukemia, FISH

TESTE MOLECULARE IN LEUCEMIA LIMFATICA CRONICA

Prognosticul și tratamentul pacientilor cu leucemie limfatică cronică este de multe ori stabilit în funcție de rezultatul testelor de biologie moleculară efectuate la diagnostic sau în momentul progresiei tumorale.

Scopul lucrării este trecerea în revistă a principalelor teste de biologie moleculară cu relevantă în prognosticul pacienților cu leucemie limfatică cronică, eficiența acestora și modul în care au fost folosite la pacienții din Clinica de Hematologie IRO Iași.

Vom prezenta cazurile pacienților din clinica noastră detectați cu deleție 17p prin tehnica FISH și modul în care s-a luat decizia terapeutică.

În final analiza datelor din literatura de specialitate și practica clinicii noastre ne permite să prezentăm un altgoritm prin care se stabilește decizia terapeutică în leucemia limfatică cronică.

Cuvinte cheie: teste molecular, leucemie limfatică cronică, FISH

C6 CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA - ATYPICAL VERSUS CLASSICAL MORPHOLOGIC AND IMMUNOPHENOTYPIC FINDINGS

Elena-Cristina Selicean ¹, Mirela Marian ¹, Jerome Dobrowolski ², Carmen Basarab ¹,
Mariana Pațiu ^{1,2}

*1. Hematology Department, Oncological Institute „Profesor Doctor Ioan Chiricuță“ Cluj-Napoca
2. University of Medicine and Pharmacy Iuliu Hațieganu Cluj-Napoca*

Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is the most common lymphoproliferative disorder. The diagnosis is usually straightforward, based mainly on complete blood count, blood film and immunophenotypic findings.

Material and method: We reviewed 117 CLL cases diagnosed in 2018 in our institution. Morphology was assessed on peripheral blood slides, May Grunwald Giemsa stained. Immunophenotyping by flow cytometry was done according to Euroflow protocols regarding antibodies, sample preparation and instrument settings.

Results: As expected, most cases had the classical appearance (small lymphocytes with scant cytoplasm and condensed chromatin, presence of smudge cells) and showed the typical immunophenotype (CD19+ CD20dim+ CD5+ CD10- CD79b- CD200+). We identified some atypical CLL (aCLL) cases which will be presented and discussed comparatively to the classical phenotype. In addition some cases which raised differential diagnosis questions allowed us to make observations regarding borderline lymphoproliferative disease (BLPD), monoclonal B cell lymphocytosis (MBCL) and persistent polyclonal B cell lymphocytosis (PPBCL).

Conclusions: Although CLL is a well characterized disease, aCLL, BLPD, MBCL and PPBCL still require further studies in order to refine diagnostic criteria.

Keywords: chronic lymphocytic leukemia, morphology, immunophenotype

LEUCEMIA LIMFATICĂ CRONICĂ – ASPECTE MORFOLOGICE ȘI IMUNOFENOTIPICE CLASICE VERSUS ATIPICE

Leucemia limfatică cronică (LLC) este cea mai frecvent întâlnită limfoproliferare cronică. Diagnosticul este de obicei simplu, bazându-se pe datele furnizate de hemogramă, de examenul citologic al frotului sangvin și de imunofenotipare.

Material și metodă: Am reevaluat 117 cazuri de LLC diagnosticate în laboratorul nostru în anul 2018. Aspectul morfologic a fost evaluat pe frotiuri de sânge periferic, colorate May Grunwald Giemsa. Imunofenotiparea prin citometrie în flux s-a efectuat respectând protocoalele Euroflow referitoare la anticorpii utilizati, prelucrarea probelor și setările citometrului.

Rezultate: Așa cum era de așteptat, cele mai multe cazuri au prezentat aspectul morfologic tipic (limfoci mici, cu citoplasmă puțină și cromatină condensată, prezența de umbre nucleare) și un profil imunofenotipic clasic (CD19+ CD20dim+ CD5+ CD10- CD79b- CD200+). Am identificat și câteva cazuri cu aspect atipic. Vom prezenta și discuta aceste cazuri atipice, comparativ cu cele cu aspect clasic. Cazurile care au pus probleme de diagnostic diferențial ne-au oferit posibilitatea de a face observații în

ceea ce privește bolile limfoproliferative cornice de graniță, limfocitozele B monoclonale și limfocitozele B policlonale persistente.

Concluzii: Deși LLC este una din cele mai bine caracterizate limfoproliferări cronice maligne, existența cazurilor de leucemii limfaticice cronice atipice, boli limfoproliferative B de graniță și limfocitoze B monoclonale sau policlonale persistente, demonstrează necesitatea unor studii suplimentare care să rafineze criteriile de diagnostic ale acestor entități.

Cuvinte cheie: leucemie limfatică cronică, morfologie, imunofenotip

C7 THE IMPORTANCE OF THE BONE MARROW EXAMINATION IN MANAGEMENT OF HEMATOPOIETIC TUMORS

Raluca-Elena Oană¹, Oana-Maria Pintilie¹, Daniela Jitaru^{1,2}, Doru Catalin Dănilă^{1,3},
Angela Dăscălescu^{1,3}, Gabriela Dorohoi¹, Alina Dascălu¹, Ion Antohi^{1,3}, Cristina Terinte¹,
Irina Florea^{1,4}, Karina Bilavschii¹

1. *Regional Institute of Oncology, Iasi, Romania*

2. *UMF. "Grigore T. Popa", Biochemistry Department, Iași*

3. *UMF. „Grigore T. Popa”, Hematology Department, Iași*

4. *UMF. „Grigore T. Popa”, Pathological Anatomy Department, Iași*

Introduction: Lymphocytes undergo malignant transformation form tumors as do other somatic cells. The genetic events leading to cancer affect lymphocytes at all stages of differentiation from pluripotent stem cells to mature lymphocytes.

Materials and methods: In this study, the bone marrow examination (MGG), was correlated with imunophenotypic diagnosis (flow-cytometry), clonality study of cancer cells, histopathologic analysis of biopsy (bone marrow and lymph node), and biochemical, cytogenetic tests or molecular biology.

Results: From 3,000 bone marrow examinations performed between 2016 and 2019 at IRO Iasi , few interesting cases of atypical lymphoid tumors will be presented. One of these cases was a hairy cell leukemia. By performing bone marrow citology and imunophenotypic tests, it was observed that this was associated with multiple myeloma. The second selected case was a suspicion of LMNH . As a result of study of the bone marrow examination and imunophenotypic diagnosis, hairy cell leukemia was confirmed, accompanied by an another type of atypical lymphocyte population. For another case, diagnosed in 2018 with LLC, following clinical and paraclinical examinations, it was revealed the disease evolved towards Richter syndrome. We also mention the case of a patient whose bone marrow examination and immunophenotyping revealed the association of a chronic lymphoproliferative syndrome with acute myeloblastic leukemia.

Conclusions: Bone marrow study represents an important laboratory examination in the pathology of haemato-oncological diseases, because it influences the effectiveness and efficiency of management trajectory of paraclinic diagnosis (flow-cytometry, cytogenetic tests or molecular biology) and the targeted therapy of these pathologies.

Keywords: Bone marrow study, imunophenotypic diagnosis, lymphoma.

IMPORTANTĂ STUDIULUI MEDULOGRAMEI ÎN MANAGEMENTUL HEMOPATIILOR MALIGNE

Introducere: Limfocitele suferă transformări maligne formând tumori asemănător altor celule somatice. Evenimentele genetice care conduc la cancer afectează limfocitele în toate stadiile de diferențiere de la celula stem pluripotentă până la limfocitul matur.

Material și metodă: În acest studiu, examinarea medulogramei (colorația MGG) a fost corelată cu studiul imunofenotipic (citometrie în flux), demonstrarea clonalității, analiza histologică a biopsiilor(ganglionare, osteo-medulare) și cu teste biochimice, moleculare sau genetice.

Rezultate: Din aproximativ 3000 de medulograme efectuate în perioada 2016-2019, au fost selectate câteva cazuri interesante de tumori limfoide atipice, diagnosticate în cadrul IRO Iași. Unul dintre acestea a fost o leucemie cu tricholeucocite (HCL), care în urma studiului citologic și imunofenotipic s-a identificat a fi asociată unui mielom multiplu. Al doilea caz selectat a fost o suspiciune de LMNH. În urma studiului măduvei osoase și a imunofenotipării s-a confirmat a fi o leucemie cu tricholeucocite însoțită de o clonă diferită de limfocite atipice. Pentru un alt caz diagnosticat în 2018 cu leucemie limfatică cronică, în urma examenelor clinice și paraclinice, s-a demonstrat evoluția spre sindromul Richter. De asemenea, menționăm și cazul unui pacient la care medulograma și imunofenotiparea au pus în evidență asocierea unui sindrom limfoproliferativ cronic cu o leucemie acută mieloblastică.

Concluzii: Medulograma reprezintă o examinare de laborator importantă în patologia bolilor hematologice pentru că influențează eficacitatea și eficiența managementului în traierțoria diagnosticului paraclinic (imunofenotipare, teste citogenetice sau de biologie moleculară) cât și terapia țințită a acestor patologii.

Cuvinte cheie: medulogramă, imunofenotipare, limfom

C8 .TARGETED NEXT-GENERATION SEQUENCING IN PRIMARY MYELOFIBROSIS

**Cristina Mambet¹, Anca Botezatu², Petruța Gurban^{1,3}, Laura G.Necula¹, Lilia Matei¹,
Gabriela Mocanu⁴, Carmen Șaguna⁴, Aurelia Tatic⁵, Saviana Nedeaianu¹,
Mihaela Chivu-Economescu¹, Coralia Bleotu¹, Anca-Roxana Lupu⁴, Daniel Coriu⁵,
Gabriela Anton², Carmen C. Diaconu¹, Ștefan N. Constantinescu^{1,6}**

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

2. Molecular Virology Department, Stefan S. Nicolau Institute of Virology, Bucharest, Romania

3. Personal Genetics-Medical Genetics Center, Bucharest, Romania

4. Department of Hematology, Coltea Clinical Hospital, Bucharest, Romania

5. Center of Hematology and Bone Marrow Transplantion, Fundeni Clinical institute, Romania

6. University catholic of Louvain, de Duve Institute, Ludwig Institute for Cancer Research, Brussels, Belgium

Introduction: Primary myelofibrosis (PMF) is a classic *BCR-ABL1*-negative myeloproliferative neoplasm (MPN) characterized by atypical megakaryocytic hyperplasia, bone marrow fibrosis, abnor-

mal cytokine production, activating somatic driver mutations in Janus Kinase 2, thrombopoietin receptor and calreticulin (*CALR*) genes, and an increased risk of leukemic transformation. Recent studies using next-generation sequencing (NGS) have identified DNA variants/mutations other than known MPN drivers in a large proportion of PMF patients, and some of these mutations were shown to have prognostic relevance.

Material and methods: In this preliminary study a targeted NGS panel of 54 genes involved in myeloid disorders was employed to identify additional somatic mutations of potential clinical significance in 22 PMF patients at diagnosis. We used archived DNA samples obtained from peripheral blood granulocytes and correlated the mutational profiles with the occurrence of disease complications.

Results and discussion: Out of 22 PMF patients, 13 (59.1%) patients were found to carry at least one variant/mutation in addition to their MPN drivers. Somatic mutations with a high pathogenic score, affecting *ASXL1*, *IDH2*, *SRSF2*, *CUXI*, *NRAS* and *PTPN11* genes, were detected at diagnosis in three PMF patients that subsequently experienced a leukemic transformation. A detailed description of mutational profile analyzed in both chronic and blast phases of a HCV cirrhotic patient unexpectedly diagnosed with *CALR*-mutated PMF will be provided.

Keywords: primary myelofibrosis, NGS, somatic mutations

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

SECVENTIEREA ȚINTITĂ DE NOUĂ GENERAȚIE ÎN MIELOFIBROZA PRIMARĂ

Introducere: Mielofibroza primară (MFP) constituie un neoplasm mieloproliferativ (NMP) *BCR-ABL1*-negativ clasic caracterizat prin hiperplazie megakariocitară atipică, fibroză a măduvei osoase, producție anormală de citokine, mutații driver somatice în genele Janus kinazei 2, receptorului pentru trombopoietină și calreticulinei (*CALR*), precum și printr-un risc crescut de transformare leucemică. Studii recente utilizând tehnologia secvențierii de nouă generație (NGS) au identificat la un procent ridicat de pacienți cu MFP, în plus față de mutațiile driver cunoscute, alte variante/mutații genetice, unele având relevanță prognostică.

Material și metode: În acest studiu preliminar a fost utilizat un panel NGS pentru 54 gene impliate în neoplaziile mioleide pentru a identifica mutații somatice cu potențială semnificație clinică la 22 pacienți cu MFP la momentul diagnosticului. Au fost testate probe de ADN granulocitar arhivate în biobancă iar profilurile de mutații au fost corelate cu apariția complicațiilor bolii.

Rezultate și discuții: Dintre cei 22 pacienți testați, 13 (59.1%) au prezentat cel puțin o variantă/mutație în plus față de mutația driver. La trei pacienți care au suferit în cursul evoluției transformare leucemică au fost detectate la diagnostic mutații somatice cu scor patogenic ridicat în genele *ASXL1*, *IDH2*, *SRSF2*, *CUXI*, *NRAS* și *PTPN11*. Vor fi descrise profilurile de mutații somatice în fază cronică și respectiv fază blastică la o pacientă cu ciroză VHC ce a fost diagnosticată surprinzător cu MFP *CALR*-pozitivă.

Cuvinte cheie: mielofibroza primară, NGS, mutații somatice

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

C9 INVESTIGATION OF MULTIPLE MIELOM PATIENTS THROUGH IMMUNOFENOTIPES, MLPA AND SNP ARRAY

Loredana Mihaela Dragos ^{1,2}, Irina Cezara Vacarean-Trandafir ^{1,2}, Adriana Sireteanu ¹, Mihaela Zlei ¹, Oana Maria Pintilie ¹, Mihaela Mențel ², Valentina Loredana Nemtanu ³, Angela Dascalescu ⁴, Ion Antohe ⁴, Catalin Danaila ⁴, Daniela Jitaru ¹, Lucian Gorgan ²

1. Regional Institute of Oncology, Iasi, Romania

2. University Al. I. Cuza, Iași, Romania

3. Orygin Fertility Center

4. UMF "Gr.T.Popă" Iași, România

Introduction: Multiple myeloma, a clonal proliferation of plasma cells (PC), is a heterogeneous, stepped, multistage disease. Various recurrent cytogenetic abnormalities in MM have been identified throughout the disease, from the premalignant stage of monoclonal gammopathy of unknown significance to the end stage of MM.

Material and method: Bone marrow from 44 patients diagnosed with MM in IRO-Iasi was analyzed by flow cytometry (EuroFlow panel). The sample was processed for separation in the density gradient of mononuclear cells, and then separation of CD138 + cells with anti-CD138 antibodies coupled to magnetic beads was performed. The percentage of PC in the separate sample was checked using anti-CD38, CD56, CD19, CD45 antibodies. From the CD138 + cell fraction, genomic DNA was extracted. The samples thus obtained were analyzed by MLPA and SNParay.

Results: By sorting, an enrichment of PC samples of up to 87% was obtained. By flow cytometry it was observed that 11.3% samples had CD45-, 22.7% CD56-, 61.3% CD27 +, 15.9% CD28 +, 47% Kappa+ and 53% lambda+. MLPA and SNParay contained 25% of the presence of total or partial deletion of 1p, 45% duplication 1q, 45% deletion 13q or monosmie 13, 11.3% deletion 17p, and 54% hyperdiploid karyotype.

Conclusions: A better characterization of immunophenotypic and genetic clonal PCs is an important prognostic factor for risk stratification and the establishment of therapeutic strategies in patients with MM.

Keywords: multiple myeloma, SNParay, CD138 +.

INVESTIGAREA PACENȚILOR CU MIELOM MULTIPLU PRIN IMUNOFENOTIPARE, MLPA ȘI SNPARAY

Introducere: Mielomul multiplu (MM), o proliferare clonală a plasmocitelor (PC), este o afecțiune heterogenă, cu evoluție în trepte, multistadală. Mai multe anomalii citogenetice recurente, specifice MM, au fost identificate în diverse etape ale bolii, de la stadiul premalign al gamapatiei monoclonale cu semnificație necunoscută, până la stadiul final al bolii.

Material și metodă: Probele de măduvă hematogenă provenite de la 44 pacienți, diagnosticați cu MM în cadrul IRO-Iași, au fost analizate prin citometrie în flux, utilizându-se un panel de 12 markeri, conform EuroFlow. Probele a fost prelucrate ulterior în vederea separării celulelor mononucleate și s-a realizat în continuare separarea celulelor CD138+ cu anticorpi cuplați cu bile magnetice. S-a verificat

procentul de PC din proba separată utilizând anticorpi anti-CD38, CD56, CD19, CD45. Din fracția de celule CD138+ s-a extras ADN genomic. Probele astfel obținute au fost analizate prin MLPA și SNParray.

Rezultate: Prin sortare s-a obținut o îmbogățire a probelor cu PC de până la 87%. Fenotipic, 11,3% din probe au fost CD45-, 22.7% CD56-, 61.3% CD27+, 15.9% CD28+, 47% Kappa+ și 53% Lambda+. În 25% din cazuri s-au identificat deleții totale sau parțiale de 1p, în 45% din cazuri duplicație de 1q, în 45% din cazuri deleție de 13q sau monosmie de 13, în 11.3% din cazuri deleție de 17p, iar în 54% din cazuri cariotip hiperdiploid.

Concluzie: O mai bună caracterizare a PC clonale din punct de vedere imunofenotipic și genetic poate contribui important la stabilirea prognosticului, la stratificarea riscului și stabilirea strategiilor terapeutice în cazul pacienții cu MM.

Cuvinte cheie: Mielom Multiplu, SNParray, CD138+.

VINERI 07.06 2019

PLENARY REPORTS 5 - QUALITY MANAGEMENT; AUTOMATION; PROFESSION REGULATIONS

IN VITRO DIAGNOSTICS AND EVOLVING REGULATORY CHALLENGES IN LABORATORY MEDICINE

Tomris Ozben

Akdeniz University Medical Faculty Dept. of Clinical Biochemistry 07. 05. 8 Antalya Turkey
IFCC Executive Board, Treasurer, Foundation for Emerging Nations (FEN), Member of the Board of
Directors, BCLF, Past-President, Executive Board Member

In vitro diagnostics (IVDs) provides objective information supporting “Evidence Based Medicine” constituting a basis for accurate and fast diagnosis which leads to appropriate and more effective therapy, targets drug treatments according to patient’s response, causes reduction of morbidity, provides risk prediction and reduction, allows improved compliance, monitors recovery from disease and effects of treatment which allow for reassessment and updating of therapy, shortens length of hospital stay, lowers risk of hospital infection, and improves the quality of life of patients. Clinicians are under increasing pressure for better clinical outcomes, and IVDs contribute positively to the quality of health care through screening, diagnosis, monitoring therapy, assessment of medical interventions and therapy. IVDs are a clear and rational investment in health care. IVDs have a broad scope ranging from sophisticated technologies at the cutting edge of research and development performed in clinical laboratories to simple self-test. The overall IVD market will double over the next 10 years, driven by an aging population and an increase in non-communicable and chronic diseases in both mature and emerging markets in spite of changes and challenges, increasing pressures to prove medical value, and a more stringent regulatory environment. The next-generation of POC platforms are expected to grow slightly faster than the central lab market. The *in Vitro* Medical Devices Directive (IVDD) 98/79/EC, introduced in 1998 was not capable of regulating all new technical and medical developments. Several weaknesses in the IVDD were identified: new developments regarding genetic testing and companion diagnostic devices that are not specifically addressed in the IVDD, the need to better align with international guidelines— including a risk-based classification system—and the lack of control over high risk “in-house” tests. The new European *In Vitro* Diagnostic Regulation (IVDR), published in the Official Journal of the European Union on May 5, 2017, entered into force on May 25, 2017. The official transition period to full implementation is five years. The biggest change is the introduction of a risk-based approach to classification in combination with increased Notified Body (NB) oversight. The new EU regulations create a new environment for IVD companies in terms of product development, management of product lifecycle, and commercialization approach. IVD companies need to re-register their entire IVD portfolio under the new regulation by the end of the five-year transition period. So, this will require additional efforts in terms of personnel and additional costs. The IVDR is applicable to all devices sold or marketed within the European Union (EU), with no distinction as to where they are marketed. CE Marking requirements, clinical and perfor-

mance requirements, post-market vigilance and surveillance, a new device identification system based on Unique Device Identifiers (UDI) as well as a European databank on medical devices (EUDAMED) are introduced as new concepts for the IVDR. Clinical evidence demonstrates scientific validity, analytical performance, clinical performance, performance evaluation and their mutual relationship. IVD Manufacturers are required to develop post-market surveillance reports to monitor specific elements of safety, clinical performance, and risk/benefit ratios which may lead to a completely new infrastructure for innovation in the field of IVDs in the European Union.

Keywords: Total Quality Management, Errors & Traceability in Laboratory Medicine; Artificial intelligence; In Vitro Diagnostic Regulation; Visibility of Laboratory Medicine.

R13 THE ROLE OF LABORATORY MEDICINE IN THE ERA OF PRECISION MEDICINE

Minodora Dobrea^{1,2}, Oana Oprea²

*1. Department of Laboratory Medicine, University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology
Tîrgu Mureş*

2. Central Medical Laboratory of Emergency Clinical Hospital Tîrgu Mureş

Precision medicine (PM) identify which approaches will be effective for which individuals and classify subjects into subgroups that differ in their predisposition to a particular pathology they may develop, or in their response to a particular treatment.

The discovery of new biomarkers is a continuing concern in terms of improving the precision of healthcare. Simultaneously screening of extended panels of multiple biomarkers with reasonable costs is possible using multiplex technologies. Analytical performance and clinical value of novel biomarkers determine a modest proportion of discovered biomarkers to be implemented in routine medical practice. In laboratory testing we have good current evidence for diagnostic precision, accuracy and technical efficacy, but we need more research for evaluation of patient outcome, therapeutic and societal efficacy. Filling the gap between biomarker discovery and meaningful clinical use (change of the patient outcome) is slow and challenging. Examples of current “Gold standard” biomarkers in use will be given and their limits will be discussed. Targeted multiple biomarker panels considered a superior aproaches of PM for early diagnosis, risk stratification, decision support, prognostication, monitorization and/or optimization of therapies, compared with a single biomarker are discussed.

The molecular diagnostic - the fastest growing field within laboratory testing produced a long list of molecular diagnostic tests used in laboratories for unexplained disorders:

- for identification of genetic variants as the basis of disease
- drug-gene testing for more precise medications - pharmacogenomics
- genomic tests for more precise management of cancer

The importance of liquid biopsies (cell-free circulating DNA/RNA, circulating tumor cells, i.e.) will be also presented.

Laboratory medicine has a key role in the development of PM by high level of expertise and modern technologies used in daily practice but some ethical, technical, legal and financial challenges still exist.

Keywords: Precision medicine, multiplex techniques, molecular diagnostic

ROLUL MEDICINEI DE LABORATOR ÎN ERA MEDICINEI DE PRECIZIE

Medicina de precizie (MP) identifică abordarea cea mai potrivită pentru un anumit individ, clasificând în subgrupuri subiecții care diferă din punctul de vedere al predispoziției la o anumită boală, sau a modului de răspuns la un tratament anume.

Descoperirea de noi biomarkeri este o preocupare continuă, în sensul îmbunătățirii preciziai asistenței medicale. Screening-ul simultan cu costuri rezonabile al unor paneluri extinse de potențiali biomarkeri, este posibilă grație tehnologiilor multiplex. Performanțele analitice și valoarea clinică a biomarkerilor nou descoperiți face ca o proporție relativ modestă a acestora să poată fi implementată în practica medicală. În testarea de laborator avem evidențe solide pentru precizia și acuratețea testelor, dar avem nevoie de cercetări suplimentare pentru a evalua beneficiul clinic, evoluția pacienților, eficiența terapeutică. Progresul de la descoperirea noilor biomarkeri la implementarea acestora în practică este lent și dificil. Vor fi prezentate câteva exemple de biomarkeri utilizați actualmente ca “standard de aur” și limitele acestora vor fi discutate. Comparativ cu markerii singulari, utilizarea panelurilor multiple de biomarkeri este considerată o abordare superioară a MP pentru diagnosticul precoce, stratificarea riscului, prognosticului, deciziei terapeutice, monitorizarea și/sau optimizarea terapiei.

Diagnosticul molecular – domeniul cu progresul cel mai rapid, a produs o lungă listă de teste de diagnostic utilizate deja în laboratoarele medicale pentru:

- identificarea unor variante genetice ca și predispoziție pentru anumite patologii
- testarea unor variante farmacogenetice pentru o mai precisă recomandare/conducere a medicației/tratamentului
- teste genetice pentru un mai bun management al cancerului

Importanța biopsiei lichide (celule tumorale circulante sau DNA/RNA plasmatic liber) va fi de asemenea prezentată.

Medicina de laborator are un rol cheie în implementarea MP, prin expertiza de specialitate și tehnologiile moderne utilizate în practica curentă, dar rămân de surmontat provocări etice, tehnice, legale și financiare.

Cuvinte cheie: Medicina de precizie, tehnici multiplex, diagnostic molecular

R14 EQUIPMENTS AND IN VITRO DIAGNOSTIC REAGENTS – IMPLICATIONS OF NEW EUROPEAN REGULATION 746/2017

Gabriel Ionescu

1. National Institute for Medical and Military Research and Development “Cantacuzino”, București,
România

2. U.M.Ph. ”Carol Davila” București, România

Introduction: Stimulated by the technological progress, the *in vitro* diagnostic medical devices (IVD) market has developed significantly over the last decades, the upgrade of the regulatory framework has become necessary. At European level has resulted the adoption in 2017 of (EU) Regulation 2017/746.

Materials and methods: The new IVD regulations at European level and the current framework as implemented in Romanian law were compared in order to identify the modifications and consequences of this change.

Results: The changes and main implications for both manufacturers and users, medical professionals and patients, include:

- a more rigorous quality control of IVDs based on notified certification bodies, reference laboratories, independent experts and more efficient post-market surveillance mechanisms applied by the producers themselves and the authorities, which will ensure a high level of safety and health for patients;
- a unique device identification system (UDI) and centralized registration of IVDs and manufacturers in the EUDAMED database, which will lead to increased traceability and transparency, as well as simplification of registration procedures;
- a strong financial mechanism for compensating patients for damage.

Conclusions: The new European regulation will create a sustainable and predictable European framework that will increase the confidence of patients and health professionals in the IVDs and strengthen the EU's role as a long-term global leader in this area.

Keywords: *in vitro* diagnostic medical device, European regulation, UDI, EUDAMED

ECHIPAMENTE ȘI REACTIVI DE DIAGNOSTIC IN VITRO – IMPLICAȚIILE NOULUI REGULAMENT EUROPEAN 2017/746

Introducere: Stimulată de progresele tehnologice și științifice, piața dispozitivelor medicale de diagnostic in vitro (IVD) s-a dezvoltat semnificativ în ultimele 2 decenii, devenind astfel necesară actualizarea cadrului reglementar. La nivel european, acest lucru s-a concretizat prin adoptarea în 2017 a Regulamentului (UE) 2017/746.

Material și metode: Au fost studiate comparativ noile reglementări în domeniul IVD-urilor la nivel european și cele care constituie cadrul actual transpus în legislația din România, pentru a identifica modificările și consecințele acestei schimbări.

Rezultate: Sunt prezentate principalele modificări și impactul acestora pentru producători dar și pentru utilizatori, profesioniști din domeniul medical și pacienți; printre acestea se numără:

- un control mai riguros al calității IVD-urilor prin organisme de certificare notificate, laboratoare de referință, experti independenți și mecanisme de supraveghere post introducere pe piață de către producătorii însăși și de autorități, asigurând un nivel înalt de siguranță și sănătate pentru pacienți;
- un sistem unic de identificare (UDI) și de înregistrare centralizată a IVD-urilor și producătorilor în baza de date EUDAMED, care vor conduce la o trasabilitate și transparență sporite precum și la o simplificare a procedurilor de înregistrare;
- un mecanism finanțier robust pentru compensarea pacienților în cazul unor prejudicii.

Concluzii: Noul regulament european va crea un cadru european sustenabil și previzibil, ce va conduce la creșterea încrederii pacienților și profesioniștilor din domeniul medical în utilizarea IVD-urilor și la consolidarea poziției UE ca lider global pe termen lung în acest sector.

Cuvinte cheie: dispozitiv medical de diagnostic *in vitro*, regulament european, UDI, EUDAMED

R15. POINT OF CARE TESTING: ADVANTAGES, DIFFICULTIES AND CHALLENGES

Ioana Brudașcă

University of Medicine and Pharmacy Iuliu Hațieganu Cluj Napoca

Point of care testing (POCT) system has a major impact in quick clinical decision making (especially in intensive care units, operating rooms, emergency departments), as well as in long term self monitoring for patients with chronic diseases such as diabetes.

POC technology uses two large categories of devices: small handheld and bench-top devices (variants of the ones used in core-laboratories). Emerging technologies include wearable devices (contact lens glucose sensors, tattoo-based sensors) and smart holograms.

The major benefits of POCT are rapid results availability, shorter therapeutic turnaround time and reduced patient length of stay, smaller specimens, reduced preanalytic and postanalytic errors, all of the above resulting in increased convenience for clinicians.

The main disadvantages are related to the operators (tests performed by poorly trained non laboratory staff), to the test performance (imprecision, inaccuracy and quality control issues, narrower measuring intervals for some analytes) and difficulties in connecting and integrating data with the hospital/laboratory information system. The cost of POCT is higher than conventional testing, but it is balanced by the improved therapeutic turnaround.

The core laboratory should supervise POC including on how to select the right products, and where and how to apply new technologies in relation to existing tests, guidance on risks, benefits, cost-effectiveness and quality assurance, staff training.

Keywords: Point of care testing, advantages, difficulties

TESTAREA ÎN SISTEM POINT OF CARE: AVANTAJE, DIFICULTĂȚI ȘI PROVOCĂRI

Testarea în sistem Point of care (POCT) are un impact major în rapiditatea cu care se poate lua o decizie clinică (mai ales în secții de terapie intensivă, săli de operație, unități de primire a urgențelor), precum și în auto-monitorizarea pacienților cu boli cronice aşa cum este diabetul.

Testarea POC utilizează două tipuri principale de dispozitive: portabile și de tip bench top (similară celor din laboratorul clasic). Tehnologiile emergente propun dispozitive portabile (lentile de contact cu senzori pentru glicemie, tatuaje cu senzori) și holograme inteligente.

Beneficiile majore ale testării POC sunt eliberarea rapidă a rezultatelor, reducerea turnaround time, reducerea duratei de spitalizare a pacientului, volume mici de probă, reducerea erorilor preanalitice și postanalitice, toate acestea fiind în beneficiul clinicianului.

Principalele dezavantaje sunt legate de operatori (teste sunt executate de personal fără pregătire de laborator), de performanțele analitice (imprecizie, inacuratețe, interval îngust de măsurare pentru unele analități), probleme legate de controlul de calitate, și dificultăți legate de conectarea și integrarea datelor în

sistemul informatic al laboratorului sau al spitalului. Costul testării în sistem POC este mai mare decât al testărilor convenționale, dar este compensat prin reducerea turnaround time terapeutic.

Laboratorul central trebuie să supervisezeza POC, în privința alegerii echipamentelor adecvate, a managementului riscului, a raportului cost eficiență, a controlului de calitate și a instruirii personalului.

Cuvinte cheie: Point of care, avantaje, dificultăți

C10 INCERTAINTIES IN THE WORLD OF INCERTAINTY. THE NECESSITY OF A NEW PARADIGM IN QC

Atilla Vandra Barna

SCJUBv, Brașov

The author, by methods of mathematical statistics, analyzes the parameters (mean, bias , SD) used in the characterization of the precision and accuracy of the results in IQC planning, in method validation, and evaluation of laboratories. There are six uncertainties identified in determining the bias (unknown true value, uncertainty of determination, bias is function of time and concentration, the distribution is expnormal, non-Gaussian and inadequate rounding) and five uncertainties in determining the SD, i.e. inaccurate parameter determination, expnormal distribution is asymmetrical and SD meaning is different, distribution of some sources of errors is rectangular and sinusoidal, rounding, and the use of different statistical populations handled as normal distribution. The difference between SD repeatability and SD reproducibility is analyzed. The author concludes that a new paradigm, a new way of thinking in QC is necessary.

Keywords: quality control, median, bias, SD, normal, distribution, error

INCERTITUDINI IN LUMEA INCERTITUDINII. NECESITATEA UNEI PARADIGME NOI IN QC

Autorul analizează prin metodele statisticii matematice parametrii (media, deplasarea, SD) utilizati în caracterizarea preciziei si exactității rezultatelor, în planificarea IQC, în validări de metodă, respectiv evaluarea laboratoarelor. Sunt identificate șase incertitudini în determinarea deplasării (necunoașterea valorii adevărate, incertitudinea determinării, deplasarea este funcție de timp și concentrație, distribuție expnormală, negaussiană, și rotunjirea neadecvată) respectiv cinci incertitudini în determinarea SD: imprecizia determinării parametrului, distribuția expnormală este asimetrică și semnificația SD este diferită, unele surse de erori au distribuție dreptunghiulare și sinusoidale, respectiv utilizarea unor populații statistice diferite, tratate ca distribuții normale. Este analizată diferența dintre SD repeatabilitate și SD reproducibilitate. Concluzia autorului: este nevoie de o nouă paradigmă, un mod de gândire nou în QC.

Cuvinte cheie: control de calitate, mediana, deplasare, SD, distribuție, erori

C11 INDICATORS USED IN THE RISK MANAGEMENT OF A CLINICAL LABORATORY

Remona Eliza David, Minodora Dobrea

Department of Laboratory Medicine, University of Medicine, Pharmacy, Sciences and Technology of Tîrgu Mureș

Introduction: The main objective of the paper is to establish how indicators can be used in risk management and how it can be implemented. KRIs (Key Risk Indicators) must not be confused with KPIs (Key Performance Indicators). The two types of indicators should be implemented by any clinical laboratory that wants to be effective in its management. KPIs and KRIs are often mistaken. It is necessary for the risk manager to be able to distinguish between them. The key performance indicators focus especially on the historical performance of the laboratory, these are important for a successful management. KRIs offer information about emerging risks. The difference between KPIs and KRIs is that KPIs tell us if we will achieve our goals, and KRIs help us understand changes in risk profile, impact and likelihood to achieve our goals.

Material and method: In this study, in the initial phase, we presented the steps which must be followed for implementing KRIs. In the second phase, we made the distinction between risk indicators and performance indicators. The last phase of the study, refers to the importance of monitoring and measuring the risks in the clinical laboratory.

Results and conclusions: The risk is generated by the uncertainty. It must be monitored using key risk indicators that do this while running the strategy chosen. The acceptance thresholds were set for KRI in order to trigger actions to adjust the chosen strategies to combat the risk. When the strategies are reviewed, there are new risk indicators established. This procedure increases the chance of achieving the objectives and strategies chosen by management.

Keywords: risk management, performance indicators, risk indicators

INDICATORII FOLOSITI ÎN MANAGEMENTUL RISCURILOR UNUI LABORATOR CLINIC

Introducere: Obiectivul principal al lucrării este de a stabili modul în care indicatorii pot fi utilizati în managementul riscurilor, și modul în care acesta poate fi implementat. Indicatorii de risc (KRI) nu trebuie confundați cu indicatorii de performanță (KPI). Cele două tipuri de indicatori ar trebui implementați de orice laborator clinic care își dorește un management eficient. Indicatorii de performanță și indicatorii de risc (KPI și KRI) sunt adesea confundați. Este necesar ca managerul de risc să poată să îi diferențieze. Indicatorii de performanță se concentrează în special pe performanța istorică a laboratorului, aceștia sunt importanți pentru un management de succes. KRI oferă informații despre riscurile emergente. Diferența dintre cele 2 tipuri de indicatori sunt acelea că KPI ne spune dacă ne vom atinge obiectivele, iar KRI ne ajută să înțelegem schimbările în profilul de risc, impactul și probabilitatea de a atinge obiectivele.

Material și metodă: În acest studiu, în etapa inițială, am prezentat etapele care trebuie urmate pentru implementarea KRI. În etapa a doua, am făcut diferențierea între KPI și KRI. Ultima etapă a studiului face referire la importanța monitorizării și măsurării riscurilor în laboratorul clinic.

Rezultate și concluzii: Riscul este generat de incertitudine. Acesta trebuie monitorizat folosind indicatori de risc, care fac acest lucru în timp ce se desfășoară strategia aleasă. Au fost stabilite limitele de acceptare pentru indicatorii de risc, cu scopul de a declanșa acțiuni de ajustare a strategiilor alese pentru a combate riscul. Atunci când strategiile sunt revizuite, sunt stabiliți noi indicatori de risc. Această procedură sporește șansa de a atinge obiectivele și strategiile alese de conducere.

Cuvinte cheie: managementul riscurilor, indicatori de performanță, indicatori de risc

C11BIS PARTICIPATION OF ROMANIAN MEDICAL LABORATORIES AT EXTERNAL QUALITY CONTROL

Georgeta Sorescu¹, Constanța Popa², Cătălin Gabriel Dinulescu¹

1. CALILAB, Bucharest, România, 2. OBBCSSR, Bucharest, România

Introduction According to World Health Organization – External Quality Control (EQC) offers opportunities of activity improvement (OFIs) to participating medical laboratories.

Materials and methods The coefficient of variation (CV) utilized in evaluating the performance of medical analysis laboratories was calculated and analyzed for a number of 246 laboratories participating in external quality control in the field of Hematology and 340 laboratories participating in the field of serum biochemistry.

The average CV of the results reported by the laboratories participating in the external quality control organized by CALILAB in Romania for the analytes/parameters of the studied schemes was compared with the CV value presented in the literature.

Results CV values obtained at external quality control for the parameters / analytes studied in 2018 decreased on average from CV obtained in 2008 by 64.75% for hematology and 50.41% for serum biochemistry.

CV values obtained at CALILAB in 2018 for the studied hematology parameters are on average 58.53% lower than the minimum performance specifications accepted by the Spanish organizers (EQAP 2015).

In 2018, the mean CV of the domain serum biochemistry obtained from glucose is 5.1%, total cholesterol is 5.03%, iron - 6.77%, urea - 6.38%, uric acid - 5.98%, and AST - 7.12%.

Conclusions The CVs obtained at the EQC for all analytes studied in 2018 decreased compared to the CVs obtained in 2008. CVs studied by CALILAB in 2018 have lower values than CV values established by consensus of international external quality control organizers at international level.

Keywords: laboratory, EQC, CV.

PARTICIPAREA LABORATOARELOR MEDICALE DIN ROMÂNIA LA CONTROLUL EXTERN AL CALITĂȚII

Introducere Conform Organizației Mondiale a Sănătății - Controlul extern al calității (EQC) oferă oportunități de îmbunătățire (OFIs) a activității laboratoarelor medicale participante.

Materiale și metode Coeficientul de variație (CV) utilizat la evaluarea performanței laboratoarelor de analize medicale a fost calculat și analizat pentru un număr de 246 laboratoare participante la contro-

lul extern al calității din domeniul Hematologie și 340 laboratoare participante la schema din domeniul Biochimie serică.

Valoarea medie a CV a rezultatelor raportate de laboratoarele participante la controlul extern al calității organizat de CALILAB în România pentru analiții/parametrii schemelor luate în studiu a fost comparată cu valoarea CV prezentată în literatura de specialitate.

Rezultate Valorile CV obținute la controlul extern al calității pentru parametrii/analiza studiați în 2018 au scăzut în medie față de CV obținuți în 2008 cu 64,75% la hematologie și cu 50,41% la biochimie serică.

Valorile CV obținute la CALILAB în 2018 pentru parametrii din hematologie studiați sunt mai mici în medie cu 58,53% față de specificațiile minime de performanță acceptate (CV) de organizatorii spanioli (EQAP 2015).

În 2018 valoarea medie a CV din domeniul biochimie serică obținută la glucoză este 5,1%, la colesterol total este 5,03%, fier - 6,77%, uree - 6,38%, acid uric – 5,98% și TGO – 7,12%.

Concluzii Valorile CV obținute la EQC pentru toți analiza studiați în 2018 au scăzut față de valorile CV obținute în 2008. CV studiați de CALILAB în 2018 au valori mai mici decât valorile CV stabiliți prin consensul organizatorilor de control extern al calității la nivel internațional.

Cuvinte cheie: laborator, EQC, CV.

PLENARY REPORTS 6 - ADVANCES IN LABORATORY DIAGNOSTICS IN ONCOLOGY

R16. TUMOR MICROENVIRONMENT METABOLIC MARKERS

Eugen Carasevici

TRANSCEND Research Centre, Regional Institute of Oncology, Iasi, Romania

Cancers are illegitimate organs that include, besides neoplastic cells, a non-malignant stromal cellular network interspaced with extracellular matrix. This cellular aggregate is the tumor microenvironment where, alongside the malignant cells, there are cells of the immune system, vascular endothelium, fibroblasts, pericytes, adipocytes. Thus tumors become lively pseudo-organisms that adapt their metabolic properties in two ways: malignant transformed cells prevent the tissue normalization by microenvironment biochemical intervention, and the microenvironment switches functionally to support carcinogenesis, progression and metastasis. Tumor-stromal interaction induces hypoxia and acidosis and modifies gene expression in both malignant and normal epithelial cells. Metabolic alterations support invasion and create new neoplastic niches less favorable to intercellular competition or immune system counteraction. A common feature of many cancers is the generation of a hypoxic and acidic environment as a result of increased glycolysis and increased lactic acid production. The acidic environment reduces the viability and function of normal cells, including immune cells. Hypoxia, acidosis and increased ATP production create a selective advantage of malignant cells, produce stromal remodeling and angiogenesis, and abolish immunosurveillance by recruiting suppressor myeloid-derived cells. Exploiting the interaction between tumor and host metabolism can provide new diagnostic elements and therapeutic targets.

Keywords: Tumor microenvironment, metabolism, markers

MARKERI METABOLICI IN MICROMEDIUL TUMORAL

Cancerele sunt organe ilegitime care cuprind pe lângă celulele neoplazice o rețea celulară stromală non- malignă pe o matrice suport extracelulară. Acest agregat celular constituie micromediul tumoral unde pe lângă celulele maligne, se află celule ale sistemului imun, endoteliile vasculare, fibroblasti, periciti, adipoci. Astfel tumorile devin pseudoorgane dinamice care își adaptează proprietățile metabolice bidirecțional, celulele transformate malign previn intervenția biochimică a micromediului de normalizare tisulară, iar micromediul comutează funcțional pentru a susține carcinogeneza, progresia și metastaza. Interacțiunea tumoră-celule stromale induce pe calea hipoxiei și acidozei modificări ale expresiei genelor atât în celulele epiteliale maligne cât și în cele normale. Alterările metabolice favorizează invazia și crează noi nișe neoplazice mai puțin favorabile competiției intercelulare sau acțiunii de contracarare a sistemului imun. O trasatură comună multor cancere este generarea unui mediu hipoxic și acid ca rezultat al creșterii glicolizei și producerii sporite de acid lactic. Mediul acid reduce viabilitatea și funcțiile celulelor normale, inclusiv celulelor imune. Hipoxia, acidoză și producția crescută de ATP creează un avantaj selectiv celulelor maligne, produce remodelare stromală și angiogeneză și abolirea imunosupravegherii prin recrutarea celulelor mieloide supresoare. Exploatarea interacțiunii dintre metabolismul tumoral și cel al gazdei poate furniza noi elemente de diagnostic și ținte terapeutice.

Cuvinte cheie: Micromediu tumoral, metabolism, markeri

R17 TUMORICID POTENTIAL OF CATIONIC PEPTIDES TESTED ON TUMOR CELL LINES

Daniela Jitaru ^{1,2}, Loredana Hanganu ¹, Elena Petrescu ², Gabriela Bordeianu ²,
Bogdan Diaconescu ³, Magda Badescu ³

1. Regional Institute of Oncology, Iasi, Romania

2. UMF „Grigore T Popa” Biochemistry Department, Iași

3. UMF „Grigore T Popa” Physiology Department, Iași

Introduction: Cancer, a major cause of morbidity and mortality worldwide, implies cytostatic therapy with undesirable side effects, which could be reduced by using some cytotoxic antimicrobial peptides.

Material and method. Tumor cell viability was determined by MTT technique and flow cytometry, while gene expression of molecular targets involved in the molecular pathways of survival, growth, proliferation and apoptosis of these, in the presence or absence of the studied peptides, was determined by optimized molecular biology techniques.

Results: Dermaseptin activated tumor cell apoptosis, especially for the HT 29 line (colorectal carcinoma), but also for A549 (pulmonary alveolar carcinoma), by increasing gene expression for CHOP, which was directly influenced by the increase in gene expression for XBP as a result of oxidative stress, but also by lowering Bcl2 gene expression, meaning increased toxicity for these cells under the action of the peptide. Cell proliferation was inhibited by decreasing Nrf2 gene expression and the decrease in cell survival was evidenced by the decrease in HIF1alpha gene expression, in correlation with the increase in IRE 1alpha gene expression, as a result to cellular oxidative stress under the action of the peptide. CHOP genes, Bcl2 (involved in apoptosis's activation), AKT (thorough the inhibition of protein synthesis) and Nrf2 (important role in tumor proliferation and invasion) may be molecular targets for malignant tumors in order to monitor the therapeutic effect of lyctotoxin.

Conclusions: Studies have shown that some cationic peptides have a tumoricidal potential, therefore being a close interdependence between the peptide dose and the magnitude of the effect / type of cell line used experimentally.

Keywords: cancer, cell line, peptides

PEPTIDE CATIONICE CU POTENȚIAL TUMORICID TESTATE PE LINII CELULARE TUMORALE

Introducere: Cancerul, cauză majoră de morbiditate și mortalitate în întreaga lume, include în terapia sa citostatice cu efecte secundare indesirabile, care ar putea fi însă reduse, utilizând unele peptide antimicrobiene citotoxice.

Material și metodă: Viabilitatea celulelor tumorale a fost determinată prin tehnica MTT și citometrie în flux, în timp ce expresia genică a țintelor moleculare implicate în căile moleculare de supraviețuire, creștere, proliferare și apoptoză ale acestora, în prezența sau absența peptidelor studiate, a fost determinată prin tehnici de biologie moleculară optimizate *in house*.

Rezultate: Dermaseptinul a activat apoptoza celulelor tumorale mai ales pentru linia HT 29 (carcinom colorectal) dar și pentru A549 (carcinom alveolar pulmonar), atât prin creșterea expresiei

genice pentru CHOP, care a fost influențată direct de creșterea expresiei genice pentru XBP, ca urmare a instalării stresului oxidativ, cât și prin scăderea expresiei genice Bcl2, însemnând toxicitate crescută pentru aceste celule sub acțiunea peptidului. Proliferarea celulară a fost inhibată prin scăderea expresiei genice Nrf2, iar scăderea supraviețuirii celulare a fost evidențiată prin scăderea expresiei genice HIF 1alfa, în corelație cu creșterea expresiei genice IRE 1alfa, care s-a datorat stresului oxidativ la nivel celular sub acțiunea peptidului. Genele CHOP, Bcl2 (prin activarea apoptozei), AKT (prin inhibarea sintezei proteice) și Nrf2 (rol în proliferarea și invazia tumorală) pot fi ţinte moleculare pentru tumori maligne în scopul monitorizării efectului terapeutic al lycotoxinului.

Concluzii: Studiile efectuate au demonstrat faptul unele peptide cationice, au potențial tumoricid existând o interdependență strânsă între doza de peptid și magnitudinea efectului / tipul de linie celulară utilizată experimental.

Cuvinte cheie: cancer, linie celulară, peptide

C12 EGFR GENOTYPING IN NON SMALL CELL LUNG CANCER

Iuliu Cristian Ivanov ^{1,2}, Loredana Mihaela Dragos ^{1,2}, Irina Cezara Vacarean-Trandafir ², Adriana Sireteanu ¹, Carmen Cozmei ¹, Mihaela Mențel ², Valentina Loredana Nemțanu ³, Eugen Carasevici ², Daniela Jitaru ^{1,2}

1. Laboratory of Medical Analyzes, Regional Institute of Oncology, Iasi, Romania

2. Center of Research Transcend, Regional Institute of Oncology, Iasi, Romania

3. Orygin Fertility Center

Introduction: EGFR (Epidermal Growth Factor Receptor) is a tyrosine kinase receptor (TK) belonging to the ErbB family. EGFR genotyping in tumor tissue has predictive value for response to treatment with thirosine-kinase inhibitors (TKI) in patients with non-small cell lung cancer (NSCLC). Tissue samples suitable for molecular analysis may sometimes be difficult to obtain, and the biopsy may not be representative for tumors with high heterogeneity, and can't provide information about additional genetic changes.

Material and Method: The study includes 374 patients diagnosed in IRO Iasi Medical Diagnosis Laboratory from December 2016 to February 2019. For DNA extraction we used formalin-fixed paraffin-embedded tissue (FFPE) specimens and liquid biopsy and for genotyping were used the Cobas z480 qualitative RealTimePCR technique.

Results: Only in 5 samples the DNA was too damaged to be amplified and in 12 cases the paraffin block didn't have tumor tissue anymore. In 301 samples the EGFR mutations wasn't present. From those, 36 samples had a small tumor cell count (less than 10%) and a retesting from a new sample was indicated. EGFR mutations were identified in 56 samples. The most frequent mutation was Ex19del (27 cases), followed by L858R (19 cases). The T790M mutation was only identified in 3 samples in combination with Ex19del (2 cases) and L858R (one case).

Conclusions: Investigation of „trigger” mutations in the EGFR gene is very useful for diagnosis and target therapy instauruation, but also for evaluating treatment response and early identification of relapses in liquid biopsy specimens or a new tissue biopsy.

Keywords: genotyping, lung cancer, EGFR

GENOTIPAREA EGFR ÎN CANCER PULMONAR NON-MICROCELULAR

Introducere: EGFR (Receptorul pentru Factorul de Creștere Epidermală) este un receptor tirozin-kinazic (TK) ce aparține familiei ErbB. Testarea mutațiilor EGFR în țesutul tumorul are valoare predictivă asupra răspunsului la tratamentul cu inhibitori tirozinkinazici la pacienții cu CPNMC (*Cancer pulmonar non-microcelular*). Probele tisulare adecvate pentru analiza moleculară pot fi uneori dificil de obținut, biopsia poate să nu fie reprezentativă în cazul tumorilor cu heterogenitate crescută și nu poate aduce informații asupra modificărilor genetice adiționale.

Material și metodă: Studiul cuprinde pacienți diagnosticați în Laboratorul de Analize Medicale IRO Iași în perioada decembrie 2016 – februarie 2019, prin tehnica RealTimePCR calitativ pe platforma Cobas z480, cu probe obținute din țesut parafinat și din plasmă.

Rezultate: Din cele 374 de probe analizate, pentru 5 s-a obținut ADN neamplificabil, iar la 12 cazuri blocul de parafină nu a mai prezentat celule tumorale. La 301 probe nu s-au identificat mutațiile EGFR investigate, 36 din ele având procent mic de celule tumorale (sub 10%), pentru care s-a indicat repetarea testării dintr-o nouă probă de țesut sau biopsie lichidă. În 56 probe au fost identificate mutații EGFR, cea mai frecvență fiind Ex19del (27 cazuri), urmată de L858R (19 cazuri). Mutată T790M a fost identificată doar în 3 probe în combinație cu Ex19del (2 cazuri) și L858R (un caz).

Concluzii: Investigarea mutațiilor “trigger” la nivelul genei EGFR este foarte utilă pentru diagnostic și instaurarea terapiei țintite, dar și pentru evaluarea răspunsului la tratament și identificarea precoce a recăderilor pentru probe din biopsie lichidă sau pe o nouă biopsie.

Cuvinte cheie: genotipare, Cancer pulmonar, EGFR

C13 TUMORAL MARKERS IN COLORECTAL CANCER

Iuliu Cristian Ivanov^{1,2}, Loredana Mihaela Dragos^{1,2}, Irina Cezara Vacarean-Trandafir², Adriana Sireteanu¹, Carmen Cozmei¹, Mihaela Mențel², Valentina Loredana Nemtanu³, Eugen Carasevici², Daniela Jitaru^{1,2}

1. Laboratory of Medical Analyzes, Regional Institute of Oncology, Iasi, Romania

2. Center of Research Transcend, Regional Institute of Oncology, Iasi, Romania

Orygin Fertility Center

Introduction: Colorectal cancer is the most common type of cancer in Europe and the third most common in the world. Molecular tumor markers play an important role in the diagnosis and treatment of colorectal cancer and contribute to the choice of therapy strategy for each patient. Specific KRAS gene mutations may predict the response to a particular targeted therapy. Mutations in NRAS and BRAF genes are predictive for prognosis after establishing of the diagnosis.

Material and Method: The current study included 216 patients diagnosed with colorectal cancer in Regional Oncology Institute from Iasi. Identification of trigger mutations in the KRAS, NRAS and BRAF genes was made by reverse-hybridization assay using the ViennaLab Diagnostics XL kits. **Results:** Mutations in the investigated genes were identified in 115 (53.2%) samples; 92 samples were positive for KRAS, 11 samples for NRAS and 12 samples for BRAF. The most common mutations in the KRAS

gene were G12D (21 samples), G13D (20 samples) and G12V (17 samples). The mutations identified in the NRAS gene were 63.6% in codon 61 and in BRAF gene only codon 600 mutations (V600E) were identified.

Conclusions: Investigation of trigger mutations in the genes involved in the EGFR signaling cascade are routinely used for diagnosis and therapy instaurat, with a predictive role for response to treatment. A requirement for the complete assessment of the patient with colorectal cancer is the molecular investigation of the markers that were evaluated in the study, but also the extension of the key molecule panel with TP53 and PIK3CA.

Keywords: colorectal cancer, tumor markers, targeted therapy

MARKERI TUMORALI ÎN CANCERUL COLORECTAL

Introducere: Cancerul colorectal este cel mai frecvent tip de cancer din Europa și al treilea cel mai frecvent din lume. Markerii tumorali moleculari au rol important în diagnosticul și tratamentul cancerului colorectal și contribuie la alegerea algoritmului de terapie potrivit fiecărui pacient. Mutățiile specifice în gena KRAS pot prezice răspunsul la o anumită terapie țintită. Mutățiile în genele NRAS și BRAF sunt considerate predictive pentru prognostic după stabilirea diagnosticului de certitudine.

Material și metodă: Studiul cuprinde un lot de 216 pacienți diagnosticați cu cancer colorectal în Institutul Oncologic Iași, la care s-a urmărit identificarea mutățiilor trigger în genele KRAS, NRAS și BRAF prin metoda revers-hibridizării pe stripuri, cu ajutorul kit-urilor ViennaLab Diagnostics XL.

Rezultate: La un număr de 115 (53,2%) probe au fost identificate mutății la genele investigate; 92 probe fiind pozitive pentru KRAS, 11 probe pentru NRAS și 12 probe pentru BRAF. Cele mai frecvente mutății în gena KRAS au fost G12D (21 probe), G13D (20 probe) și G12V (17 probe). Mutățiile identificate în gena NRAS au fost în procent de 63,6% în codonul 61, iar pentru BRAF s-au identificat mutății doar în codonul 600 (V600E).

Concluzii: Investigarea mutățiilor “trigger” la nivelul genelor implicate în cascada de semnalizare EGFR este utilizată în rutină pentru diagnostic și instaurarea terapiei, având și rol predictiv pentru răspunsului la tratament. O cerință necesară în evaluarea cât mai completă a pacientului cu cancer colorectal este investigarea moleculară a markerilor evaluați în studiu, dar și extinderea panelului cu molecule cheie, de tip TP53 și PIK3CA.

Cuvinte cheie: cancerul colorectal, markerii tumorali, terapie țintită

C14 ORGANIZATION OF IRO STEM CELL BANK, THE IMPORTANCE OF STANDARDIZATION AND ESTABLISHMENT OF SEC

Andreea Cucu¹, Iuliu Cristian Ivanov¹, Angela Dăscălescu^{1,2}, Ion Antohe^{1,2}, Daniela Jitaru¹

1. Regional Institute of Oncology, Iasi, Romania

2. UMF “Gr.T.Popă” Iași, România

Introduction: In the stem cell bank there is processing and cryoconservation of hematopoietic stem cells (CSP) used as cell therapy in bone marrow auto- or allo-transplant in the case of haemato-oncological diseases.

Materials and methods: The organization of the BCS (Stem Cell Bank) and functional circuits has taken into account the requirements of the National Transplantation Agency (ANT) in accordance with Order 1763/2007 revised in 2017. BCS standardization is given by general procedures, specific and operational procedures developed for unit accreditation by the ANT. Due to our affiliation with the European Transplant Register, we have implemented the European Labeling Procedure with a single European code, the SEC (Single European Code). This is a unique identification code applied to the tissues and cells distributed in the European Union and the European Economic Area. The Single European Code consists of a donation identification sequence and a product identification sequence. A very important part of the donation identification sequence is the Unique Donation Number consisting of thirteen characters.

Results: As a result of the organization and standardization of Stem Cell Bank IRO we managed to obtain the accreditation from ANT and thus we can ensure the processing and cryoconservation of hematopoietic stem cells necessary for auto- or allo-transplantation for the patients from the IRO medullar transplant compartment.

Conclusions: The organization and standardization of BCS has an essential role in maintaining the quality of cryopreserved products and so we can offer a safe treatment for the patient. Due to the SEC code, the cryocit bags stored in BCS IRO can be easily identified and distributed across the European Union.

Keywords: National Transplantion Agency, Single European Code, donation

ORGANIZAREA BĂNCII DE CELULE STEM IRO IAȘI, IMPORTANTĂ STANDARDIZĂRII ȘI STABILIREA CODULUI SEC

Introducere: În Banca de celule stem are loc procesarea și crioconservarea celulelor stem hematopoetice (CSP) utilizate ca terapie celulară în auto sau allo-transplantul medular în cazul bolilor hemato-oncologice.

Materiale și metode: Pentru organizarea spațiilor BCS (Banca de celule stem) și a circuitelor funcționale s-a ținut cont de cerințele ANT (Agenției Naționale de Transplant), în conformitate cu ordinul 1763/2007 revizuit în 2017. Standardizarea BCS este dată de procedurile generale, specifice și operaționale elaborate pentru acreditarea unității de către ANT. Datorită afilierii la registrul European de transplant, am implementat conform standardelor europene procedura de etichetare cu un cod unic european, codul SEC (*Single European Code*). Acesta este un cod unic de identificare aplicat ţesuturilor și celulelor distribuite în Uniunea Europeană și Spațiul Economic European. Codul european unic constă într-o secvență de identificare a donării și o secvență de identificare a produsului. O parte foarte importantă a secvenței de identificare a donării o reprezintă *Numărul Unic de Donare* format din treisprezece caractere.

Rezultate: Ca urmare a organizării și standardizării Băncii de Celule Stem IRO Iași s-a reușit să obținerea acreditării din partea ANT și astfel se poate asigura procesarea și crioconservarea celulelor stem hematopoetice necesare auto sau allo-transplantului pentru pacienții din Compartimentul de Transplant Medular IRO Iași.

Concluzii: Organizarea și standardizarea BCS are un rol esențial în menținerea calității produselor crioconserveate putându-se oferi un tratament sigur pentru pacient. Datorită codului SEC, punctile de criocite stocate în BCS IRO pot fi identificate și distribuite ușor în spațiul Uniunii Europene.

Cuvinte cheie: Agenția Națională de Transplant, Single European Code, donare

PLENARY REPORTS 7 - MISCELLANEA, GENETICS**R18. FULL-SCAN HIGH RESOLUTION MASS SPECTRAL DATA TO IDENTIFY DRUGS IN CASES OF ACUTE POISONING.**

Alain G. Verstraete^{1,2}

1. Dept. of Laboratory Medicine, Ghent University Hospital

2. Dept. Diagnostic Sciences, Ghent University, C. Heymanslaan 1. 0, Ghent, Belgium

Introduction: overdoses represent a steady source of requests for general unknown toxicological analysis for many clinical toxicology laboratories. We will focus on the possibilities offered by high-resolution mass spectrometry.

Methods: Sample preparation was performed by mixing 50mL urine or plasma, 50mL internal standard (trimipramine-D₃) and 200mL methanol:acetonitrile (1:1 v/v). After shaking (and for serum, incubation for 30 min at -20°C) and centrifugation, the supernatant was transferred into a vial and 10mL was injected into the LC-HR-MS/MS, a Thermo Ultimate 3000 UHPLC coupled to with a Thermo Q-Exactive. The column was a Thermo Accucore phenyl hexyl 100×2.1mm, 2.6mm. The mobile phase consisted of a gradient of 2 mM ammonium formate, 0.1% formic acid in water and 2 mM ammonium formate, 0.1% formic acid and 1% water in MeOH:ACN 50:50, from 1-99% in 15.5 minutes. We used positive/negative switching ionisation mode with full scan and data-dependent acquisition.

The results were analysed with Tracefinder 3.1. The method uses a database provided by Thermo, that includes approximately 1600 drugs and metabolites.

Results: Drugs are identified by their retention time, exact mass, isotope pattern, fragment ions and MS2 mass spectrum. We experienced the following pitfalls: false positives, probably due to carryover in the sample preparation process and a few false negatives for some drugs (e.g. ibuprofen). The reporting software could be improved as many manual steps are needed in order to produce a compact report.

Conclusion: high resolution mass spectrometry provides broad-spectrum screening in a very small sample volume, but some pitfalls remain.

Keywords: high resolution mass spectrometry, drugs, acute poisoning

R19. BLOOD PLASMA LEVEL DETERMINATION USING AN AUTOMATED LC-MS^N SCREENING SYSTEM AND ELECTRONICALLY STORED CALIBRATIONS EXEMPLIFIED FOR 22 DRUGS AND TWO ACTIVE METABOLITES OFTEN REQUESTED IN EMERGENCY TOXICOLOGY

Prof. Dr. Dr. h.c. (UGent) Hans H. Maurer

*Department of Experimental and Clinical Toxicology, Saarland University,
D-6. 6. 4. 2. 1. Homburg (Saar), Germany, hans.maurer@uks.eu*

Fast and comprehensive qualitative and quantitative methods preferably by hyphenated mass spectrometry are needed to support the (differential) diagnosis of acute poisonings in emergency toxicology.

Identified and toxicologically relevant compounds should be quantified to assess severity of poisonings. The aim of the present study was to test a commercially available qualitative screening solution based on LC-MSⁿ (Bruker Daltonik Toxtyper™, TT) for quantification simultaneous with the screening process in blood plasma exemplified for 22 relevant drugs and two active metabolites. A standard liquid-liquid extraction was used for sample work-up followed by 1:5 dilution of the final extracts. They were analyzed using the TT system. Plasma levels were assessed using full-scan data and an electronically stored five-point calibration. The calibration model was linear for the studied ranges and could be used for at least two months. The method was validated according to international guidelines. The acceptance criteria recommended for emergency toxicology for accuracy and precision were fulfilled for all tested compounds, but bromazepam, lorazepam, oxycodone, and prothipendyl could reliably be determined only above the therapeutic range. In conclusion, the presented procedure allowed the combination of a comprehensive LC-MSⁿ screening with fast automated assessment of plasma levels for emergency toxicology of tested compounds.

Keywords: emergency toxicology, blood level, analysis.

R20 CORTISOL-A KEY BIOMARKER OF STRESS AND NOT ONLY

Maria Greabu

Biochemistry Department, Faculty of Dental Medicine, University of Medicine and Pharmacy "Carol Davila", București, România

Cortisol (CORT), the stress hormone, is synthesized in the adrenal cortex from cholesterol and then secreted in response to pituitary-derived adrenocorticotropic hormone (ACTH). Stress is a normal physiological response of the body to situations or stimuli which are perceived as "dangerous" to the body or, in other words, the body's response to change. Stress is becoming increasingly common in the "advanced" world, may affect the onset and progression of systemic and oral diseases and is associated with oxidative stress (OS). Cortisol has many other important functions: it modulates the emotional mood, the wakefulness, it influences cardiac activity and muscle function, decreases muscle mass and connective tissue, intervenes in bone formation and resorption, increases glomerular filtration and free water clearance, it facilitates gluconeogenesis, and exhibits potent immunomodulatory actions. Our studies showed a significant correlation between salivary and serum cortisol, as well as correlations between salivary cortisol and biomarkers reflecting antioxidant status of saliva, biomarkers of OS, of collagen degradation and bone resorption /remodeling, biomarkers of inflammation and of tumor cells progression and proliferation. Diet can influence the regulation of glucocorticoid system and cortisol release, with impact on OS, and supposedly a higher risk for Alzheimer disease. A novel, non-adrenal glucocorticoid system is present in the oral mucosa and might play an important role in systemic and oral disease, possibly being as well involved in tumor progression.

Keywords: cortisol, stress, cancer

CORTISOLUL-UN BIOMARKER CHEIE AL STRESULUI ȘI NU NUMAI

Cortisolul (CORT), hormonul stresului, este sintetizat în glandele suprarenale din colesterol și secretează ca răspuns la hormonul adrenocorticotrop (ACTH). Stresul este un răspuns fiziologic normal al

corpului la situații sau stimulente care sunt percepute ca fiind «periculoase» pentru organism sau, cu alte cuvinte, răspunsul organismului la schimbare. Stresul, tot mai frecvent în zilele noastre, poate afecta debutul și progresia bolilor sistemice și orale și este conectat cu stresul oxidativ (SO). Cortisolul are multe alte funcții importante: modulara stării emoționale și de veghe, menținerea capacitatei cardiace și a funcției musculare, scăderea masei musculare și a țesutului conjunctiv, formarea și resorbția osoasă, creșterea filtrării glomerulare și clearance-ul apei, facilitează gluconeogeneza, acțiuni imunomodulatoare. Studiile noastre au relevat corelarea semnificativă CORT salivar-CORT seric și cu alți biomarkeri studiați, care reflectă capacitatea antioxidantă a salivei, biomarkeri ai SO, degradării colagenului și resorbției / remodelării osoase, biomarkeri ai inflamației și ai progresiei și proliferării celulelor tumorale. Studiile recente demonstrează că dieta poate influența reglarea eliberării de glucocorticoizi și cortisol, fiind asociată cu un risc mai mare de apariție a bolii Alzheimer și conduce la SO. Un nou descoperit sistem glucocorticoid non-adrenal este prezent în mucoasa orală având un rol important în afecțiunile sistemice și orale, fiind asociat inclusiv cu progresia tumorala.

Cuvinte cheie: cortisol, stres, cancer

C15. EFFECT OF PLATELET-RICH PLASMA ON CHRONIC MAXILLARY SINUSITIS: A PILOT STUDY

Daniela Miricescu¹, Ioana Rusu², Alexandra Totan¹, Radu Radulescu¹, Catalina Radulescu¹, Vitali Movradin³, Mihaela Moisescu⁴, Maria Greabu¹

1. Biochemistry Department, Faculty of Dental Medicine, University of Medicine and Pharmacy "Carol Davila", București, România

2. Anatomy Department, Faculty of Medicine, University of Medicine and Pharmacy "Carol Davila", București, România

3. Privat Dental Practice, București

4. Biophysics Department, Faculty of Dental Medicine, University of Medicine and Pharmacy "Carol Davila", București, România

Introduction: Platelet-rich plasma (PRP) is a natural source of growth factors, which are involved in key stages of wound healing and regenerative processes. The aim of this study is to evaluate the effects of growth factors from PRP at patients diagnose with chronic maxillary odontogenic sinusitis (CMOS).

Material and method: We included in our pilot study five patients diagnosed with CMOS, from which we collected oral mucosa and stored in PBS solution. PRP was obtained from venous blood collection from each patient using MEAPLASMA tube and centrifugate 10 minutes at 2800 rpm. Oral mucosa cells were incubated with 2mL PRP. The control samples were represented by sinus mucosa without added of PRP. After seven days of incubation we performed cell lysis; from the lysate we measured the levels of insulin receptor (IR), insulin-like growth factor 1 receptor (IGF-1), glycogen synthase kinase 3 beta (GSK3B), glycogen synthasekinase 3 alfa (GSK3A) using an Automatic Analyzer Luminex X MAP Techonology.

Results and conclusions: Our results revealed statistically increased levels for all four parameters after PRP administration compared with the same oral cells that did not receive PRP ($p<0.005$).The

increase in IR, GSK3B, GSK3A IGF-1 concentration is due to the reduction of chronic inflammation from the maxillary mucosa level.

Keywords: inflammation, platelet-rich plasma, sinusitis

EFFECTUL PLASMEI BOGATE ÎN PLACHETE ASUPRA SINUZITEI MAXILARE CRONICE-STUDIU PILOT

Introducere: Plasma bogată în plachete (PRP) reprezintă o sursă naturală de factori de creștere care sunt implicați în etape cheie din vindecarea rănilor și a proceselor regenerative. Scopul acestui studiu este de a evalua efectele factorilor de creștere din PRP la pacienții diagnosticați cu sinuzită maxilară cronică odontogenică (SMCO).

Material și metodă: Am inclus în studiul nostru pilot cinci pacienți diagnosticați cu SMCO, de la care am colectat mucoasa orală și menținută în soluție PBS. PRP a fost obținut prin colectarea de sânge venos de la fiecare pacient folosind tuburi MEAPLASMA și centrifugat timp de 10 minute la 2800 rpm. Probele de mucoasă orale prelevate au fost incubate cu 2mL PRP. Probele control au fost reprezentate de mucoasa orală nefrata cu PRP. După șapte zile de incubare am efectuat liza celulară din care am analizat următorii biomarkeri: receptorul pentru insulină (IR), receptorul factorului 1 de creștere al insulinei (IGF-1), glicogen sintaza 3 beta kinaza (GSK3B), glicogen sintaza 3 alfa kinaza GSK3A) utilizând un analizor automat Luminex X MAP.

Rezultate și concluzii: Rezultatele noastre au evidențiat nivele crescute statistic pentru toți cei patru parametri după administrarea PRP comparativ cu aceleași celule orale care nu au primit PRP ($p < 0,005$). Creșterea concentrației de IR, GSK3B, GSK3A IGF-1 se datorează reducerii inflamației cronice de la nivelul mucoasei orale maxilare.

Cuvinte cheie: inflamație, plasmă bogată în plachete, sinuzită

R21 GENOMIC ANALYSIS IN MODERN MEDICINE

Eusebiu Vlad Gorduza

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

Human genetics has made enormous progress in recent years, moving from cytogenetic investigations based on an Barr body and chromosomes analyses to performant genomic investigations, allowing detailed investigation of small genetic changes. Evolution of the past three decades has been fulminating. Thus, if in the early 90s of the twentieth century the main methods of genetic investigation were karyotype and Sanger sequencing, now things have changed significantly, being widely applied array comparative genomic hybridization (array-CGH) or next generation sequencing (NGS). Array-CGH is a performant method that highlights the infracromosomal genomic imbalances, having applicability in prenatal or postnatal malformative pathology, and in the evaluation of syndromes the associated intellectual disability. NGS provides the opportunity to assess in one reaction different genomic sequences, that allowed development of various kits with applicability in investigation of various diseases characterized by mutations in various genes. Also, NGS identify different genomes, which opens the way for the evaluation of fetal DNA fragments in maternal serum or identification of tumor DNA in the blood of patients

with various forms of cancer. Although the performance and the advantages of the modern techniques are obvious, they can not completely replace chromosome analysis and classic gene sequencing. In addition, prices of genomic platforms are very high and evaluation of data provided by these analyzes require a powerful computer equipment. In conclusion, genetic laboratory investigation, although has grown impressively, remains tied to the clinic which provide diagnostic assumption.

Keywords: genetic investigation, array-CGH, NGS

INVESTIGAȚII GENOMICE ÎN MEDICINA ACTUALĂ

Genetica umană a făcut progrese enorme în ultimii ani, trecând de la investigațiile citogenetice, bazate pe analiza cromatinei sexuale și a cromosomilor la investigații genomice performante, care permit investigarea în detaliu a unor modificări genetice de mici dimensiuni. Evoluția din ultimii trei decenii a fost fulminantă. Astfel, dacă la începutul anilor '90 ai secolului XX principalele metode de investigație genetică erau cariotipul și secvențierea Sanger, acum lucrurile s-au schimbat major, fiind aplicate pe scară largă hibridizarea genomică comparată pe rețele (array-CGH) sau secvențierea genomică de nouă generație (NGS). Array-CGH este o metodă performantă ce permite evidențierea dezechilibrelor genomice la nivel infracromosomal, având aplicabilitate în patologia malformativă prenatală sau postnatală, dar și în evaluarea unor sindroame ce asociază dizabilitate intelectuală. NGS oferă posibilitatea evaluării într-o singură reacție a numeroase secvențe genomice diferite, astfel încât au fost dezvoltate diverse kituri de investigație a diferite boli în care pot exista mutații în variate gene. De asemenea, NGS permite identificarea genomurilor diferite, ceea ce deschide calea evaluării fragmentelor de ADN fetal din circulația fetală sau cea a identificării de ADN tumoral în sângele pacienților cu diverse forme de cancer. Deși performanțele și avantajele tehnicilor de ultimă generație sunt evidente, ele nu pot să înlocuiască complet analiza cromosomală sau secvențierea genică clasică. În plus, prețul platformelor de genomică sunt foarte mari, iar evaluarea datelor oferite de aceste analize impune o dotare informatică performantă. În concluzie, investigarea genetică de laborator, deși s-a dezvoltat de o manieră impresionantă, rămâne legată de clinică, care furnizează supozitia de diagnostic.

Cuvinte cheie: investigații genetice, array-CGH, NGS

C16. MUTATION ON SE33 LOCUS IN A PATERNITY TESTING: CONFIRMATION OR EXCLUSION?

Raluca Dumache ^{1,2}, Maria Puiu ¹, Ramona Pârvănescu ², Alexandra Enache ¹

1. UMF Victor Babeș Timișoara, Romania;

2. Laboratory of forensic genetics – UMF Victor Babeș Timișoara, România

Introduction: Short tandem repeats (STRs) are used in paternity, maternity and complex kinship testing. We present a paternity case with one mutation between the alleged father (AF) and the child on SE33 locus. For the confirmation or exclusion from paternity, we also analyzed the X-STRs markers.

Materials and methods: Saliva samples were collected on buccal swabs (Copan, Italy) from mother, child and AF. For the DNA extraction PureLink Genomic DNA kit (Invitrogen, USA) was used. Quantification was performed on 7500 ABI real-time PCR with PowerQuant System kit (Promega, USA). For the amplification of the STR markers NGM Select kit (Applied Biosystems, USA) and Investigator Argus X-12 QS (Qiagen, Germany) for the X-STRs markers were used. Electrophoretic migration of the PCR products was performed on 3500 Genetic Analyzer for Human Identification (Applied Biosystems, USA).

Results: On STRs markers AF was excluded from the paternity due to one inconsistency on SE33 locus between him and the child. Because the inconclusive result X-STRs markers were used, obtaining a perfect match between the AF and the child.

Conclusions: In paternity testing on STRs markers when mutations are present between the child and AF, the use of haploid markers aids in the confirmation or exclusion from paternity.

Keywords: short tandem repeats (STRs); paternity; mutation

MUTAȚIE PE LOCUSUL SE33 ÎNTR-O RELAȚIE DE PATERNITATE: CONFIRMARE SAU EXCLUDERE?

Introducere: Fragmentele repetitive scurte sunt utilizate în testarea relațiilor de înrudire, maternitate sau paternitate. Prezentăm un caz de stabilire a relației de paternitate între prezentivul tată biologic (PT) și copil, în care pe locusul SE33 era prezentă o mutație. Pentru confirmarea paternității, s-au folosit și markerii haploizi tip X-STR, fiind o relație tip tată-fică.

Material și metode: Probele biologice de salivă s-au prelevat de la mamă, copil și PT folosind dispozitivele Copan. Extrația ADN s-a făcut cu kitul DNA IQ System (Promega, SUA). Pentru cuantificarea ADN-ului s-a folosit kitul Power Quant System (Promega, USA). Cuantificarea s-a realizat pe echipamentul 7500 real-time PCR. Amplificarea markerilor STR s-a realizat cu NGM Select kit (Thermo Fischer, SUA), iar pentru markerii X-STR s-a folosit kitul Investigator Argus X-12 QS (Qiagen, Germania). Pentru amplificarea PCR s-a folosit termociclul ProFlex PCR System (Thermo Fischer, SUA). Migrarea electroforetică s-a realizat cu analizorul 3500 HID pentru identificare umana (Thermo Fischer, SUA).

Rezultate: PT a fost exclus de la paternitate pe markerii autozomali datorită unei mutații pe locusul SE33. Paternitatea între PT și fiica sa a fost confirmată pe toți markerii X-STR.

Concluzii: În stabilirea relației de paternitate în cazul prezenței unei mutații pe markerii STR, este necesară folosirea markerilor haploizi X sau Y, pentru confrmarea sau excluderea relației respective.

Cuvinte cheie: mutație; locus; prezentiv tată biologic (PT); markeri haploizi; markeri autosomali

C17. CAN WE REPLACE THE COMBINED TEST BY CELL-FREE DNA TESTING IN PRENATAL SCREENING FOR CHROMOSOMAL ABNORMALITIES?

Ana-Maria Adam ¹, Gigi Adam ², Michaela Dobre ³, Alina Georgiana Agache ⁴

1. Dept Clinical Surgery, University «Dunărea de Jos» Galați, Faculty of Medicine and Pharmacy

2. Dept Pharmaceutical Sciences, University «Dunărea de Jos» Galați, Faculty of Medicine and Pharmacy

3. Dept Morphological and Functional Sciences, University «Dunărea de Jos» Galați, Faculty of Medicine and Pharmacy

4. Obstetrics and Gynecology Clinical Hospital «Cuza Vodă», Iași, România.

Introduction: Over the last decades the practice of prenatal screening has evolved from the second-trimester triple test to combined test in the first trimester and now to non invasive prenatal testing

(NIPT). Being an expensive screening test there is an ongoing debate regarding how NIPT can best be incorporated into current prenatal screening algorithms for chromosomal abnormalities.

Material and method: The retrospective study was conducted in the „Cuza Voda” Maternity Hospital in Iasi, between 01.01.2016-31.12.2018. The consignment was composed of 866 patients who underwent prenatal invasive maneuvers (chorionic villus biopsy or amniocentesis) after a pathological combined test or non-invasive test. 420 patients were excluded from the study, showing a nuchal translucency increase > 3 mm or fetal abnormalities. The lot was divided according to the test used by the first intention: double test, triple test and non-invasive test. The identification and portfolios of each patient were made by consulting the maternity database.

Results: In the group of pregnant women who performed double test only 16 pathological values (5.16%) were confirmed by invasive methods. On the other hand, in the group of pregnant women who performed the non-invasive test, the accuracy was 100%. No case has been confirmed in the group of pregnant women who performed the triple test. 77.7% of genetic abnormalities were represented by Trisomy 21, followed by Klinefelter’s Sindrom, Trisomy 13, 18, X and X monosomy.

Conclusion: Patients should be told about the availability of NIPT as an alternative but expensive screening method with a better detection rate and a lower false positive rate.

Keywords: double test, non-invasive test, chromosomal abnormalities

PUTEM ÎNLOCUI TESTUL COMBINAT CU TESTAREA CELL-FREE DNA ÎN SCREENING-UL PRENATAL PENTRU ANOMALII CROMOZOMIALE?

Introducere: În ultimele decenii, practicile screeningului prenatal au evoluat de la triplu test efectuat în al doilea trimestru până la testul combinat efectuat în primul trimestru și la testarea prenatală noninvazivă (NIPT). Fiind un test de screening costisitor, există o dezbatere continuă cu privire la modul în care NIPT poate fi cel mai bine încorporat în algoritmii curenti de screening prenatal pentru anomalii cromozomiale.

Material și metodă: Studiul de tip retrospectiv, a fost efectuat în Maternitatea „ Cuza Vodă” Iași, în perioada 01.01.2016-31.12.2018. Lotul a fost compus din 866 paciente ce au efectuat manevre invazive prenatale (biopsie de vilozități coriale sau amniocenteză) după rezultatul unui test combinat sau test non-invaziv patologic. Au fost excluse din studiu 420 de paciente care prezintau o creștere a pliului nucal > 3 mm sau anomalii structurale fetale ecografice. Lotul a fost împărțit în funcție de testul utilizat de primă intenție: dublu test, triplu test și testul non-invaziv. Identificarea și portofoliul fiecărei paciente s-a realizat prin consultarea bazei de date a maternității și a foii de observație a pacientei.

Rezultate: În lotul gravidelor ce au efectuat de primă intenție dublu test doar 16 valori patologice (5,16%) au fost confirmate prin metode invazive. La polul opus, în lotul gravidelor ce au efectuat testul non-invaziv acuratețea a fost de 100%. Nici un caz nu a fost confirmat în lotul gravidelor ce au efectuat triplu test. 77,7% din anomalii genetice au fost reprezentate de trisomia 21, urmat de sindromul Klinefelter, trisomie 13, 18, X și monosomia X.

Concluzii: Pacienții trebuie să fie informați despre disponibilitatea NIPT ca metodă de screening alternativă, dar costisitoare, cu o rată de detecție mai bună și fals pozitivă mai mică.

Cuvinte cheie: dublu test, test non-invaziv, anomalii cromozomiale

AUTHORS INDEX

Index de autori

A

- Achiței, Emanuela 12
 Adam, Ana-Maria 105
 Adam, Gigi 105
 Agache, Alina Georgiana 105
 Anghel, Andrei 67
 Anisie, E 54
 Antohe, Bianca 40
 Antohe, I 72, 78
 Antohe, Ion 69, 71, 74, 83, 98
 Antohi, Ion 80
 Anton, Gabriela 81
 Avram, Marioara 57

B

- Baciu, Ionela 42
 Badescu, Magda 95
 Balaban, Mihaela 26, 27
 Balla, Beata Magdalna 48, 50
 Barbu, Valeriu Stefan 53
 Barna, Atilla Vandra 90
 Bartalus, Amália Berta 37
 Basarab, Carmen 79
 Bădițoiu, Luminița 3
 Băncescu, Adrian 11
 Băncescu, Gabriela 11
 Bănescu, Claudia 44, 46, 48, 49, 50, 73
 Bilavschii, Karina 80
 Binzari, Elena 53
 Bleotu, Coralia 81
 Blesneac, Cristina 49
 Boca, Oana 71
 Bogliș, Alina 44, 46, 48, 50, 73
 Bordeianu, Gabriela 10, 32, 95
 Borși, Ema Cristina 62, 63, 66, 67
 Botezatu, Anca 81
 Botnariuc, Mihaela 13, 64
 Braha, Elena 39
 Brudașcă, Ioana 89
 Bucel, Emilia 13
 Buciui, Petre 59

- Buculei, Ioana 33
 Burinaru, Tiberiu 57

C

- Calenic, Anca 22
 Calenic, Bogdan 22
 Capraru, Ionut 7
 Capraru, Ionut Dragos 8
 Caragheorgheopol, Andra 42
 Carasevici, Eugen 76, 94, 96, 97
 Carp, Cora 40
 Cecati, Anca Cristina 68
 Cenusă, Carina 40, 54
 Cernat, Roberta 33
 Chivu-Economescu, Mihaela 81
 Cianga, Corina 40, 54
 Cianga, Petru 18, 40, 54, 71
 Cianga, Vlad-Andrei 41
 Ciobanu, Corina Paraschiva 32
 Cioroiu, Bogdan 33
 Cioroiu, Mona 33
 Ciurea, Cristina Nicoleta 15, 16
 Codită, Irina 2
 Cojocaru, Dumitru 74
 Cojocaru, Elena 10
 Constantinescu, D 54
 Constantinescu, Dana 40
 Constantinescu, Ștefan N. 81
 Copăcianu, Brîndușa 12
 Coriu, Daniel 81
 Cosma, Adriana 44
 Cosma, Adriana-Stela 46
 Cosma, Adriana-Stella 48
 Coșeriu, Lucian Răzvan 56
 Cozmei, Carmen 96, 97
 Crauciuc, Andrei 49, 73
 Crauciuc, George 44
 Crăciun, Alina 30
 Cucu, Andreea 98

D

- Daba, Lavinia 13

Daba, Lavinia Carmen 64

Dabu, Bogdan 11

Danaila, Catalin 69, 74, 83

Dascalescu, A 72

Dascalescu, Angela 69, 83

Dascălu, Alina 80

David, Remona Eliza 91

Dănilă, Doru Catalin 80

Dănilă, C 72, 78

Dănilă, Cătălin 71

Dănilă, Mihaela 45

Dăscălescu, A 78

Dăscălescu, Angela 71, 74, 80, 98

Delianu, Carmen 60

Demian, Smaranda 44

Diaconescu, Bogdan 95

Diaconu, Carmen C. 81

Dima, Delia 44

Dimitriu, Daniela Cristina 20, 32

Dinu, Adriana 26, 27

Dinu, Giulia Adelina 26, 27

Dinulescu, Cătălin Gabriel 92

Dobreanu, Minodora 24, 34, 35, 37, 52, 53, 86, 91

Dobre, Michaela 105

Dobrowolski, Jerome 79

Dolachi, E 72, 78

Dorohoi, G 78

Dorohoi, Gabriela 80

Dragos, L 72, 78

Dragos, Loredana Mihaiela 76, 83, 96, 97

Dragoș, Loredana Mihaiela 74

Dragoș, Mihaiela Loredana 69

Drăgulescu, Elena-Carmina 2

Dumache, Raluca 104

Dumitru, R 72, 78

Dumnici, Alexandru 6

E

Enache, Alexandra 104

Erdelean, Velimir 30

F

Filimon, Raluca 12

Floreacă, A 54

Floreacă, Irina 80

Fotache, Florina 12

G

Gagniuc, Elvira 26

Garleanu, I 54

Gavril, Eva 45

Ghiță, Adina 59

Giulea, Cosmin 42

Girjoabă, Adriana-Cristina 30

G. Necula, Laura 81

Gorduza, Eusebiu Vlad 103

Gorgan, Lucian 83

Grădinaru, Irina 60

Greabu, Maria 22, 26, 27, 28, 101, 102

Gurău, Gabriela 23

Gurban, Camelia-Vidița 30

Gurban, Petruța 81

H

Hanganu, Loredana 95

Horhat, Florin 8

Hornung, Edith 6

Horváth, Emőke 24

Hurjui, Loredana Liliana 60

Huțanu, Adina 24, 52

I

Iancu, Luminița Smaranda 1

Ioachim, Dumitru 42

Ionescu, Claudiu 13

Ionescu, Gabriel 87

Ioniță, Hortensia 66, 67

Ioniță, Ioana 66

Ioniță, Ioana 67

Iovu, D 72, 78

Irimia, C 54

Ivanov, I 72, 78

Ivanov, Iuliu 71

Ivanov, Iuliu Cristian 68, 69, 74, 76, 96, 97, 98

J

Jipu, Raluca 60

Jitaru, Daniela 68, 69, 74, 76, 80, 83, 95, 96, 97, 98

Jurovits, Oana 7

K

Kodori, Dávid-Róbert 37

Korodi, Dan Andrei 6

L

Lazar, Erzsebet 44

Lazăr, Ioan Tudor 20

Licker, Monica 3

Lighezan, Diana Luisa 7

Lighezan, Rodica 7

Liteanu, Alina Andreea 68

Lixandru, Brândușa-Elena 2

Luncă, Cătălina 10

Lupascu, C 54

Lupu, Alina Maria 7

Lupu, Anca-Roxana 81

Lupu, Maria Alina 6, 8

M

Maftei, Nicoleta-Maricica 23

Mambet, Cristina 81

Man, Adrian 15, 16

Manda, Dana 42

Mare, Anca 15, 16

Marian, Mirela 79

Matei, Lilia 81

Maurer, Hans H. 100

Mărănducă, Minela Aida 60

Mărculescu, Afrodita Doina 32

Mederle, Narcisa 7

Mentel, Mihaela 76

Mențel, Mihaela 69, 83

Mențel, Mihaela 96, 97

Mihaila, Camelia 40

Mihăilescu, Carmen-Marinela 57

Mihălceanu, Elena 20

Mihu, Alin Gabriel 6

Minciuna, C 72, 78

Miricescu, Daniela 22, 26, 27, 28, 102

Miron, S 54

Miron, Silvia 40

Mocanu, Gabriela 81

Mohora, Maria 26, 27, 28

Moisescu, Mihaela 102

Moldovan, Valeriu 73

Molnar, Maria 37

Motoc, Marilena 30

Movradin, Vitali 102

Muntean, Daniela Lucia 24

Muntean, Delia 3

Mureșan, Andrei 42

Mușat, Mihaela 30

N

Nagy, Előd-Ernő 24

Nechita, Aurel 23

Nedeianu, Saviana 81

Nedelcu, Ioana 39

Nemtanu, Valentina Loredana 83, 97

Nemțanu, Valentina Loredana 96

Niculescu, Dan 42

Nitu, Doina 7

O

Oana, Raluca Elena 76

Oană, Raluca-Elena 80

Olariu, Tudor Rares 7, 8

Olariu, Tudor Rareș 4, 6, 30

Oltean, Andreea 35

Oprea, Oana 34, 52, 53, 86

Oprea, Oana Roxana 56

Orădan, Alex 24

Ozben, Tomris 85

P

Palicka, Vladimir 19

Pațiu, Mariana 79

Pavelea, Oana 34, 52

Pavel-Tanasă, Mariana 40

Păduraru, Ana Alexandra 6

Pădure, Adriana 42

Pânzaru, Carmen 11

Pânzaru, Monica 45

Pârvănescu, Ramona 104

Pescaru, Monica 62, 63, 67

Peterka, Mariana 30

Petrescu, Dănilă Elena 32

Petrescu, Elena 95

Picu, Cătălina 42

Pintea-Simon, Ionela Anca 15, 16

Pintilie, Oana Maria 69, 76, 83

Pintilie, Oana-Maria 80

Popa, Codruța 59

Popa, Constanța 92

Popa, Oana 39
 Popescu, Roxana 45
 Postolache, Anca-Lavinia 41
 Potre, Cristina 62, 63, 66, 67
 Potre, Ovidiu 62, 63, 66, 67
 Puiu, Maria 104

R

Racu, Mirela 30
 Radian, Șerban 42
 Radu, Alexandru 59
 Radu, Iuliana 30
 Radulescu, Catalina 22, 102
 Radulescu, Radu 22, 102
 Rădulescu, Cătălina 28
 Rădulescu, Hortensia Clara 57
 Rădulescu, Radu 28
 Răucescu, Raluca 59
 Robu, Silvia 23
 Romilă, Aurelia 23
 Rusea, Andra 59
 Rusu, Cristina 41, 45
 Rusu, Ioana 102

S

Samfireag, Miruna 62, 63, 66
 Samfireag, Miruna-Adela 67
 Sandulescu, I 54
 Schipor, Sorina 42
 Selicean, Elena-Cristina 79
 Sevigean, Ali 13, 64
 Sireteanu, Adriana 71, 76, 83, 96, 97
 Socolov, Demetra Gabriela 20
 Sorescu, Georgeta 92
 Stan, Dana 57
 Stan, Diana 57
 Stanescu, Iulia-Ioana 22
 Stănescu, Iulia 28
 Stănescu, Raluca Ștefania 32

Stirbu, Georgiana 40
 Sulkova, Sylvie Dusilova 19
 Șaguna, Carmen 81
 Șchiopu, Vasilica 57
 Ștefan, Cristina Mădălina 69

T

Tatic, Aurelia 81
 Tărniceriu, Claudia Cristina 60
 Terinte, Cristina 80
 Terzea, Dana 42
 Timofte, M 72, 78
 Tirnea, Livius 7
 Titieanu, A 72, 78
 Togănel, Rodica 49
 Totan, Alexandra 22, 26, 27, 28, 102
 Totolici, Bogdan 6
 Trifa, Adrian 44, 73
 Tripon, Florin 44, 46, 48, 49, 50, 73
 Trofor, Antigona 33
 Trofor, Letitia 33
 Tutunaru, Dana 23
 Tuță, Liliana Ana 64

V

Vacarean-Trandafir, Irina Cezara 76, 83, 96, 97
 Văcărean-Trandafir, Irina Cezara 74
 Veringu, Alina Mirela 76
 Verstraete, Alain G. 100
 Virgolici, Bogdana 26, 27
 Virgolici, Bogdana 28
 Vlădoiu, Susana 42
 Voidăzan, Septimiu 24

Z

Zaharia, E 54
 Zaharia, Mihaela 34, 53
 Zlei, Mihaela 69, 71, 76, 83

Information and guidelines for authors

Manuscript submission

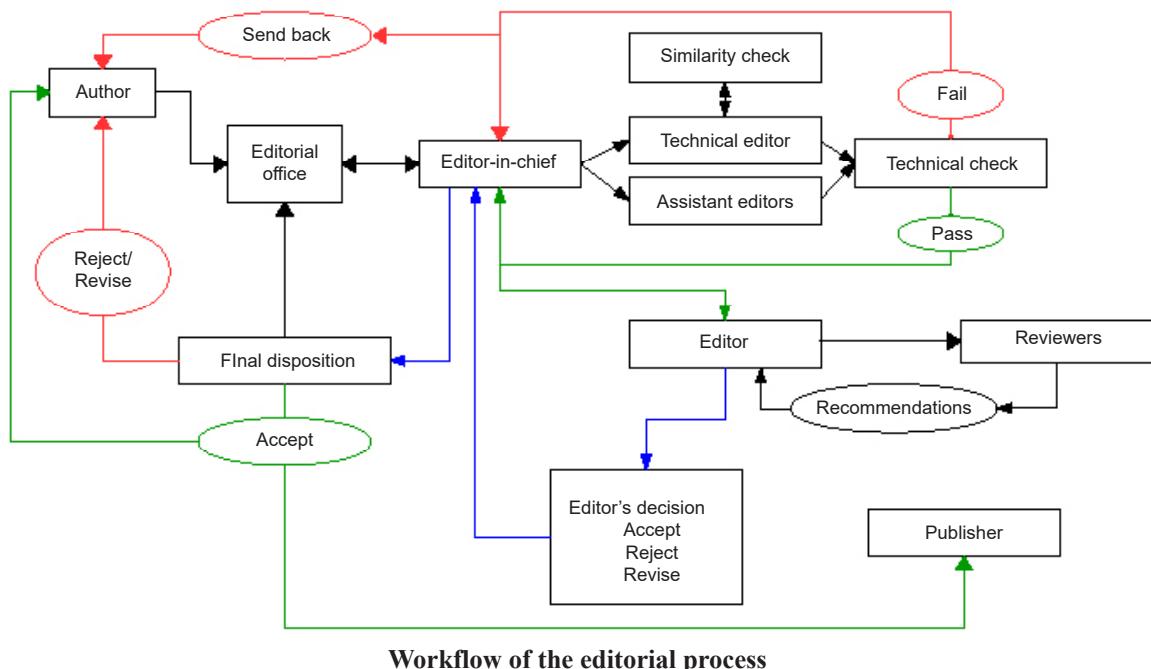
Manuscripts and all attached files (tables and illustrations) should be submitted in electronic form, using the on-line manuscript submission system Editorial Manager available for Romanian Journal of Laboratory Medicine at <http://www.editorialmanager.com/rjlm>.

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@rjlm.ro.

Submission documents

At the time of submission, the *Romanian Journal of Laboratory Medicine* requires an explicit statement (**License to publish**) by the

corresponding author warranting that the manuscript, as submitted, has been reviewed by and approved by all named authors; that the corresponding author is empowered by all of the authors to act on their behalf with respect to the submission of the manuscript; that the article does not infringe upon any copyright or other proprietary right of any third party; that neither the text nor the data have been published previously (abstracts excepted); and that the article or a substantially similar article is not under consideration by another journal at that time. Upon submission of the manuscript, the corresponding author must provide the Editorial Board with documents proving that all those quoted for personal communications or listed in the *Acknowledgement* section have agreed to their inclusion.



Workflow of the editorial process

Authors are responsible for obtaining permission to reproduce copyrighted material from other sources and send an authenticated copy of the permission to the Editorial Board.

Each author must provide a clear **statement on potential conflicts of interest** in which he or she may be involved. The statement should include sources of funding, including internal support or grants from non - commercial institutions. The absence of funding should also be declared. The statement on conflicts of interest will be published at the end of the paper. Scanned copies sent electronically and fax submissions are not acceptable.

Authorship

All named authors should meet the criteria for authorship as stated in the „Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication” issued by the International Committee of Medical Journal Editors (www.icmje.org):

„Authorship credit should be based on 1) substantial contributions to conception and design, acquisition of data, or analysis and interpretation of data; 2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content; and 3) final approval of the version to be published. Authors should meet conditions 1, 2, and 3. [...]”

“All persons designated as authors should qualify for authorship, and all those who qualify should be listed.”

The *Romanian Journal of Laboratory Medicine* considers all authors to be responsible for the content of the entire paper.

Authors are requested to describe their individual contributions to a study paper in a “**Cover letter**” (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 Benoit 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 resubmitted as soon as possible, but not later than 6 weeks. Although unusual, a resubmission may be rejected after revision if the response to suggestions and requests is considered inadequate.

Authors will receive a PDF file with the edited version of their manuscript for final proofreading. This is the last opportunity to view an article before its publication. The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness and accuracy of the text, tables and figures. Substantial changes in content are not allowed without the approval of the Editor. The authors are requested to return

the corrected proofs within 7 days after their delivery or notify the Editors that no corrections are required. After online publication, further changes can only be made in the form of an Erratum, which will be hyperlinked to the article. The corresponding author will receive a printed issue of the Journal free of charge.

Scientific misconduct / Corrections / Retraction Policy

Scientific fraud are rare events; however, they have a very serious impact on the integrity of the scientific community. Scientific misconduct is defined by the Office of Research Integrity as "fabrication, falsification, plagiarism, or other practices that seriously deviate from those that are commonly accepted within the academic community for proposing, conducting, or reporting research". In cases where there is a suspicion or allegation of scientific misconduct or fraudulent research in manuscripts submitted or published, the Editors reserve the right to impose sanctions on the authors, such as: immediate rejection of the manuscript, banning author(s) from submitting manuscripts to the journal for a certain period of time, retracting the manuscript, bringing the concerns to the authors' sponsoring or funding institution or other appropriate authority for investigation

If the Editorial Board uncovers possible evidence of such problems it will first contact the corresponding author in complete confidence, to allow adequate clarification of the situation. If the results of such interactions are not satisfactory, the Board will contact the appropriate official(s) in the institution(s) from which the manuscript originated. It is then left to the institution(s) in question to pursue the matter appropriately. Depending on the circumstances, the *Romanian Journal of Laboratory Medicine* may also opt to publish errata, corrigenda, or retractions.

Serious errors in a published manuscript and infringements of professional ethical codes will result in an article being retracted. This will occur where the article is clearly defamatory, or infringes others' legal rights, or where the article is, or there is good reason to expect it will be, the subject of a court order, or where the article, if acted upon, might pose a serious health risk. In any of these cases all coauthors will be informed about a retraction. A Retraction Note detailing the reason for retraction will be linked to the original article.

Publication fee

A processing fee of 50 EUR (equivalent in RON) will have to be paid for articles accepted for evaluation by the editorial board of Romanian Journal of Laboratory Medicine (invited contributions excepted). Please note that the payment will only be required if your article and application passes the Technical check and is accepted for scientific evaluation (the article is "under Review"). The journal does not have article submission charges.

The publication fee for accepted article is 150 EUR (equivalent in RON), which have to

be paid when article proof is sent to the correspondence author.

The author will bear the cost of publication for color illustrations, if their number exceeds two color figures (invited contributions excepted). The charge is 25 EUR (equivalent in RON) for each color figure, starting with the third color illustration). The authors will also bear the cost of English supervision (if the manuscript needs assistance). If reasonable corrections are necessary the charge is 10 EUR (equivalent in RON)/ supervised page.

The total charge for color figures and English supervision will be communicated by the Editorial Secretariat upon acceptance of the manuscript for publication.

All payments will be operated in RO-56BRDE270SV16682302700 bank account open for Romanian Association of Laboratory Medicine – 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 Journal of Laboratory Medicine* recommends that authorship be based on the following criteria:

1. Substantial contributions to the conception or design of the work; or the acquisition, analysis, or interpretation of data for the work;
2. Drafting the work or revising it critically for important intellectual content;
3. Final approval of the version to be published;
4. Agreement to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Those who meet all four criteria can be identified as authors; otherwise they should only be acknowledged.

Title

The authors attest that

- This paper has not been published previously;
- The manuscript is an original work without fabrication, fraud, or plagiarism;
- Have read the complete manuscript and takes responsibility for the content of the manuscript;
- There is no potential conflict of interest (employment, consultancies, stock ownership, equity interests, and patent-licensing arrangements);

Authors' contribution

Authors	Contributions	Signatures

Acknowledgements

