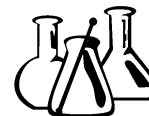


**REVISTA ROMÂNĂ DE
MEDICINĂ DE LABORATOR**

Supliment la Vol. 21, Nr. 2/4, Iunie 2013

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

A L M R



REVISTA ROMÂNĂ DE MEDICINĂ DE LABORATOR

Romanian Review of Laboratory Medicine

Publicație oficială a ASOCIAȚIEI LABORATOARELOR MEDICALE DIN ROMÂNIA
Supliment la Vol. 21, Nr. 2/4, Iunie 2013

Comitetul de redacție

Redactor șef
Minodora Dobreanu

Redactor adjunct
Liviu Sorin Enache

Secretariat redacție
Andrea Márta Fodor
Floredana Șular

Comitet redacțional

Anca Bacârea
Claudia Bănescu
Simona Cernea
Ovidiu Cotoi
Elena Luminița Enache
Ileana Funduc
Andrada Loghin
Adrian Man
Cosmin Moldovan
Edit Székely
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 2010: 0.113

Elsevier Bibliographic Databases

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

Index Copernicus Master journal List – din anul 2009.

Committee on Publication Ethics

Începând cu anul 2012, RRML este membru al COPE.

CNCSIS

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

CMR

RRML a fost inclusă în Nomenclatorul Publicațiilor Medicale al CMR începând cu anul 2007. Medicii abonați la această publicație sunt acreditați cu 5 credite EMC.

OBBCSSR

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

Referenți științifici

Isabel Alvarado-Cabrero (*Mexican Oncology Hospital, Mexico City, Mexico*)
Patrice André (*Univ. „Claude Bernard” Lyon 1, France*)
Vladimir Bacârea (*UMF Tg. Mureș*)
Despina Baghiu (*UMF Tg. Mureș*)
Aurel Bizo (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj*)
Elena Bobescu (*Univ. „Transilvania” Brașov*)
Angela Borda (*UMF Tg. Mureș*)
Ovidiu Bratu (*Spitalul Militar București*)
Ioana Brudașcă (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj*)
Eugen Carasevici (*UMF „Gr. T. Popa” Iași*)
Carmen Chiriac (*UMF Tg. Mureș*)
Corina Cianga (*UMF „Gr. T. Popa” Iași*)
Petru Cianga (*UMF „Gr. T. Popa” Iași*)
Irina Codiță (*UMF „Carol Davila” București*)
Adriana Coliță (*UMF „Carol Davila” București*)
Dan Coliță (*UMF „Carol Davila” București*)
Ileana Constantinescu (*Institutul Clinic Fundeni*)
Dan Coriu (*UMF „Carol Davila” București*)
Anca Cristea (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj*)
Victor Cristea (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj*)
Mircea Cucuianu (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj*)
Andrei Cucuianu (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj*)
Augustin Curticăpean (*UMF Tg. Mureș*)
Alis Dema (*UMF „Victor Babeș” Timișoara*)
Camelia Dobrea (*UMF „Carol Davila” București*)
Dan Dobreanu (*UMF Tg. Mureș*)
Minodora Dobreanu (*UMF Tg. Mureș*)
Olga Dorobăț (*Institutul Național de Boli Infecțioase „Matei Balș”*)
Maria Dronca (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj*)
Maurizio Ferrari (*Univ. “Vita-Salute San Raffaele”, Milan, Italy*)
Mirela Flonta (*Spitalul de Boli Infecțioase, Cluj*)
Dan Georgescu (*UMF Tg. Mureș*)

Vlad Gorduza (*UMF „Gr. T. Popa” Iași*)
Maria Greabu (*UMF „Carol Davila” București*)
Trefor Higgins (*DynaLIFE_{DX} Laboratories, Edmonton, Canada*)
Nicolae Hîncu (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj*)
Ștefan Hobai (*UMF Tg. Mureș*)
Silvia Imre (*UMF Tg. Mureș*)
Gabriel Ionescu (*UMF „Carol Davila” București*)
Hortensia Ioniță (*UMF „Victor Babeș” Timișoara*)
Gabor Kovacs (*Univ. Pecs, Hungary*)
Cezante Lazăr (*RoEQUALM*)
Lilla-Katalin Lorinczi (*UMF Tg. Mureș*)
Mihai Mareș (*Universitatea de Medicină Veterinară, Iași*)
Claudiu Mărgăritescu (*UMF Craiova*)
Marius Mărușteri (*UMF Tg. Mureș*)
Adriana Mihai (*UMF Tg. Mureș*)
Maria Mohora (*UMF „Carol Davila” București*)
Andreea Moicean (*UMF „Carol Davila” București*)
Roxana Moldovan (*UMF „Victor Babeș” Timișoara*)
Daniela Lucia Muntean (*UMF Tg. Mureș*)
Mihaela Lupșe (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj*)
Adelina Munteanu (*UMF „Carol Davila” București*)
László Muszbek (*Univ. Debrecen, Hungary*)
Marian Neguț (*UMF „Carol Davila” București*)
Manuela G. Neuman (*Institute of Drug Research, Univ. of Toronto, Canada*)
Francisco Nogales (*Universidad de Granada, Spania*)
Galaftion Oltean (*UMF Tg. Mureș*)
Dan Oțelea (*Institutul Național de Boli Infecțioase „Matei Balș”*)
Vladimir Palicka (*Univ. Hradec Kralove, Praga, Czech Republic*)
Ioan Pascu (*UMF Tg. Mureș*)
Ionela Pașcanu (*UMF Tg. Mureș*)

Mariana Pațiu (*Institutul Oncologic „Ion Chiricuță”, Cluj*)

Monica Dana Pop (*UMF Tg. Mureș*)

Radu Popp (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj*)

Connie Prosser (*Univ. of Alberta Hospital, Edmonton, Canada*)

Maria Puiu (*UMF „Victor Babeș” Timișoara*)

Lucian Pușcașiu (*UMF Tg. Mureș*)

Marius Sabău (*UMF Tg. Mureș*)

Monica Sabău (*UMF Tg. Mureș*)

Alexandru Șchiopu Jr. (*Lund University, Malmö, Sweden*)

Margit Șerban (*UMF „Victor Babeș” Timișoara*)

Emilia Severin (*UMF „Carol Davila” București*)

Cristiana Simionescu (*UMF Craiova*)

Ana Maria Simundic (*Univ. Zagreb, Croatia*)

Cristina Skrypyk (*Arabian Gulf University, Manama, Bahrain*)

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

Simona Stolnicu (*UMF Tg. Mureș*)

Cătălina Suzana Stîngu (*Universitätsklinikum Leipzig, Germany*)

Monica Străuț (*INCDMI „I. Cantacuzino”*)

Sorina Taban (*UMF „Victor Babeș” Timișoara*)

Felicia Toma (*UMF Tg. Mureș*)

Elizabeta Topic (*Univ. Zagreb, Croatia*)

Adrian Trifa (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj*)

Didona Ungureanu (*UMF „Gr. T. Popa” Iași*)

Cornel Ursaciuc (*Institutul Național „Victor Babeș”*)

Camil Vari (*UMF Tg. Mureș*)

Dumitru Zdrenghea (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj*)

Mihaela Zlei (*Institutul Regional de Oncologie, Iași*)

Eloaie Florin Zugun (*UMF „Gr. T. Popa” Iași*)

Table of contents

Cuprins

Table of contents.....	7
Cuprins	
2nd CONGRESS OF THE ROMANIAN ASSOCIATION OF MEDICAL LABORATORIES.....	9
Abstracts.....	13
Rezumatele lucrărilor	
Authors index.....	123
Index de autori	
A 3-A COFERINȚĂ NAȚIONALĂ DE MICOLOGIE MEDICALĂ.....	127
Abstracts.....	129
Rezumatele lucrărilor	
Information and Guidelines for Authors.....	149
Authorship responsibilities.....	154



2nd Congress of the Romanian Association of Medical Laboratories

with International Participation

Under the auspices of IFCC and EFLM

5 - 8 June 2013, Brașov, Romania

Abstract Book

ORGANIZERS

Romanian Association of Medical Laboratories
University of Medicine and Pharmacy Tîrgu Mureş
University of Medicine and Pharmacy “Gr. T. Popa”, Iaşi
University of Medicine and Pharmacy “Iuliu Haţieganu”, Cluj-Napoca
Romanian Society of Microbiology
Romanian Society of Hematology

AUSPICES

International Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine
European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine

ORGANIZING COMMITTEE

Bucharest
Ileana Funduc
Ariadna Rădulescu
Ioana Culea

Iaşi
Eugen Carasevici
Didona Ungureanu
Daniela Jitaru
Cristina Dimitriu
Elena Petrescu

Cluj-Napoca
Ioana Brudaşcă

Tîrgu Mureş
Minodora Dobreanu
Elena Luminiţa Enache
Liviu Sorin Enache
Maria Nilca
Anamaria Puşcaşu
Floredana Şular

SCIENTIFIC COMMITTEE

Prof. Mircea Cucuianu
Prof. Dan Coliţă
Prof. Marian Neguţ
Prof. Eugen Carasevici
Prof. Minodora Dobreanu
Prof. Anca Cristea
Prof. Olga Dorobăţ
Prof. Mohora Maria
Prof. Greabu Maria
Prof. Monica Străuţ

As. Prof. Didona Ungureanu
As. Prof. Irina Codiţă
As. Prof. Andrei Cucuianu
As. Prof. Ioana Brudaşcă
As. Prof. Mariana Paţiu
As. Prof. Dan Coriu
As. prof. Gheorghişă Emanuel
Lecturer Gabriel Ionescu
Dr. Neculoiu Daniela

SPONSORS

GOLD SPONSORS

ROCHE
ABBOTT
DIAMEDIX

SILVER SPONSORS

HAEMOLAB
AGILROM SCIENTIFIC
ANALYTIK JENA
PROTON

BRONZE SPONSORS

ELTA 90 MEDICAL RESEARCH
BIOCHEM SOLUTIONS
BALMED

MEDIA PARTNERS

JURNAL DE SANATATE
PAGINA MEDICALĂ
SĂPTĂMÂNA MEDICALĂ

ABSTRACTS*

REZUMATELE LUCRĂRILOR

R1. Challenge assay: a functional biomarker for detecting DNA repair deficiency, cancer risk and response to cancer therapy

William W. Au

*Associate Dean and Chairman, Shantou University Medical College, Shantou 515041, China;
Distinguish Professor, University of Texas Medical Branch, Galveston, Texas, USA, "Associate Dean
and Chairman, Shantou Univ. Medical College, China, Distinguish Professor, University of Texas
Medical Branch, Galveston, Texas, USA."*

Chronic exposure to environmental toxic chemicals can cause DNA damage, disease and strong selection pressure on the gene pool of exposed populations. A mechanism that can link the exposure and biological consequences is DNA repair activity. Therefore, impairment of the DNA repair function (either from environmental exposure or from inheritance) can be a critical mechanism for the development of health problems. In my laboratory, we have developed a Challenge assay to detect functional DNA repair deficiencies. In this assay, lymphocytes from exposed and control subjects are irradiated with X-rays or UV-light to induce DNA damage, thus challenging them to repair the damage. Abnormal repair will result in significantly delayed DNA strand break repair and elevated chromosome aberrations. Studies around the world have used the assay to indicate that excessive exposure to mutagenic and toxic substances can cause abnormal DNA repair responses. Thus, the risk for the development of health problems is increased. In Kazakhstan, 3- generations of residents who have been exposed to radioactive fall-outs from nuclear bomb testing were studied. The population had generation-based increase in mini-satellite instability and preferential retention of the GSTM1 null genotype. It appears that the chronic exposure to ionizing radiation has caused DNA repair defects and the alteration of the gene pool. Among lung and breast cancer patients, our data indicate that they have reduced DNA repair function compared with matched controls. We also have ongoing studies to determine if patients with reduced DNA repair function will have poor response to radiation and/or chemical therapy. In summary, these studies indicate that excessive exposure to hazardous substances can cause functional alterations in the DNA repair machinery leading to increase health risk, including the possibility of alteration of gene pool in exposed population. Furthermore, reduced DNA repair function is significantly associated with the development of lung and breast cancers and may cause poor response to cancer therapy and survival.

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

R2. Validarea și verificarea testelor clinice de biologie moleculară utilizate în oncologie

Jitaru Daniela², Ivanov Iuliu C.², Carasevici Eugen², Daniela Cristina Dimitriu¹, Elena Dănilă Petrescu¹, Anisie Ecaterina³, Ungureanu Didona^{1,3}

1. *Universitatea de Medicină și Farmacie “Grigore T. Popa”, Departamentul de Biochimie, Iași; 2. Laboratorul de Biologie Moleculară, Institutul Regional de Oncologie, Iași; 3. Laboratorul de Imunologie și Genetică, Spitalul „Sf. Spiridon”, Iași*

Este esențială validarea și verificarea metodelor și procedurilor de laborator înainte de utilizarea lor ca teste clinice pentru a dovedi că sunt sigure și vin în ajutorul clinicienilor și pacienților. Această lucrare descrie principiile de validare și verificare, în contextul utilizării testelor de biologie moleculară în oncologia clinică. Vor fi redate procesele de implementare, diferite tipuri de teste de biologie moleculară și componentele cheie pentru validarea acestora, alături de o abordare statistică relevantă, care să ne asigure că testele sunt efectuate în conformitate cu standardele corespunzătoare, aplicate în laboratoarele de analize specifice. Procesele de implementare a testelor de biologie moleculară utilizate pentru diagnosticul oncologic este complex și necesită parcurgerea a numeroase etape de verificare și validare. Adică, este necesară adaptarea la scop a metodei. Componentele cheie ale acestor procese conform criteriilor ACCE, sunt reprezentate de: validarea analitică și clinică, utilitatea clinică și aspectele cu privire la implicațiile etice legale și sociale ale acestor teste. Înainte ca un test să fie validat este necesar să stabilim că măsurătorile alese sunt utile pentru diagnosticul respectiv și că numai analiții corecți sunt mășurați. De exemplu, trebuie să ne asigurăm că primerii aleși nu se suprapun polimorfismelor cunoscute pentru un anumit loc de legare și că sunt specifici țintei de interes. Trebuie remarcat faptul că utilizarea unui kit CE nu exclude adaptarea la scop a metodei de evaluare; trebuie să ne asigurăm în continuare că testul măsoară analitul adecvat pentru scopul propus, iar mențiunea de test de diagnosticare in vitro (IVD) se referă numai la performanțele tehnice ale kit-ului nu și la validitatea clinică sau diagnostică. Validarea și verificarea testelor de biologie moleculară utilizate în oncologie sunt importante atât pentru asigurarea managementului calității cât și pentru acreditarea laboratorului respectiv.

Validation and verification of clinical molecular biology tests used in oncology

Jitaru Daniela², Ivanov Iuliu C.², Carasevici Eugen², Daniela Cristina Dimitriu¹, Elena Dănilă Petrescu¹, Anisie Ecaterina³, Ungureanu Didona^{1,3}

1. *“Grigore T. Popa” University of Medicine and Pharmacy, Biochemistry Department, Iasi; 2. Laboratory of Molecular Biology of Regional Oncology Institute, Iasi; 3. Laboratory of Immunology and Genetics of “St. Spiridon” Hospital, Iasi*

The validation and verification of laboratory methods and procedures, before their use in clinical testing, is essential for providing a safe and useful service to clinicians and patients. This paper outlines the principles of validation and verification in the context of the use of molecular biology tests in clinical oncology. There are described implementation processes, types of molecular biology tests and their key validation components, suggesting some relevant statistical approaches that can be used by individual laboratories to ensure that tests are conducted to defined standards. The process of implementing molecular biology tests used for oncology diagnostic is complex and involves many levels of assess-

ment and validation. In other words, it is necessary the method's adaptation according to the purpose. The key components of the process, as detailed by the ACCE framework, are: analytical validation, clinical validation, clinical utility and consideration of the ethical, legal and social implications of the test. Before the validation of a test it is necessary to establish that the particular measurements are diagnostically useful and that the correct analyte(s) are measured. This could involve, for example, ensuring that primers do not overlay known polymorphisms in the primer-binding site and that they are specific to the target of interest. It should be noted that use of a CE-marked kit does not preclude assessment of use; care should still be taken to ensure that the test measures suitable analyte(s) for the intended purpose, as in vitro diagnostic device (IVD) compliance relates only to technical performance and not to clinical or diagnostic validity. The validation and verification of molecular biology tests used in oncology are important to ensure the laboratory quality management, but also to accreditation.

R3. Succesul în scrierea unui articol științific – aspecte etice și tehnice

Dobreanu Minodora, Enache Liviu Sorin

*Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu Mureș, Departamentul de Biochimie Clinică –
Laborator, Editors RRLM*

În obținerea unui manuscris științific publicabil este importantă calitatea cercetării efectuate, dar și tehnica scrierii articolului. Fără a fi corect scris, este posibil ca acesta să nu fie publicat sau în cel mai bun caz, să fie publicat cu întârziere. Oamenii de știință folosesc o structură tip, dezvoltată de-a lungul timpului: formatul IMRD, care conține în ordine titlul, autorii, instituția, rezumatul, cuvintele cheie, introducerea, metodele de studiu utilizate, rezultatele obținute, discutarea acestora, concluziile, referințe bibliografice și eventuale mulțumiri și materiale suplimentare. Acest format oferă avantajul de a putea fi analizat pe diferite nivele: titlul / rezumatul / întreg conținutul.

Componenta cea mai citită a articolelor (adesea singura citită) este titlul. Acesta trebuie să descrie clar conținutul, dar în același timp să fie scurt, reprezentativ și informativ. Rezumatul este o formă condensată a întregii lucrări, descriind succint conținutul. O listă scurtă (de 3-5 cuvinte) de cuvinte cheie asigură identificarea și indexarea corectă a articolului de către serviciile de indexare. Textul principal trebuie să înceapă prin a expune contextul cercetării, punând la dispoziție cititorului o introducere în subiect; informațiile prezentate trebuie să fie în legătură directă cu studiul. O secțiune informativă de material și metode trebuie să descrie tipul de studiu și modul de colectare al datelor. Cel mai eficient mod este acela de a răspunde la întrebările: ce, când, unde, cine și de ce a efectuat studiul/experimentul. Un important obiectiv al acestei părți este acela de a oferi suficiente detalii pentru ca doritorii să poată reproduce experimentele. Secțiunea de rezultate descrie clar și într-o succesiune logică, ceea ce s-a obținut. Rezultatele trebuie prezentate și explicate obiectiv, folosind cele mai sugestive imagini și tabele pentru a răspunde ipotezei de lucru. Nu întotdeauna rezultatele confirmă ipoteza de studiu, ele trebuie totuși prezentate – și rezultatele negative au importanță. În secțiunea de discuții, autorii vor interpreta rezultatele și vor analiza implicația celor descoperite în relație cu rezultate publicate deja de alte studii. Un capitol de discuții bine scris aduce scoate în valoare și susține manuscrisul științific. Acesta trebuie să sugereze aplicațiile practice ale rezultatelor obținute și dacă sunt etape ulterioare de efectuat. Este important să fie corect menționate și citate sursele bibliografice, pentru a fi ușor accesate (bibliografia). Concluziile generale și specifice vor sublinia utilitatea și implicațiile celor descoperite în studiu. Este important să se evite speculațiile, concluziile rezumându-se strict la ceea ce susțin rezultatele. Persoanele care au ajutat sunt menționate la secțiunea mulțumiri.

La scrierea articolelor, în practică se recomandă abordarea în următoarea succesiune logică: Material și Metode, urmat de Rezultate, Discuții, apoi Introducerea, Rezumatul și Titlul.

Eforturile cercetătorilor devin vizibile doar prin publicarea rezultatelor muncii lor, reputația și cariera lor depinzând de acest lucru. Pentru a avea succes, oamenii de știință sunt presați să publice cât mai mult, unii depășind barierele etice. Sunt descrise actualmente diverse forme de plagiat, combătute de lumea științifică și organisme de specialitate.

How to succeed in writing a scientific paper – technical and ethical aspects

Minodora Dobreanu, Liviu Sorin Enache

*Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu Mureș, Departamentul de Biochimie Clinică –
Laborator, Editors RRLM*

Not only the quality of scientific work is important in making a good manuscript, but also the writing technique. Articles have to be written correct, otherwise the work could never be published, or at best – publication will be delayed. A quite rigid structure developed over years is followed by scientists: IMRD traditional format is the most commonly used in writing scientific manuscripts today. It comprises title, authors, institution, abstract, keywords, introduction, methods, results, discussion, conclusion, acknowledgments, references and (eventually) supplementary materials. The format has the advantage that it allows the article to be read at different levels: title – abstract – main text.

The part most often read of an article (often the only part read) is the title. It has to be short, specific, representative and informative – clearly describing content. Abstract is a condensed version of the full paper, describing succinctly what was done. A short list (3-5 words) of keywords ensures the article will be correctly identified in abstracting and indexing services. The main text should begin by putting the work into context, providing the reader with introduction on the topic of the paper; the background information has to relate directly to the specific study. An informative successful material and methods section describe how the data were collected. The most efficient way is by answering at questions: what, when, where, who and why the experiments were performed. An important purpose of this section is to provide enough details so readers can replicate research. Results section describes clearly and in a logical sequence, what was discovered. The findings should be presented and explained objectively, based on the best representing tables and figures that answer the hypothesis being investigated. Not always the results confirm the hypothesis of the study, but they have to be presented entirely – negative results are also important. In discussion section, authors should interpret the results and discuss the implication of findings in relation to the evidences from other published studies. Good discussions add a strong finish and brings meaning to a scientific manuscript. It should suggest practical applications of results, and what would be the next steps in the study. It is also important to mention where documentation of previously published work can be accessed (references). Global and specific conclusions should indicate uses and extensions of the study. Conclusions have not to be extended beyond what is directly supported by results, so avoid undue speculation. Those who helped in the research are recognized in acknowledgments section.

In writing a scientific manuscript, there is a certain logic linear order of sections to be prepared: Methods, followed by Results, Discussion, then Introduction, Abstract, and Title.

Results that are not published means the research did not take place. Scientists effort becomes visible by publishing the results of their work on which their reputation and career may depend. To succeed on the academic scene scientist are under the pressure to publish as many papers as possible, and

sometimes cross barriers to ethical gray areas. Different types of plagiarism, banned by scientific community, are described today.

R4. Redactarea științifică: recomandări și capcane de evitat

Brudașcă Ioana

Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu", Cluj Napoca

Având în vedere că scopul unui cercetător este să publice, să fie citit și înțeles, trebuie ținut cont că redactarea științifică are propriile reguli, atât în privința structurii conținutului cât și a stilului. Titlul și rezumatul trebuie să furnizeze un maxim de informație într-o formă condensată. Articolul științific trebuie să respecte structura IMRAD (Introducere, Material/Metode, Rezultate, Discuții). Introducerea trebuie să prezinte pe scurt ipoteza de lucru; descrierea metodelor permite cititorilor evaluarea cercetării și reproducerea experimentelor. Secțiunea Rezultate este nucleul articolului și prezintă rezultatele principale fără a le interpreta, fiind completată de tabele și grafice sugestive. Discuția trebuie să expună implicațiile cercetării și răspunsurile la problemele puse în Introducere. Stilul redactării trebuie să fie precis, concis și logic.

Scientific writing: recommendations and pitfalls

Brudașcă Ioana

"Iuliu Hațieganu" University of Medicine and Pharmacy, Cluj Napoca

As the main goal of a researcher is to be published, read and understood, scientific writing has its own rules, regarding the structure of the content as well as the style of writing. The title and the abstract must provide as many information as possible in a very condensed form. A scientific paper must respect the IMRAD structure (Introduction, Material/Methods, Results, and Discussion). The introduction should briefly present the hypothesis tested in the article; the methods description must enable readers to evaluate the work and to reproduce the study. The results section is the core of the article and presents the main results without interpreting their meaning; it is completed by suggestive tables and figures. The discussion should explain the implications of the research and how the results answer the questions posed in the Introduction. Scientific writing must be precise, concise and logical.

P1. Tratamentul cu catina în ficatul gras nonalcoolic, pe model experimental, la soriceii

Virgolici Bogdana¹, Casariu Elena Daniela², Popescu Laura-Anca¹, Lixandru Daniela¹, Miricescu Daniela¹, Totan Alexandra¹, Greabu Maria¹, Mohora Maria¹

1.UMF Carol Davila, Bucharest, 2. General Practitioner, PhD Student

Scop. Scopul acestui studiu este de a compara stresul oxidativ hepatic, la soriceii cu ficat gras nonalcoolic, determinat după efectuarea a două tratamente diferite (ulei din fructul de cătina versus fructul proaspăt de cătina). Materiale și metode. Zece soriceii NMRI au fost hrăniți cu dieta standard și au format grupul control. Alți 40 de soriceii NMRI, constituind grupul de pretratament au fost hrăniți timp de o lună cu o dietă bogată în grăsimi pentru inducerea ficatului gras non-alcoolic. Apoi, soriceii

au fost împărțiți în diferite grupuri, fiecare grup de 10 soricei: grupul1 a continuat dieta bogată în lipide, grupul2 a urmat o dietă standard, grupul3 a primit ulei din fructul de cătină 1 ml/zi și dieta standard, iar grupul4 a fost hrănit cu fruct proaspăt de cătină 20g/zi și dieta standard. La sfârșitul studiului, glutatiunea (GSH), grupările tiolice totale (TSH) și malonildialdehida (MDA) au fost determinate colorimetric pe homogenatele hepatice, ca markeri de stres oxidativ. Rezultate si tratament. Soriceii din grupul de pretratament vs. celor din grupul control au avut GSH mai mic (4.4 vs 10.2 $\mu\text{mol/g}$ țesut, $p<0.03$), TSH mai mic (10.9 vs 16.4 $\mu\text{mol/g}$ liver) și MDA mai mare (48.5 vs 20.9 nmol/g liver, $p<0.02$). Tratamentul cu catină, fie uleiul din pulpa fructului, fie fructul proaspăt, a ameliorat atât creșterea MDA (36.8 nmol/g ficat și respectiv 28.9 nmol/g ficat) cât și reducerea GSH (6.8 $\mu\text{mol/g}$ ficat și respectiv 7.12 $\mu\text{mol/g}$ ficat), dar îmbunătățiri semnificative s-au observat în urma tratamentului cu fructul proaspăt de cătină. Concluzii. La soriceii cu dieta hiperlipidică și ficat gras non alcoolic, tratamentul cu fructul proaspăt de cătină a îmbunătățit statusul stresului oxidativ hepatic mai mult decât tratamentul cu uleiul din pulpa de catină. Virgolici Bogdana acknowledges the postdoctoral program POSDRU/89/1.5/S/60746, from European Social Fund.

Sea Buckthorn treatment in a mouse model of nonalcoholic fatty liver disease

Virgolici Bogdana¹, Casariu Elena Daniela², Popescu Laura-Anca¹, Lixandru Daniela¹, Miricescu Daniela¹, Totan Alexandr¹, Greabu Maria¹, Mohora Maria¹

1.UMF Carol Davila, Bucharest, 2. General Practitioner, PhD Student

The aim of this study is to compare liver oxidative stress status in a mouse model of non-alcoholic fatty liver disease (NAFLD) obtained after two types of Sea Buckthorn treatments (pulp oil versus fresh fruit). Materials and methods. Ten NMRI mice were fed a standard diet and formed the control group. As pretreatment, 40 NMRI mice were fed for one month with a high-fat diet to induce NAFLD. Then, the mice were divided in different groups, each group with ten mice: group1 continued high fat diet, group2 continued with standard diet, group3 received pulp oil Sea Buckthorn 1 ml/day and standard diet and group4 was fed with fresh fruit Sea Buckthorn 20 g/day and standard diet. At the end of the study, glutathione (GSH), total thiol groups (TSH), malonyldialdehyde (MDA) were colorimetric determined in mouse liver homogenates, as markers of oxidative stress. Results and discussion. Mice from the pretreatment group vs. control group had lower GSH (4.4 vs. 10.2 $\mu\text{mol/g}$ liver, $p<0.03$), lower TSH (10.9 vs. 16.4 $\mu\text{mol/g}$ liver) and higher MDA (48.5 vs. 20.9 nmol/g liver, $p<0.02$). Sea Buckthorn pulp oil and fresh fruit treatments lowered the rise of liver MDA (36.8 nmol/g liver and 28.9 nmol/g liver, respectively) and increased the decrease of liver glutathione (6.8 $\mu\text{mol/g}$ liver and 7.12 $\mu\text{mol/g}$ liver, respectively) but significant improved results were observed in Sea Buckthorn fresh fruit treatment. Conclusion. In high fat diet mice with NAFLD, Sea Buckthorn fresh fruit treatment improved liver oxidative stress status better than pulp oil treatment. Virgolici Bogdana acknowledges the postdoctoral program POSDRU/89/1.5/S/60746, from European Social Fund.

P2. Screening al statusului vitaminei B12 și al superoxid dismutazei eritrocitare într-un eșantion populațional din Transilvania

Crăciun Elena Cristina¹, Colosi Horațiu Alexandru²

1. UMF „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca, Disciplina de Biochimie farmaceutică și Laborator clinic, Facultatea de Farmacie, 2. UMF „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca, Disciplina de Informatică Medicală și Biostatistică, Facultatea de Medicină

Introducere. Vitamina B12 joacă un rol cheie în funcționarea creierului și a sistemului nervos precum și în procesul de maturizare a globulelor roșii. Deficiența acestei vitamine determină tulburări hematologice, neuropsihiatrice, hiperhomocisteinemie și crește riscul pentru afecțiuni cardiovasculare. Scop. În studiul de față ne-am propus evaluarea statusului vitaminei B12 într-un eșantion al populației generale adulte din Transilvania, România. Subiecți și metode. În studiu au fost incluși 80 de subiecți cu vârste cuprinse între 19 și 74 de ani, care nu au utilizat suplimente de vitamina B12 sau alimente fortificate cu vitamina B12. Dozarea vitaminei B12 s-a realizat prin metoda imunochimică cu detecție prin chemiluminiscență pe analizor Elecsys 2010 (Roche). Activitatea superoxid dismutazei s-a determinat cu kitul RANSOD (RANDOX Labs., UK). Rezultate. Concentrația serică a vitaminei B12 s-a încadrat în intervalul de referință (191-663 pg/ml) la 93,75% (95%CI 86,2-97,3%) din subiecți. La acești subiecți nu s-au evidențiat corelații semnificative statistic între concentrația serică a vitaminei B12 și: vârsta subiecților, concentrația hemoglobinei, respectiv activitatea SOD. Nu s-au găsit nici diferențe semnificative ($p > 0.05$ -Student's t-test) ale statusului vitaminic la femei față de bărbați. O relație lineară direct proporțională a fost observată între activitatea SOD și vârsta subiecților ($r = 0.38$, $p < 0.001$). Concentrația serică a vitaminei B12 s-a situat sub limita inferioară a intervalului de referință la 6,25% din subiecții investigați, fiind asociată tratamentului cu contraceptive orale, inhibitori ai pompei de protoni (IPP) respectiv sindromului de colon iritabil. Concluzii. Monitorizarea statusului vitaminei B12 este importantă la subiecții care urmează un tratament îndelungat cu IPP sau cu contraceptive orale.

Screening of vitamin B12 status and of the erythrocyte superoxide dismutase activity in a population sample from Transylvania

Elena Cristina Crăciun¹, Horațiu Alexandru Colosi²

1. UMF "Iuliu Hațieganu", Cluj-Napoca, Department of Pharmaceutical Biochemistry and Clinical Laboratory, Faculty of Pharmacy, 2. UMF "Iuliu Hațieganu", Cluj-Napoca, Department of Medical Informatics and Biostatistics, Faculty of Medicine

Background. Vitamin B12 plays a key role in the normal functioning of the brain and nervous system and in the process of red blood cell maturation. Vitamin B12 deficiency can lead to neuropsychiatric and hematologic disorders, hyperhomocysteinemia, and indirectly increases the risk of cardiovascular disorders. Aim. The aim of this study has been to evaluate the vitamin B12 status in a sample of the general adult population from Transylvania, Romania. Subjects and Method. The studied sample included 80 subjects aged between 19 and 74 years who did not use vitamin B12 supplements or vitamin B12 fortified food. The serum vitamin B12 assay was performed using electrochemiluminescence immunoassay on a Roche Elecsys 2010 analyzer. The superoxide dismutase (SOD) activity was measured using the RANSOD kit (RANDOX Labs., UK). Results. Among all subjects, 93.75% (95%CI

86.2-97.3%) had serum vitamin B12 concentrations in the reference range of the employed method (191-663 pg/ml). In these subjects, we did not observe any statistically significant correlations between serum vitamin B12 concentration and: age, hemoglobin level and SOD activity. The serum vitamin B12 levels did not differ significantly ($p > 0.05$ -Student's t-test) between women and men. A direct linear correlation has been observed between SOD activity and age of the subjects ($r = 0.38$, $p < 0.001$). Subnormal serum levels of vitamin B12 were observed in 6.25% of the investigated subjects, associated with the use of birth control pills, long-term therapy with proton pump inhibitors (IPP) and irritable bowel syndrome. Conclusion. Monitoring the vitamin B12 status is especially important in patients undergoing long-term acid-suppressing treatments, as well as in users of oral contraceptives.

P3. Reducerea activității lactonazice a paraoxonazei serice (PON1) la copiii și adolescenții obezi

Dronca Maria, Nistor Raluca, Leucuta Daniel, Cret Victoria

Universitatea de Medicină și Farmacie Iuliu Hatieganu, Cluj-Napoca, România

Obezitatea infantilă este o problema majoră de sănătate publică, afectând peste 30 milioane de copii din întreaga lume. Severitatea acestei condiții este în principal legată de consecințele pe termen lung - copiii obezi fiind mai susceptibili de a deveni adulți obezi, cu un risc crescut de a dezvolta complicații cardiovasculare. Paraoxonază serică umană PON1, cel mai bine cunoscută pentru activitățile sale paraoxonazică (Po.ase) și arilesterazică (Ar.ase), a fost deasemenea descrisă ca lactonază (Lct.ase), importantă în prevenirea aterosclerozei. În acest studiu ne-am propus, pentru prima dată, o abordare complexă a activităților PON1 pentru a clarifica relația dintre acestea, nivelul LDL oxidat (oxLDL) și alți markeri proaterogeni, la 36 de pacienți obezi și 33 de subiecți sănătoși, potriviți ca vârstă. Activitățile Ar.ase și Po.ase (stimulată cu NaCl) s-au determinat spectrofotometric; activitatea Lct.ase a fost analizată folosind o metoda colorimetrică pH-sensibilă, iar oxLDL a fost măsurat folosind un kit ELISA. Așa cum era de așteptat, raportul LDL/HDL a fost mai mare la copiii obezi ($p < 0,001$), dar nu s-a observat o diferență semnificativă statistic a nivelului oxLDL între loturile investigate ($46,08 \pm 10,49$ vs $47,02 \pm 14,67$; $p > 0,05$). Activitățile Ar.ase ($55,69 [48,42 - 61,09]$ vs $74,98 [61-85,1]$; $p < 0,001$) și Lct.ase ($11,28 [8,87-12,11]$ vs $19,81 [9,39-28,07]$; $p < 0,05$) au prezentat nivele scăzute la copiii obezi, activitatea Lct.ase corelandu-se pozitiv cu activitatea Ar.ase ($p < 0,001$). În concluzie, nivelul scăzut al activității Lct.ase este asociat cu obezitatea și ar putea fi considerat un potențial nou predictor al riscului cardiovascular la copiii și adolescenții obezi.

Decreased Serum Paraoxonase 1 (PON 1) lactonase activity in obese children and adolescents

Dronca Maria, Nistor Raluca, Leucuta Daniel, Cret Victoria

Iuliu Hatieganu University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca, Romania

Childhood obesity is a major public health issue, affecting over 30 million children worldwide. The severity of this condition is mainly related to its long-term consequences - obese children being most likely to become obese adults, and thus having a higher risk of developing cardiovascular complications. The human serum PON1, best known for its paraoxonase (Po.ase) and arylesterase (Ar.ase)

activities, has also been described as a lactonase (Lct.ase), important in the prevention of atherosclerosis. In this study we undertook, for the first time, a complex approach of PON1 activities to clarify the relationship between these activities, oxidized LDL (oxLDL) levels and other proatherogenic indices in 36 obese subjects and 33 age-matched healthy controls. Ar.ase and salt-stimulated Po.ase activities were determined spectrophotometrically; Lct.ase activity was assayed with a pH-sensitive colorimetric assay and serum oxLDL was measured with an ELISA kit. As expected, the LDL to HDL ratio was higher in obese children ($p < 0.001$), but oxLDL levels showed no significant statistical difference (46.08 ± 10.49 vs. 47.02 ± 14.67 ; $p > 0.05$) between investigated groups. Low Ar.ase ($55.69 [48.42 - 61.09]$ vs. $74.98 [61 - 85.1]$; $p < 0.001$) and Lct.ase ($11.28 [8.87 - 12.11]$ vs. $19.81 [9.39 - 28.07]$; $p < 0.05$) activities were found in obese children compared to controls, Lct.ase activity showing positive correlation with Ar.ase activity ($p < 0.001$). In conclusion, low Lct.ase level is associated with obesity and could be considered a potential new predictor of cardiovascular risk in obese children and adolescents.

P4. Intervale de referință și modificările nivelelor circulante ale proteinei Gla matriceale totale (MGP) la subiecții sănătoși

Silaghi N. Ciprian¹, Gheorghe R. Simona¹, Iovan V. Ciprian², Crăciun M. Alexandra¹

1. Departamentul de Biochimie Medicală, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu", Cluj-Napoca, România, 2. Departamentul de Farmacie, Facultatea de Medicină și Farmacie, Universitatea din Oradea, Oradea, România

Introducere: MGP este o proteină dependentă de vitamina K, acționând ca inhibitor local al calcificărilor arteriale și cartilajinoase. Scopul studiului a fost evaluarea influenței anumitor parametrii asupra nivelelor circulante de MGP și stabilirea intervalelor de referință pentru MGP seric total. **Material și metodă:** S-a recoltat ser de la 114 subiecți aparent sănătoși, fără antecedente de hipertensiune, diabet zaharat, varice, afecțiuni coronariene, osteoarticulare, inflamatorii sau afecțiuni renale cronice. MGP seric total a fost evaluat prin metoda ELISA. De asemenea, s-au determinat nivelele serice ale glucozei, colesterolului, HDL-colesterolului, LDL-colesterolului, trigliceridelor și hs-CRP-ului. **Rezultate:** Am observat o asociere între MGP și fumat ($r = 0.314$, $p = 0.001$), precum și valori crescute ale MGP la fumători față de nefumători ($69 \pm 27 \mu\text{g/L}$ versus $52 \pm 24 \mu\text{g/L}$, $p = 0.001$). Un nivel seric ridicat de MGP am găsit la subiecții sub 40 de ani, comparativ cu cei peste 40 de ani ($61 \pm 28 \mu\text{g/L}$ versus $51 \pm 22 \mu\text{g/L}$, $p = 0.032$). Deși am constatat o slabă corelație negativă între MGP și vârstă ($r = -0.226$, $p = 0.016$), trendul descendent al nivelelor de MGP observat în urma împărțirii subiecților pe decade nu a fost semnificativ statistic. Nu am găsit asocieri ale MGP cu indicele de masă corporală, sex, alcool, glicemie, colesterol, HDL și LDL-colesterol, trigliceride și hs-CRP. Am stabilit la adulți un interval de referință pentru MGP seric total de $4,2-109,4 \mu\text{g/L}$. **Concluzii:** Fumatul și vârsta sunt factori care influențează valorile circulante ale MGP la subiecții sănătoși. De asemenea, am confirmat că nivelele serice ale MGP total sunt scăzute la subiecții peste 40 de ani. **Cuvinte cheie:** proteina Gla matriceală, calcificare, interval de referință.

Reference intervals and variations of total circulating matrix Gla protein (MGP) in healthy subjects

Silaghi N. Ciprian¹, Gheorghe R. Simona¹, Iovan V. Ciprian², Crăciun M. Alexandra¹

1. Department of Medical Biochemistry, University of Medicine and Pharmacy „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca, Romania, 2. Department of Pharmacy, Faculty of Medicine and Pharmacy, University of Oradea, Oradea, Romania

Background: MGP is a vitamin K-dependent protein, acting as a local inhibitor of calcification in the arterial walls and cartilage. The purpose of our study was to assess the influence of different parameters on circulating MGP levels and to establish the reference intervals for total serum MGP. Methods: Serum was collected from 114 apparently healthy subjects with no history of hypertension, coronary artery disease, diabetes mellitus, chronic kidney disease, varicose veins, osteoarticular or inflammatory diseases. Total serum MGP was assessed by ELISA, and also glucose, cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, triglycerides and hs-CRP levels were determined. Results: We found an association between MGP and smoking ($r=0.314$, $p=0.001$), and also elevated MGP levels were noticed when comparing smoking and non-smoking subjects (69 ± 27 $\mu\text{g/L}$ versus 52 ± 24 $\mu\text{g/L}$, $p=0.001$). The group under 40 years had higher levels of serum MGP than subjects over 40 years (61 ± 28 $\mu\text{g/L}$ versus 51 ± 22 $\mu\text{g/L}$, $p=0.032$). Regardless of a weak negative correlation found between total MGP and age ($r=-0.226$, $p=0.016$), the decreasing trend observed in serum MGP levels when subjects were divided by decades of age have not reached statistical significance. The other parameters (i.e. gender, body mass index, alcohol, glucose, cholesterol, HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, triglycerides and hs-CRP) were not associated with MGP. We established the reference interval values of the adult population for total serum MGP as 4.2-109.4 $\mu\text{g/L}$. Conclusions: In healthy population, circulating total MGP levels are influenced by smoking and age. Furthermore, we confirm that total serum MGP is lower in subjects over 40 years. Keywords: matrix Gla protein, calcification, reference interval.

P5. Superoxid dismutaza și glutation peroxidaza - antioxidanți enzimatici în hepatita cronică C asociată cu poliartrită reumatoidă

Ghiduș Daniela¹, Mihailov Claudia Ileana^{1,2}, Verman Irinel Georgeta¹, Roșoiu Natalia¹

1. Universitatea „Ovidius”, Facultatea de Medicină, Constanța, 2. Spitalul Clinic Port, Secția medicală II, Constanța.

Asocierea hepatitei cronice cu virus hepatic C (HCV) cu poliartrita reumatoidă (PR) complică evoluția și tratamentul lor. Ambele boli implică mecanisme care generează specii de radicali liberi de oxigen, cu apariția stresului oxidativ, ceea ce reflectă dezechilibrul dintre sistemele pro- și anti-oxidante. Scopul studiului este evaluarea activității enzimelor antioxidate, superoxid dismutaza (SOD) și glutation peroxidaza (GPx) pe un lot de 19 pacienți cu HCV care asociază PR (HCV+PR) comparativ cu 15 pacienți cu HCV și 18 martori sănătoși. Material și metode: Pentru măsurarea SOD și GPx s-au folosit kituri și analizorul de biochimie Randox. Rezultate și discuții: A fost determinată o scădere semnificativă a SOD în loturile HCV, HCV+PR față de lotul martor ($p<0,05$) și o diferență semnificativă între loturile HCV, HCV+PR, cu scăderea accentuată a SOD în HCV ($p<0,05$). Pentru GPx s-a determinat o diferență semnificativă în lotul HCV+PR comparativ cu lotul martor, cu o creștere semnificativă în HCV+PR ($p<0,05$). Există o corelație între SOD și GPx puternică pozitivă în

lotul HCV și slab moderată negativă în lotul HCV+PR. Concluzii: Pacienții cu HCV prezintă o diminuare a capacității antioxidante. La pacienții cu HCV+PR s-a observat o scădere a primei linii de apărare antioxidantă dată de SOD și creșterea activității celei de-a doua linii de apărare dată de GPx, printr-un efect de compensare enzimatică. Consumul crescut al SOD și intensificarea sintezei de GPx reflectă implicarea sistemului antioxidant în combaterea stresului oxidativ, atunci când sunt asociate cele două morbidități. Cuvinte cheie: hepatita, poliartrită reumatoidă, SOD, GPx, stres oxidativ.

Superoxid dismutase and glutathione peroxidase - enzymatic antioxidants in patients with chronic hepatitis with virus C and rheumatic arthritis

Ghiduș Daniela¹, Mihailov Claudia Ileana^{1,2}, Verman Irinel Georgeta¹, Roșoiu Natalia¹

1. "Ovidius" University, Faculty of Medicine, Biochemistry Discipline, Constanța, Romania,

2. "Ovidius" University, Faculty of Medicine, Discipline of Medical Semiology, Constanța, Romania, Clinical Port Hospital Constanta, 2nd Medical Department, Constanța, Romania

The co-morbidity of chronic hepatitis with hepatic virus C (HCV) and rheumatic arthritis (RA) complicates their evolution and treatment. Both diseases involve mechanisms that generate free radicals of oxygen species with the appearance of the oxidative stress, reflecting the imbalance of the pro- and anti-oxidative systems. Aim of the study is to investigate the activity of antioxidative enzymes (superoxide dismutase (SOD) and glutathione peroxidase (GPx)) on a sample of 19 patients with HCV associated with RA (HCV+RA) compared with 15 patients with HCV and 18 healthy persons. Material and methods: For measuring SOD and GPx activity were used Randox kits and analyser. Results and discussions: A significant decrease of SOD in HCV, HCV+RA as compared to control group ($p < 0,05$) and a significant difference between HCV and HCV+RA with an important decrease of SOD in HCV ($p < 0,05$) have been determined. For GPx has been determined a significant difference in HCV+RA as compared to control group, with a significant increase in HCV+RA ($p < 0,05$). There are correlations between SOD and GPx: powerful positive for HCV and moderate negative in HCV+RA. Conclusions: The patients with HCV show a decrease in antioxidant capacity. In patients with HCV+RA a decrease in the first line of antioxidant defence amended by SOD and the increase of the second line by GPx as an effect of enzymatic compensation have been noticed. Increased consumption of SOD and intensified GPx synthesis reflect the antioxidant system involvement in fighting oxidative stress, when both diseases are associated. Keywords: hepatitis, rheumatic arthritis, SOD, GPx, oxidative stress

P6. Relația dintre visfatină și metabolismul lipidic la femei

Gligor Ramona, Crîșnic Ioan, Pilat Luminița, Zdremțan Dana

Universitatea de Vest „Vasile Goldiș” din Arad, Departament Medicină Generală

Introducere. Anomaliile metabolismului lipidic reprezintă unul din principalii factori de risc pentru dezvoltarea bolilor aterosclerotice. Visfatina este o adipokină controversată, cu proprietăți inflamatorii. Obiective. Evaluarea valorilor visfatinei în raport cu parametri metabolismului lipidic la femei. Material și metode. Studiul a inclus 70 de femei, care au fost împărțite în 3 loturi: lotul I – 30 de femei cu diabet zaharat tip 2, lotul II – 20 de femei obeze, lotul III – 20 femei sănătoase normoponderale. Nivelurile serice ale visfatinei s-au determinat prin metoda ELISA, iar parametrii metabolismului lipidic prin metode fotometrice enzimatic. Rezultate. Valorile parametrilor metabolismului lipidic nu au pre-

zentat modificări semnificative statistic la lotul I față de lotul II, dar au fost semnificativ statistic mai crescute la ambele loturi față de lotul III ($p < 0,0001$). Nivelele serice ale visfatinei au fost semnificativ statistic mai crescute la femeile cu diabet zaharat atât față de femeile obeze cât și raportat la lotul martor ($82,07 \pm 21,44 \text{ ng/ml}$, $44,40 \pm 8,03$, respectiv $22,80 \pm 10,52$, $p < 0,0001$). Comparând nivelele serice ale visfatinei cu parametrii metabolismului lipidic am obținut corelație liniară ascendentă ale visfatinei cu colesterolul total și LDLc la lotul I, corelații pozitive cu LDL, colesterol total, trigliceride și negativă cu HDL la lotul de femei obeze. La lotul martor am obținut corelații pozitive ale visfatinei cu HDL. Concluzii. Visfatina poate fi utilizată ca marker de risc alături de parametrii metabolismului lipidic pentru diabetul zaharat și bolile cardiovasculare. Cuvinte cheie: visfatina, diabet zaharat, metabolism lipidic, LDL, HDL, trigliceride.

The relationship between visfatin and the lipidic metabolism in women

Gligor Ramona, Crîsnic Ioan, Pilat Luminița, Zdremțan Dana

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

Introduction. The abnormalities of the lipidic metabolism represent one of the main risk factors for the developing of the atherosclerotic diseases. Visfatin is a controverted adipokine that has inflammatory properties. **Objectives.** The evaluation of visfatin values compared to the lipidic metabolism parameters in female subjects. **Material and methods.** The study included 70 women, split in three groups: group I – 30 women with type 2 diabetes mellitus, group II – 20 obese women and group III – 20 healthy normal weight women. The serum levels of visfatin were determined by the ELISA method and the parameters of the lipidic metabolism were determined through enzymatic-photometric methods. **Results.** The values of the lipidic metabolism parameters didn't show statistically significant changes in group I compared to group II but were statistically significant more increased in both groups compared to group III ($p < 0,0001$). The serum levels of visfatin were statistically significant higher in diabetic women compared to both to the obese and the control group ($82,07 \pm 21,44 \text{ ng/ml}$, $44,40 \pm 8,03$, $22,80 \pm 10,52$, $p < 0,0001$ respectively). Comparing the visfatin serum levels with the parameters of the lipidic metabolism, we obtained an ascendant linear correlation of visfatin compared to total cholesterol and LDL in group I, positive correlations with LDL, total cholesterol, triglycerides and negative correlation with HDL in the obese women. In the control group we obtained positive correlations of visfatin with HDL. **Conclusions.** Visfatin can be used as a risk marker, together with the lipidic metabolism parameters, for diabetes mellitus and cardiovascular disease. **Keywords.** Visfatin, diabetes mellitus, lipidic metabolism, HDL, LDL, triglycerides.

P7. Corelații ale markerilor imuno-biochimici și virusologici și modificările histopatologice la pacienții AgHBs pozitivi și ciroză hepatică alcoolică

Gurban Camelia Vidita¹, Baderca Flavia², Basa Norina³, Lighezan Rodica², Tirziu R.⁴, Cretu O.⁴

1. Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara, Disciplina Biochimie, România,

2. Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara, Disciplina Histologie, România,

3. Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara, Disciplina Semiologie Medicală, România, 4. Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara, Disciplina Semiologie Chirurgicală, România.

Scopul: Studiul a cuprins investigarea nivelelor serice ale markerilor imuno-biochimici și corelația lor cu modificările histopatologice la pacienții AgHBs pozitivi cu ciroza hepatică etanolică (CE), la peste 48 luni de la primo-infecție. Metode: Studiul a cuprins 2 loturi de pacienți AgHBs pozitivi: grupul 1 (n=45, cu CE, lotul studiu) și grupul 2 (n=28, nepotatori, lotul martor). Au fost analizate: nivelele markerilor imuni (AFP), inflamatorii standard (HLG, VSH, CRP), biochimici hepatici (ALAT, ASAT, GGT, ALP, LDH, BT/BD), teste de coagulare (TQ, APTT, INR, FIB), nivelele serice ionice. Testele virusologice (AgHBs, AgHBe, anti HBe, viremie B) au permis caracterizarea profilului viral al pacienților. Procesul inflamator-degenerativ hepatic a fost evidențiat prin colorațiile Hematoxilina Eozina și Tricrom Masson. Rezultate: Nivelele serice AFP sunt crescute la 60% din pacienții lotului de studiu ($p < 0.05$), vs. lot martor. Procesul inflamator a fost prezent, iar HLG a evidențiat anemia macrocitară și trombocitopenia la toți pacienții cu CE ($p < 0.01$), comparativ cu lotul martor. Nivelele serice parametrilor biochimici hepatici și de coagulare au fost semnificativ crescute la toți pacienții din lotul studiu, comparativ cu lotul martor ($p < 0.05$). Statusul viral evidențiază: scăderea nivelelor serice IgM-antiHBc (80%, pacienții lot. studiu), creșterea nivelelor serice anti-HBc (64.5% cazuri), AchBe (45% cazuri) și HBV ADN (50% cazuri). La toți pacienții din lotul de studiu colorația Tricrom Masson a evidențiat degenerescență vacuolară cu prezența corpilor Mallory asociate cu un intens proces de fibroză perisinusoidală. Concluzii: Creșterea nivelelor AFP demonstrează evoluția nefavorabilă spre hepatocarcinom la pacienții cu CE. Creșterea rap. ASAT/ALAT rezultă din inhibarea proporțional mai mare a sintezei hepatocitare a ALAT de către etanol, evidențiată și prin frecvențele leziuni degenerative hepatocitare. Statusul viral evidențiază prognosticul rezervat al pacienților AgHBs pozitivi purtători.

The correlation of biochemical-immunological and virusological markers and histopathological modifications in patients with positive HBs antibodies and alcoholic cirrhosis of the liver

Gurban Camelia Vidita¹, Baderca Flavia², Basa Norina³, Lighezan Rodica², Tirziu R.⁴, Cretu O.⁴

1. "Victor Babes" University of Medicine and Pharmacy, Biochemistry Department, Timisoara, Romania, 2. "Victor Babes" University of Medicine and Pharmacy, Histology Department, Timisoara, Romania, 3. "Victor Babes" University of Medicine and Pharmacy, Medical Semiology Department, Timisoara, Romania, 4. "Victor Babes" University of Medicine and Pharmacy, Surgery Semiology Department, Timisoara, Romania.

Aim: The study included investigation serum levels of biochemical-immunological markers and their correlation with respect to histopathological modifications in patients with positive HBs-antibodies and alcoholic liver cirrhosis-(ALC), after 48 months of having a first contact with the virus. Method:

The study covered 2 lots of patients with +HBs-antibodies: group 1: (n=45, with ACL, study lot) and group 2: (n=28, nonACL patients, witness lot). The following immunological markers (IM) were investigated: standard inflammation markers: (HLG, -ESR, -CRP), hepatic biochemical markers: (ALAT, -ASAT, -GGT, -ALP, -LDH, -TB/BD), coagulation tests: (QT, -APTT, -INR, -FIB), and serum ionic levels. Virusological tests: (HBs and Hbe-antibodies, anti-Hbe, Bvirusology) permitted the making of the virusology profile of the case patients. The degenerative inflammatory process of the liver was shown using Hematoxylin-Eosin and Trichrom-Masson's staining. Results: The serum levels of IM were risen in 60%-patients in study lot ($p < 0.05$), vs. controls. The inflammatory process was present, HLG showed anemia and lowered platelet cell count in all patients with ACL ($p < 0.01$) vs. controls. The levels of serum biochemical hepatic and coagulation markers were significantly risen in all patients of the study lot, vs. witness lot ($p < 0.05$). The viral status showed: lowered levels serum IgM-antiHBc (80%-patients study lot), risen serum levels anti-HBc (64.5%-the cases), HBe-antibodies (45%-the cases) and HBV-DNA (50%-the cases). In all patients in study lot the Trichrom-Masson's staining showed hepatic degeneration with the presence of Mallory-bodies associated with a significant fibrosis process. Conclusions: The risen levels of IM show the unfavorable evolution towards hepatic carcinoma in patients with ACL. The fast rising of ASAT/ALAT is due to the inhibition of ALAT secretion because of ethanol, which is also showed by the frequent hepatic degenerative lesions. The viral status shows a reserved prognosis in alcoholic patients with positive AgHBs.

P8. Serum total Homocysteine in adult Bulgarians: healthy study group

Ivanova Irena, Ekaterina Ivanova-Todorova

St. Ivan Rilski University Hospital, Sofia, Bulgaria

Homocysteine (Hcy) is an independent risk factor for cardio- and neuro-vascular and neuropsychiatric disorders. It is well known that Hcy blood concentration depends on genetic predisposition, diet and renal function. The aim of the study were to describe the distribution of serum total Hcy concentrations in a healthy group of people and to test for differences in Hcy concentrations among sex, age, Vitamin B12, Folic acid and lipid status. Materials and methods: The study included 60 healthy persons - 30 women and 30 men with average age 42.27 ± 13.64 (20- 80 years). The patients were with normal renal function-creatinine $x = 65.12 \pm 14.28 \mu\text{mol/l}$; good status of Folic acid, $x = 13.26 \pm 4.9 \text{ ng/ml}$ (5.6 - 26.3 ng/ml) and of Vitamin B12, $x = 287 \pm 177.15 \text{ pg/ml}$ (49-1073 pg/ml). Total Hcy, Vitamin B12 and Folic acid were detected by competitive chemiluminiscence immunoassay in Immulite 1000 using gel tubes. Questionnaire forms and statistical analysis -SPSS 19 were used. Results: Mean level of total Hcy was $10.54 \pm 5.48 \mu\text{mol/l}$ (from 1.34 to 25.40 $\mu\text{mol/l}$). It was up to 15 $\mu\text{mol/l}$ in 83.33% of whole group samples (n=50) and up to 8 $\mu\text{mol/l}$ in 31.66% in 19 persons. Detected total Hcy was higher in men with mean values $11.06 \pm 6.07 \mu\text{mol/l}$ than in women with mean values $10.03 \pm 4.88 \mu\text{mol/l}$. No statistical correlation was established between total Hcy levels and age, vitamin B12, Folic acid and serum lipids in healthy study group. Conclusions: It was established the tendency that total Hcy was higher in men than in women without statistical significance ($p = 0.473$). In the study group there was no established correlation between studied tests.

P9. Nephrotic syndrome after treatment with D-penicillamine

Kostadinova A.¹, Jordanov M.¹, Ivanova I.², Robeva R.².

1. Internal Medicine and Nephrology, UH St.Ivan Rislki, Sofia, 2. Clinical Laboratory Department, UH St.Ivan Rislki, Sofia

D-penicillamine is a classic drug for treatment of Wilson's disease. Its major effect is to promote the urinary copper excretion. Treatment with D-penicillamine is linked to wide range of side effects. The most serious of them are kidney damage and hematopoietic disorders. We aim to present a 31 year old man identified on routine screening tests in 2008 with increased value of ASAT-184 U/L. He had no history of fever, jaundice, abdominal pain or gastrointestinal bleeding. Clinical, laboratory and histological tests were carried out. In 2011 Wilson's disease was diagnosed. Then treatment with D-penicillamine started -1.5g/day. In 2013 the patient appeared with edema syndrome and he was diagnosed kidney damage. Serum creatinine was measured - 134 μ mol/l, urea - 10.25 mmol/l, albumin - 15.8 g/l and proteinuria - 4.38 g/24h. Nephrotic syndrome was diagnosed on standard criteria. Kidney biopsy proved focal proliferative glomerulonephritis. After stopping D-penicillamine and initiating corticosteroid therapy the patient's condition improved. The average period of treatment with D-penicillamine before developing of nephrotic syndrome was nearly 2 years. It is necessary the urinary copper excretion to be monitored as a criteria for adequate treatment with D-penicillamine. Kidney function and signs of proteinuria have to be followed in cases with chelating therapy. Drug caused damage has to be searched in every patient with unexpected and unexplained renal manifestations not related with the underlying disease.

P10. Relația dintre indicele carotidian intimă-medie și stresul oxidativ la subiecți cu patologii cardiovasculare

Lupeanu Elena¹, Constantin Gianina Ioana¹, Morosanu Bogdan¹, Barsan Monica¹, Anton Mariana², Hnidei Rodica¹, Gherasim Petru¹, Constantinescu Emanuela¹

1. Institutul National de Gerontologie și Geriatrie "Ana Aslan", București, România, 2. Spitalul Clinic Colțea, București, România

Introducere: Indicele carotidian intimă-medie (C-IMT) este un marker important pentru îmbătrânirea fiziologic normală, ateroscleroza și alte evenimente cardiovasculare. Stresul oxidativ este asociat cu procesul îmbătrânirii și patologia cardiovasculară (CVD). Scopul studiului este să evalueze relația dintre stresul oxidativ și indicele intimă-medie la subiecți de vârste diferite cu CVD. **Metode:** Studiul s-a realizat pe 126 subiecți distribuiți în trei loturi: 1). lot control – fără patologii cardiovasculare; 2). lot subiecți adulți cu CVD și 3). lot subiecți vârstnici cu CVD. C-IMT a fost măsurat prin ultrasonografie, capacitatea antioxidantă a serului (TAS) a fost determinată cu kituri Randox, și LDL oxidat determinat prin reacția cu acidul tiobarbituric (TBA). **Rezultate:** C-IMT și LDL oxidat au crescut semnificativ ($p < 0,001$) la pacienții adulți și vârstnici cu CVD comparativ cu lotul control. TAS a fost semnificativ redus ($p < 0,01$) la pacienții vârstnici cu CVD comparativ cu adulții cu CVD și subiecții control. S-a înregistrat o corelație semnificativ pozitivă între C-IMT și LDL oxidat ($r = 0,4259$; $p < 0,02$) la grupul alcătuit din subiecții control și vârstnici cu CVD. S-a stabilit o corelație semnificativ pozitivă între C-IMT și TAS ($r = 0,2808$; $p < 0,05$) la grupul de subiecți cu CVD adulți și vârstnici și o corelație semnificativ negativă ($r = -0,337$; $p < 0,01$) între LDL oxidat și TAS la tot grupul

investigat. Concluzii: Creșterea semnificativă a LDL oxidat și reducerea semnificativă a TAS pot fi implicate în creșterea indicelui carotidian intimă-medie observat în patologia cardiovasculară asociată procesului îmbătrânirii.

Carotid intima-media thickness and oxidative stress relationships in subjects with cardiovascular pathology

Lupeanu Elena¹, Constantin Gianina Ioana¹, Morosanu Bogdan¹, Barsan Monica¹, Anton Mariana², Hnidei Rodica¹, Gherasim Petru¹, Constantinescu Emanuela¹

1. Ana Aslan - National Institute of Gerontology and Geriatrics, Bucharest, Romania, 2. Coltea Clinical Hospital, Bucharest, Romania

Introduction: Carotid intima-media thickness (C-IMT) is an important marker for normal aging, preclinical atherosclerosis and other cardiovascular events. Oxidative stress is associated with aging process and cardiovascular diseases (CVD). The aim of this study is to evaluate the relationships between oxidative stress and C-IMT in subjects of different ages with CVD. **Methods:** The study was conducted on 126 subjects distributed in three lots: 1). control lot – without cardiovascular diseases; 2). adult subjects with CVD and 3). old subjects with CVD. C-IMT was measured by ultrasonography, serum total antioxidant activity (TAS) was assessed with randox kit and oxidized LDL by thiobarbituric acid (TBA) reaction. **Results:** C-IMT and oxidized LDL was significant increased ($p < 0,001$) in adult and old patients with CVD compared with subjects from control lot. TAS was significantly reduced ($p < 0,01$) in old patients with CVD compared with adult patients with CVD and control subjects. Were recorded a significant positive correlation between C-IMT and oxidized LDL ($r = 0,4259$; $p < 0,02$) in the group consists of control subjects and old patients with CVD. Have established a significant positive correlation between C-IMT and TAS ($r = 0,2808$; $p < 0,05$) in the group consists of adult and old patients with CVD, and a significant negative correlation ($r = - 0,337$; $p < 0,01$) between oxidized LDL and TAS in the whole investigated group. **Conclusion:** Significant increase in oxidized LDL and significantly reduced of TAS may be involved in increasing carotid intima-media thickness observed in cardiovascular disease associated with the aging process.

P11. Rolul complexului major de histocompatibilitate în boala Graves într-un studiu caz control

Martinescu Alina¹, Circo Eduard², Franciuc Irina³

Universitatea „Ovidius” Constanța, Facultatea de Medicină, 1. Disciplina de Genetică Medicală, 2. Disciplina de Endocrinologie, 3. Disciplina de Biologie celulară și moleculară

Introducere: Asocierea complexului major de histocompatibilitate (CMH) clasa a II-a, mai exact a haplotipului HLA-DRB1-DQA1-DQB1 cu boala Graves este cunoscut de câțiva ani. Studii recente ale altor afecțiuni autoimune sugerează faptul că moleculele HLA clasa I, adică HLA-B/-C pot avea un risc independent asupra bolii. **Obiective:** Studiul are ca scop determinarea riscului genelor HLA-Cw și HLA-DRB1 la pacienții cu boala Graves (BG) din Dobrogea, comparativ cu un lot control. **Material și metode:** Studiul caz-control cuprinde 112 pacienți cu boala Graves internați în Clinica de Endocrinologie a Spitalului Clinic Județean De Urgență Constanța și 89 de persoane în lotul control. Am folosit do-

uă metode moleculare de genotipare: în principal hibridizarea cu secvențe specifice oligonucleotidice și când a fost necesar, primeri specifici. Rezultate: Dintre genele HLA clasa aII-a, HLA-DRB1*03 și *04 sunt alele de risc ($p = 5,95 \times 10^{-4}$ și respectiv $P = 4,79 \times 10^{-4}$) în boala Graves din Dobrogea. Studiul demonstrează o puternică asociere între HLA-C și boala Graves. Au fost identificate alele predispozante HLA-Cw*07 ($p = 1,87 \times 10^{-8}$). Alelele considerate de protecție, în alte studii, HLA-Cw*03 ($p = 0,1$) și HLA-Cw*16 ($p = 0,8$) au frecvențe asemănătoare în cele două loturi. Concluzii: Deși există o asociere între CMH clasa a II-a și GD, totuși HLA-C conferă un risc mai mare. O investigație completă a regiunii MHC, a genelor HLA clasa I și II loci este absolut necesară.

The role of major histocompatibility complex in a Graves disease case - control study

Martinescu Alina¹, Circo Eduard², Franciuc Irina³

"Ovidius" University Constanta, Faculty of Medicine, 1. Medical Genetics Department, 2. Endocrinology Department, 3. Molecular and Cell Biology Department

Introduction: Association of the major histocompatibility complex (MHC) class II-encoded HLA-DRB1-DQA1-DQB1 haplotype with Graves' disease (GD) has been known for several years. Recent evidence from other autoimmune diseases has suggested that the HLA class I encoded HLA-B/-C molecules could be conferring HLA-DRB1-DQA1-DQB1 independent effects on disease. **Aim:** The aim of this study was to determine the effect of HLA-Cw and HLA-DRB1 in GD in a group of 112 patients with GD and 89 control subjects from Dobrogea. **Material and methods:** The subjects included in this study comprise 112 patients with Graves' disease registered at the Endocrinology Clinic of the Emergency Clinical Hospital Constanța and 89 healthy subjects. The method used for the assignment of alleles at HLA-DRB1 and Cw loci was molecular genotyping, primarily by the sequence specific oligonucleotide hybridization method, and when required, by the sequence specific primers method. **Results:** From HLA class II genes, we found in our study HLA-DRB1*03 and *04 as predisposing alleles, ($p = 5.95 \times 10^{-4}$ and $P = 4.79 \times 10^{-4}$, respectively). Our study demonstrated the strongest association ($p = 1.87 \times 10^{-8}$) with HLA-Cw*07 predisposing alleles. HLA-C*03 ($p = 0.1$) and HLA-C*16 ($p = 0.8$) considered, in other studies, protective alleles have similar frequencies in both, patients group and control subjects. **Conclusion:** Class II loci could still has effects on GD, but they appear smaller than the HLA-C association. A full investigation of the MHC region, including all class I and II loci is now required.

P12. Biomarkeri salivari ai stresului oxidativ în lichenul plan oral

Miricescu Daniela¹, Totan Alexandra¹, Calenic Bogdan¹, Ioanina Parlatescu², Maria Mohora³, Maria Greabu¹

1. Disciplina de Biochimie, Facultatea de Medicină Dentară, Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București, 2. Disciplina de Patologie Orală, Facultatea de Medicină Dentară, Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București, 3. Disciplina de Biochimie, Facultatea de Medicină, Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București

Introducere: Lichenul plan oral (LPO) este o afecțiune inflamatorie cronică cu potential malign, a cărei etiologie nu este în totalitate elucidată. Speciile reactive ale oxigenului(SRO) joacă un rol

important în inflamație, proces implicat în carcinogeneză. Principalul scop al acestui studiu este de a detecta biomarkeri ai stresului oxidativ (SO) precum 8-hidroxidezoxiguanozina (8-OHdG), malondialdehida (MDA), acidul uric și capacitatea totală antioxidantă (CAT) în saliva pacienților cu LPO. Materiale și Metode: În studiu au fost incluși 30 de pacienți cu LPO și 30 de subiecți sănătoși. S-a utilizat tehnica ELISA pentru determinarea 8-OHdG. MDA a fost determinat spectrofotometric în urma reacției cu acidul tiobarbituric (TBA), care prin fierbere conduce la formarea unui compus colorat. Cu ajutorul unui analizor automat de biochimie A15 Biosystems Spania am determinat nivelele de acid uric și CAT la cele două loturi incluse în studiu. Rezultate și Discuții. În urma studiului efectuat am obținut în saliva pacienților cu LPO nivele semnificativ crescute pentru 8-OHdG și MDA și scăzute pentru acidul uric și CAT, comparativ cu lotul subiecților sănătoși ($p < 0.05$). Concluzii: Studiul efectuat relevă existența unui SO la nivelul cavității orale la pacienții cu LPO, cauzat de reacțiile inflamatorii cronice locale în care sunt implicate celulele inflamatorii. Biomarkerii salivari determinați în cadrul acestui studiu au semnificație clinică în monitorizarea acestei afecțiuni orale. Cuvinte cheie: stres oxidativ, inflamație cronică, potential malign, saliva, capacitate totală antioxidantă

Salivary oxidative stress biomarkers in oral lichen planus

Miricescu Daniela¹, Totan Alexandra¹, Calenic Bogdan¹, Ioanina Parlatescu², Maria Mohora³, Maria Greabu¹

1. Department of Biochemistry, Faculty of Dental Medicine, Carol Davila University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, 2. Department of Oral Pathology, Faculty of Dental Medicine, Carol Davila University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, 3. Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Carol Davila University of Medicine and Pharmacy, Bucharest

Introduction: Oral lichen planus (OLP) is a chronic inflammatory disease, whose etiology is not fully elucidated and presents malignant potential. Reactive oxygen species (ROS) play a key role in inflammation-mediated carcinogenesis. The main aim of this study was to detect oxidative stress (OS) biomarkers such as 8-hydroxydesoxguanosine (8-OHdG), malondialdehyde (MDA), uric acid and total antioxidant capacity (TAC) in saliva of patients' saliva with OLP. **Material and Methods:** The study included 30 patients with OLP and 30 controls. Salivary 8-OHdG was detected using ELISA method. The method used for MDA was based on the reaction of MDA with thiobarbituric acid (TBA) by heating to produce a complex that can be determined spectrophotometrically. Uric acid and TAC were evaluated using on automatic analyzer A15 Biosystems, Spain. **Results and Discussions:** Our results revealed statistically significant increased levels for 8-OHdG and MDA and decreased levels for uric acid and TAC at patients with OLP compared with controls ($p < 0.05$). **Conclusions:** Our results revealed increased oral oxidative stress in patients with OLP, caused by local chronical inflammatory reactions. Salivary biomarkers evaluated in this study should be included on the list of future biomarkers important for monitoring OLP patients. **Keywords:** oxidative stress, chronic inflammation, malignant potential, saliva, total antioxidant capacity

P13. Influența antidepressivelor asupra permeabilității membranelor celulare

Munteanu F. Melania¹, Popa Carmen², Crîsnic Ioan³, Gligor Ramona³

1. Universitatea de Vest „Vasile Goldiș” din Arad, Facultatea de Medicină, Farmacie și Medicină Dentară, Departament Farmacie, 2. Spitalul Militar de Urgență "Dr. Alexandru Popescu" Focsani, 3. Universitatea de Vest „Vasile Goldiș” din Arad, Facultatea de Medicină, Farmacie și Medicină Dentară, Departament Medicină Generală

Introducere. Antidepressivele se metabolizează în ficat, acest fapt poate produce modificări în permeabilitatea membranei celulare. Eficacitatea clinică a antidepressivelor este corelată cu potențialul de inhibiție a receptorilor noradrenalinei și/sau serotoninei de către sinaptosomi din creier. Deoarece ALAT este enzima specifică ficatului, este singura semnificativ crescută în bolile hepatobiliare. Obiective. Urmărirea evoluției transaminazelor serice, respectiv alanin aminotransferaza (ALT) și aspartat aminotransferaza (AST) la pacienți cu tratament cu antidepressive cu sau fără protecție hepatică. Material și metodă. S-au luat în studiu un număr de 30 de pacienți, 13 bărbați și 17 femei, la care s-a determinat AST și ALT înainte de tratament cu antidepressive, la 6 luni după tratament și după alte 6 luni de tratament dar când au fost asociate protectoare hepatice. Analizele s-a efectuat pe analizor automat Ilab TM650. Rezultate. Dacă înainte de administrarea medicației valoarea medie a AST a fost $24,66 \pm 11,48$ U/L iar la ALT $29,10 \pm 13,9$ U/L. După 6 luni de tratament valorile ambelor transaminaze au fost semnificativ mai crescute ($p=0,001$), decât înainte de tratament. După alte 6 luni de tratament cu antidepressivi, dar cu adăugarea de suplimente protectoare hepatice valorile transaminazelor au scăzut, dar nesemnificativ. Concluzii. Tratamentul hepatoprotector administrat nu a protejat suficient pacientul asupra reacțiilor date de antidepressive. Cuvinte cheie: antidepressive, transaminaze, hepatoprotectoare

The influence of the antidepressant drugs on the cell membrane permeability

Munteanu F. Melania¹, Popa Carmen², Crîsnic Ioan³, Gligor Ramona³

1. „Vasile Goldiș” Western University of Arad, Faculty of Medicine, Pharmacy and Dental Medicine, Pharmacy Department, 2. "Dr. Alexandru Popescu" Emergency Military Hospital Focsani, 3. „Vasile Goldiș” Western University of Arad, Faculty of Medicine, Pharmacy and Dental Medicine, General Medicine Department

Introduction. The antidepressants are metabolized in the liver. This fact can produce changes in the permeability of the cell membrane. The clinical efficiency of the antidepressant drugs is correlated with the inhibition potential of the noradrenaline and/or serotonin by the synaptosomes in the brain. Due to the fact that ALT is a specific enzyme for the liver, it is the only one that is statistically significantly increased in the hepatic and bile conditions. Objectives. The observation of the serum aminotransferases, alanin aminotransferase (ALT) and aspartate aminotransferase (AST) in patients with antidepressant drugs treatment, with or without hepatic protection. Materials and methods. There were studied 30 patients, 13 males and 17 females. AST and ALT were determined, before treatment, 6 months after treatment and after another 6 months of treatment but when hepatic protective drugs were associated. The tests were performed on an automatic analyzer Ilab TM650. Results. Before administering the

medication, the AST mean value was $24,66 \pm 11,48$ U/L and in ALT $29,10 \pm 13,9$ U/L. After 6 months treatment, the values were significantly increased ($p=0,001$). After another 6 months antidepressant drugs treatment, but adding hepatic protective drugs, the aminotransferases values decreased but statistically non-significant. Conclusions. The hepatic protective treatment didn't defend sufficiently the patient to the adverse reactions of antidepressants. Keywords. Antidepressants, aminotransferases, hepatic protectors

P14. Cotinina salivară, fumatul pasiv și sângerarea gingivală la persoanele de vârstă a III-a din Constanța

Nuca C.¹, Badea V.², Caraiane A.³, Puscasu C.G.⁴, Grigorian M.⁵, Balaban D.P.⁶, Nuca A.M.⁷

1,2, 3, 4, 5 Facultatea de Medicina Dentară, Universitatea Ovidius Constanța, România, 6. Facultatea de Medicină, Universitatea Ovidius Constanța, România.

Rezumat. Utilizarea biomarkerilor pentru evaluarea fumatului pasiv și a efectelor acestuia asupra sănătății umane sunt subiecte de interes ale cercetării clinice. Scopul. Studiului prezent a fost evaluarea obiectivă a prevalenței fumatului pasiv la persoanele de vârstă a III-a din Constanța pe baza măsurării cotininei salivare și compararea sângerării gingivale la fumătorii activi și pasivi. Metode. Un esanșion inițial reprezentativ de 196 subiecți din Constanța (6% eroare esanșionaj, 95% nivel de confidență) au participat la un studiu transversal pentru colectarea de salivă totală nestimulată (2.5 ml), evaluarea status-ului auto-raportat de fumător pe bază de chestionar și înregistrarea sângerărilor gingivale prin examen clinic (criteriile O.M.S., 1997); cotinina salivara a fost măsurată utilizând testele NicAlert™ Saliva. S-au obținut aprobările etice și consimțământul scris al participanților. Analiza statistică a utilizat SPSS 19. Rezultate. Rata de răspuns a fost de 78.06% (153 subiecți). Pe baza chestionarului, 77.8% dintre subiecți ($n=119$) au fost clasificați drept nefumători. Pe baza cotininei salivare, doar 56.3% dintre subiecții auto-evaluați drept nefumători ($n=67$) nu au fost expuși fumului de tutun (nivel 0 al cotininei salivare), în timp ce 43.7% ($n=52$) au valori ale cotininei care reflectă o expunere importantă la fumul de tutun, fiind fumători pasivi. Nu s-au înregistrat diferențe semnificative între fumătorii activi și pasivi în privința sângerării gingivale ($p>0.05$; ANOVA). Concluzie. După evaluarea obiectivă a expunerii la fumul de tutun pe baza cotininei salivare, aproape jumătate dintre subiecții auto-raportați drept nefumători au devenit fumători pasivi, cu un profil similar cu fumătorii activi în ceea ce privește sângerarea gingivală. Cuvinte cheie: cotinina, saliva, fumător pasiv, sângerare gingivală

Salivary cotinine, passive smoking and gingival bleeding in elderly from Constanta

Nuca C.¹, Badea V.², Caraiane A.³, Puscasu C.G.⁴, Grigorian M.⁵, Balaban D.P.⁶, Nuca A.M.⁷

1, 2, 3, 4, 5 Faculty of Dental Medicine, Ovidius University, Constanta, Romania, 6. Faculty of Medicine, Ovidius University, Constanta, Romania.

Abstract. Using biomarkers for evaluation of the passive smoking and its effect on human's health are increasingly subjects of interest in clinical research. The aim of this study was the objectively evaluation of passive smoking in elderly people from Constanta based on their salivary cotinine levels, and to compare the gingival bleeding in passive and active smokers. Methods. A representative initial

sample of 196 elderly people from Constanta District (6% sampling error, 95% Confidence Level) participated in a cross-sectional study for collecting unstimulated total saliva (2.5 ml), recording self-reported smoking status on a questionnaire basis and their gingival bleeding by clinical exam, according to the W.H.O. criteria (1997); the salivary cotinine levels were measured using NicAlert™ Saliva tests. Ethics approval and written consent were obtained. Statistics used SPSS 19. Results. The response rate was 78.06% (153 subjects). Based on the questionnaire, 77.8% subjects (n=119) were nonsmokers. Based on the salivary cotinine, only 43.8% (n=67) of all subjects had a 0 level of salivary cotinine, meaning that only 56.3% of the self-reported nonsmokers were not exposed to tobacco smoke, while 43.7% had a salivary cotinine level reflecting an important tobacco smoke exposure, being passive smokers. There were not significant differences in gingival bleeding according to the smoking type – active or passive ($p>0.05$; ANOVA). Conclusion. After the objective assessment of the tobacco exposure using salivary cotinine levels as standard, almost half of the self-reported non-smokers are passive smokers, with a similar profile regarding gingival bleeding as the active smokers. Keywords: cotinine, saliva, passive smoker, gingival bleeding

P15. Nivelul de aldosteron în diferite stadii ale bolii cronice de rinichi

Cepoida P., Sali Vera

Spitalul Clinic Republican, Chişinău, Moldova

Obiectiv: Evaluarea nivelului de aldosteron în diferite stadii ale bolii cronice de rinichi (BCR). Material şi metode: Am studiat 72 de pacienţi cu pielonefrită cronică, în vârstă de 18-60 de ani, cu BCR predialitică în stadii I-V, internaţi în Spitalul Clinic Republican, Chişinău, Republica Moldova. Toate grupele de pacienţi au fost omogene conform vârstei, sexului şi mediei tensiunii arteriale. Nivelul de aldosteron a fost testat cu ajutorul kiturilor DSL-10-8600 ACTIVE® Aldosteron. Rezultate: Valorile normale ale aldosteronului au fost stabilite la 14 (19,44%) subiecţi, concentraţiile crescute – la 3 pacienţi (4,17%) şi cele reduse – la 55 (76,39%) pacienţi. Valorile de aldosteron în funcţie de stadiul BCR au constituit: st.I - $1,9\pm 1,98$ pg/ml; st.II - $35,81\pm 85,78$ pg/ml; st.III - $41,12\pm 86,01$ pg/ml; st.IV - $31,91\pm 65,10$ pg/ml; st.V - $66,13\pm 104,83$ pg/ml. Prin urmare, a fost determinată tendinţa spre creşterea valorilor aldosteronului la pacienţii cu boală renală avansată (ANOVA), confirmate prin corelarea lui cu filtrare glomerulară ($p=0,05$), corelaţie statistică semnificativă cu creatinina din sânge şi nivelul ureei ($p<0,01$). Am stabilit corelaţie directă între concentraţia aldosteronului şi proteinurie ($p<0,05$). Nivelul de aldosteron a corelat cu prezenţa efuziunii pericardice, hipertrofia ventriculară stânga, creşterea presiunii sistolice în ventriculul drept şi regurgitarea prin valvă tricuspidă ($p<0,05$). Analiza Kruskal-Wallis a stabilit corelaţie directă între concentraţiile sporite ale aldosteronului şi indecele cardiac, corelaţie inversă – cu indicii de rezistenţă şi cel pulsatil ($p<0,05$). Concluzie: Deşi nivelul de aldosteron a arătat doar o tendinţă de creştere simultan cu agravarea BCR, această substanţă biologic activă a corelat statistic semnificativ cu modificările patologice în sistemul cardiovascular.

Aldosterone levels in different stages of chronic kidney disease

Cepoida P., Sali Vera

Republican Clinical Hospital, Chisinau, Moldova

Objective: Determination of aldosterone levels in different stages of chronic kidney disease (CKD). **Material and methods:** We have studied 72 patients with chronic pyelonephritis, aged 18-60 years, predialytic CKD stages I-V, hospitalized in the Clinical Republican Hospital, Chisinau, Moldova. All groups of patients were homogeneous considering their age, sex and mean blood pressure. Aldosterone level was tested by DSL-10-8600 ACTIVE® Aldosterone (EIA) Kit. **Results:** Normal values of aldosterone were determined in 14 (19,44%) cases, increased concentrations – in 3 (4,17%) and reduced ones – in 55 (76,39%) cases. Aldosterone values depending on the CKD stage: CKD st. I – $1,9 \pm 1,98$ pg/ml; CKD st. II – $35,81 \pm 85,78$ pg/ml; CKD st. III – $41,12 \pm 86,01$ pg/ml; CKD st. IV – $31,91 \pm 65,10$ pg/ml; CKD st. V – $66,13 \pm 104,83$ pg/ml. Therefore there was determined a certain tendency to increased values of aldosterone in patients with advanced kidney disease (ANOVA) confirmed by correlation with glomerular filtration ($p=0,05$), statistic significant correlation with creatinine and urea blood levels ($p<0,01$). We have determined direct correlation of aldosterone with proteinuria levels ($p<0,05$). Aldosterone levels correlated with such echocardiographic modifications as pericardial effusion development, left ventricle hypertrophy, increase in systolic pressure in the right ventricle and tricuspid valve regurgitation ($p<0,05$). Kruskal-Wallis analysis determined direct correlation between increased aldosterone concentrations and heart index, inverse correlation – with resistance and pulsatile indices ($p<0,05$). **Conclusion:** Though aldosterone levels showed only a tendency to increase simultaneously with CKD aggravation, this biologically active substance statistically significantly correlated with pathological modifications in cardiovascular system.

P16. Concentrația parathormonului în diferite stadii ale bolii cronice de rinichi

Cepoida P., Sali Vera

Spitalul Clinic Republican, Chișinău, Moldova

Obiectiv: Determinarea concentrației de parathormon în diferite stadii ale bolii cronice de rinichi (BCR). **Material și metode:** Lotul studiat a inclus 73 de pacienți cu vârsta sub 60 de ani, cu pielonefrită cronică, alte patologii renale fiind excluse, în diferite stadii de boala cronică de rinichi la etapă predialitică (grupele au fost omogene), toți pacienți au fost internați în Spitalul Clinic Republican, Chișinău, Republica Moldova. Concentrația Parathormonului fost determinată cu ajutorul kiturilor de diagnostic DSL-1-80 ACTIVE ®. **Rezultate:** Valorile parathormonului au fost în creștere în mod constant, simultan cu avansarea gravității bolii cronice de rinichi: BCR st. I - $6,12 \pm 3,42$ pg / ml; BCR st. II - $7,15 \pm 4,82$ pg / ml; BCR st. III - $8,78 \pm 14,25$ pg / ml; BCR st. IV - $30,96 \pm 40,26$ pg / ml; BCR st. V - $616,24 \pm 521,17$ pg / ml. A fost determinată o corelație directă între concentrația parathormonului și nivelul creatininei în sânge ($p < 0,0001$), valorile presiunii sistolice în ventriculul drept ($p < 0,005$), semne ecocardiografice ale hipertrofiei ventriculului stâng și disfuncția diastolică a ventriculului stâng ($p < 0,05$), iar o corelație inversă cu rata de filtrare glomerulară ($p < 0,001$). Analiza prin metoda Kruskal-Wallis a determinat asocierea concentrației mărite a parathormonului cu clasa funcțională NYHA a insuficienței cardiace congestive ($\chi^2 = 14$; $p < 0,001$), precum și nivelul sporit de aldosteron plasmatic ($\chi^2 = 7,28$, p

= 0,026). Concluzie: Concentrație crescută a parathormonului la pacienții cu pielonefrită cronică a corelat direct cu stadiul bolii cronice de rinichi și în același timp au fost statistic semnificativ asociate cu factorii independenți de risc cardiovascular.

Parathormone levels in different stages of chronic kidney disease

Cepoida P., Sali Vera

Republican Clinical Hospital, Chisinau, Moldova

Objective: Determination of parathormone levels in different stages of chronic kidney disease (CKD). **Material and methods:** Studied population included 73 patients under 60 years old with chronic pyelonephritis, all other kidney pathologies excluded, with predialytic CKD grade I-V (homogenous groups), admitted to the Clinical Republican Hospital, Chisinau, Moldova. Parathormone was determined using DSL-10-8000 ACTIVE® testing system. **Results:** Parathormone levels were increasing steadily simultaneously with advance in CKD stage: CKD st. I – $6,12 \pm 3,42$ pg/ml; CKD st. II – $7,15 \pm 4,82$ pg/ml; CKD st. III – $8,78 \pm 14,25$ pg/ml; CKD st. IV – $30,96 \pm 40,26$ pg/ml; CKD st. V – $616,24 \pm 521,17$ pg/ml. There were determined direct correlation of parathormone with creatinine levels ($p < 0,0001$), increased systolic pressure in right ventricle ($p < 0,005$), echocardiographic signs of left ventricle hypertrophy and left ventricle diastolic dysfunction ($p < 0,05$), inverse correlation – with glomerular filtration ($p < 0,001$). Kruskal-Wallis analysis determined the association of the higher PTH levels with congestive heart failure NYHA functional class ($\chi^2=14$; $p < 0,001$) and higher levels of aldosterone ($\chi^2=7,28$; $p=0,026$). **Conclusion:** Increased levels of parathormone in patients with chronic pyelonephritis correlated directly with CKD stage and were strongly associated with independent cardiovascular risk factors.

P17. Un nou actor pe scena hormonilor tiroidieni

Totan A.¹, Miricescu D.¹, Calenic B.¹, Mohora M.², Virgolici B.², Greabu M.¹.

1. *Disciplina de Biochimie, Facultatea de Medicină Dentară, Universitatea de Medicină și Farmacie “Carol Davila”, București*, 2. *Disciplina de Biochimie, Facultatea de Medicină, Universitatea de Medicină și Farmacie “Carol Davila”, București*

Introducere: Recent a fost elucidat fascinantul rol a deiodurazei de tip 2 (D2). Activarea D2 poate stimula sau inhiba calea de semnalizare a hormonului tiroidian într-o manieră temporo- sau tisular specifică, independent de nivelul seric al hormonilor tiroidieni. Obiectivul acestui studiu a fost o evaluare a contribuției D2 la creșterea nivelului seric de FT3 în cazul pacienților cu concentrații serice crescute de FT3 și normale, chiar scăzute de FT4. **Materiale si metode:** În studiul nostru au fost incluși:

1. 100 voluntari cu concentrații serice normale ale TSH, FT4 și FT3 – grup 1
2. 100 pacienți cu concentrații serice scăzute ale TSH și crescute pentru FT4 și FT3 – grup 2
3. 40 pacienți cu concentrații serice normale de TSH, normale sau chiar scăzute de FT4 și crescute pentru FT3 – grup 3. **Rezultate:** Rezultatele acestui studiu au evidențiat valori semnificativ mai crescute ($p < 0,01$) pentru activitatea D2 la nivelul grupului 3 comparativ cu grupurile 1 și 2. Mai mult, am observat o strânsă corelație ($r = 0,75$) între nivelul seric al D2 la nivelul grupului 3 și raportul FT3/FT4 ($p < 0,01$). **Concluzii:** Rezultatele noastre sugerează că la nivelul grupului 3 nivelul crescut al raportului FT3/FT4 are la baza nivelul crescut al activității D2.

A new actor on the scene of thyroid hormones

Totan A., ¹Miricescu D., ¹Calenic B., ²Mohora M., ²Virgolici B., ¹Greabu M.

1. Department of Biochemistry, Faculty of Dental Medicine, Carol Davila University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, 2. Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Carol Davila University of Medicine and Pharmacy, Bucharest

Introduction: More recently, a fascinating new role of type 2 deiodinase (D2) has been unveiled. The activating D2 can locally increase or decrease thyroid hormone signaling in a tissue- and temporal-specific fashion, independent of changes in thyroid hormone serum concentrations. Our objective was to evaluate the contribution D2 to the high serum FT3 level in patients with high serum FT3 level and normal or even lower serum thyroxine (FT4) level. **Material and methods:** We have included in our study :

1. 100 volunteers with normal TSH, FT4 and FT3 – group 1
2. 100 patients with low TSH, high FT4 and FT3 – group 2
3. 40 patients with normal TSH, normal or even lower FT4 and high FT3 – group 3

Serum TSH, FT4, FT3 and D2 levels were analyzed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Results: D2 activity in group 3 was significantly higher ($P < 0.01$) than that in group 2 and group 1. Moreover, there was a strong correlation ($r = 0.75$) between the group 3 serum D2 activity and the serum FT3-to-FT4 ratio ($P < 0.01$). **Conclusions:** Our results suggest that the increased level of serum D2 activity, may explain the higher serum FT3-to-FT4 ratio in the group 3 patients.

P18. Testele enzimatică pancreatică utilizate în diagnosticul pancreatitei acute și în recidivele pancreatitelor cronice

Ciurșăș Adina ^{1*}, Ioana Vîlceanu¹, Narcis Vilceanu¹

1. Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicina si Farmacie, Departamentul de Discipline Morfologice

Scop: Testele enzimatică specifice utilizate de obicei în diagnosticul pancreatitei acute sunt lipaza serică și amilaza pancreatică. Ambele reprezintă markeri de diagnostic de înaltă specificitate, dar studiile arată că nivelul lipazei serice este superior celei al amilazei serice. Determinarea simultană a ambelor enzime este de asemenea recomandată. Scopul determinării este de a evalua investigarea acestor enzime în laboratorul nostru și de a evalua performanțele acestor teste în diagnosticul pancreatitei acute și în recăderile pancreatitei cronice. **Material și metoda:** Testele (lipaza serică și amilaza pancreatică) au fost efectuate utilizând metode colorimetrice enzimatică și valorile rezultate pentru ambele teste au fost de trei ori peste limitele normale de referință. **Rezultate:** Toti cei 104 pacienți au fost investigați pe o perioadă de 5 luni. Lipaza serică a fost efectuată la 62, amilaza serică pancreatică la 12 și la 30 de cazuri au fost determinate simultan ambele enzime. Rezultate pozitive au fost observate la 51 de cazuri, 40 din aceștia au fost diagnosticați cu pancreatită acută sau cu recidivă de pancreatită cronică. Specificitatea și sensibilitatea de diagnostic pentru lipaza serică a fost de 89%, 97% respectiv 97%. Aceleași rezultate pentru amilaza serică pancreatică au fost de 68%, 97% și 96%. Acuratețea diagnosticului în cazul determinării simultane a celor două enzime a fost similară determinării lipazei serice deoarece nu a fost niciun caz de pancreatită cu nivele pozitive de amilază serică pancreatică. **Concluzii:** Lipaza serică este testul principal de diagnostic pentru pancreatita acută fără a fi necesară determinarea în paralel a amilazei serice pancreatice. **Cuvinte cheie:** lipaza serica,

amilaza serica pancreatica, pancreatita acuta. *Corresponding author: Adina Ciursas, Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicina

The pancreatic enzyme tests used in diagnose of acute pancreatitis and relapsing chronic pancreatitis

Adina Ciursaș^{1*}, Ioana Vilceanu¹, Narcis Vilceanu¹

1. University of Oradea, Medicine and Pharmacy Faculty, Department of Morphological Sciences

Background: Two organ-specific enzyme tests are mainly used to diagnose acute pancreatitis – serum lipase and serum pancreatic amylase. They are both highly sensitive and specific diagnostic markers but the studies are shown that lipase is superior to amylase. However, a simultaneous determination of both enzymes is also recommended. The aim was to evaluate the practice of requesting of pancreatic enzyme tests in our laboratory and to assess diagnostic performance of these tests for diagnosis of acute pancreatitis and relapsing chronic pancreatitis. **Methods:** The tests (serum lipase and pancreatic amylase) were performed by enzymatic colorimetric methods. The diagnostic cut-off values for both tests were three times above the upper reference limit. **Results:** Altogether 104 patient cases were investigated during 5 months: Serum lipase was made in 62, serum pancreatic amylase in 12 and simultaneously serum lipase and serum pancreatic amylase in 30 cases. The positive test results were in 51 cases, 40 of them were diagnosed acute pancreatitis or relapsing chronic pancreatitis. Diagnostic sensitivity, specificity and efficiency for serum lipase were 89%, 97% and 97%, accordingly. The same data for serum pancreatic amylase were 68%, 97% and 96%. Diagnostic performance for combined determination of serum lipase and serum pancreatic amylase was similar to serum lipase because there was not any case of pancreatitis where serum pancreatic amylase result was positive but serum lipase negative. **Conclusions:** Serum lipase is appropriate as a single initial test to diagnose acute pancreatitis without necessity of parallel measurement of amylase. **Keywords:** serum lipase, serum pancreatic amylase, acute pancreatitis. Corresponding author: Adina Ciursas, Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicina si Farmacie, Departamentul de Discipline Morfologice

P19. Noi oportunități în sintezele enzimatică de acetilcolină și alți derivați de colină

Marculescu Afrodita Doina¹, Tudorascu Marius², Tudorascu Stefania³

1. Universitatea de Medicină și Farmacie „Gr. T. Popa”, Iași, România, 2. Institutul de studii Pedologice și Agrochimice, București, România, 3. Institutul de Chimie Fizică „I. G. Murgulescu”, București, România

Scop. Studiul și optimizarea mecanismelor de obținere ai unor intermediari și produși finali în diverse reacții ale acizilor organici în sistem omogen dispers. **Materiale și metode.** Sistemul omogen dispers descris în prezenta extenso-lucrare a fost supus unui proces chimic de iodurare sub acțiunea unor enzime, din clasa peroxidazelor, într-un reactor tip coloană. După 3-5 ore de reacție, produșii rezultați au fost analizați prin măsurători spectrofotometrice ale absorbției atomice pentru evaluarea conținutului de calciu. **Rezultate și discuții.** Studiile noastre cu privire la reacțiile catalizate enzimatic de iodurare a sărurilor de sodiu ale acizilor organici care corespund produșilor de adiție a iodului, sunt

interesante din prisma cunoștințelor actuale, în ceea ce privește procesul enzimatic în sintezele organice. Aceste tipuri de reacție constituie un mare ajutor în elucidarea mecanismului, mult timp necunoscut, în care este implicată enzima studiată. Concluzii. Rezultatele obținute în timpul procesului enzimatic ai unor acizi organici nesaturați ilustrează faptul că enzima utilizată a fost cel mai bun biocatalizator, cu respectarea parametrilor compușilor organici iodurați de sinteză. Alte enzime cum ar fi cloroperoxidaza, bromoperoxidaza, mieloperoxidaza sau peroxidaza izolată din hrean au performanțe catalitice mult mai mici decât lactoperoxidaza utilizată de noi în acest studiu.

New opportunities in enzymatic synthesis of acetylcholine and other choline derivatives

Marculescu Afrodita Doina¹, Tudorascu Marius², Tudorascu Stefania³

1. University of Medicine and Pharmacy „Gr. T. Popa”, Iasi, Romania, 2. Institute for Pedological and Agrochemical studies, Bucharest, Romania, 3. Institute of Physical Chemistry „I. G. Murgulescu” Bucharest, Romania

Aim. The optimization studies of the mechanism of obtained intermediates and final products in the organic acids reaction in dyspers homogeneous system. **Materials and methods.** The obtained homogeneous system was subjected to iodination reaction process with immobilized lactoperoxidase and alcohol oxidase in mixture in a column-type reactor. After 3-5 hours of reaction, the products such as: diammonium 2,3-diiodosuccinate or ammonium 2,3-diiodohydrocinnamate in mixture with unreacted corresponding unsaturated substrates were analyzed on atomic absorption spectrophotometer, only as insoluble calcium product (in ammonia medium in which, the Ca salts are solubles), for calcium content evaluation. **Results and discussion.** Our discovery, that, the enzyme used catalyses the iodination reaction of sodium salts of organic acids, to theirs corresponding iodoaddition products is quite interesting in view of current knowledge concerning, the enzymatic process in organic synthesis. These reaction type constitute a great aid to elucidate the mechanism, long time unknown, which the enzyme is implicated. **Conclusion.** The results obtained during the enzymatic process of certain organic unsaturated acids, showed as that, the enzymes used was the best biocatalysed with respect to organic iodination compounds synthesis. Other enzymes such as chloroperoxidase, bromoperoxidase, myeloperoxidase or horseradishperoxidase have catalytic performance much smaller than the described peroxidase enzyme.

P20. Importanța determinării adenzin deaminazei (ADA) în lichidul pleural

Zaporojan Natalia, Sava Mihaela, Tarasie Alina

Laboratorul bacteriologie BK, Spitalul Clinic Municipal “Dr. Gavril Curteanu”, Oradea

Introducere: Adenzin deaminaza(ADA) este o enzimă care catalizează reacția de hidroliză a adenzinei. Cele mai ridicate concentrații se găsesc în limfocitele T, atunci cand sunt stimulate. Valoarea ADA în lichidul pleural este crescută la pacienții cu tuberculoză, având o sensibilitate diagnostică de 90% și o specificitate diagnostică de 85%. **Scopul:** Evaluarea importanței determinării nivelului ADA din lichidele pleurale pentru diferențierea pleureziilor tuberculoase de cele

netuberculoase. Material și metoda: Studiul a cuprins un lot de 398 pacienți cu vârsta între 15-85 ani, diagnosticați cu pleurezie în secția de Pneumologie, Spitalul Clinic Municipal Oradea, în intervalul 01.01.2012-31.03.2013. Din totalul de 398 pacienți 257 sunt bărbați și 141 femei. Lotul a fost împărțit în 3 grupe: grupa I 15-40 ani =41 pacienți, grupa II 41-60 ani =78 pacienți, grupa III 61-85 ani =279 pacienți. Modalitatea de lucru a constat în determinarea ADA din lichidul pleural prin metoda enzimatică, pe analizorul Flexor Junior, valori de referință ≥ 33 U/L. Diagnosticul a fost confirmat prin analiza biochimică, bacteriologică și citologică a lichidului pleural. Rezultate: Valori ale ADA ≥ 33 U/L au prezentat 142 (35,7%) pacienți din total. Valori ale ADA < 33 U/L au prezentat 256 (64,3%) pacienți din total. În grupa I s-a înregistrat cel mai mare procent de pacienți cu ADA ≥ 33 U/L =73,2% (valoare medie ADA=84,3U/L), față de grupa II =44,9% (valoare medie ADA=68,1U/L) și grupa III =27,6% (valoare medie ADA=61,7U/L). Concluzie: Asociind valorile ADA cu diagnosticul stabilit s-au constatat următoarele: pacienții cu pleurezie tuberculoasă au valori ADA ≥ 33 U/L. Rezultatele studiului confirmă faptul că valori crescute ale ADA din lichidul pleural orientează diagnosticul către pleurezie tuberculoasă. Cuvinte cheie: ADA, lichid pleural, pleurezie tuberculoasă.

The importance of identifying the value of adenosine deaminase (ada) in the pleural fluid

Zaporojan Natalia, Sava Mihaela, Tarasie Alina

BK Bacteriology Laboratory, Municipal Hospital "Dr. Gavril Curteanu "Oradea

Introduction: Adenosine deaminase(ADA) is an enzyme that catalyzes the hydrolysis of adenosine. The highest concentrations are found in T lymphocytes when stimulated. The value of ADA in pleural fluid is increased by patients with tuberculosis, with a diagnostic sensitivity of 90% and a diagnostic specificity of 85%. **Aim:** To evaluate the importance of determining the level of ADA in pleural fluid in order to differentiate the tuberculous pleurisy from the non-tuberculous one. **Methods:** The study included a sample of 398 patients, aged between 15-85 years and diagnosed with pleurisy in the Department of Pneumology, Hospital Municipal Oradea, over the time span between 01.01.2012-31.03.2013. 257 patients out of the 398 were male and 141 were women. Group was divided into 3 groups: groupI 41 patients aged between 15-40 years, groupII 78 between 41-60 years, groupIII 279 between 61-85 years. The work procedure consisted in determining ADA in the pleural fluid using the enzymatic method. We made use of the analyzer Flexor Junior and took into account the reference value ≥ 33 U/L. The diagnosis was confirmed by the biochemical, bacteriological and cytological analysis of the pleural fluid. **Results:** 142(35,7%) patients out of the total number of 398 patients have registered ADA ≥ 33 U/L and 256(64,3%) patients have registered ADA < 33 U/L. The group I was registered the highest percentage of patients with ADA ≥ 33 U/L=73,2%(average value ADA=84,3U/L), compared to groupII =44.9%(average value ADA=68,1U/L) and groupIII =27,6%(average value ADA=61,7U/L). **Conclusion:** Combining ADA values with the confirmed diagnostics, one can notice the following: the patients with tuberculous pleurisy have ADA ≥ 33 U/L. The results of the study confirm the fact that increased values of ADA in the pleural fluid heads the diagnosis towards tuberculous pleurisy. **Keywords:** ADA, pleural fluid, pleural TB.

P21. Diagnosticul citologic în cancerul bronhopulmonar cu celule non-mici

Drăgan Ana-Maria

Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie

Introducere. Carcinomul bronhopulmonar scuamos, adenocarcinomul, carcinomul nediferențiat cu celule mari, au fost grupate în carcinoame pulmonare cu celule non-mici (NSCLC-non small cell lung carcinoma). **Obiective.** În acest studiu s-a urmărit posibilitatea stabilirii diagnosticului cancerului bronhopulmonar NSCLC prin examen citologic. **Material și metode.** S-au luat în studiu 543 pacienți cu suspiciune de cancer bronhopulmonar cu vârsta între 32-84 ani, majoritatea, 86,27% fumători. La toți pacienții s-a efectuat examen bronhoscopic cu recoltare de material biologic pentru examen citologic. Examenul citologic s-a efectuat pe frotiuri din material obținut prin periaj bronșic și pe amprente din biopsii bronșice, fixate cu alcool metilic și colorate Giemsa. **Rezultate.** La 342 pacienți din 543 luați în studiu, s-a putut stabili diagnosticul de cancer bronhopulmonar. La 303 (88,6%) s-a diagnosticat carcinom bronhopulmonar cu celule non-mici în următoarea proporție: carcinom scuamos la 64,35% (195); adenocarcinom la 13,20% (40); carcinom nediferențiat cu celule mari la 21,78% (66) și carcinom bronhioloalveolar la 0,66% (2) pacienți. În ce privește sexul, proporția carcinomului scuamos este mult superioară la bărbați (68,6%) față de femei (29,3%), diferența fiind puternic semnificativă ($p<0,001$). La femei procentul cazurilor cu carcinom nediferențiat cu celule mari este de 18,9% față de bărbați 5,7%, diferența fiind semnificativă ($p<0,001$). Diferență semnificativă la femei ($p<0,001$) prezintă și adenocarcinomul cu o proporție de 31,1% față de bărbați 7,8%. **Concluzii.** Majoritatea carcinoamelor bronhopulmonare diagnosticate prin examen citologic sunt cu celule non-mici. La femei predomină carcinomul nediferențiat cu celule mari și adenocarcinomul iar la bărbați carcinomul scuamos.

The cytological diagnostic in bronchopulmonary cancer with non-small cells

Drăgan Ana-Maria

University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy

Introduction. The bronchopulmonary squamous carcinoma, the adenocarcinoma, the undifferentiated large cell carcinoma, have been grouped in non-small cell lung carcinomas (NSCLC). **Objectives.** I have followed in this study, the possibility of determining the diagnostic of NSCLC bronchopulmonary cancer through cytological examination. **Material and methods.** 543 patients with suspicion of bronchopulmonary cancer with ages between 32 and 84 years were studied, the majority – 86.27% – being smokers. All patients underwent a bronchoscopic examination with the sampling of biological material for the cytological examination. The cytological examination was performed on smears of the material obtained through bronchial brushing and on prints from bronchial biopsies, fixed with methyl alcohol and Giemsa stain. **Results.** In 342 out of 543 studied patients, the diagnostic of bronchopulmonary cancer could be determined. In 303 (88.6%) a non-small cells bronchopulmonary carcinoma was diagnosed as follows: squamous carcinoma in 64.35% (195) of the patients; adenocarcinoma in 13.20% (40) of the patients; undifferentiated large cell carcinoma in 21.78% (66) of the patients and bronchoalveolar carcinoma in 0.66% (2) of the patients. As far as the sex is concerned, the ratio of squamous carcinoma is highly superior in men (68.6%) than in women (29.3%), the difference being strongly considerable ($p<0.001$). In women the rate of the cases of undifferentiated large cell carcinoma is of 18.9% as opposed to men 5.7%, the difference being considerable ($p<0.001$). **Conclusions.** The majority of bronchopulmonary carcinomas diagnosed through a cytological examination are

with non-small cells. In women, the undifferentiated large cell carcinoma and the adenocarcinoma dominate, while in men the squamous carcinoma is dominant.

P22. Condiții esențiale pentru publicarea rezultatelor unui studiu științific privind patologia feocromocitomului

Ștefănescu Ana-Maria, Schipor Sorina, Păun Diana Loreta, Badiu Corin Virgil

Institutul Național de Endocrinologie

Publicarea rezultatelor cercetării științifice poate fi o sarcină dificilă sau o provocare în același timp. Scopul studiului nostru asupra patologiei feocromocitomului la adult a fost de a identifica markeri biochimici care să permită diagnosticul precoce într-o patologie rară, nu de puține ori depistată incidental sau uneori tardiv la necropsie. Studiul a fost aprobat de Comisia de Etică a Institutului Național de Endocrinologie. Metodologia de selecție a cazurilor a clarificat atât grupul patologic ($n = 22$) cât și grupul de control ($n = 50$), pe baza consimțământului informat al subiecților selectați. Studiul biochimic a presupus utilizarea metodelor Elisa pentru a doza diferențiat markeri specifici feocromocitomului: normetanefrinele și metanefrinele atât în plasmă cât și în urină. Aceiași markeri s-au putut doza diferențiat în salivă, această metodologie având un caracter original. S-a studiat utilitatea cromograninei A ca marker complementar de diagnostic atât în plasmă cât și în salivă. Pentru a putea valorifica datele prin publicare a fost necesar un calcul statistic riguros. Regresia multiplă a demonstrat un coeficient optim de corelație atât între normetanefrinele libere salivare și cele plasmatică cât și între cromogranina A salivară și cea plasmatică. Regresia Passing&Bablok cât și analiza curbelor ROC (Receiver Operating Characteristics) au demonstrat posibilitatea substituirii markerilor plasmatici consacrați în diagnosticul feocromocitomului prin markeri salivari cu sensibilitate și specificitate similară. Acest algoritm biochimic de investigare în feocromocitom reprezintă o noutate, determinările în salivă fiind nestresante pentru pacient, realizând un beneficiu economic în ceea ce privește costul mai mic al investigațiilor. În concluzie: selectarea corectă a cazurilor cu respectarea normelor de etică, metodologia de investigație biochimică adecvată, interpretarea statistică judicioasă a rezultatelor, elementele de originalitate sunt condiții esențiale care asigură șansa publicării unei cercetări științifice.

Essential publishing conditions of scientific study results concerning pheochromocytoma pathology

Ștefănescu Ana-Maria, Schipor Sorina, Păun Diana Loreta, Badiu Corin Virgil

National Institute of Endocrinology

Publishing scientific research results could be both a difficult task and a challenge. The aim of our study concerning adult pheochromocytoma pathology was to detect biochemical markers for early diagnosis in a rare pathology, sometimes incidentally discovered or even too late at necropsy. This study was approved by the Ethics Council from the National Institute of Endocrinology. Our methodology concerning cases selection identified a pathological group ($n = 22$) and a control group ($n = 50$), after all patients gave their informed consent. Biochemical study required Elisa methods for differentially assays of specific pheochromocytoma markers: normetanephrines and metanephrines both in plasma and urine. The same markers could be differentially assayed in saliva, this methodology having

an original character. We also studied the utility of chromogranin A as a complementary diagnosis marker both in plasma and saliva. For developing data by publishing it was needed a rigorous statistically calculation. Multiple regression showed an optimal correlation coefficient between free salivary and plasma normetanephrines and also between salivary and plasma chromogranin A. Passing&Bablok regression and Receiver Operating Curves Analysis (ROC) revealed the possibility to replace well-known pheochromocytoma plasma biomarkers by salivary markers of similar sensitivity and specificity. This biochemical investigation algorithm concerning pheochromocytoma is original and proved that saliva assays were stress free for the patient and had an economic benefit at low cost assays. In conclusion, a correct selection of patients keeping in mind ethical concepts, an adequate biochemical investigation methodology, rigorous statistically results interpretation, original elements are essential conditions ensuring publishing opportunity of a scientific research.

P23. Evaluarea performanței preanalitice în laboratorul de urgență cu indicatorii calității

Greco Daniela Ștefania¹, Greco Mihai Bujor², David Dana Liana¹, Gîju Sorin³, Dumitrașcu Victor¹

1. Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara, Departamentul de Biochimie și Farmacologie; 2. Spitalul Clinic Județean de Urgență Timișoara, Unitatea de Primiri Urgențe; 3. Spitalul Clinic Județean de Urgență Timișoara, Laborator Clinic

Obiectiv: Performanța procesului de testare din laborator poate fi evaluată cu ajutorul indicatorilor calității. Scopul studiului nostru a fost să stabilim nivelul performanței în faza preanalitică din laboratorul de urgență pe baza indicatorilor calității pentru îmbunătățirea serviciilor laboratorului. **Metode:** Pentru calcularea scorurilor indicatorilor calității, au fost numărate 15799 probe de sânge fără anticoagulant (biochimie), 20211 probe de sânge cu anticoagulant (hematologie și coagulare) și 4539 probe de urină primite în laboratorul de urgență din departamentul de urgență în decurs de 7 luni. Pentru aceeași perioadă au fost numărate 170 erori preanalitice. Pentru stabilirea nivelului performanței, scorurile indicatorilor calității au fost comparate cu specificațiile calității menționate în literatură. **Rezultate:** Din numărul total de probe, 0,20% au fost hemolizate, 0,05% nu au fost primite în laborator și 0,002% au fost probe cu volum insuficient. Din numărul total de probe cu anticoagulant, 0,39% au fost coagulate și 0,02% nu au respectat raportul dintre sânge și anticoagulant. Rezultatele noastre se încadrează în specificațiile propuse în literatură pentru acești indicatori ai calității. **Concluzii:** Nivelul performanței în faza preanalitică a procesului de testare din laboratorul de urgență este unul bun, conform specificațiilor calității din literatură, necesitând evaluare continuă pentru îmbunătățirea serviciilor laboratorului.

Assessment of pre-analytical performance with quality indicators in the state laboratory

Greco Daniela Ștefania¹, Greco Mihai Bujor², David Dana Liana¹, Gîju Sorin³, Dumitrașcu Victor¹

1. "Victor Babes" University of Medicine and Pharmacy Timisoara, Biochemistry and Pharmacology Department; 2. County Emergency Clinical Hospital Timisoara, Emergency Department; 3. County Emergency Clinical Hospital Timisoara, Clinical Laboratory

Objective: The performance of the testing process in the laboratory can be evaluated using quality indicators. The aim of our study was to establish the performance level in the pre-analytical phase in the stat laboratory using quality indicators, in order to improve laboratory services. **Methods:** In order to calculate the quality indicators scores, we counted 15799 blood samples without anticoagulant (biochemistry), 20211 blood samples with anticoagulant (hematology and coagulation) and 4539 urine samples received in the stat laboratory from the emergency department over a period of seven months. For the same period, 170 pre-analytical errors were counted. To establish the performance level, the quality indicators scores were compared with the quality specifications mentioned in the literature. **Results:** Of the total number of samples, 0.20% were hemolysed, 0.05% were not received in the laboratory and 0.002% were samples with insufficient volume. Of the total number of samples with anticoagulant, 0.39% were coagulated and 0.02% did not respect the blood/anticoagulant ratio. Our results fit into the specifications proposed in the literature for these quality indicators. **Conclusions:** The performance level in the pre-analytical phase of the testing process in the stat laboratory is good and complies with the quality specifications established in the literature, requiring continuous evaluation for the improvement of laboratory services.

P24. Scala six sigma: un mod mai bun de evaluare a calității în faza preanalitică?

Greco Daniela Ștefania¹, Greco Mihai Bujor², David Dana Liana¹, Dumitrașcu Victor¹

1. Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara, Departamentul de Biochimie și Farmacologie; 2. Spitalul Clinic Județean de Urgență Timișoara, Unitatea de Primiri Urgențe

Obiectiv: Six sigma este un instrument ce poate fi utilizat pentru evaluarea performanței procesului de testare din laborator. Calitatea este evaluată pe scala sigma pornind de la 3 sigma, pentru o performanță minimă a procesului și tinzând către 6 sigma, pentru calitatea de primă clasă. Scopul studiului nostru a fost să cuantificăm nivelul performanței în faza preanalitică din laboratorul de urgență cu ajutorul indicatorilor calității exprimați pe scala six sigma. **Metode:** Au fost numărate 15799 probe de sânge fără anticoagulant (biochimie), 20211 probe de sânge cu anticoagulant (hematologie și coagulare) și 4539 probe de urină primite din departamentul de urgență în laboratorul de urgență, cât și 170 erori preanalitice în perioada iunie – decembrie 2012. Pentru exprimarea indicatorilor calității pe scala sigma, numărul de erori per milion de produse a fost convertit în sigma metrică. A fost calculat nivelul sigma pentru fiecare indicator al calității, cât și nivelul sigma mediu pentru faza preanalitică. **Rezultate:** Indicatorii calității au avut următoarele nivele sigma: probele coagulate (hematologie) = 4,2, probele cu raport inadecvat între probă și anticoagulant = 5,2, probele hemolizate (hematologie și biochimie) = 4,5, probele neprimite în laborator = 4,9 și probele cu volum insuficient = 5,6. Nivelul sigma mediu

pentru faza preanalitică a fost 4,9. Concluzii: Nivelul de performanță în faza preanalitică a procesului de testare din laboratorul de urgență poate fi cuantificat în mod simplu și uniform, utilizând indicatorii calității exprimați pe scala sigma. Această modalitate de exprimare a indicatorilor calității permite chiar și calcularea unei medii a performanței preanalitice.

Six sigma scale: a better way for quality assessment in the pre-analytical phase?

Greco Daniela Ștefania¹, Greco Mihai Bujor², David Dana Liana¹, Dumitrașcu Victor¹

1. "Victor Babes" University of Medicine and Pharmacy Timisoara, Biochemistry and Pharmacology Department; 2. County Emergency Clinical Hospital Timisoara, Emergency Department

Objective: Six sigma is a tool that can be used for evaluation of the performance of the testing process in a laboratory. Quality is assessed on the sigma scale, from 3 sigma, for minimum process performance, to 6 sigma, a goal for world-class quality. The aim of our study was to quantify the performance level in pre-analytical phase of the testing process in the stat laboratory, using the quality indicators expressed on the six sigma scale. **Methods:** The samples received in the stat laboratory from the emergency department and the pre-analytical errors were counted from June to December 2012. To express the quality indicators on the sigma scale, the number of errors per million products is converted in sigma metrics. The sigma level for each quality indicator and the medium sigma level for the pre-analytical phase were calculated. **Results:** The quality indicators had the following sigma levels: coagulated samples (hematology) = 4.2, samples did not respect the blood/anticoagulant ratio = 5.2, hemolyzed samples (hematology and biochemistry) = 4.5, samples lost-not received in laboratory = 4.9 and samples with insufficient volume = 5.6. The medium sigma level for pre-analytical phase was 4.9. **Conclusions:** The level of the performance in the pre-analytical phase of the testing process in the stat laboratory can be quantified in a simple and uniform way, using the quality indicators expressed on the sigma scale. This way of expressing quality indicators also allows the calculation of an average value of pre-analytical performance.

P25. Infliximab, prieten sau dușman?

Chiriac Anca¹, Chiriac Anca E.², Codrina Ancuța², Filip Florina², Goriuc Anca², Foia Liliana²

1. Centrul Medical Nicolina, Departamentul de Dermatologie, Iași, Romania; 2. Universitatea de Medicină și Farmacie "Gr. T. Popa" Iași, Romania

Introducere: Guta este o boală metabolică determinată de o tulburare a metabolismului purinelor, cu depunerea de cristale de urați monosodici în țesuturi precum articulații, rinichi, și alte țesuturi moi, inducând un răspuns inflamator. **Material și metode:** Prezentăm două cazuri de gută, unul tratat cu Infliximab și unul indus de Infliximab. Primul caz, o femeie de 76 de ani, s-a adresat departamentului nostru pentru o tumoră voluminoasă pe cotul stâng, apărută cu peste 10 ani înainte și noduli mici, galbeni, foarte fermi la nivelul articulațiilor interfalangiene proximale și distale, pe care clinic și paraclinic le-am diagnosticat ca gută. Evoluția clinică sub tratament cu Infliximab a determinat o îmbunătățire considerabilă a pacientei. Al doilea pacient, o femeie de 52 de ani, cu un istoric de 2 ani cu artrită reumatoidă erozivă (criteriile de diagnostic ACR 1987) seronegativă (factor reumatoid, anticorpi anti-CCP), și tratament cu Infliximab, s-a prezentat pentru papule ferme, albe, noduli și plăci

la degetele mâinilor, precum și noduli ulcerati la degetul al doilea de la picior. Resultate: Printre factorii de risc pentru gută am putut identifica: consumul de alcool, utilizarea de diuretice tiazidice, disfuncție renală sau hipertensiune arterială (în primul caz) și Infliximab (în al doilea). Diagnosticul diferențial a inclus pseudoguta (depunere de pirofosfat de calciu), calcinoza cutanată și nodulii reumatici sau de colesterol, dar evidențele clinice, histopatologice (depunere de material amorf în derm și infiltrate inflamatorii ce cuprind macrofage, limfocite, celule gigante), corelate cu hiperuricemia în ambele cazuri, au tranșat diagnosticul cert de gută. Deși numeroase medicamente din practica medicală curentă pot modifica metabolismul purinelor și induce o stare de hiperuricemie, acesta este primul caz raportat de gută, indus de Infliximab la un pacient cu artrită reumatoidă. Concluzii: Având în vedere faptul că Infliximab ar putea fi o alegere terapeutică în guta cronică, studiul nostru evidențiază dualitatea acțiunii acestuia: cauză și răspuns pentru aceeași patologie (guta). Cuvinte cheie: Infliximab, guta, artrita reumatoidă

Infliximab, friend or foe?

Chiriac Anca¹, Chiriac Anca E², Codrina Ancuța², Filip Florina², Goriuc Anca², Foia Liliana²

1. Department of Dermatology, Nicolina Medical Center, Iași, Romania; 2. University of Medicine and Pharmacy "Gr. T. Popa" Iași, Romania

Introduction: Gout is a metabolic disease caused by a disturbance in purine metabolism; crystals of monosodium urate are deposited in tissues such as joints, kidneys, and soft tissues, producing an inflammatory response. **Material and methods:** We present two cases of gout, one treated by Infliximab and one induced by Infliximab. The first case was a 76-year-old woman referred to us for a large tumor on the left elbow, that had occur more than 10 years before and, small yellow, firm nodules on proximal and distal interphalangeal joints, which turned to be classic gout. The clinical evolution under Infliximab was with great improvement. The second patient, a 52-year-old woman, with a 2-year history of seronegative (rheumatoid factor, anti-CCP antibody) erosive rheumatoid arthritis (ACR 1987 diagnostic criteria) and Infliximab therapy, presented with 1month history of firm, white papules, nodules and plaques over digits on the hands and ulcerated nodule on the second digit toe. **Results:** Among the risk factors for gout we could include: alcohol intake, use of thiazide diuretics, renal dysfunction or hypertension (in the first case) and Infliximab (in the second one). The differential diagnosis included calcium pyrophosphate deposition disease (pseudogout), calcinosis cutis, and rheumatoid or cholesterol nodules, but the diagnosis of gout was strongly considered on the clinical, histopathological grounds (deposition of amorphous material in the dermis and inflammatory infiltrates - macrophages, lymphocytes, giant cells), correlated with the hyperuricemia in both cases. Although many drugs have been found to alter the purine metabolism and induce a status of hyperuricemia and gout in clinical practice, as per our knowledge (PubMed-Medline database search) this is the first reported case of gout induced by Infliximab in a patient with rheumatoid arthritis. **Conclusion:** Taking into considerations that Infliximab could be a therapy of choice in chronic tophaceous gout, our study points out the duality of Infliximab: cause and answer for the same pathology (gout).

P26. Semnificația proceselor infecțioase subsidiare în declanșarea pityriasisului lichenoid cronic

Chiriac Anca¹, Suditu Gabriela¹, Mihăila Doina², Chirana Alice³, Chiriac Anca E⁴, C. Solovan⁵, Foia Liliana⁴

1. Centrul Medical Nicolina, Departmentul de Dermatologie, Iași, România; 2. Spitalul Universitar de Copii "Sf. Maria", Iași, România; 3. Spitalul de Recuperare Iași, 4. Universitatea de Medicină și Farmacie "Gr. T. Popa" Iași, România; 5. Universitatea de Medicină și Farmacie "V. Babeș" Timișoara, România

Introducere: Pityriasisul lichenoid cronic (PLC) este o boală rară, de etiologie încă neclarificată, în ciuda faptului că unii agenți infecțioși au fost raportați în literatură ca potențiali factori declanșatori. **Material și metode:** Studiul nostru prezintă două cazuri care, în urma investigațiilor clinice și de laborator (determinări biochimice, imunohistochimie), au fost diagnosticate cu pityriasis lichenoid cronic, indus de *Streptococcus beta-hemolitic* grupa A și respectiv *Trichomonas vaginalis*. **Rezultate:** Primul pacient, o femeie de 45 de ani s-a prezentat cu papule pruriginoase cu aspect variabil, de la eritematos la aplatizat. Papulele erau înmpanzite pe trunchi și extremități și au fost inițial diagnosticate ca psoriazis gutos. Examinarea atentă a leziunilor a relevat însă identificarea unor formațiuni fine solzoase, strălucitoare, bine atașate la nivel central și care au ridicat suspiciunea de PLC. Cele mai multe dintre rezultatele de laborator au fost în limite normale, cu excepția culturilor din exudatul faringian care a relevat prezența *Streptococcus beta-hemolitic* grup A, asociat cu titruri mari ale ASLO (500UI/ml). Raportul histopatologic al biopsiei pielii prin relevarea infiltratului perivascular (compus predominant din celule mononucleare), fără invazie vasculară, asociat cu rezultatele de imunohistochimie care relevau expresia CD 45 intens pozitivă și negativă pentru CD 20 în infiltratul inflamator, au confirmat diagnosticul de PLC. Al doilea pacient, un bărbat de 28 de ani s-a adresat pentru o erupție ușor pruriginoasă, răspândită larg atât pe trunchi cât și extremități, apărută cu două luni înainte. Frotiul uretral și cultura au evidențiat *Trichomonas vaginalis*. În ambele cazuri, istoricul medical nu a putut identifica vreo altă afecțiune, comorbidități sau medicamente asociate, iar diagnosticul de PLC a fost condus pe baza examenului clinic amănunțit, rapoartele de biopsie a pielii și rezultatele de laborator. Mai mult, planul terapeutic a inclus antibioterapie specifică asociată cu fototerapie în bandă îngustă, sau respectiv aplicații topice de steroizi. După o lună de tratament, în ambele cazuri s-a obținut remisia completă a leziunilor, fără recurențe în intervalul de 12 luni în care pacienții au fost monitorizați. **Concluzii:** Cercetând bazele de date online, s-a putut observa că nu există studii în literatură care să fi raportat anterior asocierea PLC -*Trichomonas vaginalis*. Raportul nostru descrie astfel două cazuri, în care leziunile cutanate de PLC și *Trichomonas vaginalis* și respectiv *Streptococcus beta-hemolitic* de grup A au evoluat concomitent, asociat cu leziuni pruriginoase, de durată și cu expresii histologice atipice. Este nevoie de studii suplimentare care să elucideze rolul agenților infecțioși în cadrul acestor manifestări particulare. **Cuvinte cheie:** Pityriasis lichenoid cronic, *Streptococcus* grup A beta-hemolitic, *Trichomonas vaginalis*

Pityriasis lichenoides chronica case reports - the significance of the underlying infectious triggers?

Chiriac Anca¹, Suditu Gabriela¹, Mihăila Doina², Chirana Alice³, Chiriac Anca E⁴, C. Solovan⁵, Foia Liliana⁴

1.Nicolina Medical Center, Department of Dermatology, Iasi, Romania; 2.Children Hospital, Department of Pathology, Iasi, Romania; 3.Recovery Hospital, Department of Pathology, Iasi, Romania; 4.University of Medicine and Pharmacy "Gr .T. Popa", Iasi, Romania; 5. University of Medicine and Pharmacy "V. Babes" Timisoara, Romania

Introduction: Pityriasis lichenoides chronica (PLC) is a rare, acquired disease of unknown etiology; although infectious agents have been suspected and previously reported as potential trigger factors. **Material and methods:** We hereby report two cases investigated by clinical and laboratory (biochemical, immunohistochemistry) evaluation, diagnosed with Pityriasis lichenoides chronica induced by group A beta-hemolytic Streptococcus and by Trichomonas vaginalis. **Results:** The first patient, a 45-yo woman presented with scaly, pruritic, erythematous-to-brown flattened papules. The papules were spread over the trunk and extremities and were initially misdiagnosed as guttate psoriasis. The close view of the lesions revealed fine centrally attached mica-like shiny scales, which raised the suspicion of PLC. Most of the laboratory findings were within normal limits, except the throat swab cultures where group A b-hemolytic Streptococcus was evidenced and the ASLO titers which registered values above normal (500UI/ml). The histopathological report of skin biopsy confirmed the suspicion of PLC by showing perivascular infiltrate (composed mainly of mononuclear cells), that does not invaded the vessels, while immunohistochemistry revealed strongly positive CD 45 and negative CD 20 in the inflammatory infiltrate. The second 28-yo male patient addressed for an eruption spread all over the trunk and extremities that ruled out since two months prior to the medical visit, complaining of mild pruritus. The urethral smear evidenced Trichomonas vaginalis (Giemsa-stained smears and culture). In both cases, medical history revealed no other disorders, comorbidities or medication and the diagnosis was based on skin biopsy reports, rigorously clinical evaluation, not only of the skin lesions, and lab findings. Moreover, the treatment plan included specific antibiotherapy associated to narrow band phototherapy or steroid topical applications respectively. Complete recovery was observed after one month and no recurrences appeared. **Conclusion:** To our knowledge, no previous studies reported Trichomonas vaginalis – related PLC, and thus, our report describes two cases, in which cutaneous lesions of pityriasis lichenoides chronica and Trichomonas vaginalis and group A beta-hemolytic Streptococcus respectively, have evolved concomitantly, associated to long lasting lesions and pruritus, and atypical histological expression. Further studies must elucidate the role of infectious agents in this peculiar condition. **Key words:** Pityriasis lichenoides chronica, group a beta-hemolytic Streptococcus, Trichomonas vaginalis

P27. Limfoame non-Hodgkin agresive

Ioniță Hortensia, Ioniță Ioana

Universitatea de Medicină și Farmacie „Victor Babeș”, Timișoara

Limfoame de histologie similară pot avea spectre diferite de simptome clinice asociate și agresivitate clinică, ceea ce face clasificarea tumorilor limfoide imposibilă prin folosirea unui sistem de gra-

dare generic bazat numai pe morfologie. Limfoamele/leucemiile cu celule T au un comportament clinic mai agresiv decât limfoamele cu celule B cu histologie comparabilă. Tendința agresivă se aplică, de asemenea, la tumori limfoide derivate din celule „natural killer”. Limfoamele non-Hodgkin (LNH) agresive cresc în frecvență din motive necunoscute. Ele constituie o familie mare de tumori de origine limfoproliferativă. Sunt foarte diferite unul de celălalt din punct de vedere morfologic, biologic, și al comportamentului clinic care fără un tratament specific este întotdeauna agresiv. Limfomul difuz cu celulă mare B (DLBCL) reprezintă o entitate heterogenică și cel mai frecvent tip de limfom malign, aproximativ 30-40% din toate cazurile. Studiile de expresie a profilului genetic au identificat mai multe subtipuri moleculare distincte desemnate ca limfom cu celule mari B tip centru germinativ (GCB) DLBCL, limfom cu celule B activate (ABC) DLBCL, primar și limfom mediastinal primar cu celule B (PMBL). Profilurile de expresie a genelor sugerează că acestea provin din celule B, la diferite stadii de diferențiere. Subtipurile DLBCL reprezintă boli moleculare distincte care utilizează diferite căi oncogenice și au rate de supraviețuire semnificativ diferite în urma terapie standard actuale. Supraviețuirea pacienților diagnosticați cu DLBCL este dictată de combinația de caracteristici specific tumorale și componența micromediului tumorii. Viitorul tratament împotriva limfomului va include rezultatele studiilor moleculare și genetice al expresiei profilului genic, pentru a discerne care pacienți vor răspunde favorabil la agenții noi.

Aggressive non-Hodgkin Lymphomas

Ioniță Hortensia, Ioniță Ioana

„Victor Babes” University of Medicine and Pharmacy, Timisoara, Romania

Lymphomas of similar histology can have widely different spectra of associated clinical symptoms and clinical aggressiveness, making the categorization of lymphoid tumors impossible using a generic grading system based on morphology alone. T-cell lymphomas/leukemias have a more aggressive clinical behavior than B-cell lymphomas of comparable histology. The aggressive tendency also applies to lymphoid tumors derived from natural killer cells. Aggressive non-Hodgkin lymphomas (LNH) are increasing in frequency for unknown reasons. We know that they constitute a big family of tumors of lymphoproliferative origin. These lymphomas are very different one from the other in terms of morphology, biology, and clinical behavior that without specific treatment is always aggressive. Diffuse large B cell lymphoma (DLBCL) represents a heterogeneous entity and the most common type of malignant lymphoma for approximately 30-40% of all cases. Gene expression profiling studies identified several distinct molecular subtypes designated as germinal center B cell-like (GCB) DLBCL, activated B cell-like (ABC) DLBCL, and primary mediastinal B cell lymphoma (PMBL). Their gene expression profiles suggest that they arise from B cells at different stages of differentiation. The diffuse large B cell lymphoma (DLBCL) subtypes represent distinct molecular diseases which utilize different oncogenic pathways and have significantly different survival rates following current standard therapy. Survival of patients diagnosed with DLBCL is dictated by the combination of specific tumor characteristics and the composition of the tumor microenvironment. Future lymphoma treatment will include results from molecular and gene expression profiling studies, to discern which patients will respond favorably to novel targeted agents.

P28. Aspecte clinico-biologice și imunologice la pacienții cu mielom multiplu nou diagnosticat

Ioniță Ioana, Călămar Despina, Ioniță Claudiu, Cheveresan Maria, Oroș Dacian, Ioniță Mihai, Potre Ovidiu, Ioniță Hortensia

Universitatea de Medicină și Farmacie „Victor Babeș”, Timișoara, Departamentul de Hematologie, Timișoara, România

Introducere: Mielomul multiplu (MM) este o boală neoplazică caracterizată prin proliferarea unei singure clone de celule plasmatiche. **Scop:** Determinarea aspectelor clinice, biologice și imunologice ale pacienților cu MM nou diagnosticat. **Pacienți și metode:** Am analizat retrospectiv fișele de observație ale pacienților cu MM nou diagnosticat în Departamentul de Hematologie Timișoara din perioada 1 ianuarie 2002 până în 31 decembrie 2012. **Rezultate:** Am studiat 225 pacienți, 5% au fost mai tineri de 40 de ani, 34% au fost peste vârsta de 70 de ani. Vârsta medie a fost de 62 de ani. Anemia a fost prezentă la diagnostic la 75% pacienți, hipercalcemia (calciu seric >11 mg/dL) prezent la 11%, iar nivelul seric al creatininei peste 2 mg/dL s-a constatat în 23% din cazuri. Nivelul β 2-microglobulinei a fost crescut la 67% pacienți. Electroforeza serică a proteinelor a relevat o bandă monoclonală la 78% pacienți, iar imuno-electroforeza și imunofixarea au demonstrat prezența unei proteine monoclonale în 86% cazuri. Lanțuri ușoare monoclonale s-au constatat în 65% cazuri. Mielomul nesecretor a fost prezent la 2% pacienți, mielomul cu lanțuri ușoare la 18% pacienți. Albumina serică mai scăzută decât 3g/dl s-a constatat la 62% pacienți. Radiografiile convenționale au demonstrat modificări în 85% cazuri. Analiza multivariată a arătat că vârsta, numărul scăzut de trombocite, albumina serică, creatinina serică, nivelul β 2-microglobulinei au fost cei mai importanți factori de prognostic. **Concluzie:** Durata medie de supraviețuire a fost de 30 luni și nu s-a îmbunătățit, comparativ cu durata de supraviețuire a pacienților cu MM diagnosticat anterior anului 2000.

Aspects of clinico-biological and immunological parameters in patients with newly diagnosed multiple myeloma

Ioniță Ioana, Călămar Despina, Ioniță Claudiu, Cheveresan Maria, Oroș Dacian, Ioniță Mihai, Potre Ovidiu, Ioniță Hortensia

„Victor Babeș” University of Medicine and Pharmacy, Timișoara, Department of Hematology, Timișoara, Romania

Background: Multiple myeloma is a neoplastic disorder characterized by proliferation of a single clone of plasma cells derived from B cells. **Objective:** To determine the clinical biological and immunological features of newly diagnosed multiple myeloma. **Patients and Methods:** Records of all patients in whom multiple myeloma was initially diagnosed at the Department of Hematology, Timișoara, from January 1, 2002, to December 31, 2012, were reviewed. **Results:** Of the 225 study patients, 5% were younger than 40 years, and 34% were 70 years. The median age was 62 years. Anemia was present in 75% of patients, hypercalcemia (calcium level >11 mg/dL) in 11%, and a serum creatinine level of 2 mg/dL in 23%. The β 2-microglobulin level was increased in 67%. Serum protein electrophoresis revealed a localized band in 78% of patients, and immunoelectrophoresis or immunofixation showed a monoclonal protein in 86%. A monoclonal light-chain was found in the urine in 65%. Non-secretory myeloma was recognized in 2% of patients, light-chain myeloma in 18%. Serum albumin

less than 3g/dl was found in 62% of patients. Conventional radiographs showed an abnormality in 85%. Multivariate analysis revealed that age, low platelet count, serum albumin value, serum creatinine level, β 2-microglobulin level, were the most important prognostic factors. Conclusion: The median duration of survival was 30 months and did not improve, compared with duration of survival in patients with MM, analyzed before 2000.

P29. Algoritm de diagnostic utilizat pentru diferențierea gammapatiilor monoclonale

Bârsan Liliana¹, Blaga Violeta¹, Stan Dana², Savin Mihaela³, Mihăilescu Carmen²

1. Spitalul de Nefrologie "Dr. Carol Davila", București, România; 2. DDS Diagnostic, București, România; 3. Telemedica, București, România

Obiectivele studiului sunt alinierea la algoritmele internaționale de diagnostic, în ceea ce privește diagnosticul diferențial al gamapatiilor monoclonale și demonstrarea importanței fiecărei etape în diagnostic. Materiale și metode. Au fost înrolați 35 de pacienți cu gamapatii monoclonale. Identificarea benzilor monoclonale s-a realizat prin metoda electroforezei proteinelor serice și urinare. Evaluarea componentelor monoclonale și a lanțurilor asociate s-a făcut prin imunoelectroforeza proteinelor serice și urinare urmată de imunofixare (identificarea lanțurilor grele și ușoare). Imunoglobulinele și lanțurile ușoare libere k și λ s-au determinat cantitativ prin nefelometrie. Studiul s-a realizat la Spitalul de Nefrologie "Carol Davila" București utilizând arhiva electronică a laboratorului iar probele au fost prelevate de la pacienți spitalizați (adulți) între anii 2011-2013. Rezultate și discuții. Cuantificarea lanțurilor ușoare libere precum și raportul k/ λ au oferit informații importante privind monitorizarea evoluției bolii și diferențierea gamapatiilor monoclonale. Utilizând algoritmul de diagnostic menționat, lotul în studiu a fost împărțit în următoarele categorii: gamapatii monoclonale cu lanț k (5 tip IgG, 2 tip IgM, 4 tip IgA), cu lanț λ (3 tip IgG, 2 tip IgM, 1 tip IgA), mielom multiplu Bence Jones cu lanț λ (2 cazuri) și alte patologii (3 amiloidoză, 5 sindrom nefrotic, 7 insuficiență renală cronică și 1 insuficiență renală acută). S-a realizat și monitorizarea evoluției bolii la 17 dintre pacienții diagnosticați cu gamapatii monoclonale. Concluzii. Utilizarea acestui algoritm precum și urmărirea în evoluție a unor cazuri de gamapatii monoclonale au fost etape importante în stabilirea diagnosticului diferențial al gamapatiilor monoclonale.

Diagnostic algorithm used to differentiate the monoclonal gammopathies

Bârsan Liliana¹, Blaga Violeta¹, Stan Dana², Savin Mihaela³, Mihăilescu Carmen²

1. "Dr. Carol Davila" Hospital of Nephrology, Bucharest, Romania; 2. DDS Diagnostic, Bucharest, Romania; 3. Telemedica, Bucharest, Romania

Objectives: The objectives of this study are the alignment to the International Practical Algorithms for Diagnosis with respect to the differential diagnosis of the monoclonal gammopathies and the demonstration of the importance of each diagnosis step. Materials and methods: 35 patients with monoclonal gammopathies were enrolled. The identification of monoclonal bands was achieved by the serum and urine protein electrophoresis method. The evaluation of monoclonal components and associated chains were made by the serum and urinary protein immunoelectrophoresis followed by the immunofixation (identification of heavy/light chains). Immunoglobulins and k and λ free light chains

were quantified by the nephelometry. The study was carried out at the "Carol Davila" Hospital of Nephrology, Bucharest using the laboratory's electronic archive and samples were taken from hospitalized patients (adults) between 2011 - 2013. Results and discussion. Both the quantification of the free light chains and the ratio k/λ has provided important information on the monitoring of disease progression and the differentiation of monoclonal gammopathies. Using the above mentioned diagnostic algorithm, the study group was divided into the following categories: k chain monoclonal gammopathies (5 IgG, 2 IgM, IgA 4), λ chain monoclonal gammopathies (3 IgG, 2 IgM, IgA 1), Bence Jones multiple myeloma with λ chain (2 cases) and other pathologies (3 amyloidosis, 5 nephritic syndrome, 7 chronic kidney disease and 1 acute renal failure). Seventeen patients with monoclonal gammopathies were also monitored in evolution. Conclusions. Using this algorithm as well as tracking the evolution of monoclonal gammopathies cases was important in setting the differential diagnosis of monoclonal gammopathies.

P30. Subseturi celulare T: asocierea cu stadiile avansate ale bolii in LLC-B

G. Grigore¹, A. Dascalescu¹, M. Zlei², I. Ivanov¹, A. Gluvacov², C. Danaila¹, E. Carasevici²

1 UMF "Gr T Popa", Iasi & Institutul Regional de Oncologie, Iasi, Romania

2 Institutul Regional de Oncologie, Iasi, Romania

Introducere: Leucemia cronică limfocitică cu celula B (LLC-B) reprezintă cea mai frecventă patologie din cadrul limfoproliferărilor cronice, fiind caracterizată prin expansiunea clonală a unei populații limfoide B mature. Până în prezent au fost descrise o serie de defecte imune celulare și umorale, rămânând însă neclar de ce evoluția clinică a pacienților cu LLC-B este atât de heterogenă (cu o supraviețuire variabilă, între câteva luni și câteva decenii). Ceea ce este clar este că, la pacienții cu LLC-B infecțiile se asociază cu un grad ridicat de mortalitate, iar limfocitele T joacă un rol important în aceste imunodeficiențe asociate.

Scop: evaluarea comparativă a distribuției subseturilor limfocitare T circulante într-un grup de pacienți cu CLL-B în stadii diferite: indolent (Rai 0), intermediar (Rai 1) și progresiv (Rai 2, Rai 3 și Rai 4). **Materiale și metode.** Un număr de 43 pacienți cu LLC-B (16 femei, 27 bărbați, vârsta 68 ± 10), aflându-se în stadii distincte de boală (8 Rai 0, 11 Rai 1, 11 Rai 2, 6 Rai 3 și 7 Rai 4) au fost incluși în acest studiu. Celulele mononucleare periferice de la acești pacienți au fost crioprezervate la diagnostic (-150°C) și marcate cu anticorpi monoclonali fluorocromati relevanți: CD28/ CD27/ CD25/ CD3/ CD8/ CD4 (tub 1) și CXCR5/ CXCR3/ CCR7/ CD194/ CD45RA/ CD3/ CD4 (tub 2).

Rezultate. În comparație cu stadiul Rai 0, numărul total de limfocite T circulante a fost semnificativ crescut, atât la pacienții cu Rai 1 ($p=0,03$), cât și la pacienții în stadii avansate ($p=0,01$ for Rai 2 sau Rai 3 vs Rai 0). Stadiile Rai 2 sau 3 s-au caracterizat printr-o creștere semnificativă a numărului absolut de limfocite T helper CD4⁺ ($p=0,001$), și limfocite T citotoxice CD8⁺ ($p=0,012$ și respectiv $p=0,001$). Pacienții în Rai 4 au prezentat valori absolute ale limfocite T foarte heterogene și nu s-au observat diferențe semnificative în comparație cu stadiul indolent. Limfocitele T reglatorii CD4⁺ au valori progresiv crescute, de la pacienți în stadiul indolent ($p=0,001$) la pacienți în stadii avansate Rai 2/ 3 ($p=0,001$), în timp ce limfocitele T helper foliculare circulante au fost semnificativ mai crescute în Rai 1 și Rai 2 ($p=0,04$ și $p=0,001$), dar nu și la pacienții în Rai 3 ($p=0,093$). Stadiile avansate (Rai 2/ 3) au fost de asemenea asociate cu o creștere semnificativă a numărului de celule aparținând memoriei centrale ($p=0,012$ și $p=0,002$; pentru Rai 0 vs Rai 2 sau vs Rai 3) și celule T asociate memoriei efeto-

rii ($p=0,026$ și $p=0,006$). Pentru stadiul Rai 4 nu s-a observat nici o diferență în comparație cu Rai 0 și Rai 1 pentru niciunul dintre subseturile maturative CD4+.

În compartimentul citotoxic CD8+ au fost analizate 4 subseturi corespunzătoare expresiei moleculelor CD27 și CD28: CD27+CD28+ (Tc1) ce conține stadiile naive și de memorie și 3 subseturi efectorii: CD27- CD28+ (Tc2), CD27+ CD28- (Tc3), CD27- CD28- (Tc4). Subsetul de celule Tc1 apare în număr crescut în stadiile avansate ale bolii, atunci când se compară Rai 0 cu Rai2/3 și 4 ($p=0,001$ pentru Rai 0 vs Rai 2/3 și $p=0,014$ pentru Rai 0 vs Rai 4). Subsetul efector Tc2 apare semnificativ crescut în Rai 2 comparativ cu stadiile timpurii ale bolii Rai 0 și Rai 1 ($p=0,009$ și $p=0,04$, pentru Rai 2 vs Rai 0 și vs Rai 1), dar tendința de acumulare a acestui subset a fost observată și pentru stadii mai avansate ale bolii ($p>0,05$). Celulele circulante Tc3 se găsesc în număr semnificativ crescut în stadiile Rai 2/3 și 4 comparativ cu stadiul 0 ($p=0,001$ și $p=0,02$ și $p=0,002$, pentru Rai 0 vs Rai 2 sau vs Rai 3 sau vs Rai 4). Celulele efector Tc4 apar semnificativ crescute numeric în stadiul Rai3 comparativ cu Rai 0/1 ($p=0,043$ și $p=0,037$, pentru Rai 3 vs Rai 0 sau vs Rai 1).

Concluzii: Limfocitele T circulante (totale și subseturi) în sângele periferic al pacienților cu LLC-B se găsesc în valori absolute crescute, mai ales în stadii avansate ale bolii, cu polarizare în special direcționată către un răspuns citotoxic. Limfocitele T regulatorii cresc în valoare absolută odată cu agresivitatea bolii, semn al unui răspuns imun supresor. Compartimentul CD4+ indică o epuizare ale stadiilor naive, cu expansiune a celulelor efector și de memorie în stadii avansate. În compartimentul CD8+, toate subseturile maturative apar în număr crescut în stadiile avansate ale bolii.

Acknowledgement: Cercetare efectuată cu sprijinul financiar (parțial) al Fondului Social European, prin proiectul POSDRU/107/1.5/S/78702.

T cell subsets: association with advanced B-CLL disease

Grigore G.1, Dascalescu A.1, Zlei M.2, Ivanov I.1, Gluvacov A.2, Danaila C.1, Carasevici E.2

1. "Grigore T. Popa" University of Medicine and Pharmacy, Iasi & Regional Institute of Oncology, Iasi, Romania; 2. Regional Institute of Oncology, Iasi, Romania

Introduction: B-Chronic Lymphocytic Leukemia (B-CLL) is the most common among human lymphoproliferative disorders, characterized by the clonal expansion of a mature B cell population. Up to date, several humoral and cellular immune defects have been described, but remains unclear why the clinical course is so heterogeneous, with survival ranging from only a few months to several decades. It is certain that, in B-CLL patients, infections are frequently associated to a higher degree of mortality, and T lymphocytes are appointed as key players linked to this disease-related immunodeficiency.

Aim: To evaluate the distribution of circulating T cell subsets in a group of patients with indolent (Rai 0) versus intermediate (Rai 1) and progressive (Rai 2, Rai 3 and Rai 4) B-CLL disease.

Material and method: A total of 43 B-CLL patients (16 females and 27 males aged 68 ± 10) with distinct disease stages (8 Rai 0, 11 Rai 1, 11 Rai 2, 6 Rai 3 and 7 Rai 4) were included in the study. PB-MCs from these patients were cryopreserved at diagnosis (-150°C), and later stained with relevant fluorochrome conjugated monoclonal antibodies: CD127/ CD28 / CD27/ CD25/ CD3/ CD8/ CD4 (tube 1) and CXCR5/ CXCR3/ CCR7/ CD194/ CD45RA/ CD3/ CD4 (tube 2). Data acquisition (2×10^6 events per tube) was performed on BD machines (Canto II and FACS Aria III), while data analysis was performed using the Infinicyt software (Cytognos, Salamanca, Spain).

Results: As compared to Rai 0, significantly increased numbers of total circulating T-cells were found, both in intermediate stage patients ($p=0.03$) and advanced disease ($p=0.01$ for Rai 2 or Rai 3 vs Rai 0). Patients in Rai 2 or 3 stages shown significantly increased absolute counts of CD4+ T helper cells ($p=0.001$), and cytotoxic CD8+ T cell ($p=0.012$ and $p=0.001$, respectively). Rai 4 patients shown very heterogeneous T-cell absolute counts and no significant difference was observed as compared to indolent disease. As compared to Rai 0, CD4+ Tregs are increased from indolent Rai 1 ($p=0.001$) to advanced Rai 2 and 3 ($p=0.001$) patients, while circulating T follicular helper cells were significantly higher in Rai 1 and Rai 2 ($p=0.04$ and $p=0.001$) but not in Rai 3 patients ($p=0.093$). Advanced Rai 2/3 stages were also associated with significant increased counts of central memory T cells ($p=0.012$ and $p=0.002$; for Rai 0 vs Rai 2 or vs Rai 3, respectively) and effector memory T cells ($p=0.026$ and $p=0.006$; respectively). No difference was obtained when comparing Rai 4 to either indolent Rai 0 or Rai 1 patients for none of CD4+ maturation subsets. In the CD8+ compartment, 4 subsets were monitored according to CD27 and CD28 expression, as follows: CD27+CD28+ (Tc1) containing the naive and memory cytotoxic pool, and 3 effector type cytotoxic T cells: CD27- CD28+ (Tc2), CD27+ CD28- (Tc3), CD27- CD28- (Tc4). We found that Tc1 subset increase in number with advanced disease, when comparing Rai 0 with Rai 2/3 and 4 ($p=0.001$ for Rai 0 vs Rai 2/3 and $p=0.014$ for Rai 0 vs Rai 4). Tc2 effector subset was found significantly increased in Rai 2 when compared to early disease Rai 0 and Rai 1 ($p=0.009$ and $p=0.04$, for Rai 2 vs Rai 0 or vs Rai 1, respectively), but the tendency of this subset for accumulation was observed also for Rai3/4 ($p>0.05$). Tc3 numbers were found to be significantly higher when compared to indolent Rai 0 for Rai 2, 3 and 4 ($p=0.001$ and $p=0.02$ and $p=0.002$, for Rai 0 vs Rai 2 or vs Rai 3 or vs Rai 4). A significant increment was also observed when comparing Rai 2 to Rai 3 disease ($p=0.048$). Tc4 effectors were found to be mostly increased in Rai 3 when compared to early stages Rai 0 and Rai 1 ($p=0.043$ and $p=0.037$, for Rai 3 vs Rai 0 or vs Rai 1, respectively). **Conclusion:** T cells (total and subsets) in B-CLL patients increase in absolute counts in advanced stages of the disease, but the polarization of T cell compartment is directed towards a cytotoxic response. Regulatory T cells increase in advanced stages of the disease, sign of an acquired suppression of the immune response. The CD4+ compartment is indicating an exhaustion of the naive compartment, with expanding effector and memory cells in advanced disease. In the CD8+ compartment, all subsets appear to be increased when compared to less aggressive disease.

Acknowledgement: This study was financially supported by the European Social Fund within the project POSDRU/107/1.5/S/78702 „Inter-university partnership for increasing the medical doctoral research quality and interdisciplinarity through doctoral scholarships-DocMed.net”.

P31. Limitele electroforezei de hemoglobină pe gel de agaroză în mediu alcalin în screening-ul hemoglobinopatiilor

Popescu Mihaela, Mambet Cristina, Ganta Ionelia, Apostolescu Ileana, Dobreanu Carmen

Synevo Romania SRL

În laboratorul Synevo pentru screening-ul talasemiilor și altor hemoglobinopatii este utilizată metoda de electroforeză pe gel de agaroză în mediu alcalin pe un analizor automat. Prin această metodă pot fi separate și identificate Hb normale: HbA, HbF și HbA₂ și migrează o serie de Hb anormale, cum ar fi HbS, HbD, HbG, Hb Lepore, HbC, HbE și HbO-Arabia, implicate în cele mai frecvente hemoglobinopatii. Prin scanarea densitometrică a gelului se poate realiza o evaluare cantitativă a benzilor de hemoglobină. Datorită faptului că majoritatea variantelor de hemoglobină comigrează, iar cuantificarea

HbA2 pe care se bazează diagnosticul beta-talasemiei minore, hemoglobinopatia cu prevalența cea mai mare în România, nu este întotdeauna suficient de precisă, pentru diagnosticul de certitudine al acestor hemoglobinopatii este necesară utilizarea altor metode de laborator, în corelație cu studii etnice și familiale, aspectul hemogramei și parametrii care indica statusul fierului. Vom prezenta cazurile a trei pacienți cu tipuri diferite de hemoglobinopatie, o beta-talasemie minoră cu HbA2 normală la electroforeza pe gel de agaroză, o heterozigoție compusă de HbD/beta-talasemie și o variantă de Hb foarte rară, nepatologică (Hb Limassol), la care pentru precizarea diagnosticului s-au folosit metode alternative de testare, respectiv electroforeza capilară și analiza genei HBB (PCR, MLPA și secvențiere). În concluzie, considerăm util ca screening-ul hemoglobinopatiilor să se facă printr-o metodă mai sensibilă, care să permită separarea mai multor variante de Hb și cuantificarea mai precisă a HbA2 (HPLC, electroforeza capilară).

Screening for hemoglobinopathies - limitations of agarose-gel electrophoresis at alkaline pH

Popescu Mihaela, Mambet Cristina, Ganta Ionelia, Apostolescu Ileana, Dobreanu Carmen

Synevo Romania SRL

In Synevo Laboratory screening for hemoglobinopathies is performed by agarose-gel electrophoresis at alkaline pH on an automated analyzer. By this method normal hemoglobins HbA, HbF and HbA2 are separated and identified and a series of Hb variants also migrate, like HbS, HbD, HbG, Hb Lepore, HbC, HbE and HbO-Arab, responsible for the most part of known hemoglobinopathies. The quantification of hemoglobin bands is possible using densitometric scanning of electrophoretic gel. Because the majority of Hb variants co-migrate and because HbA2 quantification, on which the diagnosis of beta-thalassemia minor, the most prevalent hemoglobinopathy in Romania, is based is not very accurate, other laboratory methods and clinical data, like ethnical and familial studies, CBC parameters and body iron status, are required for establishing the diagnosis. We report three cases of patients with different types of hemoglobinopathies, one patient with beta-thalassemia minor and a normal value of HbA2 on agarose-gel electrophoresis, the second patient with compound heterozygosity for HbD/beta-thalassemia and the third patient with a very rare non-pathological Hb variant (Limassol hemoglobin), in which additional laboratory testing, respectively capillary electrophoresis and HBB gene analysis by PCR, MLPA and sequencing, were necessary in order to make the diagnosis. In conclusion, we recommend the use of a more sensitive method in screening for hemoglobinopathies, as HPLC or capillary electrophoresis, by which more Hb variant are separated and identified and the HbA2 quantification is more precise and accurate.

P32. Raport asupra leucemiei acute limfoblastice din județul Galați

Dobre Michaela, Georgescu Costinela, Ștefănescu Victorița, Tutunaru Dana, Nechita Aurel

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

Scopul studiului constă în relevarea epidemiologiei și tipologiei leucemiei acute limfoblastice (LAL) diagnosticate pe teritoriul județului Galați în ultimii 5 ani. Materiale și metode: Studiul a fost de tip retrospectiv și a cuprins pacienții diagnosticați cu LAL, tratați sau monitorizați în spitalele din Galați în perioada 2008-2012. Au fost analizate datele personale, heredocolaterale, clinice și paraclinice,

răspunsul la tratament. Rezultate: În județul Galați, incidența LAL este de 0,8/100.000 de locuitori, frecvența îmbolnăvirilor fiind mai mare la subiecții cu vârste sub 19 ani și la cei peste 60 de ani (sex ratio masculin:feminin 4:1). Locuitorii din mediul urban par a fi mai predispuși la îmbolnăvire cu LAL, comparativ cu cei din mediul rural. Anemia a însoțit LAL în 86,66% din cazurile investigate, fiind marcantă în perioadele de diagnosticare și în recăderi. Peste 50% din pacienți au prezentat tulburări de coagulare. Aproximativ jumătate din numărul subiecților investigați au antecedente patologice ce includ boli complexe (diabet, HTA, ulcer) sau factori virali, fără a avea antecedente heredocolaterale semnificative. Diagnosticul LAL a fost evaluat imunofenotipic în 46,66% din cazuri și citogenetic în 6,66% din cazuri. După clasificarea FAB, au fost identificate 46,66% cazuri LAL-L1, 13,33% LAL-L2 și 6,66% LAL-L3. Concluzii: Datele epidemiologice cu privire la LAL încadrează județul Galați la limita inferioară a incidenței mondiale. Pentru clasificarea LAL și mai ales pentru evaluarea prognosticului de viață, aplicarea tehnicilor de imunofenotipare se impun cu necesitate.

A report on acute lymphoblastic leukemia in the county of Galați

Dobre Michaela, Georgescu Costinela, Stefanescu Victorita, Tutunaru Dana, Nechita Aurel

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

The purpose of the study was to assess the epidemiology and typology of acute lymphoblastic leukemia (ALL) cases diagnosed in the county of Galati over a period of 5 years. Materials and methods: This retrospective study included patients diagnosed with ALL, treated or monitored by Galati county hospitals between 2008 and 2012. Personal data, family history, clinical and paraclinical data, as well as patient's response to treatment, were all investigated parameters. Results: In the county of Galati, the frequency of ALL is 0.8/100.000 inhabitants, with an increased likelihood of occurrence in subjects under 19 or over 60 years of age (sex ratio male:female 4:1). ALL occurred more frequently in urban versus rural inhabitants. Anemia was found to accompany ALL in 86.66% of investigated cases, and was particularly pronounced upon diagnosis and in remission. Over 50% of patients suffered clotting disorders. Approximately one half of investigated patients had a personal medical history including complex diseases (diabetes, high blood pressure, and gastric ulcer) or viral factors, but otherwise no significant family history. ALL was diagnosed through immunophenotyping evaluation in 46.66% of cases and through cytogenetic investigations in 6.66% of cases. After FAB classification, 46.66% cases were identified as ALL-L1, 13.33% as ALL-L2 and 6.66% as ALL-L3. Conclusions: Epidemiological data concerning ALL places the county of Galati at the lower limit of the worldwide ALL occurrence rate spectrum. In order to classify ALL and subsequently evaluate survival prognosis, immunophenotyping evaluation is a necessity.

R5. Influența clasificării actuale a leucemiilor acute mieloide (LAM) asupra deciziilor terapeutice

Coliță Dan, Coliță Adriana, Coriu Daniel

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

LAM reprezintă o categorie de entități care au în comun proliferarea clonală a blastilor mieloici, ce debutează în măduva osoasă. Ele sunt cele mai comune forme de LA la adult, cu o incidență anuală de 3/100.000. Se caracterizează printr-o heterogenitate semnificativă a formelor de boală caracterizată

printr-un larg evantai de particularități patogenice și un număr larg de factori de risc. Caracterizarea lor necesită o abordare multimetodologică constând din evaluări morfologice, imunofenotipice, citogenetice și testări molecular genetice. Sistemul OMS de clasificare include 20 de entități de boală grupate în 4 categorii majore: 1) LAM anomalii citogenetice recurente [t(8:21), inv(16) ori t(16;16), t(15;17), t(9;11), t(6;9), inv(3) ori t(3;3), t(1;22)]; 2) LAM cu displazie multilinară; 3) LAM asociată cu mielodisplazie sau terapie specifică; 4) LAM nealiniată altor categorii (M1-M7, leucemia cu bazofile, panmieloza acută cu mielofibroză, sarcomul mieloid). După tipul de anomalii citogenetice LAM pot fi clasificate în 3 categorii prognostice. Investigațiile moleculare (secvențializare, PCR) au descoperit un număr de mutații ale unor gene cu semnificație prognostică aparte: NPM1, CEBPA, FLT3, RUNX1, KIT. Dintre acestea unele au efect dominant și imprimă o agravare a evoluției indiferent de prezența sau absența anomaliilor cromozomiale sau a altor anomalii moleculare. Exemplul clasic este mutația FLT3 care întunecă prognosticul cazurilor cu cariotip normal sau al celor cu mutație NPM1. Anomaliile genetice specifice servesc pentru orientarea terapeutică. Spre exemplu defectele FLT3 în combinație cu NPM1 sau CEBPA permit o predicție mai gravă în cazurile de LAM cu cariotip normal și identificarea cazurilor care pot beneficia de transplant allogeneic de celule stem. Recent s-au identificat alte mutații somatice recurente: TET2, ASXL1, IDH1 & 2, DNMT3A. și acestea demonstrează aceeași semnificație prognostică cu decizie terapeutică. Mutațiile concurente ale FLT3 cu TET2 și DNMT3A se asociază cu prognostic foarte sever și se constituie ca un subset în cadrul grupului caracterizat prin mutația FLT3 – ITD. Citometria de flux constituie un instrument de lucru la fel de valoros. Foarte rapidă și sensibilă, capabilă să precizeze diferențierea mieloidă în 98% dintre cazuri și să evidențieze celulele cu fenotip aberant sau bilineal, imunofenotiparea este de neînlocuit pentru analiza LAM în toate momentele evoluției: la diagnostic, în dinamică, în remisiune sau în perioada de refacere a măduvei osoase, de la debutul recăderii și pentru aprecierea bolii minime reziduale (BMR). Efectuată cu un panel larg de anticorpi demonstrează o sensibilitate strâns apropiată de aceea a PCR și poate oferi date prognostice foarte prețioase: de ex. o BMR postconsolidare mai mare de $3,5 \times 10^{-4}$ anunță recaderea și asocierea cu un prognostic sever sau intermediar. Transplantul allogeneic de celule stem hematopoietice a dobândit un loc special în strategia tratării LAM. A devenit manevra standard în prima remisiune completă (RC) a cazurilor cu risc intermediar și sever și în RC2, cu probabilitate de supraviețuire la 6 ani cuprinsă între 20 și 50% dintre cazuri în funcție de statusul bolii.

The influence of the actual classification of acute myeloid leukemias (AMLs) on the therapeutic decisions

Colita Dan, Colita Adriana, Coriu Daniel

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

AMLs are a large class of entities having in common a clonal proliferation of myeloid blasts which begins in the bone marrow. They represent the most common acute leukemias in adult patients, with an annual incidence of 3/100.000. Their prognosis remains poor in spite of a promising rate of complete remissions (50 – 80%) and of an active consolidation strategy of these, consisting in high doses of chemotherapy (alone or supplemented by allogeneic hematopoietic stem cell transplantations). In fact the percentage of cured cases is surpassed by those which relapse and/or show refractoriness to the treatment. This is explainable by the significant heterogeneity of these diseases in terms of risk factors and specific pathogenic peculiarities. Only a multimethodology approach consisting a combined of morphology, flow cytometry, cytogenetics and molecular genetic assays allows the full char-

acterisation of each case and its correct emplacement in the actual WHO classification of AMLs. This include 20 entities grouped into four major categories: 1) AML with recurrent cytogenetic abnormalities [t(8;21), inv(16) or t(16;16), t(15;17), t(9;11), t(6;9), inv(3) or t(3;3), t(1;22)]; 2) AML with multilineage dysplasia; 3) AML and myelodysplastic – and therapy – related; 4) AML not otherwise categorized (M0 ... M7), basophilic leukemia, acute panmyelosis with myelofibrosis, myeloid sarcoma. AMLs can be classified after the cytogenetic abnormalities in 3 prognostic groups. A number of gene mutations disclosed by sequencing or allele – specific PCR are very important for the diagnostic and the prognostic: NPM1, CEBPA, FLT3, RUNX1, KIT. Some of these have dominant effect and command the outcome indifferently of the presence or absence of the chromosomal or other molecular abnormalities. The classic example is the abnormality of FLT3 which darken the prognosis in cases with normal karyotype or also in those with mutated NPM1. The specific genetic abnormalities serve to an therapeutic orientation. For instance the mutational defects of FLT3 in combination with NMP1 or CEBPA can be used to predict outcome in normal karyotype AMLs and to identified patients who will benefit from allogeneic stem cell transplant. Recently a new lot of recurrent somatic mutations were identified (e.g.: TET2, ASXL1, IDH1 & 2, DNMT3A). They have also prognostic importance and contributes to some therapeutic decisions. Concurrent mutations of FLT3 and TET2 and DNMT3A were associated with very poor outcome creating a new subset inside the general category of mutated FLT3 – ITD with important decisions for therapy. Flow cytometry is another important tool for the appreciation of AMLs. Very rapid and sensible, able to diagnose the myeloid differentiation in 98% of cases and to disclose the cells with aberrant or unique phenotype, FC is irreplaceable for the analysis of AMLs in all the moments of the evolution: diagnostic, remission and the recovery of the bone marrow, early relapse and the minimal residual disease (MRD). Done with a large panel of antibodies necessary for an accurate work its sensibility is close to these of PCR in the evaluation of MRD and can offer precious prognostic data: e.g. a post consolidation MRD $> 3.5 \times 10^{-4}$ cells predicts the relapse and is associated frequently with intermediate and severe grade cytogenetic prognosis. It is to point that allogeneic stem cell transplant play growing role in the management of AMLs. It became a standard manoeuvre in the 1st complete remission (CR) of cases with intermediate and high risk and in the second CR with a probability of survival at 6 years between near 20% to 50% of cases function of the disease status.

R6. LLC de la limfocitoza monoclonală B la transformarea Richter

Badea Mihail, Badea Daniela, Genunche Amelia, Badea Aurelian

Universitatea de Medicină și Farmacie Craiova

LLC/SLL (leucemia limfatică cronică/limfomul difuz cu celulă mică B) este cel mai frecvent tip de leucemie cronică în SUA și UE. În peste 97% din cazuri este o limfoproliferare indolentă de tip B cu imunofenotip periferic ce afectează cu predilecție grupul populațional de peste 50 de ani. Criteriile de diagnostic sunt reprezentate de limfocitaza B periferică $>5000/\text{mm}^3$ și studiul imunofenotipic care să clarifice clonalitatea proliferării și apartenența ei la linia de proliferare B: CD19, CD20, CD23, a markerului CD5 și a sIgM +/- sIgD în cantitate redusă. În ciuda aspectului morfologic relativ omogen LLC este o entitate heterogenă clinic și biologic, ale cărei provocări sunt în centrul atenției pentru mulți cercetători: originea celulei ce suferă procesul transformării maligne, identificarea limfocitozei monoclonale B ca entitate premergătoare cvasiconstantă, particularităților multiple legate de spectrul deosebit de limitat al receptorului pentru antigen al celulei transformate într-un procent semnificativ de

cazuri, a rolului acestuia în inițierea și evoluția clonei, a impactului pe care îl are micromediul în menținerea și progresia bolii. Anomaliile citogenetice, caracterul mutant sau nemutant al porțiunii variabile a receptorului pentru antigen prezintă elemente de prognostic cu caracter clar demonstrat, alături de ceilalți parametri clinici sau biologici. Progresia malignă reprezentată de transformarea prolimfocitară și transformarea Richter sunt evenimente de prost augur cu limitarea drastică a duratei de supraviețuire în ciuda progreselor în terapia de fond și de susținere a LLC.

CLL from monoclonal B lymphocytosis to Richter transformation

Badea Mihail, Badea Daniela, Genunche Amelia, Badea Aurelian

University of Medicine and Pharmacy Craiova

CLL/SLL (chronic lymphocytic leukemia/small lymphocytic lymphoma) is the most common type of chronic leukemia in the U.S. and EU. In 97% of cases it is a B indolent lymphoid neoplasm with peripheral immunophenotype characterized by a progressive accumulation of mature functionally incompetent lymphocytes, affecting especially people over 50 years. Diagnostic criterias are the peripheral B lymphocytosis $> 5000 \text{ mm}^3$ and immunophenotypic study to clarify the clonality and B proliferation: CD19, CD20, CD23, CD5 markers and low levels of surface membrane immunoglobulin sIgM +/- sIgD and only a single immunoglobulin light chain is expressed. Despite its relatively homogeneous morphological appearance CLL is a clinically and biologically heterogeneous entity, whose challenges are in the center of attention for many researchers: the origin of malignant cell transformation process, identification of monoclonal B lymphocytosis as an entity prior quasi-constant, multiple specifics about limited cell receptor spectrum for antigen into a significant percentage of cases, its role in the initiation and evolution of the clone, the impact the microenvironment has in maintaining and progressing. Cytogenetic abnormality or unmutant mutant character of variable regions of the receptor for antigen shows prognostic factors with clearly demonstrated character, along with other clinical and biological parameters. Malignant progression and transformation represented by Richter are bad omen events with drastic limitation of the duration of survival despite advances in therapy and supportive background in CLL.

R7. Leucemia acută promielocitară: importanța examenelor de laborator pentru diagnosticul și urmărirea în dinamică a răspunsului la tratament

Coliță Adriana, Vasilache Didona, Gheorghe Anca, Jordan Cerasela, Jordan D., Dragomir Mihaela, Mustață Mihaela, Coriu D.

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

Leucemia acută promielocitară (LAP) este un subtip distinct de leucemie acută mieloidă caracterizat prin: morfologia specială a blaștilor leucemici (promielocite anormale); prin coagulopatia amenințătoare de viață produsă prin coagulare intravasculară diseminată, fibrinoliză și fibrinogenoliză; prin anomalia citogenetică specifică: translocția $t(15;17)$ care duce la fuziunea genei leucemiei promielocitare (PML) cu gena receptorului α al acidului retinoic (RAR α); prin sensibilitatea specifică la efectul de diferențiere al acidului all-trans retinoic (ATRA) și la efectul proapoptotic al trioxidului de arsenic (ATO). Introducerea ATRA și, mai recent, a ATO în terapia LAP a schimbat complet managementul și evoluția acestei boli. Strategia terapeutică de utilizare a acestor agenți în combinație

cu chimioterapia s-a soldat cu rezultate terapeutice excelente: rata înaltă de RC (90 – 94%) și rata înaltă a DFS la 5 ani (> 74%). Odată ce diagnosticul de LAP a fost suspectat după examenul morfologic (sânge, măduvă osoasă), boala trebuie tratată ca o urgență medicală care cere întreprinderea rapidă și simultană a următoarelor acțiuni: a) începerea tratamentului cu ATRA fără a mai aștepta confirmarea genetică a diagnosticului; ATRA ameliorează rapid coagulopatia; b) inițierea măsurilor de susținere care să contracareze coagulopatia și să minimalizeze riscul hemoragiilor fatale. Coagulopatia trebuie tratată rapid cu plasmă proaspătă congelată, fibrinogen sau crioprecipitat și transfuzii cu masă trombocitară pentru a menține o concentrație a fibrinogenului peste 100-150 mg/dL și a trombocitelor peste $30 - 50 \times 10^9/L$ (și care trebuie monitorizată cel puțin odată pe zi). Aceste măsuri trebuie intensificate la pacienții cu risc hemoragic crescut (bătrâni, pacienți cu hiperleucocitoză, pacienți cu nivel crescut al creatininei); c) confirmarea genetică a diagnosticului pe măduva osoasă: demonstrarea prezenței t(15;17) și/sau a genei de fuziune PML/RAR α . Tratamentul de diferențiere bazat pe ATRA este strict dependent de prezența genei de fuziune PML/RAR α în celulele leucemice. RT-PCR în LAP este socotit “the gold standard” pentru confirmarea diagnosticului. RT-PCR permite definirea tipului izoformei de PML/RAR α și reprezintă “ținta” pentru monitorizarea bolii minime reziduale (MRD). Diagnosticul morfologic pe măduva osoasă este considerat insuficient chiar în cazurile de LAP - varianta hipergranulară tipică (M3 în FAB) care se corelează strâns cu leziunea genetică specifică. Suspicțiunea morfologică de LAP, PML/RAR α pozitivă, poate fi întărită prin studiul aspectului imunofenotipic al celulelor blastice prin flow citometrie multiparametrică. Odată ce diagnosticul a fost confirmat și la nivel genetic, trebuie începută terapia de inducție “țintită” utilizând ATRA în combinație cu chimioterapia bazată pe antracicline. Aproximativ 20% din pacienții tratați cu ATRA (și ATO) pot dezvolta o complicație amenințătoare de viață, sindromul de diferențiere (SD). Acesta apare mai frecvent în prima și a treia săptămână, la pacienții cu număr de leucocite > 5000/gL și nivel crescut de creatinină. Tratamentul cu dexametazon trebuie început la primele semne și simptome ale SD. Spre deosebire de LAM, evaluarea morfologică a măduvei osoase după începerea tratamentului nu are valoare. Aspectele morfologice ale măduvei osoase în cursul terapiei de diferențiere pot induce în eroare și interpretate greșit ca rezistență. Aspecte de maturare întârziată sau persistență de promielocite atipice pot fi detectate la câteva săptămâni de la începerea tratamentului (până la 50 de zile). O apreciere a statusului RT-PCR la sfârșitul consolidării este foarte importantă fiindcă pacienții care prezintă transcript PML/RAR α rezidual la acest moment sunt candidați pentru o intensificare a tratamentului. Pacienții cu RT-PCR negative vor primi tratament de menținere (2 ani). Frațiunea de pacienți care sunt RT-PCR pozitivi pentru PML/RAR α la sfârșitul consolidării au un prognostic prost și trebuie să primească terapie adițională incluzând ATO, agenți noi sau allo-SCT. Pentru pacienții cu hiperleucocitoză (grupa risc înalt) este recomandabilă o monitorizare a MRD la două luni imediat după consolidare și ulterior la 3 luni, timp de 2 ani. LAP este prima boală malignă curabilă utilizând o terapie țintită îndreptată direct către anomalia moleculară specifică.

Acute promyelocytic leukemia: the importance of the laboratory examination for the diagnosis and the dynamic following of the answer to the treatment

Colita Adriana, Vasilache Didona, Gheorghe Anca, Jordan Cerasela, Jordan D., Dragomir Mihaela, Mustata Mihaela, Coriu D.

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

Acute promyelocytic leukemia (APL) is a distinct subtype of acute myeloid leukemia characterized by the morphology of leukemic blasts (abnormal promyelocytes), a life-threatening coagulopathy combining disseminated intravascular coagulation, fibrinolysis and fibrinogenolysis, specific reciprocal translocation t(15;17) fusing the promyelocytic leukemia gene (PML) to the retinoic acid receptor alpha (RAR α), specific sensitivity to the differentiating effect of all-trans retinoic acid (ATRA) and the proapoptotic effect of arsenic trioxide (ATO). The introduction of ATRA and, more recently, ATO into the therapy of APL has revolutionized the management and outcome of this disease. The treatment strategies using these agents in combination with chemotherapy (CT) have provided excellent therapeutic results: high CR rates (90-94%) and high 5 year DFS rates (> 74%). Once a diagnosis of APL is suspected upon morphologic criteria, the disease should be managed as a medical emergency that requires the following rapid and simultaneous actions: a) start treatment with ATRA without waiting for genetic confirmation of diagnosis; ATRA is known to rapidly ameliorate the coagulopathy; b) initiate supportive measures to counteract the coagulopathy and decrease the risk of fatal hemorrhage. Coagulopathy should be treated rapidly with fresh frozen plasma, fibrinogen or cryoprecipitate and platelet transfusions to maintain fibrinogen concentration above 100-150 mg/dL and platelet count above 30-50 x 10⁹/L, which should be monitored at least once a day. These measures should be more aggressive in patients with higher hemorrhagic risk (older patients, patients with hyperleukocytosis, patients with increased level of creatinine); c) confirm diagnosis in bone marrow at the genetic level. Demonstration of the t(15;17) or its counterpart, the PML/RAR α hybrid gene by conventional karyotyping, FISH or RT-PCR is mandatory because the efficacy of differentiation treatment based on retinoids is strictly dependent on the presence of the PML/RAR α fusion in leukemia cells. RT-PCR is the "gold standard" approach for confirming a diagnosis of APL. RT-PCR allows definition of the type of PML-RAR isoform and the target for monitoring MRD. Morphologic diagnosis in bone marrow, although highly predictive of the specific genetic lesion in hypergranular typical cases is considered insufficient. A morphological suspicion of PML-RAR α positive APL can be reinforced by the study of the characteristic immunophenotypic features of blast cells by multiparameter flow cytometry. Once the diagnosis has been confirmed at the genetic level, targeted induction therapy should be promptly started with ATRA combined with anthracycline based-chemotherapy. 20% patients with APL treated with ATRA (and ATO) can experience the APL differentiation syndrome and treatment with dexamethasone should be promptly started at very earliest sign or symptom. Distinct from AML, early morphologic evaluation of bone marrow has no value in APL. Morphologic features in bone marrow during differentiation therapy can be misleading and some-times erroneously interpreted as resistance. These features showing delayed maturation or persistence of atypical promyelocytes are occasionally detectable several weeks after the start of treatment (up to 50 days). An accurate assessment of RT-PCR status at the end of consolidation is crucial because patients who show residual PML/RAR α transcripts at this time point are candidate for further intensification, whereas those who test PCR negative would proceed to receive maintenance. The small fraction of patients who test PCR-positive for the PML/RAR α hybrid gene at

the end of consolidation (molecular persistence) have a dismal prognosis and should receive additional therapy aimed at obtaining molecular remission including ATO, novel agent or allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (HSCT). For patients with hyperleucocytosis is reasonable to recommend a stringent monitoring, at least every 2 months in the early postconsolidation period and thereafter every 3 months for two years. The APL status has evolved from highly fatal to highly curable.

R8. Baza moleculară și factori de prognostic cu impact în managementul clinic al leucemiilor acute

Coriu D.^{1,2}, Talmaci Rodica^{1,2}, Vulpe Adriana², Dragomir Mihaela², Jardan D.¹

1. Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București, România; 2. Centrul de Hematologie și Transplant Medular, Institutul Clinic Fundeni, București, România

În cadrul patologiei maligne hematologice leucemiile acute ocupă un loc aparte datorită prognosticului și evoluției clinice nefaste. Introducerea de noi metode de biologie moleculară a permis identificarea unui număr mare de factori de prognostic ce permit stratificarea pacienților în grupe de risc. Utilizarea acestor factori de prognostic în practica clinică a făcut ca tratamentul leucemiilor acute să fie considerat la ora actuală un exemplu de medicină personalizată. Materiale și metode: Au fost analizate probe recoltate de la 290 de cazuri de leucemie acută mieloidă și leucemie acută limfoblastică (adulți și copii) internate în institutul nostru în perioada 2008-2012. Probele au fost analizate utilizând RT-PCR multiplex ce permite identificarea a 9 din cele mai frecvente gene de fuziune în leucemiile acute: MLL-AF4, BCR-ABL1, AML1-ETO, PML-RARα, CBFβ-MYH11, SIL-TAL1, E2A-PBX1, TEL-AML1 și MLL-AF9. Probele de leucemii acute mieloidă (LAM) au fost analizate pentru inserția în tandem în gena FLT3 (mutația FLT3-ITD) și inserții în regiunea C-terminală în gena NPM1. De asemenea probele de LAM au fost analizate pentru nivelul de expresie a genei WT-1. Cuantificarea transcriptului și boala minimă reziduală au fost determinate utilizând Nested și RT-qPCR pentru genele de fuziune identificate. Rezultate: Utilizarea a 9 gene de fuziune ca marker de prognostic a permis stratificarea în grupe de risc a 36% din pacienți (105 din 290 cazuri analizate). Pentru pacienții cu LAM, în 26% din cazurile testate au fost identificate inserții în regiunea C-terminală a genei NPM-1 și în 18,2% din cazuri a putut fi pusă în evidență mutația FLT3-ITD. Urmărirea bolii minime reziduale utilizând RT-qPCR s-a efectuat în 36% din cazuri și a permis identificarea timpurie a recăderilor sau a cazurilor ce prezintă rezistență la tratament. În cazul LAM nivelul de expresie a WT-1 este un marker de prognostic și de asemenea un marker de urmărire a bolii minime reziduale în 22% din cazuri. Concluzii: Metodele de biologie moleculară utilizate au permis încadrarea pacienților pe grupe de risc și folosirea unei modalități terapeutice adaptate riscului - chimioterapie standard urmată sau nu de transplant medular allogeneic. Pe de altă parte, urmărirea bolii minime reziduale permite reevaluarea riscului pacientului după terminarea tratamentului (sau după anumite faze ale tratamentului) precum și identificarea timpurie a recăderii și a cazurilor cu rezistență la tratament.

This work was supported by the grant PN 41-087 / 2007 from the Romanian Ministry of Research and Technology

Molecular basis and prognostic factors with impact on clinical management of acute leukemia

Coriu D.^{1,2}, Talmaci Rodica^{1,2}, Vulpe Adriana², Dragomir Mihaela², Jardan D.¹

1. University of Medicine and Pharmacy "Carol Davila", Bucharest, Romania; 2. Center of Hematology and Bone Marrow Transplantation, Fundeni Clinical Institute, Bucharest, Romania

In hematological malignancies, acute leukemia has a special place due to adverse prognosis and clinical course. Introduction of new molecular biology methods has identified a number of prognostic factors that allow stratification of patients into risk groups. Using these prognostic factors into clinical practice has made the treatment of acute leukemias currently be considered an example of personalized medicine. Materials and methods: We have analyzed 290 cases of acute leukemia (adults and children) admitted to our institute in the period 2008-2012. Samples were analyzed using multiplex RT-PCR that allows identification nine of the most common fusion genes in acute leukemias: MLL-AF4, BCR-ABL1, AML1-ETO, PML-RARA, CBF β -MYH11, SIL-TAL1, E2A -PBX1, TEL-AML1 and MLL-AF9. AML samples were analyzed for insertion in tandem FLT3 gene (FLT3-ITD mutation) and C-terminal region insertions in the NPM1 gene. For AML samples were also analyzed for the expression of WT-1 gene. Quantification of transcript and minimal residual disease were determined using Nested RT-qPCR and for Fusion genes identified. Results: Using nine fusion genes as a prognostic marker allowed stratification into risk groups 36% of patients (105 of the 290 cases analyzed). For patients with AML, in 26% of cases tested were identified insertions in the C-terminal region of the gene NPM-1 and in 18.2% of cases were found FLT3-ITD mutation. Minimal residual disease follow-up was done using RT-qPCR in 36% of cases and this allowed early identification of cases with relapse or treatment resistant. In acute myeloid leukemia, the level of WT-1 expression is a prognostic marker and, also, a marker for monitoring minimal residual disease in 22% of cases. Conclusions: The molecular biology methods used in this work have allowed the classification of patients in risk groups and the use of adapted risk therapeutic modalities - standard chemotherapy followed or not by allogeneic bone marrow transplant. On the other hand, monitoring of minimal residual disease allows the patient's risk reassessment after treatment (or after certain phases of treatment) and early identification of cases with relapse or treatment resistance.

This work was supported by the grant PN 41-087 / 2007 from the Romanian Ministry of Research and Technology

R9. Impactul analizei citogenetice asupra managementului și tratamentului leucemiilor acute

Jardan C.^{1,2}, Jardan D.¹, Coliță A.^{1,2}, Coriu D.^{1,2}

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

Leucemiile acute sunt boli heterogene în ceea ce privește evoluția clinică și diversitatea anomaliilor genetice identificate. Analiza citogenetică este o investigație importantă deoarece permite identificarea factorilor de prognostic în leucemia acută. Spectrul aberațiilor genetice identificate în leucemiile acute diferă în funcție de lineaj. În LAM (leucemia acută mieloblastică) sunt frecvente următoarele anomalii genetice: t(8;21), inv(16), t(15;17). În LAL (leucemie acută limfoblastică) sunt

mai frecvente hipoploidiiile și hiperdiploidiiile. Aceste aberații (în cazul LAM cât și LAL) au toate asociat un prognostic pentru evoluția pacienților. În practica clinică identificarea acestor anomalii permite încadrarea pacienților în grupe de risc și corespunzător ajustarea tratamentului. În experiența Institutului Clinic Fundeni, investigația citogenetică a pacienților cu leucemie acută a adus un real beneficiu pentru abordarea clinică a acestor cazuri.

Impact of cytogenetic analyses on management and treatment of acute leukemia

Jardan C.^{1,2}, Jardan D.¹, Coliță A.^{1,2}, Coriu D.^{1,2}

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

Acute leukemias are a group of heterogeneous diseases from the point of view of clinical evolution and genetic abnormalities associated with. Cytogenetic analysis is crucial for investigation of patients as it allows identification of prognostic factors and thus selection of the most appropriate treatment applicable. Genetic abnormalities identified in acute leukemia differ depending on the lineage. In AML (acute myeloid leukemia) the most frequent abnormalities are: t(8;21), inv(16), t(15;17). In ALL (acute lymphoblastic leukemia) the most frequent ones are hypoploidies and hyperdiploidies. Most of these abnormalities have a prognostic value for patients. In clinical practice identification of these abnormalities allows risk stratification and application of appropriate treatment. In experience of Fundeni Clinical Institute, cytogenetic investigation of acute leukemia patients was of a real benefit for clinical management of these cases.

R10. Managementul procesului de diagnostic molecular, monitorizare și standardizare pentru leucemia mieloidă cronică

Talmaci Rodica^{1,2}, Vulpe Adriana², Dragomir Mihaela², Coriu D.^{1,2}

1. Departamentul de Hematologie - Institutul Clinic Fundeni, Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București; 2. Centrul de Hematologie și Transplant Medular, Institutul Clinic Fundeni, București

Istoric: Succesul terapiei cu imatinib pentru Leucemia Mieloidă Cronică (LMC) a adus noi provocări ce includ optimizarea metodelor de monitorizare a bolii și utilizarea de noi inhibitori tirozin kinazici (TK) mai potenți. Astfel, este necesară stabilirea unor practici performante de gestionare a LMC. În acest scop, am înființat în instituția noastră Laboratorul de Biologie Moleculară și aici prezentăm rezultatele noastre. Metode: Procesul de analiză moleculară pentru detectarea și cuantificarea transcripților BCR-ABL a fost implementat în conformitate cu protocolul European LeukemiaNet și utilizează un factor de conversie la Scală Internațională (CF=0.8461). Pentru detecția tipurilor de transcripți BCR-ABL se aplică Multiplex PCR, iar cuantificarea se realizează prin Real Time PCR cantitativ. Rezultatele sunt exprimate ca raport BCR-ABL/ABL. Rezultate: Până în prezent au fost procesate 1096 probe de sânge de la 760 pacienți cu transcript BCR-ABL aflați la diagnostic și în urmărirea terapiei. Prin Multiplex PCR s-au identificat 60% pacienți cu BCR-ABL b3a2 și 37% pacienți cu b2a2. În 3% din cazuri s-a identificat b3a2+b2a2. Din totalul cazurilor investigate, 254 de

pacienți au fost la diagnostic și 506 au fost în investigație periodică pentru monitorizarea bolii minime reziduale. Concluzii: Monitorizarea moleculară este în mod clar un instrument important și cel mai sensibil pentru evaluarea răspunsului la terapie cu inhibitori TK și în prezicerea supraviețuirii fără progresia bolii sau recădere. Deoarece TK de a doua generație produc un răspuns la terapie mult mai profund, sunt necesare metode de monitorizare de mare sensibilitate pentru a detecta și a defini foarte precis remisiunea moleculară completă la pacienții cu LMC.

Management of molecular diagnostics, monitoring and standardization process for chronic myeloid leukemia in romania

Talmaci Rodica^{1,2}, Vulpe Adriana², Dragomir Mihaela², Coriu D.^{1,2}

1. Hematology Department - Fundeni Clinical Institute, "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania; 2. Center of Hematology and Bone Marrow Transplantation, Fundeni Clinical Institute, Bucharest, Romania

Background: The success of imatinib therapy for chronic myeloid leukemia (CML) has brought new challenges; these include optimizing disease monitoring and use of novel, more potent tyrosine kinase inhibitors (TKI). Thus, there is a need to establish new best practices for CML management. For this reason, in 2007 we set up in our institution a Molecular Biology Laboratory and here we report our results. Methods: The molecular analysis process for BCR-ABL detection and quantification was set up according to the European LeukemiaNet protocol and used a CF=0.8461 for International Scale conversion. The Multiplex PCR has been applied to detect different types of BCR-ABL transcripts and quantified by Real Time Quantitative PCR (RQ-PCR) using LightCycler® technology. The results were expressed as BCR-ABL/ABL ratio. Results: A total of 1096 peripheral blood samples collected from 760 patients with positive BCR-ABL transcript at diagnosis and follow-up has been processed. Multiplex PCR revealed b3a2 and b2a2 BCR-ABL transcripts in 60% and 37% of cases respectively. In 3% of cases was identified a dual b3a2+b2a2 BCR-ABL type. From total investigated cases, 254 patients were at presentation and 506 were in periodical investigation in our laboratory for MRD monitoring. Conclusions: Molecular monitoring is clearly an important and the most sensitive, tool for evaluating responses for predicting progression-free survival or relapse during TKI therapy for CML. A high sensitivity monitoring assay is needed to detect deeper molecular response produced by second generation TKI, in order to define very precise achievement of complete molecular remission in CML patients.

R11. Importanța examenului morfologic în evaluarea sindroamelor mielodisplazice

Vasilache Didona, Iacob Viorica, Tatic Aurelia

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

Sindromul mielodisplazic reprezintă un grup heterogen de afecțiuni clonale ale măduvei osoase caracterizate, la majoritatea pacienților, prin citopenii periferice cu măduvă osoasă hipercelulară, displazie a elementelor celulare și risc crescut de transformare în leucemie acută. Este cu precădere o afecțiune întâlnită la persoanele vârstnice. Termenul de sindrom mielodisplazic a fost introdus în 1975

de un grup de hematologi francezi, americani și britanici, pentru a descrie acest grup de boli cu tendința de evoluție spre leucemie acută, de obicei mieloidă. Clasificarea sindromului mielodisplazic se bazează pe criteriile morfologice propuse de grupul Franco-American-Britanic și pe cele ale Organizației Mondiale a Sănătății (WHO). Un Grup Internațional de Lucru pentru Morfologia SMD, grup alcătuit din hematologi și hematopatologi s-a întrunit începând din 2005/2006 și a revizuit caracteristicile morfologice ale măduvei osoase din diferite tipuri de SMD și a elaborat un set de recomandări. Acest model a fost introdus cu succes în cadrul Clasificării Tumorilor Țesutului Hematopoietic și Limfoid realizată în anul 2008.

The value of morphology in evaluation of myelodysplastic syndromes

Vasilache Didona, Iacob Viorica, Tatic Aurelia

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

Myelodysplastic syndromes (MDS) are a group of hematologic disorders that occur mainly in older persons and are characterized by clonal and ineffective hematopoiesis, morphological dysplasia, peripheral blood cytopenias and progressive bone marrow failure. The classification of myelodysplastic syndromes is based on the morphological criteria proposed by the French-American-British and World Health Organization groups. An International Working Group on Morphology of Myelodysplastic Syndromes of hematopathologists and hematologists expert in this field reviewed the morphological features of bone marrow from all subtypes of myelodysplastic syndrome and agreed on a set of recommendations. This model has been utilised with succes in the development of the 2008 World Health Organization Classification of Tumours of Haematopoietic and Lymphoid Tissues.

R12. Patient focused Laboratory Medicine

Ian D. Watson

FRC Path Eur. Clin. Chem. President EFCC&LM

University Hospital Aintree, Lower Lane, Liverpool, UK

Laboratory Medicine focuses on the provision of quality analytical and interpretive services to user clinicians with the goal of providing the best information for the patient's benefit; the consequence of our clinical support service role is that the patient has little or no awareness of the service we deliver. While in some countries it is possible for the general public to access laboratories directly they are rarely offered any insight by the laboratory into the investigations or the significance of their results and this is almost never directly the case where access is through a requesting clinician. While patients can and do interrogate the internet and visit professionally mediated sites such as Lab Tests on Line, they are left to draw their own conclusions. However there is the rapidly developing agenda of personalized medicine predicated on the incredible advances in genomic sequencing of tumours to enable individualised therapy and the expectation of prospective therapeutic interventions based on the individual's genome. In a parallel development health care systems are seeking to minimise expensive hospital usage for screening and chronic disease management by making services available in the community, including laboratory medicine, this is seen as beneficial to patients and is one aspect of being patient focused. So what is being patient focused? Personalization of treatment aims to optimise response i.e. this reflects the clinical need; patient-focus, however, aims to engage the patient in their

care, this should have a therapeutic goal, reflecting a need (for better outcomes), but can be taken to reflect patient's wants e.g. convenience, immediacy, ownership, etc, which of course may reinforce the therapeutic goals: it is therefore not just a case of needs versus wants. Technological change enables direct access to community based care and/or medical laboratories, and if patients own their personal results, which I suggest they do/should, then the key to being patient focused is to enable patients' to understand what the results mean. It has been demonstrated that visualisation e.g. graphics and colour: red, amber, green is more readily understood than verbal communication and that such tools work best with numerate data: ideal for laboratory medicine. The possibilities of smart phones and the Web to provide 'just-in-time' information/explanation enables provision of the kind of support that engaged patients want and need. So what could patient focused laboratory medicine look like? While a type 2 diabetic patient needs annual retinal scans, podiatric checks etc, they need more frequent HbA1c checks, is there any reason why they cannot directly access the laboratory, receive the result, copy to their physician, and if necessary, receive advice from a clinically competent laboratory medicine clinician and store the whole in their personal Health Record? Indeed many patients already successfully self-investigate e.g. cholesterol, and monitor e.g. capillary glucose monitoring, using over-the-counter point-of-care-testing (POCT) devices or send samples to web-accessed providers; following this route they may only want advice on what they find, but some would welcome the opportunity to have professionally endorsed POCT devices and training so that can be sure they are providing themselves with the necessary quality of results for their purposes. This new paradigm of patient focused healthcare necessitates patient focused laboratory medicine. This will be a major development for our speciality, but only if we are willing and able to grasp the opportunity.

R13. Importanța determinării lanțurilor ușoare libere pentru diagnosticul gamopatiilor monoclonale

Funduc Ileana

Asociatia Laboratoarelor Medicale din Romania

Proteinele Bence Jones – lanțurile ușoare libere monoclonale – se pot considera marker pentru depistarea gamopatiilor monoclonale. Există multe metode de analiză a lanțurilor ușoare libere și anume electroforeza proteinelor serice și urinare, imunofixarea, electroforeza capilară zonală și testarea imunologică. Ultima metodă de analiză a lanțurilor ușoare libere se pare că ar fi cea mai fidelă. Se discută argumentele care vin în sprijinul determinării lanțurilor ușoare libere serice față de cele urinare. Se recomandă analizarea imunologică a lanțurilor ușoare libere serice, cu toate că metoda are unele limite.

The importance of the determination of free light chains for the diagnostic of monoclonal gammopathies

Funduc Ileana

Romanian Association of Medical Laboratories

Bence Jones proteins – monoclonal free light chains – can be considered a marker for monoclonal gammopathies detection. There are many methods to analyze free light chains (FLC) as serum and urine protein electrophoresis, immunofixation electrophoresis, capillary zone electrophoresis and immunological testing. The last method of the FLC analysis seems to be most reliable. The arguments

through which it is preferable to determine serum FLC compared to urine FLC are discussed. For this purpose the immunologic analyze of serum FLC is recommended, although it has some limits.

C14. Detectia unor izoforme Ikaros distincte la pacientii cu leucemie

I.C.Ivanov^{1,2}, Georgiana Grigore^{1,2}, Mihaela Zlei², Angela Dascalescu², Daniela Jitaru¹

Cristina Burcoveanu², Catalin Danaila^{1,2}, Gabriela Dorohoi²

Anca-Viorica Ivanov^{1,3}, Ingrith-Crenguța Miron^{1,3}, E.Carasevici²

1. Universitatea de Medicina si Farmacie Pharmacy Grigore T. Popa of Iasi, Romania

2. Institutul Regional de Oncologie, Iasi, Laboratorul de Biologie Moleculara

3. Departamentul de Hematologie si Oncologie Pediatrica Spitalul Clinic de Urgente pentru Copii, Iasi, Romania

Introducere. Ikaros este un factor de transcriptie cuplat cu zinc necesar pentru procesul de diferentiere si proliferare in cadrul seriei hematopoietice, in special in cadrul lineajului limfoid. Se cunosc multiple izoforme Ikaros, cu un numar variabil de exoni lipsa, avand functii celulare distincte. Izoformele mai scurte, carora le lipsesc domeniul care mediaza legarea ADN, prezentand un efect dominant negativ asupra partenerilor heterodimerici mai lungi. Materiale si metode. ARN total a fost izolat din probe de maduva osoasa sau sange periferic colectate de la 80 de copii si 100 de pacienti adulti (49 leucemii acute mieloide – LAM, 92 leucemii acute limfoblastice – LAL, 29 leucemii mieloide cronice (LMC) si 10 boli mieloproliferative (MPD), spitalizati in Spitalul de Pediatrie “Sf. Maria” sau Institutul Regional de Oncologie din Iasi, in perioada iunie 2009 – aprilie 2013. Acesti pacienti au fost investigati prin biologie moleculara pentru identificarea frecventei de aparitie a urmatoarelor anomalii genetice: in LAL - MLL-AF4, TEL-AML-1, BCR-ABL-p190, E2A-PBX-1, in LMC si MPS - BCR-ABL-p210, si in LAM - PML-RAR α , AML-ETO si CBF β -MYH11. In paralel, in toate probele, s-a evaluat frecventa comparativa a formelor scurte vs celor lungi de izoforme Ikaros. Rezultate. Se observa coexistenta unor multiple variante de matisare care corespund variantelor Ik1, Ik2, Ik4, Ik4A, Ik5A, Ik6 si Ik8 in acelasi PCR. Identificarea doar a variantei Ik6 a fost direct corelata cu alterari ale numarului de copii la nivelul genei IKZF1. Concluzii. Studiul nostru demonstreaza faptul ca expresia izoformelor Ikaros lipsite de domenii de legare a ADN-lui nu este limitata la un anume tip de celule maligne si nu exista restrictie in ceea ce priveste prezenta genelor de fuziune specifice.

Acknowledgement: Cercetare efectuată cu sprijinul financiar (parțial) al Fondului Social European, prin proiectul POSDRU/107/1.5/S/78702.

Detection of different Ikaros isoforms in human leukaemias

Ivanov I.C.^{1,2}, Grigore Georgiana^{1,2}, Zlei Mihaela², Dascalescu Angela^{1,2}, Jitaru Daniela¹,
Burcoveanu Cristina², Danaila Catalin^{1,2}, Dorohoi Gabriela²,

Ivanov Anca-Viorica^{1,3}, Miron Ingrith-Crenguta^{1,3}, Carasevici E.²

1. "Grigore T. Popa" University of Medicine and Pharmacy Iasi, Romania; 2. Regional Institute of Oncology, Iasi, Laboratory of Molecular Biology; 3. Pediatric Hematology and Oncology Unit of "St. Mary" Clinical Emergency Hospital for Children Iasi, Romania

Introduction. Ikaros is a zinc finger transcription factor that is required for normal hematopoietic cell differentiation and proliferation, especially in the lymphoid lineages. There are multiple Ikaros isoforms, that lack different numbers of exons, with different functions in cell. Shorter isoforms, which lack the domain that mediates DNA binding, present a dominant negative effect to longer heterodimer partners. Dysregulated Ikaros gene expression participates in leukaemic processes. **Materials and methods.** Total RNA was isolated from bone-marrow or blood samples collected from 80 children and 100 adult patients (49 acute myeloblastic leukaemia (AML), 92 acute lymphoblastic leukaemia (ALL), 29 chronic myeloid leukaemia (CML), and 10 mieloproliferative syndrom (MPS), hospitalized between june 2009 and april 2013 in "St. Mary's" Hospital for Children and Regional Institute of Oncology, Iasi, Romania. These patients were investigated by molecular analysis in order to identify the occurrence of the following genetic anomalies: in ALL - MLL-AF4, TEL-AML-1, BCR-ABL-p190, E2A-PBX-1, in CML and MPS - BCR-ABL-p210, and in AML - PML-RAR α , AML-ETO and CBF β -MY-H11. In paralel we investigated the presence of short versus long Ikaros isoforms in all samples. **Results.** We observed the coexistence of multiple splice variants corresponding to the Ik1, Ik2, Ik4, Ik4A, Ik5A, Ik6, and Ik8 isoforms in the same PCR. Identification of Ik6 alone was directly corelated with copy number alterations in IKZF1 gene. **Conclusion.** Our studies demonstrated that expression of DNA non-binding Ikaros isoforms is not limited to a specific type of malignant cells and there is not restricted to the occurrence of specific fusion genes.

C15. Tehnici auxiliare în diagnosticul limfomului Burkitt: FISH

Dobrea Camelia^{1,2}, Neicu Ariana¹, Neagu Maria¹, Dobre Monica¹, Tudor Raluca¹, Coriu D.²

1. Institutul Național "Victor Babeș", București, România; 2. Universitatea de Medicină "Carol Davila", Catedra de Hematologie și Transplant Medular "Fundeni", București, România

Acest tip de limfom, care în prezent îi poartă numele, a fost pentru prima dată descris în 1958 de Dennis Burkitt la copiii africani. Limfomul Burkitt (LB) este un limfom B înalt agresiv. Clinic se descriu trei forme de LB: LB endemic (în Africa ecuatorială), sporadic (cazuri apărute în toată lumea) și LB asociat cu imunodeficiențe. Clasificarea OMS din 2008 adaugă o nouă categorie de limfom B, neclasificabil, cu aspecte intermediare între un limfom difuz cu celulă mare B și LB. Deoarece în LB abordarea terapeutică este foarte agresivă, cu chimioterapie în doze mari, stabilirea unui diagnostic de certitudine este imperios necesară. Aspectele citologice (aspect de leucemie acuta limfoida tip L3 în clasificarea FAB), morfologice (proliferare coezivă de celule limfoide de talie medie, prezența de macrofage cu aspect de "cer înstelat", indicele mitotic foarte mare), și imunofenotipice (CD20+ CD10+ BCL6+ BCL2-, Ki67 98-100%) sunt caracteristice pentru LB. Majoritatea cazurilor prezintă translocția între MYC, la nivelul 8q24 și regiunea IgH, la nivelul 14q32. Prezentăm rezultatele

proiectului PERSOTHER referitoare la prezența rearanjării MYC în LB demonstrate prin FISH. Primerul utilizat a fost Vysis (Abbott) LSI IGH/MYC/CEP 8Tri-color Dual fusion. Prezența translocatiei MYC este indicată de două semnale de fuziune (roșu-verde), un semnal roșu, un semnal verde și două aqua. Absența translocatiei MYC este indicată de 2 semnale roșii, două semnale verzi și două aqua. Au fost evaluate 14 cazuri de LB prin FISH pentru prezența translocatiei MYC. Dintre acestea, 11 cazuri au fost pozitive și 3 neconcludente. Rezultatele sunt concordante cu cele din literatură: alți autori raportează aproximativ 10% cazuri MYC negative. În aceste cazuri ar putea fi implicate alterări la nivelul micro-RNA (MiRNA-s). Evidențierea prezenței translocatiei MYC este necesară pentru susținerea diagnosticului de LB și diferențierea de limfoamele difuze cu celulă mare B și de cazurile intermediare.

Cercetarea s-a desfășurat în cadrul proiectului PERSOTHER POS CCE O2.1.2. cod SMIS-CSNR 549/12024.

Ancillary technics in Burkitt's lymphoma diagnosis: FISH

Dobrea Camelia^{1,2}, Neicu Ariana¹, Neagu Maria¹, Dobre Monica¹, Tudor Raluca¹, Coriu D.²

1. "Victor Babes" National Institute, Bucharest, Romania; 2. "Carol Davila" University of Medicine, "Fundeni" Department of Hematology and Marrow Transplantation, Bucharest, Romania

This type of lymphoma, now known by his name, was first described in 1958 by Dennis Burkitt in African children. Burkitt's lymphoma (BL) is a B-cell lymphoma with a high aggressive clinical course. Three clinical variants of BL are recognized: endemic BL (in equatorial Africa), sporadic (throughout the world) and immunodeficiency-associated BL. The 2008 WHO Classification described a new category of B-cell lymphoma, unclassifiable, with features intermediate between diffuse large B-cell lymphoma (DLBCL) and BL. Because the treatment of BL is very aggressive, with high doses chemotherapy, and an accurate diagnosis is required. Cytology (FAB acute lymphocytic leukemia L3), morphology (cohesive medium-sized lymphoid cells, with "starry-sky" macrophages, very high mitotic rate) and immunophenotype (CD20+ CD10+ BCL6+ BCL2-, Ki67 98-100%) are typical for BL. Most of the cases have MYC translocation at band 8q24 to the IgH region, 14q32. We presented the results of the project PERSOTHER concerning MYC rearrangement in BL by FISH. The primer was Vysis (Abbott) LSI IGH/MYC/CEP 8Tri-color Dual fusion. The presence of MYC translocation is indicated by two fusion signals (red-green), one red signal, one green signal and two aqua. The absence of MYC translocation is indicated by two red signals, two green signals and two aqua. 14 cases of BL were evaluated by FISH for MYC translocation. 11 cases were positive, and three cases inconclusive. The results are concordant with the literature: the authors report about 10% MYC negative cases. In this cases micro-RNA (MiRNA-s) alterations maybe implicated. The demonstration of MYC translocation is necessarily for BL diagnosis and differential with DLBCL and intermediate cases.

The research was supported by the project PERSOTHER POS CCE O2.1.2. cod SMIS-CSNR 549/12024.

C16. Rolul actual al morfologiei în diagnosticul leucemiilor acute. Revizuirea datelor din literatură și experiența noastră

Selicean Elena-Cristina¹, Patiu Mariana¹, Dobreanu Minodora²

1. Institutul Oncologic Cluj Napoca; 2. Universitatea de Medicină și Farmacie

Târgu Mureș

Clasificarea leucemiilor acute a suferit o serie de modificări de-a lungul ultimelor decenii. Primele clasificări se bazau exclusiv pe morfologie, în timp ce actuala clasificare acordă prioritate citogeneticii. Totuși morfologia rămâne prima etapă în algoritmul de diagnostic al leucemiilor acute. Lucrarea noastră va sublinia rolul actual al morfologiei în diagnosticul leucemiilor acute. Vom prezenta consensul Grupului de Lucru Internațional pentru Morfologie în Sindromul Mielodisplazic privind aspectul morfologic al blastilor și criteriile de încadrare morfologică a monocitelor și precursorilor acestora. Vom ilustra cu imagini din cazuistica noastră aspecte morfologice sugestive pentru modificări citogenetice recurente, paleta aspectelor morfologice ale celulelor neoplazice din leucemia acută promielocitară, modificări displazice și rolul cuantificării displaziei în diagnosticul leucemiilor acute, câteva cazuri rare de leucemii acute, dificultăți și capcane diagnostice. Astfel vom sublinia faptul că evaluarea frotiului periferic, a aspiratului medular și a biopsiei medulare sunt indispensabile în toate suspiciunile de leucemie acută și mai mult, că evaluarea morfologică inițială poate direcționa eficient investigațiile ulterioare.

Is there still a role for morphology in the diagnosis of acute leukemia? Literature review and our own experience

Selicean Elena-Cristina¹, Patiu Mariana¹, Dobreanu Minodora²

1. Cancer Institute Cluj-Napoca; 2. University of Medicine and Pharmacy Targu Mures

The classification of AML has undergone a lot of changes during the past decades. First classification systems were based only on morphology, while the current classification system gives priority to cytogenetics. Nevertheless morphology remains the first step in the diagnostic algorithm for acute leukemia. Our work will highlight the current role of morphology in the diagnosis of acute leukemia. It will focus on the consensus agreements for blast enumeration according to the International Working Group on Morphology of Myelodysplastic Syndrome, and also on the morphological evaluation of monocytes and their precursors. We will illustrate with some cases from our own experience: cell features suggestive for recurring cytogenetic abnormalities, the spectrum of blast patterns in acute promyelocytic leukemias, dysplastic changes and the role of quantification of dysplasia in the diagnosis of acute leukemia, some rare cases of acute leukemia and also possible diagnostic difficulties and pitfalls. Thus we will emphasize that review of peripheral blood smears, bone marrow aspirate smears and a bone marrow biopsy is recommended for all suspected cases and that the initial morphologic evaluation is important for the ordering of ancillary testing.

C17. Asigurarea controlului de calitate în aplicațiile clinice ale citometriei în flux multiparametrice (hemato-oncologie)

Zlei Mihaela

Institutul Regional de Oncologie, Laboratorul de Biologie Moleculară, Iași, România

În funcție de legislația în domeniu și de modul în care aceasta se aplică în România, toate unitățile de citometrie în flux din laboratoarele clinice sunt responsabile de întocmirea și menținerea propriilor lor standarde de performanță. Scopul prezentării de față este de a distribui și discuta informații privind cerințele și elementele de ghidaj pentru întocmirea documentației necesare validării și controlului de calitate în citometria multiparametrică, având aplicații clinice, în special în hematopatologie. Prin urmare, fiecare laborator este responsabil de validarea sensibilității și specificității panelurilor (combinațiilor de markeri) utilizate, stabilirea gradului de corelație cu morfologia, citogenetica, biologia moleculară sau datele clinice, pe baza unei documentații pentru evaluarea validării instrumentului, condițiilor preanalitice, procesării probei, analizei datelor și interpretării finale. Toate laboratoarele trebuie să fie participante într-o schemă de control extern; să stabilească condițiile pentru transportul probei și criteriile de acceptare/respingere ale probei; să asigure evaluarea acurateței analitice (prin comparație cu descrierea morfologică, datele de citogenetică, evaluarea prin biologie moleculară și datele clinice; să își stabilească rata estimativă de discrepanță între flow și morfologie); să testeze profilele de marcarea calitativă utilizate pentru stabilirea lineajelor celulare, prin definirea profilelor de marcarea slabă, moderată și puternică; să testeze specificitatea reactivilor monoclonali prin evaluarea capacității acestora de recunoaștere corectă a unei ținte antigenice; să testeze sensibilitatea reactivilor monoclonali prin evaluarea intensității minime de marcarea peste marcarea negativă sau nespecifică; să determine precizia, acuratețea și sensibilitatea instrumentului și să valideze performanța citometrului prin setarea și verificarea zilnică a detecției parametrilor de scatter și fluorescență; să valideze panelul de anticorpi (combinația de anticorpi) utilizate; să valideze propria strategie de analiză și interpretare a datelor. Încă nu s-a ajuns la un consens internațional în privința modului în care ar trebui să aibă loc integrarea unitară a acestei tehnologii în diagnosticul hemato-oncologic, deși în prezent există organizații multi-naționale, în special Consorțiul European Euroflow, care s-au implicat activ în elaborarea unui grad avansat de uniformitate.

Quality assurance in multiparametric clinical flow cytometry (hemato-oncology)

Zlei Mihaela

Regional Institute of Oncology, Laboratory of Molecular Biology, Iasi, Romania

Based on regulatory issues as they apply in Romania, all flow cytometry units country-wide are responsible for designing and maintaining their own laboratory performance standards. The aim of this presentation is to deliver and discuss guidelines for laboratory's validation and quality control documentation in polychromatic clinical flow cytometry, particularly in hematopathology. Therefore, each laboratory should validate their own panels for sensitivity, specificity, and correlation with morphology and clinical findings, based on documentation for instrument validation, QC, QA, and troubleshooting, sample handling, preparation, processing, data analysis and final interpretation. Regardless the source of guidelines, all should include the following items: all laboratories must be enrolled in a proficiency

testing (external control scheme); establish specimen requirements, recommended transport conditions and criteria for acceptability/rejection; assess the analytical accuracy (by comparison to previously characterized cells, morphology, cytogenetics and molecular biology; each laboratory should establish its own expected rate of discrepancy between flow and morphology); assess the qualitative staining pattern used to identify cell lineages, descriptions of dim, moderate, and bright staining patterns; assess the specificity of monoclonal reagents, by how well the antibody recognizes the correct antigenic target; assess the reagent sensitivity defined by the minimum staining intensity above non-specific or negative staining; determine the instrument precision, accuracy and sensitivity of the instrument and validate the instrument performance by instrument setup and daily qualification of both light scatter and fluorescence measurements, and cross-instrument performance using relevant clinical specimens; validate the panel (antibody combinations and proper compensations); validate their own strategies and tools for data analysis and interpretation.

There is no world-wide consistency in terms of how the integration of this technology into diagnostic hematopathology should be applied in a unitary model, although multinational organizations, especially the Euroflow consortium, are currently involved in developing a certain level of uniformity.

C18. Influența condițiilor preanalitice în determinarea volumului trombocitar mediu (MPV)

Olteanu Ariela Ligia¹, Mihalache Manuela², Mihăila Romeo Gabriel², Lienerth Doris³, Cristea stefan³

1. Spitalul Clinic Județean de Urgență Sibiu, Laborator de Analize Medicale;

2. Universitatea "Lucian Blaga", Facultatea de Medicină "Victor Papilian" Sibiu;

3. Spitalul Clinic Județean de Urgență Sibiu

Introducere: Volumul trombocitar mediu (MPV), calculat de analizoarele de hematologie și furnizat în hemoleucogramă, poate deveni un biomarker util pentru detecția activării trombocitare in vivo. Totuși, această determinare este influențată de condițiile preanalitice, ca timpul scurs de la recoltarea sângelui până la efectuarea hemoleucogramei, condițiile de stocare, de natura anticoagulantului folosit. În acest studiu prospectiv, ne-am propus să determinăm influența tipului de anticoagulant folosit și a timpului scurs de la recoltare până la analizarea sângelui recoltat pentru măsurarea volumului trombocitar mediu. **Materiale și metode:** Sângele venos a fost recoltat de la 40 de subiecți sănătoși și 99 pacienți cu diagnosticul de neoplasm mieloproliferativ cronic Ph-, în două tuburi vidate conținând ca anticoagulant K2EDTA și respectiv citrat de sodiu 0.105M. Tuburile au fost păstrate la temperatura camerei până la procesare. Hemoleucograma s-a efectuat la 30 de minute și la 2 ore după recoltare, pe analizorul Sysmex XS 1000i. **Rezultate:** Rezultatele obținute au arătat că există o diferență semnificativă între valorile MPV obținute din sângele recoltat pe tub vidat cu K2EDTA și cel cu citrat de sodiu 0.105M, dar fără o diferență semnificativă între cele două determinări efectuate pentru fiecare tub (la 30 de minute și la 2 ore) pentru același tip de anticoagulant folosit. **Concluzii:** Valoarea MPV nu se modifică semnificativ în primele două ore de la recoltare în timp ce există diferențe semnificative între valorile MPV obținute din sânge recoltat pe anticoagulanți diferiți.

The impact of preanalytical variable on the measurement of mean platelet volume

Olteanu Ariela Ligia¹, Mihalache Manuela², Mihăila Romeo Gabriel², Lienerth Doris³, Cristea Ștefan³

1. County Emergency Hospital Sibiu, Clinical Laboratory; 2. "Lucian Blaga" University, Faculty of Medicine "Victor Papilian" Sibiu; 3. County Emergency Hospital Sibiu

Introduction: Mean platelet volume (MPV), parameter provided by automated haematology analysers could become an useful biomarker to detect, in vivo, platelets activation.

Unfortunately, MPV is affected by time and storage conditions and the nature of anticoagulants.

The present study was designed to determinate the influence of anticoagulant and delay from blood collection and MPV measurement. Methods: Fasting blood samples were collected, from 40 healthy controls and 99 patients diagnosed with myeloproliferative neoplasms Ph- into sterile tubes containing K2EDTA and sodium citrate 0.105M. We stored the samples at room temperature and assessed at 30 min. and 2 hours after venipuncture on Sysmex XS 1000i System.

Results: We found semnificative differences between MPV measurements in K2EDTA and sodium citrate 0.105M tubes and no difference between measurements at 30 min and 2 hours assessed from the same tube (the same anticoagulant). Conclusion: The measurement of MPV, in two hours from blood collection, it seems to be reliable for appreciate platelets volume, meanwhile the values are different and depend on the type of anticoagulant used.

R19. Managementul riscului în controlul calității și îmbunătățirea sistemului de management al calității laboratorului

Ionescu Gabriel

Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila" București,

I.N.C.D.M.I. "Cantacuzino" București

Controlul calității (CC) monitorizează rezultatele testării într-un laborator. Se urmărește atingerea unor valori țintă. Dacă acestea sunt atinse se consideră că întreg procesul de testare este sub control și oricare dintre elemente sunt stabile (echipamente, reactivi, personal, probe). Dar nu există un instrument de control al calității perfect. Fiecare are puncte forte și puncte slabe. Pentru un control adecvat trebuie să utilizăm o combinație de instrumente. Pentru fiecare test este nevoie de un așa numit "Plan de Control al Calității" propriu, "croit pe măsură". Cum putem dezvolta și menține un astfel de plan de control al calității? O modalitate interesantă este prin aplicarea principiilor de management al riscului. Care sunt instrumentele uzuale de management al riscului și cum se derulează acest proces? Diagrama Ishikawa "în os de pește" poate fi un exemplu iar rezultatele evaluării riscului pot fi prezentate în termeni de "criticality" (ca produs dintre « probabilitate », « severitate » și « detectabilitate » a unei erori) sau de « acceptabilitate a riscului » (prin combinarea « probabilității » cu « severitatea »). Planul de Control al Calității acționează proactiv asupra riscului potențial, înainte ca un rezultat greșit să fie eliberat. O dată implementat, Planul de Control al Calității trebuie monitorizat din punct de vedere al eficacității și modificat ori de câte ori este nevoie pentru menținerea riscului la un nivel clinic acceptabil.

Astfel, apreciem că aplicarea unui Plan de Control al calității pentru fiecare metodă și fiecare laborator este un mod eficace de îmbunătățire a sistemului de management al calității laboratorului.

Risk management in quality control and improvement of laboratory quality management system

Ionescu Gabriel

"Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy Bucharest,

N.I.R.D.M.I. "Cantacuzino" Bucharest

Quality Control (QC) monitors the result of laboratory testing. QC has target values: if assay recovers target, then all the testing process is controlled and everything is assumed to be stable (eg. instruments, reagents, operators, samples). But there is no perfect QC tool. Every QC tool has its strengths and weaknesses. In order to properly control a test we have to implement a combination of QC tools. Each test needs its own "custom made" so called Quality Control Plan (QCP). How we can develop and maintain a such QCP? One interesting way is based on the principles of risk management. Which are the common tools used for risk management and which are the process map? The Ishikawa diagram, "fishbone" diagram, could be an example and the results of risk assessment could be presented in terms of "criticality" (as results of multiplying the probability, the severity and the detectability of an error) or "acceptability risk" (as combination of the probability and severity of harm). QCP proactively addresses the potential for risk before a wrong result is released. Once implemented, the QCP must be monitored for effectiveness and modified as needed to maintain risk at a clinically acceptable level. In conclusion, using a QCP for each method and each laboratory is an effective way to improve the quality management system of the laboratory.

R20. Rezistenta la antibioticele a celor mai frecvente specii bacteriene izolate in 2012

Dorobăț O.M, Talapan D., Badicuț I., Tenea C., Popoiu M., Botea S., Borcan A., Rafila A.

Institutul Național de Boli Infecțioase prof. Dr Matei Balș

Obiectiv: Evaluarea rezistenței celor mai frecvente specii bacteriene izolate în INBI prof Dr. Matei Balș în 2012. Metode: Au fost investigate 1761 tulpini (350 *Staphylococcus aureus*, 890 *Escherichia coli*, 278 *Klebsiella pneumoniae*, 170 *Pseudomonas aeruginosa*, 73 *Acinetobacter baumannii*) în sistemele Vitek2C și MicroScan Dade și cu Etest, conform CLSI. Testul Hodge a fost folosit pentru detecția prezentei carbapenemazei. Rezultate: Pentru *Staphylococcus aureus* metilicilin rezistența (MRSA) s-a observat la 47.0% tulpini iar pentru alte antibacteriene rezistența a fost: eritromicina 51,4%, clindamicina 26,4%, fluoroquinolone 12,2-15,4%, trimetoprim-sulfametoxazol 0,6% și lipsa rezistenței la linezolid și vancomicina. *E.coli* și *K.pneumoniae* producătoare de beta-lactamaze cu spectru larg (ESBL) au fost 16,7% (149/890) și respectiv 45,6% (127/278). Producerea de carbapenemază s-a constatat la 0,2% *E.coli* și 4,3% *K.pneumoniae*. Pentru *E.coli* rezistența cea mai redusă, cu excepția carbapenemelor, s-a constatat pentru amikacin (1,7%), piperacilin-tazobactam (6,8%) și ticarcilin-clavulanic acid (8,6%). Tulpinile de *K.pneumoniae* sunt mai rezistente decât *E.coli* pentru toate antimicrobienele: amoxicilina-clavulanic acid 39,6% comparativ cu 11,9%, cefazolin 56,8% versus

24,3%, ciprofloxacină 49,5% versus 25,4% și trimetoprim-sulfametoxazol 50,9% versus 31,0%. Rezistența pentru *Pseudomonas aeruginosa* a fost mai mare de 31,1% pentru toate preparatele, excepție colistinul (2,7% rezistență). Tulpinile de *Acinetobacter baumannii* au prezentat o rezistență mai mare de 61,1% cu excepția colistinului și a tobramicinei. Concluzii: Incidenta MRSA a fost de 47,0%. Tulpini de *E.coli* și *K.pneumoniae* ESBL prioducatoare au fost 16,7% și respectiv 45,6%. Câteva izolate *K.pneumoniae* și *E.coli* au fost rezistente la carbapeneme. S-a observat un nivel înalt de rezistență pentru majoritatea antimicrobienele la *P.aeruginosa* și *A.baumannii*.

Antimicrobial resistance in most frequent pathogen bacteria isolated in 2012

Dorobăț O.M., Talapan D., Badicuț I., Tenea C., Popoiu M., Botea S., Borcan A., Rafila A.

National Institute of Infectious Disease Prof. Dr. Matei Balș

Objectives: To evaluate the resistance of most frequent bacterial species isolated in National Institute for Infectious Diseases Prof. Dr. Matei Balș in 2012.

Methods: There were tested 1761 strains (350 *Staphylococcus aureus*, 890 *Escherichia coli*, 278 *Klebsiella pneumoniae*, 170 *Pseudomonas aeruginosa*, 73 *Acinetobacter baumannii*) in systems Vitek2C and MicroScan Dade and Etest, according to CLSI. Hodge test was used for phenotypic detection of carbapenemase. **Results:** For *Staphylococcus aureus* methicillin resistance (MRSA) was observed in 47.0% while the resistance rate to other agents were erythromycin 51.4%, clindamycin 26.45, fluoroquinolones 12.2-15.4%, trimetoprim-sulfametoxazol 0.6%, no resistance against linezolid and vancomycin. Extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *E.coli* and *K.pneumoniae* occurred in 16.7% (149/890) and 45.6% (127/278) of isolates, respectively. Carbapenemase was observed phenotypic in 0.2% *E.coli* and 4.3% *K.pneumoniae*. The lower resistance rate for *E.coli*, except carbapenems was for amikacin (1.7%) piperacillin-tazobactam (6.8%) and ticarcillin-clavulanic acid (8.6%). *K.pneumoniae* strains were more resistant than *E.coli* to all the antimicrobial agents: amoxicillin-clavulanic acid 39.6% compared to 11.9%, cefazolin 56.8% versus 24.3%, ciprofloxacin 49.5% versus 25.4% and trimetoprim-sulfametoxazol 50.9% versus 31.0%. Resistance rate for *Pseudomonas aeruginosa* was higher than 31.1% for all the antibacterial agents, except colistin with 2.7% resistance. Resistance of *Acinetobacter baumannii* was higher than 61.1% for all antimicrobials tested except colistin and tobramycin. **Conclusions:** Rate of MRSA was 47.0%. ESBL producing *E.coli* and *K.pneumoniae* were 16.7% and 45.6%. There are some *K.pneumoniae* and *E.coli* strains resistant to carbapenems. High level of resistance was observed for the majority of antimicrobials in *P.aeruginosa* and *A.baumannii*.

R21.EUCAST la zi

Irina Codiță

INCDDMI Cantacuzino, București

Din 2011, EUCAST (Comitetul European pentru Testarea Sensibilității la Antibiotice) activează sub auspiciile Societății Europene de Microbiologie Clinică și Boli Infecțioase (ESCMID) și ale Centrului European pentru Prevenirea și Controlul Bolilor (ECDC), și cu participarea EMEA (Agenția Europeană a Medicamentului), ca rețea de experți în determinarea punctelor de ruptură și în testarea sensibilității la antibiotice. EUCAST reiterează recomandarea expresă, făcută tuturor țărilor europene,

de a introduce metoda EUCAST până în 2014. Activitatea prodigioasă a membrilor EUCAST și a Comitetelor Naționale pentru Testarea Sensibilității la Antibiotice se reflectă în dinamica foarte alertă a publicării de “Noutăți”, atât în ce privește metoda EUCAST, cât și în ce privește noile puncte de ruptură sau CUTT OFF-uri. Vor fi prezentate noul ghid pentru detectarea mecanismelor de rezistență la antibiotice, o propunere nouă de puncte de ruptură la Quinolone pentru tulpini de *Enterococcus spp.* izolate din urină, o nouă listă a complianței producătorilor de produse utilizate pentru testarea sensibilității la antibiotice cu recomandările EUCAST, tabelul actualizat cu puncte de ruptură la antifungice, poziția EUCAST față de testarea sensibilității la antibiotice direct din primocultură și alte aspecte de interes pentru specialiștii în microbiologie clinică.

EUCAST up-date

Irina Codiță

Cantacuzino National Institute of Research-Development for Microbiology and Immunology

Since 2011, EUCAST (European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing) is acting under the auspices of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) and the European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC), and with input from EMA (European Medicine Agency), as a network of established experts in the determination of antimicrobial breakpoints and in antimicrobial susceptibility testing. There is a reiterated, express EUCAST recommendation for all EU countries to introduce EUCAST method by 2014. The prodigious activity of EUCAST members and country NACs is reflected in the very alert dynamics of publishing news, either in respect of the EUCAST method, or in respect of new breakpoints or CUTT OFFs. New guidelines for detecting antimicrobial resistance mechanism, a new proposal of quinolone breakpoints for urinary *Enterococcus spp.*, new EUCAST compliance of manufacturers of susceptibility testing products with EUCAST recommendations, antifungal breakpoint table up-dated, direct susceptibility testing EUCAST position and other interest issues for clinical microbiology specialists will be presented.

R22. Metode de detecție a salmonelelor – pe unde ne aflăm?

Născuțiu Alexandra-Maria¹, Neguț Marian²

INCMI Cantacuzino / UMF Carol Davila Bucuresti; 2. UMF Carol Davila Bucuresti

Una din preocupările constante ale microbiologilor de pretutindeni este îmbunătățirea performanțelor diagnosticului de laborator care urmărește analiza microbiologică a probelor biologice prelevate de la pacient, a alimentelor și a mediului. Metodele convenționale clasice, altădată gold standard, încep să cedeze locul metodelor rapide de diagnostic fenotipic și genotipic. Detecția rapidă a patogenilor alimentari (în acest context germenii din genul *Salmonella* fiind prioritari) este un deziderat, punerea la punct și implementarea acestor tehnici rapide contribuind la eficientizarea controlului alimentului. O identificare (tipizare) completă a salmonelelor izolate din alimente și de la om este necesară din considerente de trasabilitate, supravegherea epidemiologică fiind o componentă esențială a controlului alimentelor și al infecțiilor cu transmitere digestivă. Medii cromogene, sisteme manuale / automate de identificare rapidă, detecție bazată pe biosenzori, metode genetice de detecție bazate pe PCR (polymerase chain reaction) sau microarray, metode de tipizare prin PFGE (pulsed-field

gel electrophoresis), RFLP (restriction fragment length polymorphism), VNTR (variable number of tandem repeats), MLVA (multilocus variable number of tandem repeats analysis), MLST (multilocus sequence typing), AFLP (amplified fragment length polymorphism), toate constituie puncte de plecare solide pentru detecția și tipizarea salmonelelor în pas cu cerințele și exigențele epocii.

Salmonella detection methods – where do we stand?

Născuțiu Alexandra-Maria¹, Neguț Marian²

1. INCMDI Cantacuzino / Carol Davila UMPH Bucharest; 2. Carol Davila UMPH Bucharest

One of the constant concerns of microbiologists worldwide is the improvement of the performances of the laboratory diagnostic involved in the microbiological investigation of samples gathered from patients, food and environment. The classical, conventional methods, once gold standard, begin to give way in front of rapid methods for phenotypical and genotypical diagnostic. Rapid detection of food pathogens is compulsory (and in this context germs belonging to genus *Salmonella* are a priority), perfecting and implementing these rapid techniques contributing to the efficiency of food control. Complete identification (typing) of salmonellas isolated from food and human samples is necessary in view of ensuring traceability, epidemiological survey being an essential component of food and food-borne infections control. Chromogenic media, manual/automated systems for rapid identification, detection based on biosensors, genetic methods based on PCR (polymerase chain reaction) or microarray, typing methods using PFGE (pulsed-field gel electrophoresis), RFLP (restriction fragment length polymorphism), VNTR (variable number of tandem repeats), MLVA (multilocus variable number of tandem repeats analysis), MLST (multilocus sequence typing), AFLP (amplified fragment length polymorphism), all represent important starting points for *Salmonella* detection and typing according to the needs and imperatives of our times.

C23. Dezvoltarea unui nou imunosenzor capacitiv label free pentru detectia *Escherichia coli* O157:H7

Carmen M. Mihailescu¹, Dana Stan², Rodica Iosub³, Mihaela Savin⁴, Carmen Moldovan³

1. Department of Physical Chemistry, Faculty of Chemistry, University of Bucharest, Bd. Regina Elisabeta, No. 4–12, Bucharest, Romania; 2. DDS Diagnostic, Gh.Sincai Street no.9A, 040312, Bucharest, Romania; 3. National Institute for R&D in Microtechnologies (IMT), 126A Erou Iancu Nicolae, 077190, Bucharest, Romania, 4. Telemedica, Str. Ion Calin, No.13, Bucharest, Romania

În ultimii 15 ani s-a acordat un interes deosebit, la nivel mondial, pentru dezvoltarea biosenzorilor care contin materiale nanostructurate cu scopul de a reduce sensibilitatea și timpul de raspuns pentru detectia unor bacterii. Aceasta deoarece, în prezent, detectia bacteriilor se face prin metode clasice, microbiologice, deoarece metodele moderne (PCR, RT-PCR, microarray) necesita personal specializat și sunt scumpe. Imunosenzorul capacitiv dezvoltat în cadrul lucrării, se bazează pe reacția directă dintre anticorpii anti-E.coli O157:H7 imobilizați covalent pe un substrat de aur, electrod interdigitat (EID), funcționalizat chimic cu monostraturi autoasamblate mixte și bacteria E.coli O157:H7. Determinarea unitatilor formatoare de colonii (UFC)/ml s-a realizat prin măsurarea modificărilor capacității absolute aparute la suprafața electrodului (EID) ca urmare a interacției acestuia cu bacteria E.coli O157:H7. Fiecare etapă de pregătire a EID a fost caracterizată prin microscopie de forță atomică, mi-

croscopie de baleiaj si voltametrie ciclica. Pentru realizarea studiilor comparative s-a utilizat metoda ELISA. Testele realizate cu ajutorul imunosenzorului capacitiv au condus la o limita de detectie joasa (185 UFC/ml) si un timp de raspuns de 15-20 minute. In concluzie, dezvoltarea unor imunosenzori capacitivi prezinta, datorita avantajelor sale, o alternativa cu mari perspective pentru inlocuirea metodelor actuale, microbiologie sau ELISA.

Mulumiri. Autorii multumesc pentru suportul financiar Proiectului National PN-II-PT-PCCA-2011-3.2-0649 (IMUNOPLAT).

Development of a new label free capacitive immunosensor for Escherichia coli O157:H7 detection

Carmen M. Mihailescu¹, Stan Dana², Iosub Rodica³, Savin Mihaela⁴, Moldovan Carmen³

1.Department of Physical Chemistry, Faculty of Chemistry, University of Bucharest; 2.DDS Diagnostic, Bucharest, Romania; 3.National Institute for R&D in Microtechnologies (IMT), Bucharest, Romania; 4.Telemedica, Bucharest, Romania

In the past 15 years it has been given a special interest, worldwide, to developing biosensors containing nanostructured materials in order to reduce the sensitivity and the response time for bacteria detection. At present, the bacteria detection is based on standard microbiological methods because the applications of the methods in high-throughput pathogen detection (polymerase chain reaction (PCR), Real-Time PCR, microarray) is challenged by the need of trained staff and the use of expensive devices. The capacitive immunosensor developed in this work is based on binding interaction between antibodies anti-E.coli O157:H7 covalently immobilized onto a gold substrate, interdigitated electrodes (IDE) chemically modified with mixed self assembled monolayers and E.coli O157:H7 bacteria. The determination of colony forming units (CFU)/ml was achieved by measuring the changes in absolute capacity of the surfaced electrode (IDE) as a result of its interaction with E. coli O157: H7. Each stage of the IDE preparation was characterized by atomic force microscopy, scanning electron microscopy and cyclic voltammetry. To achieve the comparative studies, the ELISA method was used. The tests conducted using the capacitive immunosensor led to a low detection limit (185 CFU/ml) and a response time of 15-20 minutes. In conclusion, the development of capacitive immunosensors presents, thanks to its advantages, a very promising alternative to current methods, microbiology or ELISA.

Acknowledgments. The authors would like to thank to the National Projects PN-II-PT-PCCA-2011-3.2-0649 (IMUNOPLAT) for the financial support.

C24. Genotiparea prin analiza de disociere de inalta rezolutie a polimorfismelor rs12979860 si rs8099917 asociate genei IL28B la pacientii cu hepatita cronica C

**Elena L. Enache¹, Liviu S. Enache^{1,2,3}, Simona Bataga^{1,3}, Dan Georgescu^{1,3}, Ligia Bancu^{1,3},
Melania Macarie^{1,3}, Oana Marginean^{1,3}, Minodora Dobreanu^{1,3}**

1. Univ Med & Farm Tirgu Mures, 2. Université de Lyon, France, 3. Spitalul Clinic Judetean de Urgenta Tirgu Mures

Tratamentul hepatitei cronice de tip C are o rata variabila de succes si efecte adverse considerabile, in ciuda costurilor considerabile pe care le implica. Studii recente de asociere genomica au identificat doua polimorfisme punctiforme in vecinatatea genei IL28B (rs12979860 C/T si rs8099917 T/G), cu rol predictiv pentru raspunsul viral sustinut la pacientii cu hepatita cronica C tratati cu PEG-interferon si ribavirina. In acest studiu, am realizat designul a doua teste de real-time PCR pentru identificarea acestor polimorfisme, bazate pe analiza de inalta rezolutie a curbei de disociere a ampliconilor (HRM). In aceasta prima faza a validarii, testele efectuate cu ajutorul unui instrument PikoReal96 au putut diferentia toate variantele (rs12979860 CC, CT, TT, respectiv rs8099917 TT, TG, GG), de-a lungul unui interval de linearitate de peste 3 ordine de marima. Rezultatele au fost concordante cu cele oferite de metoda PCR cu primeri alela-specifici. Performanta analitica buna a designului propus sprijina parcurgerea etapelor ulterioare de validare. Metoda HRM, prin simplitatea si costul relativ mic, poate fi adoptata in practica curenta a laboratoarelor de virusologie.

Acest studiu a fost partial sprijinit prin Programul Operational Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane, finantat de catre Fondul Social European si Guvernul Romaniei, in baza contractelor POSDRU/ 89/1.5/S/64331 si POSDRU 6/1.5/17.

Genotyping of IL28B polymorphisms rs12979860 and rs8099917 in chronic hepatitis C patients by high resolution melting analysis

**Elena L. Enache¹, Liviu S. Enache^{1,2,3}, Simona Bataga^{1,3}, Dan Georgescu^{1,3}, Ligia Bancu^{1,3},
Melania Macarie^{1,3}, Oana Marginean^{1,3}, Minodora Dobreanu^{1,3}**

1. Univ Med & Pharm Tirgu Mures, 2. Université de Lyon, France, 3. Emergency County Hospital Tirgu Mures

Treatment of chronic hepatitis C is associated with variable rates of success and severe side effects, despite its high costs. Recent genome-wide association studies have identified two host single nucleotide polymorphisms (rs12979860 C/T and rs8099917 T/G) near the IL28B gene that are predictive for the sustained virological response in patients infected with hepatitis C virus treated with PEG-interferon and ribavirin. We have designed two real-time PCR assays for the detection of these polymorphisms, based on the high resolution melting of the amplicons. In this early phase of validation, the assays, performed on a PikoReal96 instrument, were able to differentiate among all the variants (rs12979860 CC, CT, TT, respectively rs8099917 TT, TG, GG), across a dynamic range of at least 3 orders of magnitude. The results were concordant with those provided by the allele-specific PCR method. The good analytical performance of the proposed design warrants further validation of the assays. High resolution melting analysis, through its relative simplicity and low cost, can be a useful addition to the testing repertoire of virological laboratories.

This work was partially supported by the Sectorial Operational Programme Human Resources Development, financed by the European Social Fund and by the Romanian Government under the contract numbers POSDRU/89/1.5/S/64331 and POSDRU 6/1.5/17.

C25. Evoluția imunologică și virusologică a bolnavilor cu infecție HIV/SIDA sub terapie antiretrovirală

Marta-Andrea Fodor^{1,3}, Carmen Chiriac^{2,4}, Iringo Zaharia Kezdi^{2,4}, Andrea Incze^{2,4}, Minodora Dobreanu^{1,3}

1. Univ Med & Pharm Tirgu Mures, Department of Clinical Biochemistry, 2. Univ Med & Pharm Tirgu Mures, Department of Infectious Diseases I, 3. Emergency County Hospital Tirgu Mures, Central Clinical Laboratory, 4. County Hospital Tirgu Mures, Infectious Diseases Hospital I

Introducere: Scopul terapiei antiretrovirale (ARV) este aceea de a obține răspuns virusologic (scăderea încărcăturii virale), imunologic (creșterea numărului de limfocite CD4) și evoluție clinică favorabilă. Alături de bolnavii cu răspuns optim la tratament și eșec terapeutic, au fost și variante "paradoxe" de răspuns la tratament: răspunsul discordant imunologic (prezența răspunsului virusologic fără răspuns imunologic) și răspunsul discordant virusologic (răspuns imunologic în absența răspunsului virusologic). Scopul lucrării noastre a fost urmărirea evoluției bolnavilor din punct de vedere clinic, imunologic și virusologic. **Material:** Am evaluat un lot de 144 bolnavi cu infecție HIV/SIDA, cu terapie ARV aflați în evidența Centrului Regional de Supraveghere a Infecției HIV/SIDA Mureș.

Metodă: Am stabilit loturile de bolnavi cu varietățile de răspuns la tratament cu ocazia primei evaluări (în anul 2005). Am reevaluat bolnavii din punct de vedere imunologic (număratoarea limfocitelor CD4), virusologic (încărcătura virală HIV) și clinic (clasificare clinică, număr decese survenite) în 2012. **Rezultate:** 42,44% dintre bolnavi au prezentat răspuns optim la tratament, 35,25% au avut eșec terapeutic, răspunsul discordant imunologic a fost prezent la 10,79%, răspunsul discordant virusologic la 11,51% dintre bolnavi. Pe parcursul celor 7 ani de supraveghere s-au înregistrat 27 de decese.

Din punct de vedere al evoluției clinice 33,34% dintre bolnavii cu răspuns discordant virusologic, 28,57% dintre cei cu răspuns discordant imunologic, 22,58% dintre cei cu eșec terapeutic și 40,3% dintre cei cu răspuns optim la tratament au evoluat în stadiul "C" de boală. **Concluzii:** Majoritatea bolnavilor incluși în studiu au prezentat răspuns optim la tratament după aproximativ 12 ani de terapie ARV. Cele mai multe decese s-au înregistrat la bolnavii din loturile cu eșec terapeutic și răspuns discordant virusologic. Numărul bolnavilor care au evoluat spre stadiul clinic "C" a fost mai mare la loturile cu răspuns discordant virusologic și surprinzător, cel cu răspuns optim la tratament.

Immunological and virological response of HIV infected patients to antiretroviral therapy

Marta-Andrea Fodor^{1,3}, Carmen Chiriac^{2,4}, Iringo Zaharia Kezdi^{2,4}, Andrea Incze^{2,4}, Minodora Dobreanu^{1,3}

1. Univ Med & Pharm Tirgu Mures, Department of Clinical Biochemistry, 2. Univ Med & Pharm Tirgu Mures, Department of Infectious Diseases I, 3. Emergency County Hospital Tirgu Mures, Central Clinical Laboratory, 4. County Hospital Tirgu Mures, Infectious Diseases Hospital I

Introduction: The goal of antiretroviral therapy is to achieve virological response (viral load decrease), immunological response (CD4 cell increase) and favorable clinical outcome.

We observed four ways to respond to therapy: optimal response to treatment, treatment failure, immunological discordant response (virological responders without CD4 cell increase) and virological discordant response (immunological response without viral load decrease).

The aim of our work was to examine the clinical, immunological and virological evolution of patients. **Material:** This study was performed in the Infectious Diseases Clinic in Tg. Mures. We evaluated a group of 144 patients with HIV / AIDS with antiretroviral therapy.

Methods: At the first assessment (2005) we established the groups of patients with varieties of response to antiretroviral treatment. We reviewed the patients in terms of immunological (CD4 cell count), virological (HIV viral load) and clinical (clinical grading, deaths number) evolution in 2012.

Results: 42.44% of patients had optimal response to treatment, 35.25% had treatment failure, immunological discordant response was present in 10.79%, and virological discordant response was observed in 11.51% of patients. During 7 years of follow were recorded 27 deaths.

The advancement to clinical stage C of disease was observed at 33.34% of patients with discordant virological response, at 28.57% of those with discordant immunologic response, at 22.58% of those with treatment failure and at 40.3% of those with optimal response to treatment.

Conclusions: Most patients included in the study had optimal response to treatment after 12 years of ARV therapy. Most deaths occurred in patients from discordant virological response and treatment failure groups. A higher percentage of patients have progressed to clinical stage "C" in lots with optimal response to treatment and discordant virologic response.

P33. Aspecte ale rezistenței față de chimioterapice a bacteriilor izolate din infecții otice la subiecții din ambulator

Boboș Cecilia¹, Terec Aurelia Doina², Marcu Cornelia Daniela³, Todor Corina Alexandra², Moga Daniela², Junie Lia Monica¹, Hodârneau Cristian¹

1. Disciplina Microbiologie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu-Hațieganu", Cluj-Napoca, România; 2. Laborator de Analize medicale, Ambulator Integrat, Spitalul Clinic de Boli Infecțioase, Cluj-Napoca, România ; 3. Laboratorul Spitalului Clinic de Boli Infecțioase, Cluj-Napoca, România

Obiective: A fost testată sensibilitatea față de chimioterapice pentru 273 tulpini bacteriene izolate din otite acute sau cronice (otite medii, otite externe) de la subiecți investigați în ambulator, în perioada 01.06.2005-31.01.2013, cu scopul aplicării unei terapii precoce și corecte și a restrângerii apariției unor complicații acute grave ca: abces cerebral, mastoidită, meningită, empieme subdurale sau epidurale. Pentru bacteriile implicate a fost urmărită prezența rezistenței multiple față de chimioterapice. **Material**

și metode: Probele biologice au fost recoltate și examinate în ambulator. Sensibilitatea tulpinilor față de chimioterapice a fost testată utilizând antibiograma prin metoda difuzimetrică. Rezultate: La cei 273 subiecți (188 femei și 85 bărbați), în vârstă de 18-87 ani, au fost identificate: 171 tulpini de *Staphylococcus aureus* (131 femei și 40 bărbați), 8 tulpini de *Enterococcus* spp. (6 femei și 2 bărbați), 23 tulpini de *Proteus mirabilis* (10 femei și 13 bărbați), 19 tulpini de *Escherichia coli* (16 femei și 3 bărbați), 8 tulpini de *Enterobacter* spp. (*Enterobacter cloacae*, *Enterobacter sakazakii*) (5 femei și 3 bărbați), 2 tulpini de *Serratia marcescens* (2 femei), o tulpină de *Klebsiella pneumoniae* (o femeie), 39 tulpini de *Pseudomonas aeruginosa* (16 femei și 23 bărbați), o tulpină de *Burkholderia cepacia* (o femeie), o tulpină de *Bacillus cereus* (un bărbat). Tulpinile de *Staphylococcus aureus* au prezentat o rezistență crescută față de Penicilină (81,2%), Tetraciclină (53,5%) și Eritromicină (48,9%). Sub 15% a fost rezistența față de Gentamicină (11,6%) și Ciprofloxacin (14,9%). Valori ale rezistenței cuprinse între 22,8% și 39% au fost înregistrate față de Ofloxacin (22,8%), Cloramfenicol (24,7%), Trimetoprim-Sulfametoxazol (39%). Toate tulpinile testate au fost sensibile la Rifampicină, Tobramicină, Amikacin. Rezistența față de Cefoxitin (*Staphylococcus aureus* Meticilino-rezistent: MRSA) a fost de 13,3%. Tulpinile de *Enterococcus* spp. testate au prezentat o rezistență scăzută față de Ampicilină, Amoxicilină-Acid clavulanic, Ampicilină-Sulbactam, Ciprofloxacin, Gentamicină, Azitromicină. Deși unele tulpini de *Enterococcus* spp. au fost sensibile in vitro față de Cefalosporine, acestea au fost raportate ca rezistente, conform indicațiilor din CLSI. La tulpinile de bacili Gram negativ, a fost detectată o rezistență crescută față de Ampicilină (77,7%), Cefuroxim (76,7%), Trimetoprim-Sulfametoxazol (74,1%) și o rezistență scăzută față de Ceftazidim (3%), Ciprofloxacin (9,7%) și Gentamicină (12%). Rezistențe de 41,8%-61,3% au fost înregistrate față de Amoxicilină-Acid clavulanic (41,8%), Cloramfenicol (43,6%) și Tetraciclină (61,3%). Concluzii: Din cele 273 tulpini, 68,9% au fost izolate de la femei și 31,1% de la bărbați. Cele mai multe tulpini de bacterii Gram pozitiv și Gram negativ izolate au fost rezistente față de Ampicilină, unele Cefalosporine, Trimetoprim-Sulfametoxazol, Cloramfenicol, Tetraciclină. Cuvinte cheie: otite, coci, bacili, chimioterapice.

Aspects of the resistance to chemotherapeutic agents in bacteria isolated from otitis in the outpatients

Boboș Cecilia¹, Terec Aurelia Doina², Marcu Cornelia Daniela³, Todor Corina Alexandra², Moga Daniela², Junie Lia Monica¹, Hodârnău Cristian¹

1. Department of Microbiology, "Iuliu-Hațieganu" University of Medicine and

Pharmacy, Cluj-Napoca, Romania; 2. Medical Analysis Laboratory, Integrated outpatient facility, Clinical Hospital for Infectious Diseases, Cluj-Napoca, Romania; 3. Laboratory of Clinical Hospital for Infectious Diseases, Cluj-Napoca, Romania

Objectives: The susceptibility to chemotherapeutic agents was tested for 273 bacterial strains isolated from acute or chronic otitis (otitis media, otitis externa) in investigated outpatients, in the period 01.06.2005-31.01.2013, with the aim of implementing an early and proper therapy and to restrict the arise of some acute severe complications such as: brain abscess, mastoiditis, meningitis, subdural or epidural empyemas For the bacteria involved, the presence of the multiple resistance to chemotherapeutic agents was pursued. **Material and methods:** The biological samples were collected and analyzed ambulatory. The susceptibility of the isolated strains to chemotherapeutic agents was tested by using

the disk diffusion method. Results: In those 273 subjects (188 women and 85 men) aged 18-87 years, were identified: 171 strains of *Staphylococcus aureus* (131 women and 40 men), 8 strains of *Enterococcus* spp. (6 women and 2 men), 23 strains of *Proteus mirabilis* (10 women and 13 men), 19 strains of *Escherichia coli* (16 women and 3 men), 8 strains of *Enterobacter* spp. (*Enterobacter cloacae*, *Enterobacter sakazakii*) (5 women and 3 men), 2 strains of *Serratia marcescens* (2 women), one strain of *Klebsiella pneumoniae* (one woman), 39 strains of *Pseudomonas aeruginosa* (16 women and 23 men), one strain of *Burkholderia cepacia* (one woman), one strain of *Bacillus cereus* (one man). The strains of *Staphylococcus aureus* presented a increased resistance to Penicillin (81.2%), Tetracycline (53.5%) and Erythromycin (48.9%). Under 15% was the resistance determined to Gentamicin (11.6%) and Ciprofloxacin (14.9%). Values of resistance between 22.8% and 39% were registered to Ofloxacin (22.8%), Chloramphenicol (24.7%), Trimethoprim-Sulfamethoxazole (39%). All the tested strains were susceptible to Rifampin, Tobramycin and Amikacin. The resistance to Cefoxitin (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: MRSA) was 13.3%. The tested strains of *Enterococcus* spp. shown a low resistance to Ampicillin, Amoxicillin-clavulanic acid, Ampicillin-Sulbactam, Ciprofloxacin, Gentamicin, Azithromycin. Although, some *Enterococcus* spp. strains were susceptible in vitro to Cephalosporins, they were reported as resistant, in accordance with the indications from CLSI. In the strains of Gram negative bacilli, an increased resistance was detected to Ampicillin (77.7%), Cefuroxime (76.7%), Trimethoprim-sulfamethoxazole (74.1%) and a low resistance to Ceftazidime (3%), Ciprofloxacin (9.7%) and Gentamicin (12%). Resistances of 41.8%-61.3% have been registered to Amoxicillin-clavulanic acid (41.8%), Chloramphenicol (43.6%) and Tetracycline (61.3%).

Conclusions: Of the 273 strains, 68.9% were isolated from women and 31.1% from men. Most of the isolated Gram positive and Gram negative bacteria strains were resistant to Ampicillin, some Cephalosporins, Trimethoprim-Sulfamethoxazole, Chloramphenicol, Tetracycline. Key words: otitis, cocci, bacilli, chemotherapeutic agents.

P34. Metode utilizate pentru investigarea infecțiilor cu *Treponema pallidum* sau *Chlamydia trachomatis* la subiecții din ambulator

Boboș Cecilia¹, Marc Sorina², Botezan Delia Nicoleta², Feticu Lucia Simonca², Bîlc Ana-Maria², Moga Daniela², Terec Aurelia Doina², Cotul Cristina²

1. Disciplina Microbiologie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu-Hațieganu"

Cluj-Napoca, România; 2. Laborator de Analize medicale, Ambulator integrat, Spitalul Clinic de Boli Infecțioase, Cluj-Napoca, România

Obiective: În perioada 01.01.2002-31.12.2012, a fost testată prezența infecției cu *Treponema pallidum*, la subiecți, în vârstă de 9 luni-72 ani, iar în perioada 16.06.05—13.11.06 și 01.01.2008-31.01.2013, a fost testată prezența antigenului *Chlamydia trachomatis* la subiecți în vârstă de 16-78 ani, subiecții testați prezentând suspiciune de infecții cu transmitere sexuală în antecedente sau în momentul testării. Material și metode: Pentru depistarea infecției cu *Treponema pallidum* au fost efectuate testele serologice RPR și/sau VDRL și în cazul unui test pozitiv a fost efectuat testul de hemaglutinare *Treponema pallidum* (TPHA). Detectarea antigenului *Chlamydia trachomatis* în secreții genitale sau în urină a fost efectuată prin teste imunocromatografice. Toate probele au fost recoltate și examinate în ambulator. Rezultate: Au fost investigați pentru infecția cu *Treponema pallidum* un număr de 239 subiecți (122 subiecți de sex feminin, 117 subiecți de sex masculin), din care, în 209

cazuri testul TPHA a fost pozitiv, în următoarele situații: 1) teste RPR și TPHA pozitive la 180 (86,1%) subiecți (95 femei, din care 3 gravide și 85 bărbați) în vârstă de 15-60 ani, din care 5 subiecți (2 femei și 3 bărbați) prezentau și testul VDRL pozitiv. Din cei 180 subiecți, *Trichomonas vaginalis* a fost depistat în urina unei gravide de 29 ani; 2) teste VDRL și TPHA pozitive, au fost găsite la 2 (1%) bărbați de 18 ani și 24 ani; 3) test RPR negativ și test TPHA pozitiv au fost detectate la 27 (12,9%) subiecți: 25 subiecți (10 femei și 15 bărbați) de 19-72 ani (un bărbat de 37 ani având și testul VDRL negativ, iar 2 bărbați și o femeie de 22 ani prezentau lues în antecedente) și 2 copii de 3 ani (cu lues congenital în antecedente). Detectarea antigenului *Chlamydia trachomatis*, prin teste imunocromatografice, a fost efectuată la 335 subiecți (în vârstă de 16-78 ani) și anume: la 250 (74,6%) femei (16-78 ani) - în secreții de col uterin, la 79 (23,6%) bărbați (21-72 ani) - în secreții uretrale și la 6 (1,8%) bărbați (22-40 ani) - în urină. Din cei 335 subiecți testați, antigenul *Chlamydia trachomatis* a fost depistat la 11 (3,2%) femei de 19-25 ani (în secreții de col uterin) și la 2 (0,6%) bărbați de 21 ani (în secreții uretrale). La unii subiecți investigați pentru *Chlamydia trachomatis*, au fost efectuate și alte teste suplimentare, cum sunt: 1) testul Babeș-Papanicolaou la 124 (37%) femei (2 cazuri cu incluzii intracitoplasmice specifice pentru *Chlamydia trachomatis*); 2) testul RPR la 173 (51,6%) femei și 1 (0,3%) bărbat (testele au fost negative, cu excepția unei femei de 35 ani la care testele RPR și TPHA au fost pozitive); 3) test imunoenzimatic (MEIA) pentru detectarea anticorpilor serici față de HIV, care au fost absenți la subiecții investigați: 124 (37%) femei și 2 (0,6%) bărbați. Concluzii: Testul TPHA a fost pozitiv în 209 cazuri și a evidențiat prezența anticorpilor specifici față de *Treponema pallidum* (lues secundar sau lues în antecedente, inclusiv lues congenital). Antigenul *Chlamydia trachomatis* a fost detectat numai la 13 subiecți (3,8%), din cei 335. Cuvinte cheie: *Treponema pallidum*, RPR, TPHA, *Chlamydia*.

Methods used for investigation of *Treponema pallidum* or *Chlamydia trachomatis* infections in outpatients

Boboș Cecilia¹, Marc Sorina², Botezan Delia Nicoleta², Feticu Lucia Simonca², Bîlc Ana-Maria², Moga Daniela², Terec Aurelia Doina², Cotul Cristina²

1. Department of Microbiology from "Iuliu-Hațieganu" University of Medicine and

Pharmacy, Cluj-Napoca, Romania; 2. Medical Analysis Laboratory, Integrated outpatient facility, Clinical Hospital for Infectious Diseases, Cluj-Napoca, Romania

Objectives: In the period 01.01.2002-31.12.2012, the infection with *Treponema pallidum* was tested in subjects aged 9 months-72 years and in the period 16.06.05—13.11.06 and 1.01.2008-31.01.2013, *Chlamydia trachomatis* antigen was tested in subjects aged 16- 78 years, the tested subjects presenting suspicion of sexually transmitted infections in history or at the time of the test. **Material and methods:** The serological RPR and/or VDRL tests were made for detection of *Treponema pallidum* infection and in the case of a positive test, *Treponema pallidum* hemagglutination test (TPHA) was performed. The detection of *Chlamydia trachomatis* antigen in genital secretions or in urine was made through the chromatographic immunoassays. All samples were collected and analyzed ambulatory. **Results:** A number of 239 subjects (122 female subjects, 117 male subjects) were investigated for the infection with *Treponema pallidum*, of which, in 209 cases TPHA test was positive, in the following situations: 1) RPR and TPHA positive tests in 180 (86.1%) subjects (95 women, including 3 pregnant women and 85 men) aged 15-60 years, of which 5 subjects (2 women and 3 men) had also positive

VDRL test. Of those 180 subjects, *Trichomonas vaginalis* has been detected in the urine of a pregnant women aged 29 years; 2) VDRL and TPHA positive tests were found in 2 (1%) men aged 18 years and 24 years; 3) negative RPR test and positive TPHA test were detected in 27 (12.9%) subjects: 25 subjects (10 women and 15 men) aged 19-72 years (one man aged 37 years having also a negative VDRL test, and 2 men and one woman aged 22 years had lues in history) and 2 children aged 3 years (with congenital lues in history). The detection of *Chlamydia trachomatis* antigen, through the chromatographic immunoassays, was performed in 335 subjects aged 16-78 years, such as: in 250 (74.6%) women (16-78 years) - in cervical secretions, in 79 (23.6%) men (21-72 years) - in urethral secretions and in 6 (1.8%) men (22-40 years) - in urine. Of the 335 tested subjects, *Chlamydia trachomatis* antigen was detected in 11 (3.2%) women aged 19-25 years (in cervical secretions) and in 2 (0.6%) men aged 21 years (in urethral secretions). In some investigated subjects for *Chlamydia trachomatis*, other supplementary investigations were carried out also, such as: 1) Babeş-Papanicolaou test in 124 (37%) women (2 cases with intra-cytoplasmic inclusions specific for *Chlamydia trachomatis*); 2) RPR test in 173 (51.6%) women and 1 (0.3%) man (the tests were negative, with the exception of one woman aged 35 years at which RPR and TPHA tests were positive); 3) immuno-enzymatic assay (MEIA) for detecting the presence of antibodies against HIV in serum, which were absent in the tested subjects: 124 (37%) women and 2 (0.6%) men. Conclusions: TPHA test was positive in 209 cases and revealed the presence of specific antibodies against *Treponema pallidum* (secondary lues or lues in history, including congenital lues). *Chlamydia trachomatis* antigen was detected only in 13 (3.8%) subjects, of those 335. Key words: *Treponema pallidum*, RPR, TPHA, *Chlamydia*.

P35.Cercetări asupra efectului antibacterian a doua extracte moi din flori de *Elaeagnus Angustifolia* L.

Bucur Laura¹, Badea Victoria², Grigorian Mircea²

1.Universitatea Ovidius din Constanța, Facultatea de Farmacie; 2.Universitatea Ovidius din Constanța, Facultatea de Medicină Dentară

Introducere. Extractele naturale cu polifenoli au acțiune antibacteriană și reprezintă o alternativă în tratarea infecțiilor cu germeni rezistenți la tratamentul cu antibiotice. **Obiectiv.** Studiul își propune evidențierea efectului antibacterian a două extracte moi din flori de *Elaeagnus angustifolia* L. asupra a patru tulpini microbiene, reprezentative ca potențial de patogenitate și o tulpină de fungi, comparativ cu cinci antibiotice. **Material și metodă.** Extractele moi s-au pregătit în două concentrații diferite, în propilenglicol. S-au folosit pelete care conțin culturi bacteriene pure ATCC (America Type of Culture Collection) cu *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* și *Candida albicans*. Testarea acțiunii antibacteriene s-a realizat prin tehnica difuzimetrică. Rezultatele s-au interpretat comparativ cu antibioticele: Ampicilină, Oxacilină, Gentamicină, Ciprofloxacină și Amfotericina B. **Rezultate și discuții.** Concentrația mare a ambelor extracte a fost mai eficientă decât concentrația mică pe *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*. *Escherichia coli* și *Candida albicans* au fost total rezistente la probele testate. Cele patru probe de extracte moi acționează asupra speciei *Enterococcus faecalis* cu efect antibacterian apropiat de cel al Ampicilinei și asupra speciei *Staphylococcus aureus* cu efect antibacterian apropiat de cel al Oxacilinei. Ceea ce particularizează studiul nostru este comportamentul extractelor testate asupra speciei *Pseudomonas aeruginosa*, specie consacrată rezistentă la antibiotice, care surprinzător, deși este total rezistentă la Gentamicină, este sensibilă în grade diferite față de toate probele testate.

Concluzii. Extractele moi din flori de *Elaeagnus angustifolia* L. s-au dovedit a fi foarte eficiente pe cocii gram pozitivi testați, inclusiv pe specii bacteriene foarte rezistente la antibiotice.

Research concerning the antibacterial activity of two *Elaeagnus Angustifolia* L. flowers soft extracts

Bucur Laura¹, Badea Victoria², Grigorian Mircea²

1.Ovidius University of Constanta, Faculty of Pharmacy; 2.Ovidius University of Constanta, Faculty of Dental Medicine

Introduction. The natural extracts with polyphenols have an antibacterial effect and represent an alternative for infections with resistant germs to antibiotics treatment. **Aim.** The aim of the research is to show the antibacterial effect for two *Elaeagnus angustifolia* L. flowers soft extracts on four microbiological strains representative for pathogenic potential and one fungal strain and compared to five antibiotics. **Material and methods.** The soft extracts were prepared in two different concentrations, in propylene glycol. There were used pellets with ATCC (American Type of Culture Collection) microorganisms: *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Escherichia coli* and *Candida albicans*. Trial of antibacterial activity was realised by the diffusimetric method. The results were interpreted compared with antibiotics: Ampicillin, Oxacillin, Gentamicin, Ciprofloxacin and Amphotericin B. **Results and discussions.** The higher concentration for both extracts was more active than the lower concentration on *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*. *Escherichia coli* and *Candida albicans* were absolutely resistant to the tested samples. All four soft extracts samples act on *Enterococcus faecalis* with antibacterial effect similar to Ampicillin and on *Staphylococcus aureus* with antibacterial effect similar to Oxacillin. An unexpected result was obtained on *Pseudomonas aeruginosa*, well know strain for its resistance to antibiotics. Although is absolutely resistant to Gentamicin it is sensitive to all the tested samples. **Conclusions.** The *Elaeagnus angustifolia* L. flowers soft extracts proved to be very active on tested gram positive coccus group, including the bacterial strains very resistant to antibiotics.

P36.Reactii multiplex PCR pentru detectarea enterotoxinelor stafilococice si a proteinelor enterotoxin-like

Coldea Ileana Luminița^{1,2}, Drăgulescu Elena-Carina^{1,3}, Lixandru Brandușa- Elena¹, Dragomirescu Cristiana Cerasella^{1,2}, Neguț Marian², Codiță Irina^{1,2}

1. I.N.C.D.M.I “ Cantacuzino”, Bucuresti, Romania ;2. U.M.F. “Carol Davila”, Bucuresti, Romania; 3.Universitatea din Bucuresti, Facultatea de Biologie, Romania

Introducere: *Staphylococcus aureus* secreta 23 de tipuri antigenice distincte de enterotoxine ce apartin familiei superantigenelor. In functie de capacitatea lor emetizanta acestea sunt impartite in enterotoxine stafilococice SE (SEA-SEE, SEG-SEI, SER-SET) si proteine asemanatoare enterotoxinelor stafilococice (staphylococcal enterotoxins like – SEI proteins) fara activitate emetica (SEIL si SEIQ) sau a caror activitate emetica nu a fost inca testata (SEIJ, SEIK, SEIM - SEIP, SEIU, SEIU2 si SEIV). SE si SEI au fost traditional impartite in enterotoxine clasice (SEA- SEE) si tipuri noi de enterotoxine (SEG - SEIV). Scopul acestui studiu a fost optimizarea a trei reactii multiplex PCR

pentru evidentiarea genelor codante pentru enterotoxinele stafilococice (A, B, C, D, E, H, I) și a proteinelor enterotoxin - like (SEIJ, SEIM, SEIN) în cadrul laboratorului nostru. Materialul de studiu a fost reprezentat de extractele ADN provenite de la 11 tulpini de *S. aureus* izolate dintr-un focar de toxiinfecție alimentară (TIA). Rezultate: Reacțiile multiplex au fost concepute și optimizate utilizând tulpini de referință pozitive pentru toate genele vizate și primeri recomandați de Blaiotta (2004). Dintre cele 11 tulpini de *S. aureus*, 1 tulpină a prezentat doar gena codantă pentru enterotoxina H iar la celelalte 10 s-au evidențiat gene codante pentru enterotoxina SEI și pentru proteinele enterotoxin - like SEIM, SEIN. Concluzii: Reacțiile multiplex PCR optimizate s-au dovedit fiabile și rapide pentru detectarea genelor codante pentru enterotoxine și proteine enterotoxin- like și pot deveni un instrument util pentru stabilirea profilului toxinelor la tulpini de *S. aureus* implicate în TIA și/sau în infecții nosocomiale.

Multiplex PCR reactions for detection of staphylococcal enterotoxins and enterotoxin-like protein genes

**Coldea Ileana Luminița^{1,2}, Drăgulescu Elena-Carmina^{1,3}, Lixandru Brândușa- Elena¹,
Dragomirescu Cristiana Cerasella^{1,2}, Neguț Marian², Codiță Irina^{1,2}**

1. "Cantacuzino" N.I.R.D.M.I, Bucharest, Romania ; 2. "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania; 3. University of Bucharest , Faculty of Biology, Romania

Introduction: *Staphylococcus aureus* produces 23 distinct serological enterotoxins types, belonging to the broad superantigens family. Based on their emetic activity they are divided into staphylococcal enterotoxins (SEA-SEE, SEG-SEI, SER - SET) and staphylococcal enterotoxin-like (SEI) proteins which are not emetic (SEIL and SEIQ) or have yet to be tested (SEIJ, SEIK, SEIM to SEIP, SEIU, SEIU2 and SEIV). SEs and SEIs have been traditionally subdivided into classical (SEA to SEE) and new (SEG to SEIV) types. The aim of this study was to optimize three multiplex PCR reactions for evidence of genes for staphylococcal enterotoxins (A, B, C, D, E, H, I) and enterotoxin- like proteins (SEIJ, SEIM, SEIN) in our laboratory . The study material was represented by DNA extracts from 11 strains of *S. aureus* isolated from an outbreak of staphylococcal food poisoning (SFP). **Results:** Multiplex reactions were designed and optimized in our laboratory using positive reference strains for all target genes and primers recommended by Blaiotta (2004). Among the 11 strains of *S. aureus*, one strain showed only gene for enterotoxin H and the remaining 10 were revealed genes for enterotoxin SEI and for enterotoxin - like proteins SEIM, SEIN. **Conclusions:** The multiplex PCR reactions optimized proved to be reliable and rapid for enterotoxins and enterotoxin-like proteins genes detection and could become an useful tool for toxin genes profiling of *S. aureus* strains involved in SFP and/or nosocomial infections.

P37. Markeri fenotipici si moleculari pentru caracterizarea tulpinilor apartinand genului *Corynebacterium*

Dragomirescu Cristiana Cerasella^{1,2} Ilie Anamaria Felicia¹; Coldea Ileana Luminița^{1,2}, Damian Maria¹, Vladica Maria³, Popa Ioan Mircea²

1. INCDDMI "Cantacuzino" București, 2 UMF "Carol Davila" București, 3 Institutul Național de Diabet și Boli metabolice "Prof. Dr. Nicolae Paulescu"

Difteria este o boală infecțioasă gravă, cu potențial epidemic crescut. Este prevenibilă prin vaccinare (acoperire vaccinală de minim 95% la vârsta de 1an și 90% la adult). Este considerată o boală re-emergentă, exemplificat de epidemia de difterie din perioada 1991-1995, în toate țările Comunității Statelor Independente. În Europa, în perioada 2008-2010 s-au înregistrat 77 cazuri de difterie confirmate clinic și microbiologic. "Importul" tulpinilor toxigene de *C. diphtheriae* circulante din țările în curs de dezvoltare (unde difteria evoluează endemic), constituie o amenințare și reprezintă cauza îmbolnăvirilor apărute sporadic în țările dezvoltate. În România, difteria este menținută sub control datorită funcționării Programului Național de Imunizări. Nu au fost semnalate cazuri de difterie din 1989. Nu se poate preciza dacă exista o reducere semnificativă și reală a circulației bacilului difteric sau dacă datele raportate sunt expresia subinvestigării la nivelul laboratoarelor din teren. De asemenea nu se cunoaște implicarea în patologie, în România, a altor specii aparținând genului *Corynebacterium* (inclusiv la persoane cu status imunitar deficitar). Obiectivul acestei lucrări constă în realizarea și diseminarea unui algoritm de diagnostic pentru cazul suspect de difterie și identificarea la nivel de specie a tuturor tulpinilor aparținând genului *Corynebacterium*. Conform manualului OMS, diagnosticul de laborator al unui caz suspect de difterie respectă etapele diagnosticului bacteriologic iar confirmarea de specie prin metode fenotipice și moleculare (analiza secvenței ARN 16S), testarea capacității toxigene (test ELEK și PCR pentru detecția genei tox), determinarea titrului de anticorpi antitoxină difterică sunt teste care se realizează doar la nivelul Centrului Național de Referință pentru Difterie din INCDDMI "Cantacuzino".

Phenotypic and molecular markers for characterization of *Corynebacterium* strains

Dragomirescu Cristiana Cerasella^{1,2} Ilie Anamaria Felicia¹; Coldea Ileana Luminița^{1,2}, Damian Maria¹ Vladica Maria³; Popa Ioan Mircea²

1 NIRDMMI "Cantacuzino" București, 2 "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy București, 3 National Institute of Diabetes and Metabolic Diseases "Prof. Dr. Nicolae Paulescu"

Diphtheria represents a serious infectious disease with high epidemic potential. Could be preventable by vaccination (minimum 95% vaccination coverage at 1 year; 90% in adults). It is considered as a re-emerging disease, exemplified by diphtheria epidemic in the period 1991-1995 in all CIS countries. In Europe, in 2008-2010, 77 cases of diphtheria were clinically and microbiologically confirmed. "Imported" toxigenic strains of *C. diphtheriae* are circulating in developing countries, where diphtheria is still endemic. This disease still represents a threat because of sporadically occurring in developed countries. In Romania diphtheria was kept under control due to functioning of the National Immunization Program. No cases were reported since 1989. Currently, we cannot establish if there is a real and significant reduction of *C. diphtheriae* reported strains or this is due to a lower interest for surveillance by

laboratory, in the country. It is also not known the involvement in pathology, in Romania, for other species belonging to the genus *Corynebacterium* (including for immunocompromised patients). The objective of this paper is to produce and disseminate a diagnostic algorithm for suspected diphtheria and identification to species level of all strains belonging to the genus *Corynebacterium*. According to the WHO manual, laboratory diagnosis of a suspected case of diphtheria follow the steps of bacteriological diagnosis. The identification of species by phenotypic and molecular methods (16S RNA sequence analysis), toxigenic capacity testing (ELEK test, and PCR for gene *tox* detection), titration diphtheria antitoxin antibodies are performed only at the National Reference Centre for Diphtheria in NIRDMI "Cantacuzino".

P38.Rolul anticorpilor IgA în diagnosticul toxoplasmozei acute

Csep Andrei¹, Spineanu Radu¹, Drăghici Sonia¹, Cheregi Simona¹, Sava Cristian¹, Micle Otilia¹

1.Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie

Introducere: Toxoplasmoza este o zoonoză parazitară, răspândită pe întreg globul, produsă de protozoarul *Toxoplasma gondii*. **Obiective.** Determinarea valorilor anticorpilor IgA toxoplasma, la femeile de vârstă procreației, diagnosticate cu toxoplasmoză acută, paralel cu determinarea valorilor anticorpilor IgM și IgG Toxoplasma, precum și urmărirea evoluției lor în dinamică pe o perioadă de 12 luni. **Material și metodă:** În acest studiu au fost incluși 103 femei, care s-au prezentat la Clinica de Boli Infecțioase Oradea în perioada 01.01.2012-31.12.2012, în vederea depistării infecției cu *Toxoplasma gondii*. Prin metoda MEIA (Microparticle Enzyme Immunoassay), efectuat la laboratoarele Bioclinica, s-au determinat valorile anticorpilor IgM și IgG Toxoplasma, iar ulterior în cazurile cu anticorpi IgM pozitivi s-au efectuat și valorile anticorpilor IgA Toxoplasma prin metoda EIA (Enzyme Immunoassay), pentru diagnosticul cât mai precis al formei acute de toxoplasmoză. **Rezultate și discuții:** Rezultatele investigațiilor au arătat faptul că la 29% din cazuri, serologia a fost complet negativă (IgM și IgG Toxoplasma negativi). 38% din cazuri au prezentat anticorpi protectori față de *Toxoplasma* (IgM negativ, IgG pozitiv), iar un procent de 33% au fost suspecți de infecție acută cu *Toxoplasma gondii* (IgM pozitiv, IgG pozitiv / negativ). La această ultimă categorie la doar 2/3 din cazuri s-a surprins seroconversia anticorpilor IgM → IgG Toxoplasma, anticorpii IgA fiind pozitivi la acești pacienți. La 1/3 din cazuri nu s-a evidențiat seroconversia și nici pozitivarea anticorpilor IgA. **Concluzii:** Determinarea anticorpilor IgM Toxoplasma *gondii* nu este suficientă pentru diagnosticul toxoplasmozei acute, deoarece uneori prezența lor semnifică fie persistența anticorpilor de tip IgM, fie reinfecția asimptomatică. De aceea efectuarea anticorpilor IgA Toxoplasma *gondii* a fost benefică mai ales la cazurile fără seroconversia IgM → IgG Toxoplasma. **Cuvinte cheie:** toxoplasmoză, seroconversie, anticorpi

The role of IgA antibodies in acute toxoplasmosis diagnosis

Csep Andrei¹, Spineanu Radu¹, Drăghici Sonia¹, Cheregi Simona¹, Sava Cristian¹, Micle Otilia¹

1. University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy

Introduction: Toxoplasmosis is a parasitic zoonosis, spread across the globe, caused by protozoan *Toxoplasma gondii*. **Objectives:** Determination of IgA Toxoplasma antibodies in women of procreation age, diagnosed with acute toxoplasmosis, along with determining values Toxoplasma IgM and IgG antibodies as well as the dynamic tracing of their evolution over a period of 12 months. **Materials**

and methods: The study included 103 women who presented to the Infectious Diseases Clinic in Oradea in the period 01.01.2012-31.12.2012 in order to detect infection with *Toxoplasma gondii*. By MEIA (Microparticle Enzyme Immunoassay) performed in Bioclinica laboratories, values of *Toxoplasma* IgM and IgG antibodies were determined and subsequently in cases with positive IgM antibodies, values of IgA *Toxoplasma* antibodies were also performed using EIA (Enzyme Immunoassay) for the accurate diagnosis of acute toxoplasmosis. Results and Discussion: The results of investigations showed that in 29% of cases the serology was completely negative (negative IgM and IgG *toxoplasma*). 38% of cases had protective antibodies against *Toxoplasma* (negative IgM, positive IgG) and a percentage of 33% were suspected with acute infection with *Toxoplasma gondii* (positive IgM, positive / negative IgG). At this last category for only 2/3 of the cases it was noticed that the seroconversion of IgM → IgG *Toxoplasma* and IgA antibodies were positive. For 1/3 of the cases there was no seroconversion revealed and neither IgA positivity. Conclusions: Determination of *Toxoplasma gondii* IgM antibodies is not sufficient for the diagnosis of acute toxoplasmosis because sometimes their presence signifies either IgM persistence or asymptomatic reinfection. Therefore *Toxoplasma gondii* IgA antibody was especially beneficial in cases without the seroconversion of IgM → IgG *Toxoplasma*. Keywords: toxoplasmosis, seroconversion, antibodies.

P39.Seroprevalența *Helicobacter pylori* în afecțiuni dermatologice

Dinu Lucia¹, Nicolae Ilinca², Georgescu Simona Roxana³, Ciorte Marinela⁴, Diaconu Dumitru Iustin³

1. Clinica MedLife, Departament Dermato-Venerologie, București; 2. Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale "Prof. Dr. Victor Babeș", Departament Cercetare, București; 3. Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale "Prof. Dr. Victor Babeș", Clinica de Dermato-Venerologie, București; 4. UMF "Carol Davila", București

Obiectiv. Am efectuat un studiu caz-control în scopul evaluării rolului infecției cu *Helicobacter pylori* (HP) într-o serie de afecțiuni cutanate. **Material.** Au fost monitorizați 460 pacienți cu afecțiuni dermatologice: urticarie cronică idiopatică (UCI) (79 cazuri), psoriazis (58 cazuri), alopecie areata (102 cazuri), lichen plan (42 cazuri), rozacee (56 cazuri), dermatită atopică (63 cazuri), prurigo nodular (60 cazuri) și 91 voluntari sănătoși (lotul control). Toți participanții la studiu au fost adulți, (vârsta 39.2 ± 11.2 ani, femei/bărbați=1,3/1 în cazul pacienților și 40.5 ± 8.3 ani, femei/bărbați=1,28/1 în lotul control). **Rezultate.** Raportul între șansele persoanelor prezentând anticorpi anti-HP pozitivi și cele fără infecție cu *Helicobacter pylori*, de a dezvolta o afecțiune dermatologică este 2.2 pentru UCI, 0.46 pentru psoriazis, 0.51 pentru alopecia areata, 0.33 pentru lichen plan, 1.5 pentru rozacee, 0.84 pentru dermatita atopică, 0.30 pentru prurigo nodular. Șansa de a dezvolta UCI sau rozacee este mai mare pentru persoanele cu anticorpi anti-HP pozitivi față de persoanele fără infecție cu *Helicobacter pylori*, însă rezultatele studiului nu au avut semnificație statistică. Prezența infecției bacteriene agravează simptomatologia clinică în UCI, rozacee și dermatita atopică. Terapia de eradicare a infecției cu HP în urticaria cronică idiopatică ar putea conduce la reducerea simptomatologiei clinice în urticaria cronică idiopatică. **Concluzii.** Infecția cu *Helicobacter pylori* nu s-a dovedit a avea un rol determinant în apariția unor afecțiuni dermatologice, însă prezența bacteriei afectează expresia clinică și influențează efectul terapiei specifice afecțiunii cutanate

***Helicobacter pylori* seroprevalence in skin diseases**

Dinu Lucia¹, Nicolae Ilinca², Georgescu Simona Roxana³, Ciortea Marinela⁴, Diaconu Dumitru Iustin³

1. MedLife Clinic, Department of Dermato-Venerology, Bucharest; 2. Clinical Hospital of Infectious and Tropical Diseases "Prof. Dr. Victor Babeș", Research Department, Bucharest, 3. Clinical Hospital of Infectious and Tropical Diseases "Prof. Dr. Victor Babeș", Clinic of Dermato-Venerology, Bucharest; 4. UMF "Carol Davila", Bucharest

Objective. We conducted a case-control observational study, with the purpose of assessing the impact of *Helicobacter pylori* infection in a range of dermatological diseases. **Methods.** The study included 460 patients with: chronic idiopathic urticaria (CIU) (79 cases), psoriasis (58 cases), alopecia areata (102 cases), lichen planus (42 cases), rosacea (56 cases), atopic dermatitis (63 cases) and nodular prurigo (60 cases). The control group consisted of 91 healthy volunteers. All of the study participants were adults, (age 39,2±11,2 years, women/men= 1,3/1 in the study group and 40,5±8,3 years, women/man=1,28/1 in the control group). **Results.** The risk ratio of developing the skin disease between *Helicobacter pylori* (HP) infected patients and HP non-infected patients was 2,2 for CIU, 0,46 for psoriasis, 0,51 for alopecia areata, 0,33 for lichen planus, 1,5 for rosacea, 0,84 for atopic dermatitis and 0,3 for nodular prurigo. The risk of developing CIU and rosacea is higher for HP positive patients than for HP negative patients, but the study results didn't have statistical significance. The bacterial infection worsens clinical symptoms in CIU, rosacea and atopic dermatitis. The HP eradication therapy could lead to relief of clinical symptoms in CIU. **Conclusion.** *Helicobacter pylori* infection didn't have a dominant role for the developing of these skin diseases, but this bacterium affects clinical expression and influence specific therapy effect of these skin diseases.

P40.Rezistența la antibiotice a tulpinilor de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* identificate în parodontita agresivă

Badea Victoria¹, Nucă Cristina¹, Balaban Doina Paula¹, Grigorian Mircea¹, Șachir Erdogan¹, Badea Florin Ciprian¹, Gegiu Gabriela², Brânză Andrei Dan², Caraiane Aureliana¹

1. Universitatea „Ovidius” din Constanța, Facultatea de Medicină Dentară; 2. Universitatea „Ovidius” din Constanța, Facultatea de Farmacie

Introducere: Multe specii bacteriene patogene, inclusiv cele aparținând florei cavității orale, au devenit rezistente la antibiotice, după utilizarea expansivă a acestora în ultimii 15-20 de ani; în același timp, producerea de beta-lactamaze este frecvent asociată cu rezistența la antibiotice a bacteriilor din puna parodontală, printre care *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (A.a.) este strâns legată de parodontita agresivă. Scopul acestui studiu este de a determina prevalența A.a. producătoare de beta-lactamaze și rezistența la antibiotice a acestor tulpini identificate la pacienți cu parodontită agresivă. **Material și metode:** Douăzeci și nouă de pacienți (14 bărbați; 15 femei) au fost diagnosticați cu parodontită agresivă după examenul clinic parodontal (adâncimea pungii parodontale, sângerarea la palpare și indexul de placă). După identificarea convențională, producerea de beta-lactamaze a fost determinată prin folosirea de discuri cromogene impregnate cu nitrocefina (Becton Dickinson). Testarea sensibilității la antibiotice s-a făcut prin E-test (AbBiodisk, Suedia) folosind Amoxicilină, Amoxicilină-Acid Clavulanic, Clindamicină, Tetraciclină, Metronidazol, iar concentrația minimă inhibitorie a fost

comparată cu standardele de referință. Rezultate: Dintr-un total de 15 tulpini A.a. identificate, 6 (40.0%) au fost producătoare de beta-lactamaze; 11 (73.3%) au fost rezistente la Amoxicilină, 10 (66.7%) au fost rezistente la Clindamicină, 8 (53.3%) au fost rezistente la Metronidazol, 7 (46.7%) au fost rezistente la Tetraciclină. Dintre tulpinile rezistente la Amoxicilină, 4 (26.7%) au fost producătoare de beta-lactamaze. Toate tulpinile de A.a. studiate au fost sensibile la Amoxicilină-Acid Clavulanic. Adâncimea pungii parodontale s-a asociat cu prezența tulpinilor de A.a. identificate ($p < 0.001$). Concluzii: Rezultatele studiului nostru au arătat că Amoxicilina cu Acid Clavulanic este cel mai eficient antibiotic împotriva gregatibacter actinomycetemcomitans; expansiunea speciilor bacteriene producătoare de beta-lactamaze poate determina în viitor creșterea rezistenței la antibiotice. CUVINTE CHEIE: rezistența la antibiotice, bacterii, parodontită.

Antibiotic resistance of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* in aggressive periodontitis

**Badea Victoria¹, Nucă Cristina¹, Balaban Doina Paula¹, Grigorian Mircea¹, Şachir Erdogan¹,
Badea Florin Ciprian¹, Gegiu Gabriela², Brânză Andrei Dan², Caraiane Aureliana¹**

1. „Ovidius” University of Constanța, Faculty of Dental Medicine; 2. „Ovidius” University of Constanța, Faculty of Pharmacy

Background: Many pathogenic bacteria, including from oral flora, have become resistant to antibiotics, after expansive using of antibiotics in the last 15 to 20 years; in the same time, producing of beta-lactamases are frequently associated with antibiotic resistance in the periodontal pockets, where bacteria as *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (A.a.) are strongly associated with aggressive periodontitis. The aim of this study was to determine the prevalence of A.a. producing beta-lactamases and their antibiotic resistance in aggressive periodontitis patients. **Material and methods:** Twenty-nine patients (14 male; 15 female) were diagnosed with aggressive periodontitis after clinic periodontal exam (probing pocket depth, bleeding on probing, index plaque). After conventional identification, beta-lactamases production was assessed by using chromogenic nitrocefin disks (Becton Dickinson). Antimicrobial susceptibility testing was made by E-test (AbBiodisk, Sweden) using Amoxicillin, Amoxicillin-Clavulanic Acid, Clindamycin, Tetracycline, Metronidazole and minimal inhibitory concentrations were compared with a reference standard. **RESULTS:** From a total of 15 A.a. strains that were identified, 6 (40.0%) strains were producing beta-lactamases; 11 (73.3%) were resistant to Amoxicillin; 10 (66.7%) were resistant to Clindamycin, 8 (53.3%) were resistant to Metronidazole, 7 (46.7%) were resistant to Tetracycline. From the strains resistant to Amoxicillin 4 (26.7%) were positive for beta-lactamases. All A.a. strains studied were susceptible to Amoxicillin-Clavulanic Acid. Probing depth was positively associated with the presence of A.a. in all patients ($p < 0.001$). **Conclusions:** The results of our study have showed that Amoxicillin-Clavulanic Acid was the most active antibiotic against *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; extension of bacteria species producing beta-lactamases may lead in the future to expansion of antibiotic resistance. **Keywords:** antibiotic resistance, bacteria, periodontitis

P41.Studii privind acțiunea antibacteriană a extractelor apoase de *Prunus spinosa* L.

Gegiu Gabriela¹, Nucă Cristina², Bucur Laura¹, Grigorian Mircea², Brânză Andrei Dan¹, Badea Victoria²

1.Universitatea „Ovidius” Constanța, Facultatea de Farmacie; 2. Universitatea „Ovidius” Constanța, Facultatea de Medicină Dentară

Introducere: Rezistența la antibiotice este o problemă actuală și acum în secolul XXI, atât pentru clinicieni, cât și pentru cercetători, care au dificila sarcină de a descoperi antibiotice noi și eficiente în lupta împotriva bacteriilor. **Obiectiv:** Intoarcerea către natură și remediile posibile oferite de aceasta a fost o provocare pentru noi în cadrul studiului realizat. **Scopul studiului** este de a identifica eficiența antimicrobiană a extractelor apoase ale fructelor uscate din specia *Prunus spinosa* L., față de tulpinile de *Staphylococcus aureus*; evaluarea acțiunii antibacteriene a extractului, comparativ cu acțiunea a patru antibiotice. **Material și metode:** Din fructul uscat al plantei recoltat din Tulcea și Argeș, au fost preparate două extracte apoase. Studiul acțiunii antibacteriene s-a făcut prin metoda difuzimetrică și a fost interpretată comparativ cu: Ampicilina, Azitromicina, Claritromicina, Amoxicilina. **Rezultate:** Rezultatele obținute au arătat că extractele apoase din cele două zone acționează diferit pe tulpinile testate: extractul din zona Tulcea are efect antibacterian față de *S. aureus*, efectul inhibitor fiind de intensitate similară cu cel al Claritromicinei și mai mic comparativ cu celelalte trei, în timp ce extractul provenit din Argeș nu a avut efect antibacterian. Diferențele privind acțiunea antibacteriană sunt explicate prin faptul că proprietățile solului în care se dezvoltă aceeași plantă își pun amprenta în proporția unor elemente din compoziția acestora. **Concluzii:** Extractul apos realizat din produsul vegetal recoltat fructus al speciei *Prunus spinosa* L., zona Tulcea are activitate antibacteriană. Rezultatele studiului nostru demonstrează că specia *Prunus spinosa* L. poate fi utilizată pentru dezvoltarea de noi produse cu acțiune antibacteriană. **Cuvinte cheie:** *Prunus spinosa* L., acțiune antibacteriană, stafilococ.

Studies regarding the antibacterial action of water extracts of *Prunus spinosa* L.

Gegiu Gabriela¹, Nucă Cristina², Bucur Laura¹, Grigorian Mircea², Brânză Andrei Dan¹, Badea Victoria²

1.Ovidius University Constanta, Faculty of Pharmacy; 2. Ovidius University Constanta, Faculty of Dental Medicine

Introduction Resistance to antibiotics is a current problem now, in the 21st century, both for clinicians and scientists, who must discover new and more effective antibiotics against bacteria. **Objective:** The return to nature and the possible remedies offered by it, was a challenge for us in the study. The aim is to identify the antibacterial effectiveness of water extracts in the dry fruit of *Prunus spinosa* L., compared to the *Staphylococcus aureus* strains, and assessing the antibacterial action in comparison with the action of four antibiotics. **Material and methods:** Two water extracts were prepared out of the dry vegetal product fructus collected from Tulcea and Arges. The study of the antibacterial action was done by the diffusimetric method and was interpreted in comparison with: Ampiciline, Azitromicine, Claritromicine, Amoxiciline. **Results:** The results showed that the extracts from the two areas interact differently in the samples tested: the Tulcea extract has antibacterial effect on the *S. aureus*, the inhibi-

ing effect being of similar intensities to Claritromicine, and lower than the three other antibiotics; the Arges extract didn't have antibacterial effect. The differences are explained by the properties of the land in which the plants grow, that becomes evident in the properties displayed by their structure. Conclusions: The water extracts made from the vegetal product fructus of the species *Prunus spinosa* L, the Tulcea region, have an antibacterial action. The results of our study prove that the species *Prunus spinosa* L can be used for the development of new product with antibacterial action. Keywords: *Prunus spinosa* L, antibacterial action, *Staphylococcus*.

P42.Bacterii parodontopatogene implicate în boala parodontală identificate prin metode de biologie moleculară

Grigorian Mircea¹, Nucă Cristina¹, Martinescu Alina², Petcu Lucian¹, Caraiane Aureliana¹, Șachir Erdogan¹, Brânză Andrei Dan³, Badea Victoria¹

*1. Universitatea Ovidius din Constanța, Facultatea de Medicină Dentară;
2.Universitatea Ovidius din Constanța, Facultatea de Medicină; 3. Universitatea Ovidius din Constanța, Facultatea de Farmacie*

Introducere: Parodontita agresivă localizată (LAgP) este o boală care afectează peste 10% din tinerii europeni, ducând la pierderea rapidă a dinților permanenți. Datorită evoluției metodelor de biologie moleculară, azi putem să realizăm diagnostic bacteriologic folosind tehnologia ADN - reacția de polimerizare în lanț. Obiective: În această ordine de idei, am realizat un studiu pentru a evidenția o posibilă relație între bacteriile parodontale înalt patogene (*P. gingivalis*, *T. forsythensis* și *T. Denticola* – complexul roșu) și eventuala lor implicare în debutul LAgP, folosind pentru identificare o metodă de biologie moleculară de vârf. Material și metode: Am inclus în studiu 41 de subiecți (10 control și 31 cu LAgP – identificați în cadrul examinării clinice) care au fost evaluați prin examen clinic parodontal. Am prelevat lichid gingival și puroi parodontal, iar probele au fost analizate folosind tehnologia StripADN (MicroIDent® test). Rezultatele au fost interpretate statistic folosind SPSS 18. Rezultate: Grupul LAgP a fost împărțit în grupul A – 20 de pacienți cu adâncimea pungii parodontale (APP) între 4 și 5 și grupul B – 11 pacienți cu APP între 6 și 9. Există diferență semnificativă statistic ($p=0.0001$) între grupul de indivizi la care s-a identificat complexul roșu; există o corelație înaltă ($p<0.001$) între speciile bacteriene din complexul roșu, identificate astfel: 0.700 la APP 4-5 și 0.727 la APP 6-9. Concluzii: Studiul nostru demonstrează clar faptul că prezența bacteriilor din complexul roșu poate fi corelată cu statusul clinic și folosind această metodă de biologie moleculară specifică și foarte sensibilă putem evidenția prezența acestor specii bacteriene. Cuvinete cheie: Bacterii, Parodontită, PCR.

Periodontopathogenic bacteria involved in periodontal disease identified by molecular methods

Grigorian Mircea¹, Nucă Cristina¹, Martinescu Alina², Petcu Lucian¹, Caraiane Aureliana¹, Şachir Erdogan¹, Brânză Andrei Dan³, Badea Victoria¹

1.Ovidius University from Constanta, Faculty of Dental Medicine; 2.Ovidius University from Constanta, Faculty of Medicine; 3. Ovidius University from Constanta, Faculty of Pharmacy

Introduction: The localized aggressive periodontal (LAgP) is a disease that affects over 10% of the young European population, leading to a severe loss of permanent teeth. Due to evolution of molecular methods, nowadays we can have bacteriological diagnostic by using DNA-polymerase chain reaction technology. **Objective:** In this order, we aimed this research in highlighting a possible relationship between the very strong periodontopathogenic bacteria (*P. gingivalis*, *T. forsythensis* and *T. denticola* – the red complex) and their possible involvement in the onset of the LAgP by using a top molecular method for identification. **Material and methods:** We comprised 41 subjects (10 controls and 31 LAgP group - identified by clinically examination) in our study groups which were evaluated by clinic periodontal exam. We collected gingival fluid and periodontal pus and the samples we analyzed by using the DNA strip technology (MicroIDent® test). The results were statistical analyzed using SPSS 18. **Results:** The LAgP group was divided in group A – 20 patients with periodontal pocket depth (PPD) between 4 and 5 and group B - 11 patients with PPD 6 to 9. Considering the status without bacteria and the one with bacteria presence we observed a significant statistical difference ($p=0.0001$) in our groups. We have correlated proportions ($p<0.001$) of the red complex bacteria which are 0.700 in PPD 4-5 and 0.727 in PPD 6-9. **Conclusions:** Our study demonstrates clearly that the presence of the red complex bacteria can be correlated with the clinical status and by using this specific and very sensitive molecular method we can highlight the presence of this bacterial species. **Keywords:** Bacteria, Periodontitis, PCR.

P43.Studiu asupra unui caz de meningoencefalita în care s-a izolat *Listeria monocytogenes* din LCR

Lepa Carmen, Tudusciuc Dana , Drăgan Ana – Maria

Spitalul Clinic Municipal „Gavril Curteanu” Oradea - Laboratorul de analize medicale

Introducere: Listerioza, infecție umană dobândită pe cale alimentară are două aspecte clinice: toxinfecții și/sau infecții sistemice (meningoencefalite, bacteriemii). Incidența la nivel European a cazurilor sporadice de listerioza este în creștere. Specia cea mai întâlnită în infecțiile umane este *Listeria monocytogenes*. **Material și metode:** În cazul descris este vorba de un tânăr de 17 ani, cu manifestări de meningoencefalită, căruia i se recoltează lichid cefalorahidian. Numarul crescut de elemente celulare în LCR confirmă diagnosticul clinic de sindrom meningeal. Frotiul colorat Giemsa evidențiază prezența mononucleatelor în procent crescut. Însămânțarea se face pe medii uzuale, iar frotiul colorat GRAM din cultura obținută evidențiază forme cocobacilare GRAM pozitive dispuse în palisade și în unghi. Identificarea fiind dificilă se apelează la cardurile VITEK. **Rezultatele:** identificari din două specimene de lichid cefalorahidian recoltate din două zile consecutive sunt identice. Hemoculturile recoltate nu au evidențiat bacteriemie. Sensibilitatea la antibiotice s-a testat în sistem automat, confirmând buna sensibilitate in vitro a acestei specii. **Concluzii :** Prezentăm acest caz din punct de vedere al medicului de laborator aflat în fața unor aspecte paraclinice clasice

confirmate în sistem automat. Apreciem minimalizarea prevalenței acestui germene în patologia umană, necunoscându-se reala incidență a acestei patologii datorită identificării greu de făcut în lipsa unui tablou clinic și paraclinic de ansamblu și prin metodele uzuale.

Study of a case of meningoencephalitis in which *Listeria monocytogenes* was isolated from CSF

Lepa Carmen, Tudusciuc Dana , Dragan Ana – Maria

Spitalul Clinic Municipal „Gavril Curteanu” Oradea - Laboratorul de analize medicale

Introduction: Listeriosis, human infection acquired by food, has two clinical aspects: toxoinfections and/or systemic infections (meningoencephalitis, bacteriemia).

In Europe, incidence of sporadic cases of listeriosis is rising. The most frequent species in humans is *Listeria monocytogenes*. Material and methods: In the described case is mentioned a young man of 17 years, with symptoms of meningoencephalitis, and cerebrospinal fluid is obtained and sent to laboratory for analysis. High number of elements confirms meningeal syndrome. Giemsa smears shows mononuclear cells in high number. The fluid was inoculated on usual growth media, and GRAM smear from culture shows coccobacilar forms, GRAM positive, arranged in palisades and angles. Identification being difficult, VITEK identification was used. Results: Results of identification from two consecutive days are identical. Blood cultures remained negative. Antibiotic susceptibility testing was done on VITEK, confirming high sensitivity of the species, at least in vitro. Conclusions: We document this case from the laboratory practitioner's point of view, finding himself face to face with classical paraclinic aspects, confirmed by the automatic system. It is our opinion that the prevalence of this germ is minimized in human pathology, having trouble knowing the real incidence of this pathology.

P44. Incidența infecțiilor urinare cu *Enterococcus* spp.

Moș Ioana ¹, Lepa Carmen ², Tudusciuc Dana ², Zdrîncă Mihaela ¹, Iovan Radu ¹, Burtă Olivia Ligia ¹, Pelea Diana ¹, Marușca Patricia ¹

1. Universitatea Oradea - Facultatea de Medicină și Farmacie Oradea – Departamentul Discipline Preclinice; 2. Spitalul Clinic Municipal „Dr. Gavril Curteanu” Oradea - Secția Laborator Analize Medicale

Introducere: Enterococii sunt coci Gram-pozitivi care fac parte din flora normală a intestinului uman și animal, dar sunt de asemenea și importanți patogeni, putând cauza infecții cu diferite localizări. Obiective: Scopul lucrării este de a studia incidența infecțiilor urinare cu *Enterococcus* spp. și de a urmări variația acestora în funcție de vârstă, sex și asocierea cu alți germeni patogeni. Material și metodă: Studiul a cuprins 4062 de pacienți, 63,7% de sex feminin și 36,3% de sex masculin, cu vârsta medie de 45,93 ani, internați în Spitalul Clinic Municipal „Dr. Gavril Curteanu” Oradea, în perioada 01 ianuarie – 31 decembrie 2012. Recoltarea urinei s-a realizat din prima urină de dimineață, din jetul mijlociu, înainte de începerea tratamentului cu antibiotice. Urocultura s-a efectuat prin metoda ansei calibrate, iar identificarea germenilor pe baza caracterelor de cultură, a testelor biochimice sau a unor teste serologice. Rezultate: În 20,6% (834 cazuri) din cazuri bacteriuria a fost de peste 100 000 UFC/ ml urină, etiologia fiind dominată de *Escherichia coli* 11,8% (480 cazuri). *Enterococcus* spp. a fost izolat în 171 cazuri, în 1,6 % din cazuri (66 cazuri) ca singur agent etiologic, iar în 2,5 % din cazuri (105 ca-

zuri) în asociație cu un alt germene, cea mai frecventă asociere fiind cu *Escherichia coli* (2.1%). În ceea ce privește repartitia pe sexe, se observă o frecvență crescută a infecțiilor la sexul feminin (110 cazuri), în celelalte etiologii, exceptând *Escherichia coli*, fiind o distribuție sensibil egală pe cele două sexe. De asemenea, frecvența infecțiilor urinare cu *Enterococcus* spp. crește cu vârsta, vârsta medie a pacienților fiind 61 de ani. Concluzii: Studiul evidențiază o incidență crescută a infecțiilor urinare cu *Enterococcus* spp., ocupând locul doi ca frecvență, precum și existența unor variații semnificative în raport cu vârsta și sexul pacienților.

The incidence of urinary tract infections with *Enterococcus* spp.

Moș Ioana¹, Lepa Carmen², Tudusciuc Dana², Zdrîncă Mihaela¹, Iovan Radu¹, Burtă Olivia Ligia¹, Pelea Diana¹, Marușca Patricia¹

*1.University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy - Department of Preclinical Sciences;
2.Municipal Clinical Hospital "Dr. Gavril Curteanu" Oradea - Department of Laboratory Analysis*

Introduction: Enterococci are Gram-positive cocci that are part of the normal gastrointestinal flora in humans and animals, but they are also important pathogens which can cause infections with various locations. **Aims:** The aim of this work is to study the incidence of urinary tract infections with *Enterococcus* spp. and to track variations of these by age, sex and association with other pathogens. **Materials and methods:** The study was performed in 4062 patients, 63.7% females and 36.3% males, with a mean age of 45.93 years, admitted to the Municipal Hospital "Dr. Gavril Curteanu" Oradea, in a period of a year from 1 January to 31 December 2012. Collection of urine was made in the morning, via the clean-catch midstream technique, before starting treatment with antibiotics. A urine culture was performed using calibrated loops method and germs were identified according to the culture characters, biochemical tests and some serological tests. **Results:** In 20.6% (834 cases) of cases bacteriuria was more than 100 000 CFU / ml urine and the most important etiological agent was *Escherichia coli*, 11.8% (480 cases). *Enterococcus* spp. was isolated in 171 cases: 1.6% of cases (66 cases) as a single etiologic agent, and in 2.5% of cases (105 cases) in association with another germ. The most common association was with *Escherichia coli* (2.1%). In terms of gender distribution, urinary tract infections with *Enterococcus* spp. were more frequent in women (110 cases). In other etiologies, except *Escherichia coli*, is an almost equal distribution in both sexes. Also, frequency of urinary tract infections with *Enterococcus* spp. increases with age, the average age of patients was 61 years. **Conclusions:** The study shows a high incidence of urinary tract infections with *Enterococcus* spp., occupying a second place as frequency and there are significant variations according to the age and sex of patients.

P45.Detectarea contaminării anaerobe parodontale prin hidroliza plăcii bacteriene cu benzoil-DL-arginin-naftilamida

Pușcașu Cristina Gabriela, Nucă Cristina, Ciobanu Gabriela, Caraiane Aureliana

Universitatea Ovidius din Constanța, Facultatea de Medicină Dentară

Obiectivele studiului constau în: (1) evaluarea utilității testului microbial-enzimatic BANA bazat pe hidroliza plăcii bacteriene cu benzoil-DL-arginin-naftilamidă pentru evidențierea a trei specii patogene parodontale (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis* și *Treponema denticola*); (2) stabilirea unei posibile corelații între severitatea bolii parodontale și rezultatul testului. Material și me-

toată: Testul microbian-enzimatic BANA a fost utilizat pentru analiza plăcii subgingivale a 75 de pacienți cu vârste cuprinse între 20-45 de ani, diagnosticați cu boală parodontală. Mostrele au fost recoltate din patru zone cu ajutorul chiuretelor parodontale și plasate pe banda testului. După introducerea la incubator la 55 grade Celsius pentru 5 minute apare o colorație albastră în cazul prezenței unei concentrații sporite a germenilor aparținând celor trei specii. Rezultatele: evaluării statistice (MedCalc®, version 7.3.0.1.) arată corelații între rezultatele testelor și gradul destrucției parodontale evaluat prin adâncimea maximă de sondaj (indice rho =0,752, $p<0.00001$). Majoritatea pungilor examinate (87%) conțin una sau mai multe din cele trei specii parodontale (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis* și *Treponema denticola*) în concentrații ridicate, specii recunoscute ca fiind un indicator pentru evoluția bolii parodontale. Nu există corelații între rezultatele BANA și cantitatea de placă bacteriană evaluată cu ajutorul indicelui de placă (indice rho=0,325, $p=0,0118$). Concluzie: Testul BANA poate avea aplicabilitate în practică fiind util în cadrul managementului terapeutic al bolnavului parodontopat.

Detection of anaerobic periodontal infections based on plaque hydrolysis of benzoyl-DL-arginine-naphthylamide

Pușcașu Cristina Gabriela, Nucă Cristina, Ciobanu Gabriela, Caraiane Aureliana

Ovidius University Constanta, Faculty of Dental Medicine

The objectives: of the study are: (1) to assess the effectiveness of microbial-enzymatic BANA test based on plaque hydrolysis of benzoyl-DL-arginine-naphthylamide in evaluation of three periodontal pathogens (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis* and *Treponema denticola*), (2) to check if there is correlation between the severity of periodontal disease and the results of the test. Method: Microbial-enzymatic BANA test was used to analyze the subgingival microbiota of 75 patients aged 20 to 45 years old, diagnosed with periodontal disease. Subgingival plaque samples were collected with periodontal curettes from 4 sites for each patient and placed on test strip. Strips are incubated for 5 minutes at 55 Celsius degrees temperature. If BANA positive species are present, a permanent blue coloration is found. Results: of the statistical evaluation (MedCalc®, version 7.3.0.1.) show correlation between results of BANA test and the degree of periodontal destruction assessed by maximum probing depth (rho index=0,752, $p<0.00001$). Most of areas evaluated (87%) are associated with the presence of high bacterial load of one or more of the three species (*Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythensis* and *Treponema denticola*), which are known as an important indicator for the evolution of the periodontal destruction. Between BANA test results and plaque index it could not be found a statistical significant correlation (rho index=0,325, $p=0,0118$). Conclusion: BANA test can have applicability in practice being helpful in the management of the periodontally diseased patient.

P46.Valoarea clinică a evaluării prezenței a 20 de specii microbiene printr-un test ADN la pacienții cu boală parodontală

Puşcaşu Cristina Gabriela , Caraiane Aureliana, Dumitriu Anca Silvia

Universitatea Ovidius din Constanța, Facultatea de Medicină Dentară

Introducere: Există preocupări pentru realizarea unor teste rapide, cu costuri rezonabile, care să identifice printr-o singură analiză cât mai multe dintre speciile patogene parodontal. În acest sens tehnologia ADN pare să îndeplinească aceste criterii. Obiectivele studiului constau în evaluarea utilității în practică a unui astfel de test, capabil să evidențieze prezența a 20 dintre cei mai frecvent întâlniți germeni la nivelul parodonțiului, precum și descrierea ratei de apariție a acestor specii. Material și metodă: Mostre de placă subgingivală au fost prelevate cu ajutorul conurilor de hârtie sterile introduse pentru 20 secunde în pungile parodontale de 4-6 mm și peste 6 mm. Pentru fiecare pacient au fost efectuate 4 recoltări ; probele au fost introduse în tuburi individuale de 1,5 ml închise ermetic și trimise la laborator. A fost utilizat un test capabil să detecteze prezența a 20 de specii bacteriene - ADN Perio-bacteria (analizele au fost făcute la laboratorul ADD International, Olanda). Subiecții, diagnosticați cu parodontită cronică nu au afecțiuni sistemice asociate și nu au urmat tratament parodontal specific și nici antibioterapie în ultimele 3 luni. Rezultate :Din complexul roșu care unește speciile cu grad înalt de patogenitate a fost detectată încărcătură bacteriană extrem de ridicată a speciei *Porphyromonas gingivalis* în toate probele , iar *Tannerella forsythensis* a fost găsit în concentrație ridicată la 50% din probe. Din cadrul speciilor aparținând complexului oranj, specii de asemeni patogene parodontal *Fusobacterium nucleatum* a fost detectat în concentrații mari în 35% din probe. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* a fost detectat în concentrații reduse în toate probele. Evaluarea globală a prezenței și concentrației speciilor microbiene patogene indică utilitatea efectuării unei terapii sistemice cu metronidazol. Toate probele conțin bacterii suficiente din complexe microbiene galben și mov, specii care vor contribui la vindecarea parodontală. Concluzie. Acest test, ușor de efectuat oferă o viziune completă asupra încărcăturii microbiene și repartiției pe specii atât patogene cât și saprofite, orientând clinicianul asupra antibioterapiei specifice fiecărui caz clinic.

Clinical value of DNA testing of 20 microbial species in patients with periodontitis

Puşcaşu Cristina Gabriela , Caraiane Aureliana, Dumitriu Anca Silvia

Ovidius University Constanta, Faculty of Dental Medicine

Background: There has been a significant amount of interest in developing a more rapid and cost-effective test to identify bacterial pathogens. DNA technology may meet both these objectives. Objectives. To assess the clinical effectiveness of the DNA testing of 20 microbial species in the periodontal practice and to describe the detection rates of these species. Methods: Subgingival plaque samples were taken using paper points from four pockets with 4–6 mm and over 6mm in each patient. The paper points were inserted into the bottom of the pocket of the test teeth and left in place for 20 seconds. They were then placed into individual 1.5ml screw capped tubes and sent them to the lab. Samples were analyzed for their content of 20 bacterial species using DNA Perio-bacteria -Test (samples were sent to ADD International, Nederland). Including criteria: good general health and no periodontal treatment or systemic antibiotics in the previous 3 months. Results: Extremely high bacteri-

al load were found from species of red complex *Porphyromonas gingivalis* in all samples. *Tannerella forsythensis* was found as extremely high concentration in 50% of the samples. From the orange complex *Fusobacterium nucleatum* was found in extremely high bacterial load in 35 % of the samples. *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* was found below cut-off in the majority of the samples. Test results indicate that pathogen bacteria found are sensible to systemic metronidazole medication. All samples had sufficient bacterial species from yellow and purple complex which are expected to contribute to the periodontal healing. Conclusion: The test is easy to be done and is offering a wide bacterial overview regarding pathogen and favorable subgingival microbiota, including also the antibiotic sensibility of the present bacteria.

R26. The most common mistakes in preanalytical phase of laboratory testing

Palicka Vladimír

Institute for Clinical Biochemistry and Diagnostics, University Hospital of Charles' University, School of Medicine, Hradec Kralove, Czech Republic

Laboratory results are mostly decisive in diagnostics, risk identification, therapy monitoring and prognosis prediction in nearly all diseases. At minimum 80-90 % of all objective data are results of laboratory or other complementary departments. We should keep in mind that only high-quality information (result) is of value, all the others are dangerous. The definition of laboratory error according the ISO/PDTS 22367 is "A defect occurring at any part of the laboratory cycle, from ordering tests to reporting results and appropriately interpreting and reaction to these". We could approximate that about 10-20 % of errors negatively influence health care quality and about 3 % of errors are of direct influence on patient's safety. The effort of the last years leads to dramatic improvement of analytical part of our work, which has only about 15% of influence on total laboratory error, nowadays. On the other hand preanalytics is of the biggest influence and risk, and is responsible for two thirds of the total error risk. The most common reasons of pre-analytical errors are misidentification, sampling error (wrong tube, inappropriate amount of sample, etc.), clotting, missing sample and/or request, and wrong preparation of patient. Haemolysis is definitely the most common problem in pre-analytical part of our work; the misidentification is considered as rare and seldom, which is not true. Special care is necessary in preanalytical part of molecular biology testing, DNA isolation and RNA stabilization. The separate chapter is the compliance of health care staff, nurses, phlebotomists and laboratory technicians, which should be taken into the global consideration, too.

C27. Procesul de remodelare osoasa în osteoporoza postmenopausală

Gurban Camelia Vidita¹, Balas Melania², Gotia Laura³, Gotia Smaranda³

1. *Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara, Disciplina Biochimie*, 2. *Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara, Disciplina Endocrinologie*, 3. *Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara, Disciplina Fiziologie*.

Introducere: Remodelarea osoasă este un proces ciclic, care implică osteoclastele (cu rol în resorbție) și osteoblastele (care asigură osteosinteza). Obiective: Studiul analizează rolul markerilor osoși în procesul de remodelare osoasă și corelarea concentrațiilor acestora cu densitatea minerală osoasă

(DMO), în osteoporoza postmenopauzală. Material și metode: Studiul a inclus 2 grupuri de paciente cu osteoporoza postmenopauzală (în funcție de perioada de deprivare estrogenică): grupul I (n=80, cu <15 ani deprivare estrogenică) și grupul II (n=42, cu peste 15 ani deprivare estrogenică) și un grup control (n=36, femei postmenopauzale fără osteoporoza). DMO a fost evaluat prin osteodensitometrie DXA, cu determinarea scorului T la nivel lombar și femural. Nivelele serice ale markerilor osoși au fost determinate prin tehnica ELISA. Rezultate: Nivelele serice ale estrogenilor au fost scăzute la ambele grupuri de studiu, asociate cu scăderea DMO ($p<0.01$, respectiv $p<0.02$). Nivelele serice ale markerilor osteoformatori (osteoprotegerina, fosfataza alcalină specific osoasă, osteocalcina, propeptidele colagenice de tip 1) au fost crescute la grupul I (+12.5%, $p<0.001$) și semnificativ scăzute la grupul II (-40.6%, $p<0.001$). Nivelele serice ale markerilor osteoresorbtivi (ligand al osteoprotegerinei, fosfataza acidă tartrat rezistentă, dezoxipiridolina totală, telopeptidele collagenului tip 1) au fost semnificativ crescute la ambele grupuri: (grupul I: +30.4%, $p<0.001$ și grupul II: +61.2%, $p<0.002$), vs. grupul control. Concluzii: În osteoporoza postmenopauzală deficitul estrogenic determină o creștere a turnover-ului osos, dar cu o rată a rezorbției osoase mai mare decât rata formării. Acest dezechilibru determină demineralizare osoasă, favorizând apariția microfracturilor osoase osteoporotice.

Bone remodelling process in postmenopausal osteoporosis

Gurban Camelia Vidita¹, Balas Melania², Gotia Laura³, Gotia Smaranda³

1. University of Medicine and Pharmacy "Victor Babeș" Timișoara, Department of Biochemistry,
2. University of Medicine and Pharmacy "Victor Babeș" Timișoara, Department of Endocrinology, 3.
University of Medicine and Pharmacy "Victor Babeș" Timișoara, Department of Physiology

Background: Bone turn-over represents a cyclic process, which involves the osteoclasts (responsible for resorption) and the osteoblasts (responsible for bone synthesis). Objective: The aim of the study was to evaluate the implication of bone turn-over markers in the bone remodelling process and the correlation of their serum concentrations with the bone mass density (BMD), in postmenopausal osteoporosis. Material and methods: The study included two groups of postmenopausal women with osteoporosis (based on the estradiol deprivation duration): group I (n=80, with less than 15 years of deprivation), group II (n=42, with more than 15 years of deprivation), and a control group (n=36, postmenopausal women without osteoporosis). BMD was assessed by DXA osteodensitometry, with the determination of T-score at lumbar and femoral levels. The serum concentration of bone turn-over markers were determined using ELISA technique. Results: The estradiol level was decreased in both study groups, correlated with low BMD ($p<0.01$, respectively $p<0.02$). The concentrations of bone formation markers (osteoprotegerin, bone-specific alkaline phosphatase, osteocalcin, propeptide of type 1 collagen) were increased in group I (+12.5%, $p<0.001$) and decreased in group II (-40.6%, $p<0.001$). The levels of antiresorptive markers (protegerin ligand, tartrate-resistant acid phosphatase, total deoxypyridinoline, C-terminal telopeptide of type 1 collagen) were significantly increased in both groups (group I: +30.4%, $p<0.001$, respectively group II: +61.2%, $p<0.002$), vs. control group. Conclusion: In postmenopausal osteoporosis, estrogen deficiency determines an increased bone turn-over, with a higher rate of bone resorption than formation. This imbalance leads to bone demineralization and increased risk for osteoporotic microfracture.

R28. Are bone markers still of any value in osteoporosis?

Vladimir Palicka

Osteocentre, University Hospital a Charles' University, School of Medicine, Hradec Kralove, Czech Republic

Osteoporosis is a systemic and progressive disease of the skeleton, characterised by the decrease of bone mineral content, damaged bone microarchitecture and increased bone fragility. Dual Energy X-Ray Absorptiometry (DXA) bases diagnostic methods in metabolic bone diseases (osteoporosis) on clinical investigation and measurement of bone mineral density. Metabolic activity of bone cells, speed of anabolic and resorptive processes in bone tissue is better reflected by the measurement of bone markers. Bone markers are cellular and extracellular components of the skeleton and skeletal matrix released into the bloodstream (and urine) during the bone formation and/or resorption as well as the enzymatic activity associated with the osteoblast or the osteoclast function. Formerly the activity of alkaline phosphatase (and its bone isoenzyme) and osteocalcin for anabolic processes and pyridinoline crosslinks and acid phosphatase activity for resorption were of most use. Nowadays the best markers for osteoanabolic measurement is represented by P1NP; resorption is usually measured by CTx determination. Bone markers have many advantages as well as disadvantages - great intra- and inter-individual variability and diurnal changes. Standardization is missing. For these reasons they are sometimes neglected and considered as unnecessary. On the other hand they are one of the best indicators of tested drug efficacy and the only way for rapid detection of the effect of drug therapy. Bone markers are of great help in differential diagnostics of metabolic bone diseases. By increasing the standardization and interlaboratory transferability we can increase the value of bone markers and laboratory role in clinical care in bone metabolic diseases.

C29. Influența anti-inflamatoarelor nesteroidiene asupra nivelului citokinelor în fluidul de drenaj, după artroplastie totală de șold

Sorin Tudor Pop¹, Istvan Gergely¹, Adina Huțanu², Ciprian Roman¹, Enache Elena Luminita³, Minodora Dobreanu³

1 UMF Tîrgu Mureș, Disc Ortopedie, 2 Spitalul de Urgență Tîrgu Mures, Laboratorul Medical Central, 3 UMF Tîrgu Mureș, Disc Laborator-Biochimie Clinică

Introducere: Multiple citokine (CKs) sunt implicate în vindecarea plăgilor, precum și în alte reacții inflamatorii aseptice. Terapia anti-inflamatoare nesteroidiană (NSAI) este folosită frecvent cu scopul de a diminua răspunsul inflamator după artroplastie totală de șold (THA) și pentru a preveni efectele secundare inflamației (cum ar fi desprinderea aseptică a protezei și osificările heterotopice). Cele mai multe studii se axează pe determinarea profilului seric al CK, mult mai puține fiind acelea care studiază secrețiile de la locul intervenției chirurgicale. Scopul studiului nostru a fost acela de a caracteriza profilul CK în lichidul de drenaj la pacienți cu THA și cu terapie de scurtă durată cu NSAI și de a identifica eventuali factori predictivi pentru evoluția statusului inflamator.

Metode: Am efectuat un studiu prospectiv înrolând 45 de adulți care au fost operați pentru THA într-un interval de 4 luni. Pacienții au fost randomizați în două grupuri, la unul dintre acestea administrându-se preoperator NSAI. S-a monitorizat evoluția clinică (temperatura, volumul lichidului drenat) și anumite date biologice (VSH, fibrinogen, concentrația CRP), respectiv a unor CK pro-inflamatorii și

anti-inflamatorii: nivelele IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-10 și IL-13 au fost analizate prin metode imunoenzimice în fluidele de drenaj colectate la finalul intervenției chirurgicale, respectiv patru ore mai târziu. Rezultate: În analiza finală au rămas 40 de pacienți (62 $\pm$ 7 ani, 43% bărbați), dintre care 20 au primit NSAİ. Numărul pacienților cu febră moderată postoperator (37-38°C) pentru o perioadă mai lungă de 2 zile, a fost nesemnificativ mai mare la pacienții netratați cu NSAİ (40% vs 25%). Volumul lichidului drenat din plaga operatorie în timpul intervenției a fost 315 $\pm$ 185 mL la pacienții fără NSAİ, respectiv 285 $\pm$ 130 mL la pacienții cu NSAİ. Volumele colectate patru ore mai târziu au fost semnificativ mai mari (p<0.005), la întreg grupul; rata de multiplicare a volumului colectat la patru ore față de volumul drenat intraoperator a fost de două ori mai mare la pacienții tratați cu NSAİ. Nivelele CK au crescut semnificativ (p<0.001) la toți pacienții, în lichidul colectat la patru ore post-operator: cu factori de 15 și respectiv 35 (pentru IL-1 β), 125 și 475 (pentru IL-6), 175 și 245 (pentru TNF- α), 160 și 90 (pentru IL-10), la pacienții tratați, respectiv netratați cu NSAİ. Pacienții care au primit NSAİ au avut nivele semnificativ crescute ale IL-13 la patru ore post-operator (p<0.05) comparativ cu pacienții netratați cu NSAİ. Indexul CK pro-inflamatorii/pro-resorbitive (IL-1, IL-6 și TNF- α) a crescut mai puțin comparativ cu acela al CK anti-inflamatorii / anti-resorbitive (IL-10 and IL-13), la pacienți care au primit NSAİ, comparativ cu ceilalți. La pacienții la care procedura chirurgicală THA s-a efectuat cu cimentarea protezei s-au observat factori de multiplicare mai mici pentru toate CK, comparativ cu rezultatele obținute la grupul cu protezele implantate fără cimentare.

Conclusion: Profilul citokinic a fost unul pro-inflamator, în special la pacienții care nu au primit NSAİ. Inițierea terapiei NSAİ înainte de THA reprezintă o modalitate de a reduce indexul inflamator al CK eliberate din plagă.

Influence of nonsteroidian anti-inflammatory therapy on cytokine levels in drainage fluid after total hip arthroplasty

Pop Sorin Tudor¹, Gergely Istvan¹, Huțanu Adina², Roman Ciprian¹, Enache Elena Luminita³, Doboreanu Minodora³

1.UMF Țirgu Mureș, Dept Orthopedics; 2. Emerg Hosp Țirgu Mures, Central Medical Laboratory; 3 UMF Țirgu Mureș, Dept Clinical Biochemistry – Laboratory

Introduction: Multiple cytokines (CKs) are involved in wound healing and other aseptic inflammatory reactions. Nonsteroidian anti-inflammatory therapy (NSAİ) are frequently used in order to decrease inflammatory response after total hip arthroplasty (THA) and to prevent side effects of high inflammatory status (like aseptic prosthetic loosening and heterotopic ossification). Most data on the CK profile after surgery are based on serum determinations and much less on the secretions at the site of surgery. Our aim was to characterize local inflammatory CK outcomes in drainage fluid following short-term NSAİ initiated before THA and to identify predictive factors for optimal evolution.

Methods: We performed a prospective observational study considering 45 consecutive adults admitted for THA in a period of 4 months. Patients were randomized into two groups based on pre-operative therapy with NSAİ. Clinical outcome (body temperature, volume of drainage liquid) and biological data (ESR, fibrinogen, CRP concentrations) were collected, including pro-inflammatory and anti-inflammatory CKs: IL-1 β , IL-6, TNF- α , IL-10 and IL-13 were analysed by immunoenzymatic assays in drainage fluids collected at the end of operation and four hours later.

Results: We enrolled 40 patients (62 $\pm$ 7 years, 43% men) of whom 20 received NSAİ. Number of patients with moderate fever (37-38°C degree) for more than 2 days post-surgery, was insignificantly

higher in patients without NSAID (40% vs 25%). The average drain secretion in the time of surgical procedure was 315 ± 185 mL in patients without NSAID, and 285 ± 130 mL in patients with NSAID, respectively. Significantly higher volumes were collected 4 hours post-surgery ($p < 0.005$), in entirely group of patients; multiplication rate was two times higher in patients treated with NSAID. The levels of CKs increased significantly ($p < 0.001$) in all NSAID treated respectively non-treated patients, between the end of surgical procedure and four hours postoperatively: by a factor of 15 and 35 (for IL-1 β), 125 and 475 (for IL-6), 175 and 245 (for TNF- α), 160 and 90 (for IL-10). Patients who received NSAID had significantly higher IL-13 levels 4 hours post-surgery ($p < 0.05$) comparatively with patients without NSAID. Index of pro-inflammatory/pro-resorptive CKs (IL-1, IL-6 and TNF- α) increased with a lesser extent comparatively with anti-inflammatory / anti-resorptive CKs (IL-10 and IL-13), in patients who did, respectively did not receive NSAID. Patients who had cemented implants had lower multiplication factors for all CKs. Conclusion: Cytokine profile was pro-inflammatory particularly in patients not receiving NSAID. Initiating NSAID before THA represents an opportunity to reduce inflammation index of CKs released at the operation site.

R30. Association of 25-Hydroxyvitamin D with diseases of high prevalence : hypertension and ovarian cancer

Sypniewska Grazyna¹, Pollak Joanna¹, Walentowicz Malgorzata, Grabiec Marek, Krintus Magdalena²

1. Department of Obstetrics and Gynecology, Collegium Medicum, Bydgoszcz, Poland, Nicolaus Copernicus University; 2. Department of Laboratory Medicine, Collegium Medicum

Objectives: There are various vitamin D insufficiency manifestations including osteoporosis, cancer, cardiovascular diseases and hypertension. 25-hydroxyvitamin D (25(OH)D) insufficiency is highly prevalent in general population and presents a serious public health problem. Low serum 25(OH)D concentration is associated with higher risk of hypertension. Among cancers of female reproductive system, ovarian cancer became the most common and the leading cause of death from gynecological cancers. Several studies evaluated the possible association of cancer with 25(OH)D status, however only a few concerned its association with ovarian cancer. We examined the links of 25(OH)D3 with biomarkers of endothelial function and subclinical organ damage in adults with newly diagnosed hypertension and 25(OH)D3 concentration in ovarian cancer patients in relation to overall 5-year survival. **Methods:** In the first study laboratory assays including serum 25(OH)D3, hsCRP, intercellular adhesion molecule (sICAM), pulse wave velocity (PWV), intima-media thickness (IMT) measurements were performed in 98 hypertensives and 60 controls. The second study included 72 epithelial ovarian cancer patients who underwent optimal cytoreductive surgery in whom 25(OH)D3 was measured. **Results:** 25(OH)D3 was significantly lower in patients with hypertension and correlated with SBP ($r = -0.39$), PWV, IMT ($r = -0.33$) and DBP ($r = -0.26$). 25(OH)D3 and sICAM, PWV or IMT explained 25%, 21% and 23% of SBP variation. In ovarian cancer patients with 25(OH)D3 > 10 ng/mL overall 5-year survival rate was significantly higher. **Conclusions:** 25-hydroxyvitamin D may influence on SBP as a mediator of endothelial function and subclinical organ damage. 25(OH)D3 deficiency associated with lower overall survival rate suggests aggressive course of ovarian cancer.

R31. Autoanticorpii față de antigenele asociate tumorilor și autoanticorpii naturali biomarkeri potențiali în diagnosticul și managementul tumorilor maligne

Eugen Carasevici¹, Didona Anca Ungureanu^{2,3}, Daniela Jitaru¹

1. Institutul Regional de Oncologie, Iasi; 2. Universitatea de Medicină și Farmacie Gr. T. Popa, Iasi ; 3. Spitalul Clinic Județean de Urgențe St. Spiridon, Iasi

Scopul generării și dezvoltării sistemului imun este preservarea și reglarea homeostaziei moleculare a organismului, inclusiv eradicarea patogenilor. Ca urmare celulele B autoreactive, autoanticorpii și celulele T autoreactive sunt selectate predominant timpuriu în ontogenie necesitând o afinitate slabă în cursul screeningului continuu al statusului antigenic self. Codate de genele liniei germinale fără, sau cu puține mutații, autoanticorpii naturali sunt tipic multireactivi și nu sunt supuși deobicei maturației de afinitate. Acești autoanticorpi naturali, prezenți la toți indivizii normali, predominant de izotip IgM, dar de asemenea, de clase IgG și IgA, și reactivi cu o serie de proteine serice, structuri celulare de suprafață, sau intracelulare, înzestresc sistemul imun cu cele mai adecvate informații biomarker despre statusul organismului implicat în managementul unui program inflamator normal.

Persoanele sănătoase dețin în fondul lor de autoanticorpi naturali imunoglobuline, de obicei de izotip IgM, care sunt reactive cu variate antigene asociate tumorilor, cel mai adesea epitopi tumorali carbohidrat.

În timpul dezvoltării tumorilor, răspunsul în anticorpi oferă deasemenea informații asupra factorilor implicați în procesul prin care componentele celulare devin imunogenice. Autoanticorpii s-au dovedit a avea o incidență persistentă și specifică la pacienții cu malignități și în conexiune cu parametrii clinici. Un panel de autoanticorpi specifici față de diverse antigene, mai curând decât față de unul singur, poate atinge o sensibilitate și specificitate înaltă, și poate deveni set de biomarkeri de relevare precoce a antigenelor asociate tumorii, înainte chiar ca metodele clinice standard să poată stabili diagnosticul pozitiv. De asemenea profilul anticorpilor va discrimina între diverse tipuri de tumori și va oferi un instrument de monitorizare a răspunsului la tratament, inclusiv imunoterapie.

Auto-antibodies to tumor associated antigens and natural auto-antibodies potential biomarkers for cancer diagnosis and management

Eugen Carasevici¹, Didona Anca Ungureanu^{2,3}, Daniela Jitaru¹

1. Regional Institute of Oncology, Iasi; 2. Gr. T. Popa University of Medicine and Pharmacy, Iasi; 3. St. Spiridon Clinical and Emergency County Hospital, Iasi

The end of immune system generation and development is preservation and regulation of the body molecular homeostasis including eradication of pathogens. Therefore autoreactive B cells, autoantibodies and autoreactive T cells are predominantly selected early in ontogeny requiring a weak reactivity during the continuous screening of self antigenic status. Encoded by germline genes with no, or few, mutations, natural autoantibodies are typically multireactive and do not undergo usually affinity maturation. These natural autoantibodies, found in all normal individuals, are predominantly of the IgM isotype, but also of IgG and IgA classes, and reactive with a variety of serum proteins, cell surface or intracellular structures thus providing the immune system with just the right kinds of biomarker information about body state needed to manage a healthy inflammatory program.

Healthy persons carry within their pool of naturally autoantibodies immunoglobulins preferentially of IgM isotype, which are directed against a variety of tumor-associated antigens, largely distinct tumor associated carbohydrate epitopes.

During tumor development the autoantibody response also provides insights into factors related to how cellular components may be rendered immunogenic. Autoantibodies have proved to be of recurrent and specific incidence in patients with malignancies and linked with clinical parameters. A panel of autoantibodies targeting different antigens, rather than a single specificity, can reach high sensitivity and specificity, and may be useful as early detection biomarkers to tumor associated antigens before a positive diagnostic obtained by standard clinical procedures occur. Also the antibody profiles will discriminate between types of tumors, and offer a tool for monitoring the response to treatment, including immunotherapy.

C32. Anticorpi autoimuni în diagnosticul de laborator al bolilor neurologice

Nemes-Nagy Enikő¹, Al-Aisa Abtessam Nariman², Albert Karola², Fazakas Zita¹, Victor Balogh-Sămărghișan¹

1. Universitatea de Medicină și Farmacie, Tîrgu Mureș, Disciplina de Biochimie Medicală, 2. Universitatea de Medicină și Farmacie, Tîrgu Mureș, studentă

Numeroși markeri imuni se utilizează în diagnosticul modern de laborator. Scopul acestui studiu este prezentarea importanței unor markeri imuni în bolile neurologice și corelația dintre aceștia. Metodă: Am prelucrat datele pacienților internați la Clinica de Neurologie I din Tîrgu Mureș (n=143), care au beneficiat de doze ai unor markeri imuni la Laboratorul Marmed pe parcursul anului 2012 (anticorpi antinucleari, antiADN nativ, anticardiolipină IgG și IgM). Determinarea autoanticorpilor s-a efectuat prin metoda ELISA cu ajutorul aparatului StatFax 3200. Vârsta medie a pacienților a fost 46,3 ani +/-14,5 (SD). 48,3% dintre cei studiați au prezentat boli cardiovasculare. Prelucrarea statistică a rezultatelor s-a efectuat cu programul GraphPad InStat. Rezultate: Bolile vasculare stau de multe ori la baza bolilor neurologice. Pacienții studiați includ cazuri prezentând tromboze la vîrstă tînră, boli autoimune, etc. Am obținut corelație statistică între anticorpii antinucleari și anti-ADN nativ ($r=0,6511$, $p<0,0001$). La 11,4% dintre pacienții secției de neurologie testați am observat valori patologice de anticorpi antinucleari, în special la cei cu boli autoimune și neuropatii, respectiv la 7,1% dintre pacienți anticorpii anti-ADN nativ au fost crescuți. În trei cazuri de tromboză precoce s-a putut observa deficitul metilen-tetrahidrofolat reductazei (metoda PCR), care cauzează valori crescute de homocisteină. Concluzii: Markerii imuni au rol important în diagnosticul și monitorizarea bolilor neurologice. Există corelație între anumiți anticorpi autoimuni, și la pacienții suferind de boli autoimune valorile patologice.

Autoimmune antibodies in laboratory diagnosis of neurological diseases

Nemes-Nagy Enikő¹, Al-Aisa Abtessam Nariman², Albert Karola², Fazakas Zita¹, Victor Balogh-Sămărghițan¹

1. University of Medicine and Pharmacy, Tîrgu Mureș, Medical Biochemistry Department, 2. University of Medicine and Pharmacy, Tîrgu Mureș, student

Several immune markers are used in the modern laboratory diagnosis. The aim of this study is to present the importance of immune markers in neurological diseases and the correlation between them. Method: We processed the data of patients hospitalized at the I. Clinic of Neurology in Tîrgu Mureș (n=143), who had immune marker dosage at the Marmed Laboratory during 2012 (antinuclear antibodies, anti-native DNA antibodies, anticardiolipin IgG and IgM antibodies). Determination of these was performed by ELISA method using the StatFax 3200 analyzer. Mean age of the patients was 46.3 years $\pm$ 14.5 (SD). 48.3% of the subjects studied had cardiovascular disease. Statistical processing of the results was performed by the GraphPad InStat software. Results: Vascular pathology is often at the background of neurological diseases. The patients studied include thrombosis at young age, autoimmune diseases, etc.. We obtained statistical correlation between antinuclear antibodies and anti-native DNA antibodies ($r=0.6511$, $p<0.0001$). In 11.4% of the tested patients with neurological diseases we observed pathological values of antinuclear antibodies, especially in those with autoimmune disorders and neuropathies, and 7.1% of the patients presented increased anti-native DNA antibodies. In three cases of early thrombosis methylene-tetrahydrofolate reductase deficiency has been observed (PCR method), which causes elevated homocysteine level. Conclusions: Immune markers have important role in the diagnosis and monitoring of neurological diseases. There is correlation between certain autoimmune antibodies, and patients suffering from autoimmune diseases have more common pathological values.

C33. Studiul consecințelor tratamentului cu Metformin la pacienți diabetici din perspectiva riscului cardiovascular

Nemes-Nagy Enikő¹, Nyárádi Annamária², Nagy Előd³, Fazakas Zita¹, Victor Balogh-Sămărghițan¹, Szabó Mónika⁴

1. Universitatea de Medicină și Farmacie, Tîrgu Mureș, Disciplina de Biochimie Medicală, 2. Universitatea de Medicină și Farmacie, Tîrgu Mureș, studentă, 3. Universitatea de Medicină și Farmacie, Tîrgu Mureș, Disciplina de Biochimie Farmaceutică, 4. Universitatea de Medicină și Farmacie, Tîrgu Mureș, Disciplina de Diabetologie

Un efect secundar al Metforminei este inhibarea absorbției vitaminei B12, cofactor al metionin sintazei. Nivelul ridicat homocisteinei și deficitul de zinc contribuie la incidența bolilor cardiovasculare. Scopul acestui studiu a fost compararea echilibrului metabolic, nivelele serice de vitamina B12, homocisteină, zinc și malondialdehidă la două subgrupuri de diabetici. Metodă: Am studiat 28 de pacienți cu diabet zaharat, un subgrup a fost tratat cu Metformin, și am comparat rezultatele lor cu un lot control de diabetici aflați pe alt tratament. Probele de sânge au fost colectate în toamna anului 2012. Vârsta medie a pacienților a fost de 63,2 ani $\pm$ 11,2 (SD). Dozarea zincului și a malondialdehidei s-au efectuat prin metode fotometrice, dozarea vitaminei B12 prin chemiluminiscență, iar dozarea homocisteinei prin HPLC. Rezultate și discuții: Rezultatele noastre

anterioare pe 84 de diabetici au demonstrat că deficitul de vitamina B12 apare mai ales în cazul tratamentului prelungit, cu doze mari de Metformin. În studiul actual, lotul tratat cu Metformin a prezentat valori serice mai mici de vitamina B12 comparativ cu lotul control. Am găsit boli cardiovasculare documentate la 79% dintre pacienții tratați cu Metformină, și la 67% dintre cei aparținând lotului control, diferența nu este semnificativă statistic. Concentrația malondialdehidei (marker al lipoperoxidării) a fost mai mare în subgrupul tratat cu Metformin comparativ cu lotul de control ($p = 0,0936$), fiecare pacient diabetic a prezentat valoare crescută. Nu a fost diferență semnificativă între echilibrul metabolic la cele două loturi. 35% dintre pacienți au prezentat deficit de zinc și 84% valori crescute de homocisteină serică. Concluzii: Valori scăzute de vitamina B12, concentrații mari de homocisteină serică, deficit de zinc și stres oxidativ intens sunt prezente la numeroși diabetici, în special la cei aparținând lotului tratat cu Metformin. Înlăturarea deficitului de vitamina B12 ar fi recomandat la acești pacienți, în special în cazul tratamentului pe termen lung, pentru a reduce incidența complicațiilor cardiovasculare.

Study on the consequences of Metformin treatment in diabetic patients in terms of cardiovascular risk

Nemes-Nagy Enikő¹, Nyárádi Annamária², Nagy Előd³, Fazakas Zita¹, Victor Balogh-Sămărghișan¹, Szabó Mónika⁴

1. University of Medicine and Pharmacy, Tîrgu Mureș, Medical Biochemistry Department, 2. University of Medicine and Pharmacy, Tîrgu Mureș, student, 3. University of Medicine and Pharmacy, Tîrgu Mureș, Pharmaceutical Biochemistry Department, 4. University of Medicine and Pharmacy, Tîrgu Mureș, Diabetology Department

A side effect of Metformin is inhibition of vitamin B12 absorption, cofactor of methionine synthase. High homocysteine level and zinc deficiency contributes to the incidence of cardiovascular diseases. The aim of this study was to compare metabolic balance, serum B12 vitamin, homocysteine, zinc and malondialdehyde levels in two diabetic subgroups. Method: We studied 28 diabetic patients, one subgroup was treated with metformin, and we compared the results with a diabetic control group receiving other treatment. Blood samples were collected in the autumn of 2012. The average age of the patients was 63.2 years $\pm$ 11.2 (SD). The zinc and malondialdehyde dosage were performed by photometric methods, the vitamin B12 dosage by chemiluminescence, and homocysteine dosage by HPLC. Results and discussions: Our previous results on 84 diabetic patients showed that vitamin B12 deficiency occurs especially in prolonged, high dose Metformin treatment. In this study, the metformin-treated group presented lower vitamin B12 concentration compared to the control group. We found documented cardiovascular disease in 79% of the Metformin-treated group, and in 67% of the control group, the difference is not significant. Malondialdehyde concentration (marker of lipoperoxidation) was higher in the Metformin-treated subgroup compared to the control group ($p=0,0936$), every diabetic presented increased value. There was no significant difference between the two subgroups' metabolic balance. 35% of the patients presented zinc deficiency and 84% elevated homocysteine level. Conclusions: Low serum vitamin B12 concentration, elevated homocysteine level, zinc deficiency and intense oxidative stress are present in case of several diabetic patients, especially in the Metformin-treated subgroup. Curing the vitamin B12 deficiency would be recommended in these patients, especially in case of long term treatment, to reduce the incidence of cardiovascular complications.

C34. Markerii de instabilitate a placii aterosclerotice si de boala renala cronica in evolutia cu moarte subita la pacientii cu boala coronariana ischemica

Bobescu Elena^{1,2}, Neculoiu Carmen Daniela², Popa Dorina², Barsasteanu Roxana³, Aldulea Nicoleta¹, Covaciu Alexandru¹

1. Universitatea Transilvania Brasov, 2. Spitalul Clinic Judetean de Urgenta Brasov, Hiperdia Brasov

Obiective: Evaluarea rolului markerilor de instabilitate a placii aterosclerotice si de boala renala cronica la pacientii cu angina stabila si sindroame coronariene acute cu sau fara supradenivelare de segment ST (SCA) in evolutia cu moarte subita.

Material si metoda: S-a evaluat, timp de 2 ani, la 400 pacienti cu angina stabila si SCA, valoarea prognostica pentru moarte subita a markerilor de instabilitate a placii de aterom, vizand : disfunctia endoteliala , hiperactivitatea plachetara ,stresul oxidativ , boala renala cronica, markeri ECG (pe segment ST), prezenta extrasistolelor ventriculare, markeri ecocardiografici (fractia de ejectie, scor- indexul de motilitate parietala globala). Analiza statistica testul chi patrat, regresie multipla.

Rezultate: S-au inregistrat valori inalte ale agregarii plachetare - ASPItest>30U, ADPtest>50U, valori plasmatiche crescute ale activitatii factorului von Willebrand >169.7%, valori scazute ale vasodilatatiei mediate de flux < 4.5%, valori serice reduse ale statusului antioxidant total <1.3 mmol/l, nivel seric crescut al anticorpilor Ig G anti mieloperoxidaza>20 U, clearance la creatinina scazut <60 ml/min/1.73m², subdenivelare sau supradenivelare de segment ST mai mare de 1 mm; prezenta extrasistolelor ventriculare peste 6/min, fractia de ejectie < 40%, scor-indexul de motilitate parietala globala >1.7, corelate cu cresterea semnificativa a incidentei mortii subite (p<0.025) si decesului de cauza cardiovasculara (p<0.005) la 2 ani de urmarire.

Concluzii: la pacientii cu boala coronariana ischemica, prezenta biomarkerilor de instabilitate a placii aterosclerotice – agregarea plachetara, disfunctia endoteliala, stresul oxidativ, boala renala cronica, prezenta modificarilor electrocardiografice si ecocardiografice s-au corelat cu cresterea semnificativa a incidentei mortii subite si decesului de cauza cardiovasculara.

Markers of atherosclerotic plaque instability and chronic kidney disease in evolution with sudden cardiac death in patients with coronary artery disease

Bobescu Elena^{1,2}, Neculoiu Carmen Daniela², Popa Dorina², Barsasteanu Roxana³, Aldulea Nicoleta¹, Covaciu Alexandru¹

1Transilvania University Braşov, 2Clinic County Emergency Hospital Braşov, Hiperdia Braşov

Aim: To evaluate the role of atherosclerotic plaque instability markers in patients with stable angina (UA), acute coronary syndrome (ST/ nonST ACS) and chronic kidney disease on sudden cardiac death.. **Methods:** In 400 patients with stable UA and ACS was evaluated the prognostic value for sudden cardiac death of plaque instability biomarkers concerning : endothelial dysfunction , platelets hyperactivity, oxidative stress, chronic kidney disease, ECG and echocardiographic markers, for 2 years of follow up. **Statistic analysis:** chi square test, multiple regression.

Results: In patients with coronary artery disease higher values of ASPI/ ADPtest (over 30 /50U), von Willebrand factor activity over 169.7% , values of flow mediated vasodilatation< 4.5%, serum

values of total antioxidant status <1.3 mmol/l, serum level of Myeloperoxidase Ig G antibodies >20 U, creatinine clearance <60 ml/min/1.73m², ST elevation or depression more than 1mm, premature ectopic beats more than 6/min, left ventricular ejection fraction $<40\%$, global wall motion score index (WMSI) >1.7 were correlated with significant increased incidence of sudden cardiac death ($p<0.025$) and cardiovascular death ($p<0.005$) at 2 years of follow up.

Conclusions: In patient with coronary artery disease, presence of atherosclerotic plaque instability biomarkers - higher platelets aggregation values, endothelial dysfunction, oxidative stress, electrocardiographic and echocardiographic disturbances markers were correlated with significant increased incidence of sudden cardiac death and cardiovascular death.

R35. Relația afecțiuni orale-afecțiuni sistemice: necesitatea unei colaborări interdisciplinare

Greabu Maria¹, Totan Alexandra¹, Mircescu Daniela¹, Mohora Maria², Bogdan Calenici¹

1. *Disciplina de Biochimie, Facultatea de Medicină Dentară, Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București*; 2. *Disciplina de Biochimie, Facultatea de Medicină, Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București*

Rezumat: Relația afecțiuni orale-afecțiuni sistemice este din ce în ce mai evidentă. Pierderea dinților, inflamația cronică și infecțiile asociate afecțiunilor orale afectează parametrii sistemici și generează un cerc vicios care compromite managementul afecțiunilor sistemice. Stresul oxidativ, cu rol major în patogeneza a numeroare afecțiuni orale și sistemice, reprezintă și elementul biochimic de legătură afecțiuni orale-afecțiuni sistemice. În ciuda acestor aspecte evidente, medicina generală și medicina dentară continuă să fie separate în practica medicală, inclusiv în domeniul asigurărilor medicale. Scopul acestei lucrări este de a analiza aspectele prezentate, inclusiv a cercetărilor colectivului nostru. Medicina dentară contribuie la această colaborare prin implementarea de teste neinvazive pe fluide orale. Sănătatea orală este esențială pentru sănătatea generală. Cuvinte cheie: afecțiuni sistemice, afecțiuni orale, stres oxidativ, teste salivare.

The relationship between oral and systemic health: the need for a closer interdisciplinary collaboration

Greabu Maria¹, Totan alexandra¹, Mircescu Daniela¹, Mohora Maria², Bogdan Calenici¹

1. *Department of Biochemistry, Faculty of Dental Medicine, Carol Davila University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania*; 2. *Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Carol Davila University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania*

Abstract: There is increasing evidence linking some oral diseases to systemic diseases. Tooth loss, chronic inflammation and infection are all results of oral conditions with potential adverse effects on systemic parameters. Undiagnosed and untreated these oral complications can lead to failures in the medical management of the systemic conditions. Oxidative stress, a key player in the pathogenesis of a wide range of systemic and oral diseases, can represent a biochemical link between systemic and oral diseases. Despite these, medicine and dentistry continue to be implemented as two separate health professions, including in insurance domain. The aim of this review is to provide an overview of these is-

sues, including our department experience, focused on the relationship between systemic and oral diseases. Approaching the need for collaboration from the dental side provided insights into the promise of salivary diagnostics. A number of these noninvasive tests are in development for detection oral and systemic diseases. Any improvement in control of systemic and/or oral disease has the potential to make a significant impact on the quality of life for the patients. The health of our mouth may have a big impact on the rest of our body too and a good oral health is essential for a good general health. Keywords: oral diseases, systemic diseases, oxidative stress, salivary diagnostics

C36. Beta-CTX, osteocalcina și proteina c-reactivă din lichidul crevicular gingival- posibili biomarkeri în diagnosticarea și monitorizarea neinvazivă a bolii parodontale

Alexandra Totan¹, Daniela Miricescu¹, Brândușa Mocanu², Bogdan Calenic¹, Maria Mohora³, Daniela Cășăriu³ și Maria Greabu¹

1. Disciplina de Biochimie, Facultatea de Medicină Dentară, Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București, 2. Disciplina de Parodontologie, Facultatea de Medicină Dentară, Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București, 3. Disciplina de Biochimie, Facultatea de Medicină, Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București

Introducere: Boala parodontală, caracterizată prin inflamație cronică severă, reprezintă o cauză majoră de edentație, afectând aproape 50% din pacienții cu vârste peste 50 de ani. În prezent există foarte puține informații cu privire la importanța clinică a dozării unor markeri osoși și inflamatori (beta-CTX, osteocalcina și proteina C- reactivă, PCR) la nivelul fluidelor orale (salivă și fluid crevicular gingival, LCG). În cadrul acestui studiu au fost evaluați beta-CTX, osteocalcina și proteina C-reactivă la nivelul lichidului crevicular gingival provenit de la pacienți cu boală parodontală marginală cronică profundă. Scopul acestui studiu este de a propune acești parametri ca viitori biomarkeri orali în diagnosticarea și monitorizarea neinvazivă a bolii parodontale. **Materiale și Metode:** În cadrul acestui studiu au fost incluși: - 50 pacienți cu boală parodontală marginală cronică profundă și 30 voluntari sănătoși care au constituit grupul control. Pentru pacienții cu boală parodontală au fost înregistrate: indicele de placă, nivelul inserției epiteliale și indicele de sangerare gingivală. Beta-CTX, osteocalcina și PCR au fost determinate prin metoda ELISA. **Rezultate:** rezultatele obținute în cadrul acestui studiu au semnalat valori semnificativ crescute ($p < 0.01$, $p < 0.01$, $p < 0.0001$ și $p < 0.005$) ale beta-CTX, osteocalcina și PCR din LCG al pacienților cu boală parodontală versus control. Valorile semnificativ crescute ale beta-CTX și osteocalcinei din LCG subliniază existența unei anomalii a procesului de turnover osos la nivel oral în contextul parodontopatiei cronice severe. **Concluzii:** Parametrii studiați în cadrul acestui studiu pot fi priviți ca viitori biomarkeri orali în diagnosticarea și monitorizarea neinvazivă a bolii parodontale. **Cuvinte cheie:** fluid crevicular gingival, biomarkeri salivari, osteocalcina, parodontopatie, diagnostic, resorpție osoasă

Gingival crevicular fluid beta-crosslaps (beta CTX), osteocalcin and hsCRP – possible biomarkers in diagnosis and noninvasive monitoring of periodontal disease

Alexandra Totan¹, Daniela Miricescu¹, Brandusa Mocanu², Bogdan Calenic¹, Maria Mohora³, Daniela Cășăriu³ and Maria Greabu¹

1. Department of Biochemistry, Faculty of Dental Medicine, Carol Davila University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, 2. Department of Periodontology, Faculty of Dental Medicine, Carol Davila University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, 3. Department of Biochemistry, Faculty of Medicine, Carol Davila University of Medicine and Pharmacy, Bucharest

Introduction: Periodontal disease, characterized by a severe chronic inflammation, represents the main cause for tooth loss, affecting almost half of the patients over 50 years old. Currently, bone markers, very useful tools to measure bone remodeling, are assessed in serum and urinary samples. In present, there still is little information concerning the clinical importance of their gingival crevicular fluid levels in the chronic periodontal disease context. Our experimental study evaluated beta-crosslaps, osteocalcin and hsCRP levels in gingival crevicular fluid (GCF) from patients with severe chronic periodontitis in order to use these parameters in periodontitis diagnosis. **Materials and Methods:** We have included in our study 50 patients with severe chronic periodontitis versus 30 controls (clinically healthy volunteers). Probing depth, clinical attachment level, plaque index and papillary bleeding index was recorded. GCF beta-crosslaps, osteocalcin and hsCRP levels were analyzed by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). **Results:** Our results revealed statistically significant higher values for GCF beta-crosslaps, osteocalcin and hsCRP in patients with periodontitis versus controls ($p < 0.01$, $p < 0.01$, $p < 0.005$ respectively). The increased values for GCF beta-crosslaps and osteocalcin pointed out the abnormal oral bone turnover in periodontitis. **Conclusions:** GCF beta-crosslaps, osteocalcin and hsCRP, which were evaluated in this study, are future potential reliable predictors for saliva-based diagnostics in monitoring of bone degradation in periodontal disease.

Keywords: gingival crevicular fluid, salivary biomarkers, osteocalcin, periodontitis, diagnosis, bone degradation

C37. Keratinocite stem orale: caracteristici fizice în mucoasa orală normală versus mucoasa orală tumorală

Calenic Bogdan, Miricescu Daniela, Totan Alexandra, Greabu Maria

Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", Facultatea de Medicină Dentară, Catedra de Biochimie, București

Obiectiv: Scopul acestui studiu este de a investiga comportamentul și caracteristicile fizice ale keratinocitelor stem orale (KSO). **Metode:** Celulele au fost izolate din mucoasa orală normală și din biopsii de carcinom squamos oral folosind o tehnică de separație magnetică bazată pe doi markeri de suprafață: integrina $\alpha 6 \beta 4$ și CD71. Tehnici de imunohistochimie, imunofluorescență, microscopie atomică de forță și ELISA au fost folosite pentru a localiza KSO în țesuturi și pentru a analiza proprietățile fizice împreună cu prezența unor markeri specifici de diferențiere și motilitate. **Rezultate:** KSO provenite din biopsiile tumorale au prezentat în general aceeași morfologie ca cele din țesuturile normale; în același timp modulul de elasticitate a fost statistic diferit între cele două populații: $3,6 \pm 0,9$ vs.

1,6 ± 0,3 kPa pentru KSO normal vs. KSO tumoral. KSO tumorale au avut o activitate proliferativă mai mare: timpul de dublare a fost diferit pentru KSO-normal și KSO-tumoral: 49,4 ± 4,1 vs. 34,5 ± 6,3 (media a 3 pasaje celulare; p < 0,05; ANOVA test). Totodată au prezentat diferențe semnificative în markerii de diferențiere și motilitate (E Cadherin și N Cadherin) prin comparație cu celulele izolate din mucoasa normală. Concluzie: KSO din țesuturile tumorale prezintă caracteristici diferite decât cele din țesuturile normale.

Oral keratinocyte stem cells physical characteristics: normal and cancer oral mucosa

Calenic Bogdan, Miricescu Daniela, Totan Alexandra, Greabu Maria

"Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Faculty of Dentistry, Department of Biochemistry, Bucharest

Objective: The aim of the study was to investigate oral keratinocyte stem cells (OKSCs) behavior, characteristics and spatial arrangement in normal vs. cancer oral mucosa. **Methods:** Cells were isolated from human healthy oral mucosa and oral squamous cell carcinoma and separated using a magnetic cell-sorting technique based on two surface markers: $\alpha 6 \beta 4$ integrin and CD71. Immunohistochemistry, immunofluorescence, atomic force microscopy and ELISA were used for the immunolocalization of OKSCs in the tissue, assaying stem cells and differentiation markers and physical properties. **Results:** OKSCs from oral cancer tissues had the roughly the same morphological features but a different elasticity modulus: 3.6 ± 0.9 vs. 1.6 ± 0.3 kPa for KSO normal vs. KSO from cancer. Oral cancer tissues had more cells actively proliferating - doubling time was clearly different for OKSC-normal and OKSC-cancer: 49.4 ± 4.1 hours vs. 34.5 ± 6.3 hours (average of 3 passages; p < 0.05; ANOVA test). Differentiation and motility markers (E Cadherin and N Cadherin) were significantly increased in OKSCs from oral cancer. **Conclusion:** OKSCs properties with respect to differentiation markers, proliferation rate and physical features are different in normal oral tissues and tumor ones.

C38. Revărsatul lichidian pleural - aspecte citologice

Rădulescu Ariadna

Institutul Clinic Fundeni, București

Acumularea de lichid în pleură este reacția de apărare față de agresiunea factorilor patologici. Citodiagnosticul este una din metodele de investigație rapidă, puțin costisitoare și puțin dureroasă. Exudatul pleural apare în: pneumonii, tuberculoză, neoplazii, tromboembolism pulmonar, boli de collagen, sarcoidoză, uremie, mixedem, etc. Se analizează frotiuri colorate Giemsa, obținute din lichid pleural, concentrat prin centrifugare. În frotiurile benigne se pot întâlni elemente sanguine, elemente inflamatorii și mezotelii izolate și grupate, normale sau cu atipii benigne. În frotiurile maligne în afară de elementele celulare enumerate mai sus, se mai găsesc celule izolate și grupate cu caractere de malignitate. Prezența ridicată a limfocitelor (peste 50%) poate indica fie o pleurezie tuberculoasă, fie una neoplazică, de asemenea eozinofilia (peste 10%) poate indica fie un infarct pulmonar, fie o neoplazie sau alte maladii. Prezența celulelor canceroase în lichid nu poate preciza tumora primitivă, însă uneori se poate aprecia varietatea: glandulară sau epitelială. Tumorile metastatice nu exfoliază întotdeauna în lichid. Peste 60% din pleureziile neoplazice au citologii pozitive, procent care crește cu repetarea examenului

citologic. Randamentul examenului citologic pentru adenocarcinom este de 100%, în timp ce pentru boala Hodgkin de 25%. Statistic, metastazează în lichidul pleural, la femei, mai frecvent cancerul mamar, ovarian, urmat de cel pulmonar, apoi cel gastrointestinal și pe ultimul loc limfomul malign, iar la bărbați mai frecvent carcinomul pulmonar, urmat de cel gastrointestinal și limfomul malign. Citodiagnosticul ridică probleme de diagnostic diferențial între o citologie reacțională și una neoplazică, rezultat ce trebuie corelat și cu celelalte investigații.

Pleural effusion - cytological aspects

Rădulescu Ariadna

Fundeni Clinical Institute, Bucharest

Fluid build-up in the pleura is a defense mechanism against aggression from pathological factors. Cytodiagnosis is a fast, inexpensive and not very painful means of investigation. Pleural exudate appears in: pneumonia, tuberculosis, cancer, pulmonary embolism, collagen diseases, sarcoidosis, uremia, myxedema, etc. Giemsa stained smears obtained from pleural fluid are examined after concentrating by centrifugation. In benign smears blood elements, inflammatory elements and isolated and grouped mesothelioma, normal or benign atypia might occur. In malignant smears, besides the above elements, isolated and grouped cells with malignant characteristics will be visible. The high occurrence of lymphocytes (over 50%) may indicate either a tuberculous pleurisy, or a neoplasia, while eosinophilia (over 10%) may indicate either a pulmonary infarction, or a neoplastic disease or other afflictions. The presence of cancerous cells in the fluid can not help identify the primary tumor, but sometimes it can identify the type: glandular or epithelial. Metastatic tumors don't always exfoliate in the pleural liquid. Over 60% of neoplastic pleurisies were cytologically positive, a percentage that increases with repeated cytological examination. Cytological accuracy for adenocarcinoma is 100%, while for Hodgkin's disease it is 25%. Statistically, the most frequent pleural metastasis in women is breast cancer, ovarian cancer, followed by lung and gastrointestinal cancer, and last, malignant lymphoma. More frequently in men is lung carcinoma, followed by gastrointestinal and malignant lymphoma. Cytodiagnosis raises differential diagnosis debates between a reactive and a neoplastic cytology and the results have to be correlated with other investigations.

C39. Hibridizarea comparativă genomică bazată pe microarray ca analiză de primă linie în diagnosticul sindroamelor de dizabilitate intelectuală

Tutulan-Cunita A.¹, Arghir A.¹, Papuc S.M.¹, Budisteanu M.²

1. Institutul National Victor Babes, 2. Spitalul Clinic de Psihiatrie Prof. Dr. Alex. Obregia, Institutul National Victor Babes

Dizabilitatea intelectuală se asociază unui numar important de boli rare (prevalența <1:2.000) și are un impact major asupra calității vieții pacientului și familiei acestuia, persoanele afectate necesitând, în funcție de severitatea afectării, asistență medicală și socială pe termen mediu sau lung. Diagnosticarea precoce este esențială pentru managementul eficient al pacientului. În cadrul diagnosticului clinic, un rol important îl are evaluarea genetică, tehnicile de ultimă generație fiind hibridizarea comparativă genomică bazată pe microarray (aCGH) și secvențiere. În laboratorul nostru, am investigat până în prezent 51 de copii cu dizabilități intelectuale și alte manifestări clinice asociate, folosind diferite

platforme aCGH Agilent Technologies (44K, 105K). Profilele obținute au permis stabilirea diagnosticului în cazuri cu sindroame rare sau atipice și/sau rafinarea defectului genetic detectat prin tehnici clasice la peste 20 de pacienți, ce vor fi prezentați în această lucrare. Intre sindroamele diagnosticate se numără: Mowat-Wilson, Wolf-Hirshhorn, DiGeorge, deleție 1q43-q44, deleție interstițială 3p, deleție terminală 15q26-qter, duplicație *MECP2* etc. De asemenea, au fost identificate două anomalii cromozomiale noi pentru fenotipul de dizabilitate intelectuală, delețiile de 4p16 și 9p13. În afara stabilirii diagnosticului cert și, în consecință, a beneficiului medical direct, prin analiza regiunilor aberante și a punctelor de rupere, am obținut informații relevante pentru completarea descrierii anumitor sindroame genetice cu prevalență redusă. Date fiind avantajele sale, tehnologia aCGH poate fi propusă ca analiză de prima linie în diagnosticul și cercetarea dizabilităților intelectuale și în România, pentru o aliniere cu standardele actuale din practica medicală europeană. Finanțare: proiectele CNCSIS PN 09.33.02.03.

Array-based comparative genomic hybridization – first-tier investigation in the diagnostic of neurodevelopmental syndromes associating intellectual disability

Tutulan-Cunita A.¹, Arghir A.¹, Papuc S.M.¹, Budisteanu M.²

1. Victor Babes National Institute of Pathology, 2. Prof. Dr. Alex. Obregia Clinical Hospital of Psychiatry, Victor Babes National Institute of Pathology

Intellectual disability (ID) is associated with a significant number of rare diseases (prevalence <1:2,000) and has a dismal impact on the life quality of the patient and his family; depending on the severity of the disease, the patients often require lifelong medical and social assistance. Early diagnosis is essential for efficient patient management. Beside clinical investigations, diagnostic procedures include various genetic tests, among which current state-of-the-art technologies: array-based comparative genomic hybridization (aCGH) and next-generation sequencing. In our laboratory, we have investigated, by aCGH, 51 children with ID and other clinical features on Agilent Technologies aCGH platforms (44K, 105K). aCGH profiles allowed diagnosis and/or refinement of the previously detected genetic defect in 26 patients, presented here. Among the identified disorders were Mowat-Wilson, Wolf-Hirshhorn, DiGeorge, 1q43-q44 deletion, 3p interstitial deletion, 15q26-qter terminal deletion, and *MECP2* duplication syndromes. Additionally, two new deletions associated with ID were identified at 4p16 and 9p13. Given its genome-wide coverage at high resolution, aCGH is a valuable diagnostic tool. Besides, the analyses of the aberrant regions and of breakpoints offer relevant information for the delineation of the investigated rare disorders' phenotypes and pathogenetic mechanisms. Considering its advantages, aCGH should become a first-tier investigation in the diagnosis and research of ID in Romania, as it already is worldwide. Acknowledgment: project CNCSIS PN 09.33.02.03.

C40. Detectia secventelor de ARN corespunzatoare genelor implicate in metabolism in plasma indivizilor sanatosi si a pacientilor cu hepatita cronica B

**Liviu S. Enache^{1,2,3}, Christophe Ramière^{2,4,5}, Caroline Scholtès^{2,4,5}, Claire Curtil^{2,4},
Elena L. Enache¹, Minodora Dobreanu^{1,3}, Patrice André^{2,4,5}**

1. Univ Med & Farm Tirgu Mures, 2. Université de Lyon, France, 3. Spitalul Clinic Judetean de Urgenta Tirgu Mures, 4. INSERM U1111, 21 Avenue Tony Garnier, Lyon, F-69007, France, 5. Hospices Civils de Lyon, France

Secvente de ARN sunt prezente in plasma umana si manifesta o stabilitate remarcabila, in ciuda nivelelor mari de nucleaze din sange. Acizii nucleici circulanti pot fi utilizati ca biomarkeri intr-o variata de contexte clinice, de la boli neoplazice, la afectiuni metabolice si medicina fetala. Totusi, putina atentie a fost acordata secventelor de ARN corespunzatoare genelor implicate in metabolism. In acest studiu am dezvoltat o metoda de detectie a peste 30 secvente de ARNm in plasma, corespunzand unor gene cu expresie specific hepatica, enzime, receptori nucleari si factori de transcriptie implicati in metabolismul lipidic si energetic. Prezenta acestor secvente a fost testata in plasma unor subiecti sanatosi si a pacientilor cu hepatita cronica B cu replicare virala activa. Am detectat cu succes 33 secventa ARNm in plasma pacientilor cu hepatita B si 21 secvente in plasma subiectilor sanatosi. Modelele de coexpresie a acestor secvente in plasma este asemanatoare cu cele descrise anterior in cazul tesuturilor, ceea ce sugereaza ca ARN circulat poate reflecta partial statusul metabolic al organismului la nivel transcriptional.

Acest studiu a fost partial sprijinit prin Programul Operational Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane, finantat de catre Fondul Social European si Guvernul Romaniei, in baza contractelor POSDRU/ 89/1.5/S/64331 si POSDRU 6/1.5/17.

Detection of metabolism-related transcripts in the plasma of healthy individuals and chronic hepatitis B carriers

**Liviu S. Enache^{1,2,3}, Christophe Ramière^{2,4,5}, Caroline Scholtès^{2,4,5}, Claire Curtil^{2,4},
Elena L. Enache¹, Minodora Dobreanu^{1,3}, Patrice André^{2,4,5}**

1. Univ Med & Pharm Tirgu Mures, 2. Université de Lyon, France, 3. Emergency County Hospital Tirgu Mures, 4. INSERM U1111, 21 Avenue Tony Garnier, Lyon, F-69007, France, 5. Hospices Civils de Lyon, France

RNA sequences are present in human plasma and show remarkable stability, despite the high levels of nucleases active in the blood. Plasma cell-free nucleic acids are promising emerging biomarkers in a variety of clinical conditions ranging from cancer to metabolic disorders and fetal medicine. However, metabolism-related transcripts have received little attention in this regard. We developed a detection method for more than 30 mRNA sequences in plasma, corresponding to liver-specific transcripts, enzymes, nuclear receptors and transcription factors involved in lipid and fuel metabolism. The presence of these transcripts was assessed in plasma of healthy individuals and hepatitis B virus (HBV) carriers with active viral replication. We successfully detected 33 mRNA sequences in the plasma of HBV carriers and 21 sequences in the plasma of healthy individuals. The coexpression patterns of

these transcripts in plasma resemble those previously reported for tissues, suggesting that circulating RNA may partially reflect the metabolic status of the organism at a transcriptional level.

This work was partially supported by the Sectorial Operational Programme Human Resources Development, financed by the European Social Fund and by the Romanian Government under the contract numbers POSDRU/89/1.5/S/64331 and POSDRU 6/1.5/17.

C41. Tablou biochimic pentru lichidul cefalorahidian prin metoda spectroscopiei de rezonanță magnetică nucleară

Stefan Lorena Ivona¹, Nicolescu Alina², Popa Delia³, Deleanu C.⁴

1. Spitalul Clinic Județean de Urgență, Departament de Chimie Clinică, Craiova, România, 2. Institutul de Chimie Macromoleculară Petru Poni, Grupul de Biospectroscopie, Iași, România, 3. Spitalul Clinic Județean de Urgență, Departament de Hematologie și Microbiologie, Craiova, România, 4. Institutul de Chimie Organică C.D. Nenișescu, Laborator Național de Spectroscopie RMN, București, România

Instrument puternic de analiză a compoziției chimice pentru fluide biologice, metoda spectroscopiei de rezonanță magnetică nucleară a protonului (¹H-RMN) a demonstrat că este mult mai eficientă pentru măsurarea moleculelor mici decât tehnicile convenționale. În această lucrare au fost examinate prin ¹H-RMN probe de lichid cefalorahidian (LCR) (n=74) recoltate prin puncție lombară de către personal specializat, de la pacienți internați în Spitalul Clinic de Urgență Craiova. Spectrele ¹H-RMN au fost înregistrate cu un spectrometru Bruker Avance DRX 400 MHz, care generează un câmp magnetic de 9.4 Tesla. Pentru cuantificarea metaboliților am folosit procedeul standard de prelucrare a semnalului de rezonanță magnetică nucleară (RMN). După aplicarea transformatei Fourier am calculat concentrațiile moleculelor identificate în probele LCR, prin calcularea înălțimii totale a semnalului RMN corespunzător și normarea la numărul de atomi de hidrogen din molecula studiată. Valorile concentrațiilor moleculelor au fost exprimate în mmol/l. Analiza clasică de laborator a LCR a inclus examinarea caracteristicilor fizice (transparența, culoarea, fluiditatea, prezența unor formațiuni heterogene), examen chimic (reacția Pandey, dozarea albuminei, dozarea glucozei, dozarea clorurilor), citologic (determinarea numărului de elemente/mm³) și bacteriologic (frotiu colorat, culturi, antibiograma). Nu au fost incluse în studiu probe de LCR ce au prezentat rezultate pozitive la examenul bacteriologic și/sau parametrii biochimici modificați. Examinarea prin ¹H-RMN a probelor de LCR indică o consistență remarcabilă a regiunii alifatice. Au fost identificate și cuantificate moleculele de alanină, acid lactic, acetonă, acid acetic, acetoacetat, acid piruvic și acid citric. Rezultatele prezentate demonstrează abilitatea ¹H-RMN pentru examinarea LCR, ce prezintă interes particular pentru diagnosticul bolilor neurologice.

Biochemical Picture of Cerebrospinal Fluid by Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy Method (^1H -NMR)

Stefan Lorena Ivona¹, Nicolescu Alina², Popa Delia³, Deleanu C.⁴

1. Craiova Emergency Clinical Hospital, Department of Clinical Chemistry, Craiova, Romania, 2. Petru Poni Institute of Macromolecular Chemistry, Group of Biospectroscopy, Iasi, Romania, 3. Craiova Emergency Clinical Hospital, Department of Hematology and Microbiology, Craiova, Romania, 4. C.D.Nenitescu Institute of Organic Chemistry, National Nuclear Magnetic Resonance Laboratory, Bucharest, Romania.

Nuclear magnetic resonance spectroscopy method (^1H -NMR) is a powerful tool to analyze the chemical composition of biological fluids and show that it is more effective to measure small molecules than conventional techniques. 74 cerebrospinal fluids (CSF) samples were examined by ^1H -NMR method. CSF samples were collected by lumbar puncture by specialized staff from patients admitted to Craiova Emergency Clinical Hospital. ^1H -NMR spectra were recorded with a Bruker Avance DRX 400 MHz spectrometer, which generates a magnetic field of 9.4 Tesla. To quantify metabolites we used standard procedure of nuclear magnetic resonance (NMR) signal processing. After applying the Fourier transform we calculated the concentrations of molecules identified in CSF samples by calculating the total height of the NMR signal and normalizing to the number of hydrogen atoms of molecule. Metabolite concentrations were expressed in mmol/l. Standard laboratory analysis of CSF samples included the examination of physical characteristics (transparency, color, fluidity, presence of heterogeneous formations), chemical examination (Pandy reaction, determination of albumin, glucose and chlorides), cytology and bacteriological exams. In this study we not included the CSF samples that showed positive results in bacteriological and/or changing in biochemical parameters. Examination of CSF samples by ^1H -NMR method show a remarkable consistency in aliphatic region of the spectra. Molecules identified and quantified were alanine, lactic acid, acetone, acetic acid, acetoacetate, pyruvate and citric acid. The results presented in this study demonstrate the ability ^1H -NMR method to investigate the CSF samples, showing particular interest in the diagnosis of neurological diseases.

C42. Diagnosticul cancerului de prostată prin determinarea receptorului $\beta 2$ al acidului retinoic (RAR $\beta 2$) în urină

Dumache Raluca¹, Puiu Maria¹, Gîju Sorin², Negru Serban¹, Dumitraşcu Victor¹

1. Universitatea de Medicină şi Farmacie "Victor Babeş" Timişoara, 2. Laborator Central, Spitalul Clinic Judeţean de Urgenţă Timişoara

Introducere: Cancerul de prostată (CaP) prezintă o incidenţă crescută şi reprezintă a doua cauză de mortalitate după cancerul pulmonar în rândul bărbaţilor. Receptorul $\beta 2$ al acidului retinoic (RAR $\beta 2$) este localizat la nivelul cromozomului 3p.24. Scopul acestui studiu a fost acela de a evalua valoarea diagnostică a hipermetilării promoterului genei RAR $\beta 2$, din ADN-ul genomic obţinut din probele de urină ale pacienţilor cu CaP şi hipertrofie benignă de prostată (HBP), ca un nou biomarker care poate diferenţia leziunile prostatice maligne de cele benigne prin metode minim invazive. Material şi metode: Analiza hipermetilării promoterului genei RAR $\beta 2$ a fost investigată la nivelul ADN-ului genomic din probele de urină a 31 pacienţi cu diagnosticul histopatologic de CaP şi 44 cu HBP (subiecţi control). Pentru evaluarea statusului metilării genei RAR $\beta 2$ am folosit metoda cantitativă a metilării specifice

reacției de polimerizare în lanț (QMSP). Rezultate: Hipermetilarea genei RAR β 2 a fost detectată la 27 din 31 (87%) pacienți cu CaP și în cazul a 6 din 44 (13.7%) pacienți cu HBP. Concluzii: RAR β 2 reprezintă un nou biomarker tumoral care poate fi utilizat în diferențierea leziunilor prostatice maligne de cele benigne prin metode neinvazive. Cuvinte cheie: cancer de prostată (CaP); hipertrofie benignă de prostată (HBP); receptorul β 2 al acidului retinoic (RAR β 2);

Noninvasive diagnosis of prostate cancer by detection of retinoic acid receptor β 2 (RAR β 2) in urine samples

Dumache Raluca¹, Puiu Maria¹, Gîju Sorin², Negru Serban¹, Dumitrașcu Victor¹

1. University of Medicine and Pharmacy "Victor Babes" Timisoara, 2. Central Laboratory, Clinical County Emergency Hospital Timisoara

Introduction. Early diagnosis has an important role in the treatability of patients with different types of tumor, including prostate cancer (PCa) too. The retinoic acid receptor β 2 (RAR β 2) is localized on chromosomal region 3p24, and harbors a CpG region in its promoter region. The aim of our study was to evaluate the diagnostic value of aberrant promoter hypermethylation of retinoic acid receptor β 2 (RAR β 2) gene in urine DNA samples from patients with the diagnosis of PCa and benign prostatic hyperplasia (BPH), as a new epigenetic biomarker in distinguishing between malignant and non-malignant lesions by noninvasive methods. **Materials and methods:** Aberrant promoter hypermethylation was investigated in genomic DNA isolated from urine samples of 31 patients diagnosed with of PCa and 44 with BPH (control subjects). In order to evaluate the methylation status of the RAR β 2 gene we used the quantitative methylation-specific PCR (QMSP) method. **Results:** Promoter hypermethylation of RAR β 2 gene was detected in urine samples from 27 of 31 (87%) patients with PCa, and in 6 of the 44 (13.7%) patients with BPH. **Conclusions:** RAR β 2 represents a promising molecular biomarker which may be used in discriminating between malignant and benign prostatic diseases by noninvasive methods. **Key words:** prostate cancer (PCa); benign prostatic hyperplasia (BPH); quantitative methylation-specific polymerase chain reaction (QMSP); retinoic acid receptor β 2 (RAR β 2).

C43. Implicațiile sistemului hepcidină-feroportină în anemia renală la pacienții cu boală cronică de rinichi în stadiul de predializă

Bârsan Liliana¹, Stanciu Ana¹, Stancu Simona^{1,2}, Căpușă Cristina^{1,2}, Mandache Eugen¹, Radu Eugen², Mircescu Gabriel^{1,2}

1. "Spitalul Clinic de Nefrologie dr. Carol Davila", București, România, 2. "Universitatea de Medicină și Farmacie dr. Carol Davila", București, România

Obiective: Sistemul hepcidină-feroportină este implicat în eritropoieza fier-restricționată din anemia renală: deficitul de fier și anemia din bolile cronice. Am investigat relația dintre distribuția fierului medular, expresia medulară a hepcidinei și feroportinei și indicii periferici ai fierului la pacienții cu boală cronică de rinichi (BCR) predializați. **Metoda:** Am înrolat în studiu : 54 de pacienți cu BCR netratați cu eritropoietină sau fier. În funcție de distribuția medulară a fierului (puncție iliacă, colorație Perls): 26 anemie feriprivă, 21 anemie din bolile cronice și 7 depozite normale de fier. **Expresia** medulară a feroportinei și hepcidinei (imunofluorescență, scala semicantitativă) și hepcidina serică

(Hep25-ELISA) au fost parametri studiați în principal. Rezultate. La nivelul eritroblaștilor și macrofagelor medulare s-a observat expresia scăzută a hepcidinei și creșterea a ferroportinelor în anemia feriprivă și situația inversă în anemia din bolile cronice. Analiza regresiei arată că: nivele crescute de Hep 25 și feritină semnifică legarea hepcidinei ($R^2=0.48$; $p<0.0001$), nivele scăzute de Hep 25 și feritină evidențiază expresia ferroportinelor ($R^2=0.29$; $p=0.003$) în eritroblaști. Inflamația nu are nici o contribuție. Analiza ROC: nivelul seric al hepcidinei și feritinei au o utilitate moderată în diferențierea anemiei feriprive de cea din bolile cronice (AUC 0.63 95%CI 0.47-0.79 and 0.76 95%CI 0.61-0.90, respectiv). Concluzii: La pacienții cu BCR nedializați netratați cu fier sau eritropoietină, expresia la nivelul eritroblaștilor a hepcidinei și ferroportinei este în strânsă relație cu distribuția fierului medular. Sistemul hepcidină-ferroportină pare a fi reglat de axul feritina-Hep25, iar nivelul seric al hepcidinei și fierul periferic sunt de ajutor în aprecierea statusului de fier medular.

Hepcidin-ferroportin system implications in renal anemia to non-dialysis chronic kidney disease patients

Bârsan Liliana¹, Stanciu Ana¹, Stancu Simona^{1,2}, Căpușă Cristina^{1,2}, Mandache Eugen¹, Radu Eugen², Mircescu Gabriel^{1,2}

1. "Dr Carol Davila" Teaching Hospital of Nephrology, Bucharest, Romania, 2. "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania

Objectives. The hepcidin-ferroportin system is involved in both conditions associated with iron-restricted erythropoiesis in renal anemia: iron deficiency and anemia of chronic disorders. As serum hepcidin could aid diagnosis, we investigated its relationships with bone marrow iron distribution, hepcidin/ferroportin expression in bone marrow cells, and peripheral iron indices in non-dialysis chronic kidney disease (CKD) patients. **Methods.** Fifty-four epoetin and iron naïve CKD patients entered this prospective, observational study. According to bone marrow iron distribution (iliac crest biopsy, Perls' stain), 26 had iron deficiency anemia, 21 anemia of chronic disorders and 7 had normal iron stores. Medullar hepcidin and ferroportin expression (immunofluorescence, semiquantitative scales) and serum hepcidin (Hep25 - ELISA) were the main studied parameters. **Results.** Low hepcidin and high ferroportin expression by erythroblast and macrophage were seen in iron deficiency anemia, while the opposites were true in anemia of chronic disorders. In regression analysis, higher Hep25 and ferritin predicted hepcidin binding ($R^2=0.48$; $p<0.0001$), while lower ferritin and Hep25 predicted ferroportin expression ($R^2=0.29$; $p=0.003$) by erythroblast. Inflammation had no contribution. In ROC analysis, serum hepcidin and ferritin had similar moderate utility in differentiating iron deficiency anemia from anemia of chronic disorders (AUC 0.63 95%CI 0.47-0.79 and 0.76 95%CI 0.61-0.90, respectively). **Conclusions.** Thus, in anemic epoetin naïve non-dialysis CKD patients, hepcidin and ferroportin expression by erythroblast and macrophage are closely related to bone marrow iron distribution. Although the hepcidin-ferroportin system seems regulated by ferritin-driven Hep25, serum hepcidin and peripheral iron indices are of little help in describing bone marrow iron status.

C44. Deficitul de fier și răspunsul la tratamentul cu antihistaminice în urticaria cronică idiopatică

Nicolae Ilinca¹, Dinu Lucia², Nicolae Corina Daniela³, Dulgheru Lucretia¹, Ceausu Emanoil¹

1. Spitalul Clinic de Boli Infecțioase și Tropicale "Prof. Dr. Victor Babes", București, 2. Clinica MedLife, București, 3. UMF "Carol Davila", București

Obiectiv. Examinarea efectelor induse de statusul fierului asupra răspunsului la tratamentul cu antihistaminice la pacienții cu urticarie cronică idiopatică (UCI). **Metoda.** S-a efectuat un studiu prospectiv în care au fost incluși 79 pacienți cu UCI, care au primit tratament cu antihistaminice și tratament anti-*Helicobacter pylori* (HP), la nevoie. Pacienții au fost grupați în două loturi:

A: 49 pacienți (24-HP pozitivi, 25- HP negativi) fără deficit de fier;

B: 30 pacienți (19-HP pozitivi, 11-HP negativi) cu deficit de fier .

Toti pacienții au fost monitorizați clinic și paraclinic, în momentul diagnosticului, după 1, 3 și 6 luni de la stabilirea diagnosticului, pentru determinarea UAS (Urticaria Activity Score), anticorpilor anti-HP, statusului fierului (sideremie, coeficient de saturare a transferinei, receptori solubili pentru transferină, feritină, capacitate totală de legare a fierului). Răspunsul terapeutic favorabil s-a apreciat prin reducerea UAS cu 50% față de valoarea inițială (5.08 ± 0.73 pentru lotul A și 5.02 ± 0.48 pentru lotul B). **Rezultate.** Lot A: UAS a scăzut la 3.64 ± 0.81 ($p < 0.05$) după 1 lună, la 0.11 ± 0.26 ($p < 0.05$) după 3 luni și 95.9% dintre pacienți au prezentat remisiune completă după 6 luni de supraveghere.

Lot B: UAS a scăzut la 4.37 ± 1.26 ($p > 0.05$) după 1 lună, la 3.26 ± 1.17 ($p > 0.05$) după 3 luni, la 0.94 ± 1.12 ($p < 0.05$) și remisiune completă la 80% dintre pacienți după 6 luni. S-a obținut o asociere negativă, semnificativă statistic, între statusul fierului și UAS, respectiv, prezența infecției cu HP. **Concluzii.** Deficitul de fier biodisponibil și infecția cu HP exercită un efect nefavorabil asupra răspunsului la tratamentul cu antihistaminice.

Iron deficiency and response to antihistaminic therapy in chronic idiopathic urticaria

Nicolae Ilinca¹, Dinu Lucia², Nicolae Corina Daniela³, Dulgheru Lucretia¹, Ceausu Emanoil¹

1. Clinical Hospital of Infectious and Tropical Diseases "Prof. Dr. Victor Babes", Bucharest, 2 .MedLife Clinic, Bucharest, 3. UMF "Carol Davila", Bucharest

Objective: To examine the effects induced by iron status on the response to antihistaminic treatment in chronic idiopathic urticaria patients (CIU). **Methods.** We conducted a prospective study which included 79 CIU patients who received antihistaminic treatment and anti-*Helicobacter pylori* (HP) therapy, for those with HP infection. Patients were divided into two groups:

A: 49 patients (24 HP-positive, 25 HP-negative) without iron deficiency;

B: 30 patients (19 HP-positive, 11 HP-negative) with iron deficiency.

All the patients were evaluated clinical and paraclinical at baseline, at 1, 3 and 6 months after diagnosis, to assess UAS (urticaria activity score), anti-HP antibodies, iron status parameters (sideremia, transferrin saturation coefficient, soluble receptors for transferrin, ferritin, total iron binding capacity). Favorable therapeutic response was appreciated by UAS 50% reduction from baseline (5.08 ± 0.73 for group A and 5.02 ± 0.48 for group B). **Results.** In group A, UAS decreased to 3.64 ± 0.81 ($p < 0.05$) after 1 month, to 0.11 ± 0.26 ($p < 0.05$) after 3 months and 95.9% of cases had complete remis-

sion after 6 months of monitoring. In group B, UAS decreased to 4.37 ± 1.26 ($p > 0.05$) after 1 month, to 3.26 ± 1.17 ($p > 0.05$) after 3 months, and 80% of cases had complete remission after 6 months: UAS 0.94 ± 1.12 ($p < 0.05$). We obtained a statistically significant negative association between iron status and UAS, respectively, HP infection. Conclusions. Bioavailable iron deficiency and HP infection exert an adverse effect on the response to antihistaminic therapy.

Authors index

Index de autori

A

Al-Aisa Abtessam Nariman C32
Albert Karola C32
Aldulea Nicoleta C34
André Patrice C40
Anisie Ecaterina R2
Anton Mariana P10
Apostolescu Ileana P31
Arghir A. C39
Au William W. R1

B

Badea Aurelian R6
Badea Daniela R6
Badea Florin Ciprian P40
Badea Mihail R6
Badea V. P14
Badea Victoria P35, P41, P42, P40
Baderca Flavia P7
Badicuț I. R20
Badiu Corin Virgil P22
Balaban Doina Paula P14, P40
Balas Melania C27
Bancu Ligia C24
Bârsan Liliana P29, C43
Barsan Monica P10
Barsasteanu Roxana C34
Basa Norina P7
Bataga Simona C24
Bîlc Ana-Maria P34
Blaga Violeta P29
Bobescu Elena C34
Boboș Cecilia P33, P34
Bogdan Calenici R35
Borcan A. R20
Botea S. R20
Botezan Delia Nicoleta P34
Brânză Andrei Dan P40, P41, P42
Brudașcă Ioana R4

Bucur Laura P35, P41

Budisteanu M. C39

Burcoveanu Cristina C14

Burtă Olivia Ligia P44.

C

Călămar Despina P28
Calenic Bogdan C36, C37, P12, P17
Căpușă Cristina C43
Caraiane A. P14
Caraiane Aureliana P40, P42, P45, P46
Carasevici Eugen R2, R31, C14, P30
Cășăriu Daniela C36
Casariu Elena Daniela P1
Ceausu Emanoil C44
Cepoida P. P15, P16
Cheregi Simona P38
Cheveresan Maria P28
Chirana Alice P26
Chiriac Anca P25, P26
Chiriac Anca E P25, P26
Chiriac Carmen C25
Ciobanu Gabriela P45
Ciorteia Marinela P39
Circo Eduard P11
Ciursaș Adina P18
Codiță Irina P36
Codrina Ancuța P25
Coldea Ileana Luminița P36, P37
Coliță A. R9
Coliță Adriana R5, R7
Coliță Dan R5
Colosi Horațiu Alexandru P2
Constantin Gianina Ioana P10
Constantinescu Emanuela P10
Coriu D. R7, R8, R9, R10, C15
Coriu Daniel R5
Cotul Cristina P34
Covaciu Alexandru C34
Crăciun Elena Cristina P2

Crăciun M. Alexandra P4
Cret Victoria P3
Cretu O. P7
Crîsnic Ioan P6, P13
Cristea Stefan C18
Csep Andrei P38
Curtil Claire C40

D

Damian Maria P37
Danaila C P30
Danaila Catalin C14
Dascalescu A P30
Dascalescu Angela C14
David Dana Liana P23, P24
Deleanu C. C41
Diaconu Dumitru Iustin P39
Dimitriu Daniela Cristina R2
Dinu Lucia C44, P39
Dobre Michaela P32
Dobre Monica C15
Dobrea Camelia C15
Dobreanu Carmen P31
Dobreanu Minodora C16, C24, C25, C29, C40, R3
Dorobăț O.M R20
Dorohoi Gabriela C14
Drăgan Ana – Maria P21, P43
Drăghici Sonia P38
Dragomir Mihaela R7
Dragomirescu Cristiana Cerasella P36, P37
Dragomir Mihaela R8, R10
Drăgulescu Elena-Carina P36
Dronca Maria P3
Dulgheru Lucretia C44
Dumache Raluca C42
Dumitrașcu Victor C42, P23, P24
Dumitriu Anca Silvia P46

E

Ekaterina Ivanova-Todorova P8
Enache Elena Luminita C24, C29, C40
Enache Liviu Sorin R3, C24, C40

F

Fazakas Zita C32, C33
Feticu Lucia Simonca P34
Filip Florina P25
Fodor Marta-Andrea C25
Foia Liliana P25, P26
Franciuc Irina P11
Funduc Ileana R13

G

Ganta Ionelia P31
Gegiu Gabriela P40, P41
Genunche Amelia R6
Georgescu Costinela P32
Georgescu Dan C24
Georgescu Simona Roxana P39
Gergely Istvan C29
Gheorghe Anca R7
Gheorghe R. Simona P4
Gherasim Petru P10
Ghiduș Daniela P5
Gîju Sorin C42, P23
Gligor Ramona P6, P13
Gluvacov A P30
Goriuc Anca P25
Gotia Laura C27
Gotia Smaranda C27
Grabiec Marek R30
Greabu M. P17
Greabu Maria C36, C37, R35, P1, P12
Grecu Daniela Stefania P23, P24
Grecu Mihai Bujor P23, P24
Grigore G P30
Grigore Georgiana C14
Grigorian M. P14
Grigorian Mircea P35, P40, P41, P42
Gurban Camelia Vidita C27, P7

H

Hnidei Rodica P10
Hodârău Cristian P33
Hutanu Adina C29

I

Iacob Viorica R11
Ian D. Watson R12
Ilie Anamaria Felicia P37
Incze Andrea C25
Ioana Vîlceanu P18
Ioanina Parlatescu P12
Ionescu Gabriel R19
Ioniță Claudiu P28
Ioniță Hortensia P27, P28
Ioniță Ioana P27, P28
Ioniță Mihai P28
Iosub Rodica C23
Iovan Radu P44.
Iovan V. Ciprian P4
Irina Codiță R21
Ivanov Anca Viorica C14

Ivanov I C14, P30

Ivanov Iuliu C. R2

Ivanova I. P9

Ivanova Irena P8

J

Jardan C. R9

Jardan Cerasela R7

Jardan D. R7, R8, R9

Jitaru Daniela C14, R2, R31

Jordanov M. P9

Junie Lia Monica P33

K

Kostadinova A. P9

Krintus Magdalena R30

L

Lepa Carmen P43, P44

Leucuta Daniel P3

Lienerth Doris C18

Lighezan Rodica P7

Lixandru Brândușa- Elena P36

Lixandru Daniela P1

Lupeanu Elena P10

M

Macarie Melania C24

Mambet Cristina P31

Mandache Eugen C43

Marc Sorina P34

Marcu Cornelia Daniela P33

Marculescu Afrodita Doina P19

Marginean Oana C24

Martinescu Alina P11, P42

Marușca Patricia P44.

Micle Otilia P38

Mihăila Doina P26

Mihăila Romeo Gabriel C18

Mihăilescu Carmen P29

Mihăilescu M Carmen C23

Mihailov Claudia Ileana P5

Mihalache Manuela C18

Mircescu Daniela R35

Mircescu Gabriel C43

Miricescu D. P17

Miricescu Daniela C36, C37, P1, P12

Miron Ingrith Crenguta C14

Mocanu Brândușa C36

Moga Daniela P33, P34

Mohora M. P17

Mohora Maria C36, R35, P1, P12

Moldovan Carmen C23

Morosanu Bogdan P10

Moș Ioana P44.

Munteanu F. Melania P13

Mustățâ Mihaela R7

N

Nagy Előd C33

Narcis Vilceanu P18

Nășcuțiu Alexandra-Maria R22

Neagu Maria C15

Nechita Aurel P32

Neculoiu Carmen Daniela C34

Negru Serban C42

Neguț Marian R22, P36

Neicu Ariana C15

Nemes-Nagy Enikő C32, C33

Nicolae Corina Daniela C44

Nicolae Ilinca C44, P39

Nicolescu Alina C41

Nistor Raluca P3

Nuca A.M. P14

Nuca C. P14

Nucă Cristina P40, P41, P42, P45

Nyárádi Annamária C33

O

Olteanu Ariela Ligia C18

Oroș Dacian P28

P

Palicka Vladimir R26

Papuc S.M. C39

Patiu Mariana C16

Păun Diana Loreta P22

Pelea Diana P44.

Petcu Lucian P42

Petrescu Elena Dănilă R2

Pilat Luminița P6

Pollak Joanna R30

Pop Sorin Tudor C29

Popa Carmen P13

Popa Delia C41

Popa Dorina C34

Popa Ioan Mircea P37

Popescu Laura-Anca P1

Popescu Mihaela P31

Popoiu M. R20

Potre Ovidiu P28

Puiu Maria C42

Puscasu C.G. P14

Pușcașu Cristina Gabriela P45, P46

R

Radu Eugen C43
Rădulescu Ariadna C38
Rafila A. R20
Ramière Christophe C40
Robeva R. P9
Roman Ciprian C29
Roşoiu Natalia P5

S

Şachir Erdogan P40, P42
Sali Vera P15, P16
Sava Cristian P38
Sava Mihaela P20, P29
Savin Mihaela C23
Schipor Sorina P22
Scholtès Caroline C40
Selicean Elena-Cristina C16
Silaghi N. Ciprian P4
Solovan C. P26
Spineanu Radu P38
Stan Dana C23, P29
Stanciu Ana C43
Stancu Simona C43
Stefan Lorena Ivona C41
Ştefănescu Ana-Maria P22
Ştefănescu Victoriţa P32
Suditu Gabriela P26
Sypniewska Grazyna R30
Szabó Mónika C33

T

Talapan D. R20
Talmaci Rodica R8, R10
Tarasie Alina P20

Tatic Aurelia R11

Tenea C. R20
Terec Aurelia Doina P33, P34
Tirziu R. P7
Todor Corina Alexandra P33
Totan A. P17
Totan Alexandra C36, C37, R35, P1, P12
Tudor Raluca C15
Tudorascu Marius P19
Tudorascu Stefania P19
Tudusciuc Dana P43, P44
Tutulan-Cunita A. C39
Tutunaru Dana P32

U

Ungureanu Didona R2, R31

V

Vasilache Didona R7, R11
Verman Irinel Georgeta P5
Victor Balogh-Sămărghiţan C32, C33
Virgolici B. P17
Virgolici Bogdana P1
Vladica Maria P37
Vladimir Palicka R28
Vulpe Adriana R8, R10
Walentowicz Malgorzata R30

Z

Zaharia Kezdi Iringo C25
Zaporojan Natalia P20
Zdremţan Dana P6
Zdrîncă Mihaela P44
Zlei Mihaela C14, C17, P30



A 3-a Coferință Națională de Micologie Medicală

ESCMID Postgraduate Education Course

Antifungal Resistance and Its Challenges in the Management of Invasive Fungal Infections

20-22 Iunie 2013, Hotel Ramada, Sibiu, România

Abstract Book

ORGANIZERS

**Societatea Română de Micologie Medicală și Micotoxicologie
European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases
(ESCMID Fungal Infections Study Group)**

ABSTRACTS*

REZUMATELE LUCRĂRILOR

Candidoza respiratorie la pacientul vârstnic – considerații clinico-diagnostice și terapeutice pe seama unui caz clinic

**Irina Cotea, Irina Eșanu, Rodica Ghiuru, Munteanu Dragoș, Paloma Manea, Crînguța
Paraschiv, Cristina Gavrilescu**

*Clinica a V-a Medicină Internă și de Geriatrie-Gerontologie, Spital Universitar CF, Iași, Facultatea
de Medicină Dentară, UMF “Gr. T. Popa” Iași*

Afectarea pulmonară în infecțiile fungice invazive la pacientul vârstnic fragil, are frecvent incriminate specii de *Candida* și *Aspergillus*, generând un tablou clinic pauci-simptomatic și respectiv radiologic nespecific. Importanța diagnosticului pozitiv precoce este subliniată de severitatea evoluției acestor infecții, care afectează preponderent vârstnicii imunodeprimați, mai ales în prezența unor leziuni preexistente la nivelul căilor respiratorii inferioare, de frecvență rezistentă la tratament și mortalitatea crescută. Lucrarea prezintă cazul clinic al unei paciente în vârstă de 72 ani, cu factori de risc crescut pentru infecția fungică invazivă (1 factor de risc major și 7 factori de risc minori asociați), internată în secția de Medicină Internă și de Geriatrie-Gerontologie, a Spitalului Universitar CF Iași, în convalescența unei intervenții chirurgicale majore abdominale, pentru neoplasm recto-sigmoidian, cu evoluție postoperatorie complicată de o pneumonie bacteriană, ce a necesitat tratament complex medical și ventilație mecanică 10 zile în secția ATI. Pacienta a prezentat o formă severă de traheo-bronșită candidozică, pe fondul unei stenoze traheale majore (peste 50%), etajate, post-intubație traheala prelungită, cu evoluție nefavorabilă în lipsa tratamentului chirurgical.

Cazul clinic prezentat a oferit ocazia trecerii în revistă a clasificării micozelor pulmonare, a factorilor de risc crescut de infecție fungică invazivă, a formelor clinice de candidoză pulmonară și algoritmului de diagnostic al acestora, a tipurilor de tratament medical, precum și indicațiile și limitele tratamentului profilactic antifungic la vârstnicul fragil.

În practica medicală, stabilirea diagnosticului corect de candidoză pulmonară, impune de cele mai multe ori o bună colaborare interdisciplinară (internist, pneumolog, ORL-ist, medic de laborator, radiolog, infecționist) conturându-se ca fiind unul dificil și tardiv, marcat de o gravitate deosebită, rezistentă la tratament și evoluție frecvent nefavorabilă, mai ales în cazul pacientului vârstnic.

Cuvinte cheie: candidoza pulmonară, infecții fungice invazive, stenoze traheale;

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

Respiratory candidiasis in elderly patients - clinical diagnosis and therapeutic considerations of a clinical case

Irina Cotea, Irina Eșanu, Rodica Ghiuru, Munteanu Dragoș, Paloma Manea, Crînguța Paraschiv, Cristina Gavrilescu

Vth Clinic of Internal Medicine and Geriatrics, University Hospital CF, Iasi, Faculty of Dental Medicine, University of Medicine and Pharmacy "Gr. T. Popa" Iasi

Impaired pulmonary activity caused by invasive fungal infections in the frail and elderly patients, has as main causes *Candida* and *Aspergillus* species, resulting in a nonspecific clinical features from the point of view of paucisymptomatic and radiological results. The importance of an early positive diagnosis is emphasized by the severity of the evolution of these infections, which mainly affect the immunosuppressed elderly patients, especially in the presence of pre-existing lesions in the lower airways, frequency of treatment resistance and increased mortality. This article presents the clinical case of a 72 years old patient with high risk factors for invasive fungal infection (one major risk factor and seven associated minor risk factors), hospitalized in the Department of Internal Medicine and Geriatric-Gerontology, of the University Hospital CF Iași, recovering from major abdominal surgery for recto-sigmoid cancer. The postoperative treatment was complicated by bacterial pneumonia, which required complex medical treatment and mechanical ventilation for 10 days in the ICU ward. The patient developed a severe form of tracheobronchial candidiasis, having a background of major tracheal stenosis (over 50%), in rapid sequence, extended tracheal postintubation with unfavourable evolution in the absence of surgery. The analysed clinical case offered the opportunity to review the classification of pulmonary fungal infections, the high risk factors of invasive fungal infection, the clinical forms of pulmonary candidiasis and their diagnostic algorithm, the types of medical treatment and indications and limits of prophylaxis antifungal treatment in the frail elder. In medical practice, the correct diagnosis of pulmonary candidiasis often requires a precise interdisciplinary collaboration (internal medicine, pulmonology, otorhinolaryngology, laboratory analysis, radiology, infectious diseases) as a difficult and late symptomology medical issue, marked by extreme gravity, resistance to treatment and frequently unfavourable evolution, especially in the elderly patients.

Keywords: pulmonary candidiasis, invasive fungal infections, tracheal stenosis;

Infecții fungice produse de *Candida*: diagnostic micologic, sensibilitate la antifungice

Mirela Flonta¹, Ariana Almaș¹, Agneta Dumitru¹, Roxana Beckert¹, Catalina Hapaianu¹, Mihaela Lupșe^{1,2}, Carmen Costache³, Ioana Colosi³

1. Spitalul Clinic de Boli Infecțioase Cluj-Napoca, România, 2. Disciplina de Boli Infecțioase, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca, România, 3. Disciplina de Microbiologie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca, România

Introducere: În ultimii ani incidența infecțiilor determinate de *Candida* spp. a crescut datorită utilizării crescute a terapiei anticanceroase, a creșterii numărului de pacienți transplantați și imunodeprimați. Se impune necesitatea cunoașterii speciilor de *Candida* implicate, patogeniei (ex. izolarea *Candida* nu înseamnă întotdeauna infecție), formelor clinice și cunoașterea aspectelor terapeutice a infecțiilor micotice. Pentru aceasta izolarea, identificarea agentului etiologic și determinarea profilului de sensibi-

litate la antifungice sunt esențiale. Scopul studiului a fost determinarea distribuției speciilor de *Candida* izolate din diverse produse patologice și testarea sensibilității acestora la antifungice.

Material și Metodă: În perioada 2007-2012 s-a realizat identificarea și testarea sensibilității la antifungice a speciilor de *Candida* izolate din diverse produse patologice (sânge, urină, secreții de la nivelul tractului respirator) în laboratorul Clinicii de Boli Infecțioase din Cluj-Napoca, Romania. Probele prelucrate în acest laborator provin atât de la pacienți internați în această clinică cât și de la pacienți internați în alte clinici din Cluj-Napoca (secții chirurgicale, de terapie intensivă, pediatrie sau medicale).

Rezultate: Speciile de *Candida* izolate din hemoculturi au fost: *Candida parapsilosis* 40%, *Candida albicans* 36%, *Candida glabrata* 5%, *Candida guilliermondii* 5%, *Candida krusei* 4%, alte specii de *Candida* 10%. Au existat diferențe între copii și adulți, la adulți cea mai frecventă specie izolată a fost *C.albicans* (44%), iar la copii *C.parapsilosis* (56%). Cele mai frecvente specii de *Candida* izolate din urină și de la nivelul tractului respirator au fost *C.albicans*, *C.glabrata* și *C.krusei* (specie rezistentă la Fluconazol). În ce privește sensibilitatea la antifungicele testate, 87% dintre tulpini au fost sensibile la Caspofungină, 88,9% sensibile la Fluconazol și 93% la Voriconazol.

Concluzii: *C.albicans* s-a situat pe locul doi, după *C.parapsilosis*, ca specie de *Candida* izolată din hemoculturi. Rezistența la antifungice a fost prezentă, subliniind importanța testării sensibilității la antifungice.

Cuvinte cheie : infecții fungice, *Candida* spp., diagnostic micologic, sensibilitatea la antifungice.

Fungal infections produced by *Candida*: mycological diagnostic, susceptibility to antifungal drugs

Mirela Flonta¹, Ariana Almaș¹, Agneta Dumitru¹, Roxana Beckert¹, Catalina Hapăianu¹, Mihaela Lupșe^{1,2}, Carmen Costache³, Ioana Colosi³

1. Infectious Diseases Clinic of Cluj-Napoca, Romania, 2. Infectious Department, University of Medicine and Pharmacy "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca, Romania, 3. Microbiology Department, University of Medicine and Pharmacy "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca, Romania

Background: The incidence of infections caused by *Candida* spp. increased in the last years due to aggressive cancer chemotherapy, increasing number of transplants and immunocompromised patients. There is a need of knowledge regarding *Candida* species involved, pathogenesis (e.g. *Candida* isolation does not always mean infection), clinical forms and knowledge of therapeutic aspects of fungal infections. Therefore, isolation, identification of etiologic agent, and determining the antifungal susceptibility profile of *Candida* are essential. The aim of this study was to determine the distribution of *Candida* species isolated from different clinical samples and their antifungal susceptibility.

Material and Methods: Identification and antifungal susceptibility testing of *Candida* species isolated from clinical samples (blood, urine, respiratory tract secretions) was performed in laboratory of Infectious Diseases Hospital, Cluj-Napoca, Romania, between 2007-2012. Samples processed in this laboratory came from both patients hospitalized in the clinic and patients hospitalized in other clinics in Cluj-Napoca, patients hospitalized in surgical wards, intensive care units, pediatric units and medical departments. **Results:** *Candida* species isolated from blood cultures were: *Candida parapsilosis* 40%, *Candida albicans* 36%, *Candida glabrata* 5%, *Candida guilliermondii* 5%, *Candida krusei* 4%, other *Candida* species 10%. There were differences between adults and patients from pediatric units: *C.albicans* was the most frequent species isolated from adults (44%), while *C.parapsilosis* (56%) was the most frequent species isolated from children.

The main *Candida* species isolated from urine and respiratory tract samples were *C.albicans*, *C.glabrata*, and *C.krusei* (the latter resistant to fluconazol).

Regarding susceptibility to tested antifungal drugs, 87% of the strains were susceptible to caspofungin, 88.9% to fluconazol, and 93% to voriconazol.

Conclusions: *C.albicans* came on the second place, after *C.parapsilosis*, as *Candida* species isolated from blood cultures. Antifungal resistance was present, underlying the importance of susceptibility testing to antifungal drugs.

Keywords: fungal infections, *Candida* spp., mycological diagnostic, antifungal susceptibility.

Infecții fungice produse de alți fungi decât *Candida*: factori de risc, diagnostic micologic

Mirela Flonta¹, Ariana Almaș¹, Agneta Dumitru¹, Roxana Beckert¹, Catalina Hapaianu¹, Mihaela Lupșe^{1,2}, Carmen Costache³, Ioana Colosi³

1. Spitalul Clinic de Boli Infecțioase Cluj-Napoca, România, 2. Disciplina de Boli Infecțioase, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca, România, 3. Disciplina de Microbiologie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca, România

Introducere: Infecțiile de etiologie micotică reprezintă o provocare diagnostică și terapeutică. Infecțiile fungice sunt frecvent asociate cu disfuncții imune și cu prezența unor factori de risc. Numărul pacienților cu disfuncții imune a crescut datorită pandemiei SIDA, creșterii numărului pacienților transplantați, chimioterapiei agresive anticanceroase. Astfel, pe lângă *Candida*, alte levuri și fungi filamentoși pot fi izolați într-un laborator clinic. Pentru inițierea unei terapii optime cât mai precoce este esențială ameliorarea diagnosticului infecțiilor micotice și îmbunătățirea cunoștințelor privind patogenitatea fungilor alții decât *Candida*, prognosticul infecțiilor micotice la pacienții imunodeprimați și cu diverși factori de risc fiind unul sever. Scopul acestui studiu a fost prezentarea unor levuri și fungi filamentoși izolați din diverse produse patologice în laboratorul Clinicii de Boli Infecțioase din Cluj-Napoca, România. Material și Metodă: În perioada 2007 – 2013 s-a realizat izolarea și identificarea fungilor (alții decât *Candida*) izolați din diverse produse patologice (hemoculturi, spute, LCR, secreții sinusale, etc.) în laboratorul Clinicii de Boli Infecțioase din Cluj-Napoca, România. Probele prelucrate în acest laborator provin de la pacienți internați în această clinică și de la pacienți internați în alte clinici din Cluj-Napoca (secții chirurgicale, de terapie intensivă, pediatrie sau medicale).

Rezultate: Speciile de fungi izolate și identificate au fost: *Aspergillus* spp., *Rhizopus* spp., *Trichosporon* spp., *Cryptococcus* spp., *Saccharomyces cerevisiae*, *Geotrichum capitatum*. Pacienții de la care au fost izolate aceste specii au prezentat diverși factori de risc pentru infecțiile fungice: leucemii, infecție cu virusul HIV, diabet zaharat dezechilibrat, transplant cardiac sau renal.

Concluzii: Pe lângă infecțiile cu *Candida*, cel mai frecvent izolată din infecțiile micotice, în funcție de factorii de risc și patologia asociată a pacientului, alți fungi (pe primul loc *Aspergillus* spp.) pot fi agenții etiologici ai unor infecții severe, uneori încheiate cu decesul pacientului.

Cuvinte cheie: levuri (altele decât *Candida*), fungi filamentoși, factori de risc pentru infecțiile fungice.

Fungal infections caused by other fungi than *Candida*: risk factors, mycological diagnostic

Mirela Flonta¹, Ariana Almaș¹, Agneta Dumitru¹, Roxana Beckert¹, Catalina Hapaianu¹, Mihaela Lupșe^{1,2}, Carmen Costache³, Ioana Colosi³

1. Spitalul Clinic de Boli Infecțioase Cluj-Napoca, România, 2. Disciplina de Boli Infecțioase, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca, România, 3. Disciplina de Microbiologie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca, România

Background: Fungal infections represent a diagnostic and therapeutic challenge. Fungal infections are usually associated with immune dysfunction and the presence of risk factors. The number of patients with immune disorders has increased dramatically due to AIDS pandemic, increasing number of transplant patients, aggressive cancer chemotherapy. Thus, yeasts other than *Candida* and filamentous fungi can be isolated in a clinical laboratory. To initiate optimal therapy as soon as possible is essential to improve the diagnostic of fungal infections and the knowledge of the pathogenicity of fungi other than *Candida*, the prognosis of fungal infections in immunocompromised patients with various risk factors being severe. The aim of this study was to present several yeasts and filamentous fungi isolated from clinical samples in laboratory of Infectious Diseases Hospital of Cluj-Napoca, Romania.

Material and Methods: Identification of other fungi than *Candida* species isolated from clinical samples (blood cultures, sputum, CSF, sinuses secretions) was performed in laboratory of Infectious Diseases Hospital of Cluj-Napoca, Romania, between 2007-2013. Samples processed in this laboratory came from both patients hospitalized in the clinic and patients hospitalized in other hospitals in Cluj-Napoca, patients hospitalized in surgical wards, intensive care units, pediatric units and medical departments. Results: Fungi isolated and identified were: *Aspergillus* spp., *Rhizopus* spp., *Trichosporon* spp., *Cryptococcus* spp., *Saccharomyces cerevisiae*, *Geotrichum capitatum*. Patients from whom these fungi were isolated have presented risk factors for fungal infections: hematological malignancies, HIV infection, diabetes, and heart or kidney transplant. Conclusions: Beside *Candida* spp., most frequently isolated in fungal infections, other fungi (mainly *Aspergillus* spp.) can also produce severe infections, which, in association with patients' risk factors and associated pathologies, may sometimes lead to the death of the patient.

Keywords: yeasts (others than *Candida*), filamentous fungi, risk factors for fungal infections.

Factorii de risc ai infecțiilor candidozice iatrogene

Cristina-Maria Gavrilescu¹, Crînguța Paraschiv¹, Paloma Manea¹, Paraschiva Postolache¹, Munteanu D.¹, Rodica Ghiuru¹, Irina Cotea¹

1. Universitatea de Medicină și Farmacie "Gr.T.Popa" Iași

Introducere: Candidoza este o patologie tot mai frecventă în practica medicală, cu factori de risc cunoscuți, dar totuși în permanentă dinamică.

Material și metodă: Am urmărit să evaluăm infecțiile candidozice posibil iatrogene la pacienți internați în Clinica a V-a Medicală și de Geriatrie-Gerontologie UMF Iași pe o perioadă de 2 ani. Incriminarea medicamentelor ca și cauze ale infecțiilor candidozice a fost făcută utilizând criteriile școlii franceze de farmacovigilență și OMS. Rezultate: Dintre pacienții evaluați 71 au prezentat infecții candidozice iatrogene, dintre care 48 (67,6%) cu manifestări digestive și 22 (32,4%) cu manifestări

genitourinare. Medicamentele incriminate în producerea infecțiilor candidozice au fost: antibiotice și chimioterapice în 53 cazuri (76,6), corticoizi în 18 cazuri (25,4%). Gradul de incriminare a fost ridicat sau foarte ridicat în 47 cazuri (66,2%). Pacienții cu candidoze iatrogene au fost mai frecvent de sex feminin (51 cazuri, 71,8%), supraponderali sau obezi (31 cazuri, 43,6%), fumători (39 cazuri, 54,9%). Alte asocieri semnificative ale candidozelor iatrogene au fost cu: administrarea simultană de ≥ 4 medicamente simultan (în 49 cazuri, 69%), lipsa de administrare profilactică a unui probiotic (39 cazuri, 54,9%) și nerespectarea modului de administrare în cazul administrării topice de corticoizi (11 cazuri, 15,5%). Unii dintre acești factori de risc pot fi ei înșiși factori independenți de risc pentru candidoză (fumatul, polipragmazia), cu implicații practice din punct de vedere profilactic. De menționat nivelul ridicat al polipragmaziilor, care ar putea interveni atât prin creșterea încărcăturii chimice în organism, cât și prin modificarea statusului imun. Concluzii: Candidoza este o afecțiune iatrogenă frecventă într-o clinică medicală. În studiul de farmacovigilență descris cei mai importanți factori asociați de risc au fost: sexul feminin, supraponderabilitatea, fumatul, polipragmazia, lipsa administrării asociate a unui probiotic, nerespectarea condițiilor corecte de administrare. Cunoașterea factorilor de risc (mai ales modificabili) permite o profilaxie eficientă și deschide perspectiva cercetării mecanismelor patogenice asociate implicate.

Cuvinte cheie: candidoze, iatrogenii medicamentoase, factori de risc

Risk factors for iatrogenic candidiasis

**Cristina-Maria Gavrilăscu¹, Crînguța Paraschiv¹, Paloma Manea¹, Paraschiva Postolache¹,
Munteanu D.¹, Rodica Ghiuru¹, Irina Cotea¹**

1. Universitatea de Medicină și Farmacie "Gr.T.Popa" Iași

Background: Candidiasis has an increased frequency in clinical practice, with known risk factors, but yet in a continuous dynamic.

Material and method: We aimed to evaluate the possible iatrogenic candidiasis in patients admitted in the Vth Internal Medicine Clinic and of Geriatrics Gerontology UMF Iasi for a two years period. The incriminating of the suspect drugs as a cause for candidiasis used the criteria of the French and WHO pharmacovigilance. Results: From the examined patients 71 had iatrogenic candidiasis, out of which 48 (67.6%) had digestive expression and 22 (32.4%) had genitourinary expression. The incriminated medicaments have been antibiotics and chemotherapics in 53 cases (76.6%), corticoids in 18 cases (25.4%). Degree of incrimination has been high or very high in 47 cases (66.2%). The patients with iatrogenic candidiasis have been more frequently women (51 cases, 71.8%), obese (31 cases, 43.6%), smokers (39 cases, 54.9%). Other significant associations of the iatrogenic candidiasis have been proved to be those with: polypragmasia (simultaneous administration of ≥ 4 drugs), (in 49 cases, 69%), the lack of prophylactic administration of a probiotic (39 cases, 54.9%) and incorrect administration of topic corticoids (11 cases, 15.5%). Some of these are independent risk factors for candidiasis (smoking, polypragmasia), with practical prophylactic importance. It is impressive the high level of polypragmasia, which may be involved as a cause both by increasing the chemical burden of the body and by changes in the normal immune profile. Conclusions: Candidiasis is a frequent iatrogenic disease in an Internal Medicine Clinic. In the described pharmacovigilance study the most important associated risk factors have been the feminine gender, obesity, smoking, polypragmasia, the lack of prophylactic administration of a probiotic, incorrect conditions of administration. Describing

risk factors (especially the modifiable ones) allows an efficient prophylactic attitude and opens the way for research of the pathogenic mechanisms involved.

Keywords: candidiasis, iatrogenesis, risk factors

Spectrul etiologic al infecțiilor fungice la pacienții cu alcoolism cronic

**I.Marincu¹, L.Țîrnea¹, Nicoleta Bertici¹, Ioana Todor², V.Năstasă³, Ramona Moraru³,
Olimpia Iacob³, M.Mareș³**

1. Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș", Timișoara, 2. Universitatea "1 Decembrie 1918" Alba Iulia, 3. Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară "Ion Ionescu de la Brad", Iași

Introducere: pacienții cu alcoolism cronic sunt imunocompromiși și reprezintă un grup de populație cu un risc înalt pentru infecțiile fungice. Studiul are ca scop determinarea etiologiei infecțiilor fungice la un grup de pacienți cu alcoolism cronic.

Material și Metode: autorii au analizat retrospectiv datele a 36 de pacienți cu alcoolism cronic internați în Clinica de Boli Infecțioase Timișoara cu candidoze cutaneo-mucoase și afecțiuni dermatofitice. Diagnosticul pozitiv a fost stabilit pe baza examenului fizic (febră, scădere ponderală, pete albe pe limbă, cefalee, etc.), și datelor de laborator (numărul de leucocite, VSH, electroforeză, hemocultură, sputocultură, exudat lingual și cultură pe mediul CROM-agar sau Sabouraud). Identificarea s-a efectuat cu API Candida sistem, ATB Fungus 2 pentru testarea sensibilității la antifungice și examenul microscopic direct al speciilor fungice. Rezultate: Șase pacienți au fost diagnosticați cu candidoză linguală, patru pacienți - candidoză orofaringeală, patru pacienți - balanopostită candidozică, trei pacienți - vulvovaginită candidozică, cinci pacienți - perleș candidozic, patru pacienți - onicomicoză candidozică, șase pacienți - tinea pedis și patru pacienți - tinea capitis. S-au izolat: patru tulpini de Trichophyton rubrum, șase de Trichophyton mentagrophytes interdigitale, 16 de Candida albicans și șase tulpini de Candida nonalbicans: două de Candida glabrata, două de Candida kefyr, una de Candida parapsilosis și una de Candida guilliermondii. Din cele șase tulpini de Candida non-albicans, două au fost rezistente la fluconazol. S-au înregistrat comorbidități asociate: 11 pacienți cu pneumonie acută, șase cu bronhopneumonie, 10 cu BPOC, patru cu cancer pulmonar, 16 cu hepatită cronică, 12 cu ciroză hepatică, 12 de enterocolită acută, 10 de erizipel, 12 cu infecție urinară, opt cu TBC pulmonar, patru pacienți cu diabet zaharat, 13 pacienți cu gastrită cronică cu Helicobacter pylori.

Concluzii: Cunoașterea etiologiei infecțiilor fungice la pacienții cu alcoolism cronic permite stabilirea de terapii antifungice individualizate și ținute cu rezultate clinice și de laborator optime.

Cuvinte cheie: infecții fungice, pacienți cu alcoolism cronic, candidoze.

Etiological spectrum of fungal infections in chronic alcoholic patients

**I.Marincu¹, L.Tirnea¹, Nicoleta Bertici¹, Ioana Todor², V.Nastasa³, Ramona Moraru³,
Olimpia Iacob³, M.Mares³**

1. "Victor Babes" University of Medicine and Pharmacy, Timisoara, 2. "1 Decembrie 1918" University, Alba Iulia, 3. "Ion Ionescu de la Brad" University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, Iasi

Background: Chronic alcoholic patients are immunocompromised and they represent a population group with a high risk for fungal infections. This study aims to determine the etiology of fungal infections in a group of chronic alcoholic patients.

Materials and Methods: the authors have retrospectively analyzed the medical history of 36 chronic alcoholic patients hospitalized in the Clinic of Infectious Diseases Timisoara with mucocutaneous candidiasis and dermatophytic infections. The positive diagnosis was established based on physical examination (fever, weight loss, white patches on the tongue, headache, etc.) and laboratory data (leukocyte count, erythrocyte sedimentation rate, electrophoresis, blood culture, sputum culture, glossal exudate and CHROM-AGAR or Sabouraud medium culture). The identification has been made by API Candida system, ATB Fungus 2 system testing for antifungal susceptibility and direct microscopy examination of fungal specimens. **Results:** six patients were diagnosed with lingual candidiasis, four patients - oropharyngeal candidiasis, four patients - Candida balanoposthitis, three patients - Candida vulvovaginitis, five patients - Candida perleche, four patients - Candida onychomycosis, six patients - tinea pedis and four patients - tinea capitis. There were isolated: four strains of Trichophyton rubrum, six of Trichophyton mentagrophytes interdigitale, 16 of Candida albicans and six strains of Candida non-albicans: two of Candida glabrata, two of Candida kefyr, one of Candida parapsilosis and one of Candida guilliermondii. Out of the six strains of Candida non-albicans, two were resistant to fluconazole. Associated comorbidities were registered: 11 patients with acute pneumonia, six with bronchopneumonia, 10 with COPD, four with pulmonary cancer, 16 with chronic hepatitis, 12 with liver cirrhosis, 12 with acute enterocolitis, 10 with erysipelas, 12 with urinary infection, eight with pulmonary TB, four patients with diabetes mellitus, 13 patients with chronic gastritis with Helicobacter pylori. **Conclusions:** Knowledge of the etiology of fungal infections in chronic alcoholic patients allows the establishment of individualized and targeted antifungal therapy with clinical and laboratory optimal results.

Keywords: fungal infections, chronic alcoholic patients, candidiasis.

Prevalența candidozei orale la pacienții cu hepatită cronică C, sub tratament cu interferon și ribavirină

**I.Marincu¹, L.Țirnea¹, Nicoleta Bertici¹, Ioana Todor², V.Năstasă³, Ramona Moraru³,
Olimpia Iacob³, M.Mareș³**

1. Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș", Timișoara, 2. Universitatea "1 Decembrie 1918", Alba Iulia, 3. Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară "Ion Ionescu de la Brad", Iași

Introducere: Hepatita cronică C este o preocupare majoră de sănătate. Ne-am propus să determinăm prevalența infecțiilor fungice la un grup de pacienți cu hepatită cronică C tratați cu interferon

(IFN) și ribavirină (RIB). Material și Metode: Studiul a inclus un grup de 42 de pacienți, cu hepatită cronică C, internați în Clinica de Boli Infecțioase Timișoara. Diagnosticul pozitiv a fost stabilit pe baza datelor subiective (astenție, hepatalgii, anorexie, etc.) asociate cu rezultatele examenului clinic (hepatomegalie, icter, pete albe pe limbă, etc), rezultatele probelor biologice (hemoleucogramă, VSH, ALT, AST, gamma-GT, Ac HCV, electroforeză, exudate linguale și cultură pe mediul CROM-agar sau Sabouraud, etc.) și investigații paraclinice (ecografie abdominală, biopsie hepatică). Identificarea s-a efectuat cu API Candida sistem, ATB Fungus 2 pentru testarea sensibilității la antifungice și examenul microscopic direct al speciilor fungice. Toți pacienții au fost tratați cu peg-interferon (Pegasys 180 micrograme/săptămână), plus ribavirină (Copegus 1000-1200 mg/zi) timp de 6-12 luni.

Rezultate: din grupul de studiu, 24 (57,14%) pacienți au fost femei și 18 (42,85%) au fost bărbați; cinci pacienți (11,90%) au fost diagnosticați cu candidoză orală. Au fost izolate: trei tulpini de *Candida albicans* și două tulpini de *Candida nonalbicans* (una de *Candida glabrata* și una de *Candida kefyr*). Toate cele cinci tulpini de *Candida* au fost sensibile la fluconazol. Comorbidități asociate înregistrate: 12 pacienți cu dislipidemie, opt pacienți cu giardioză intestinală, patru pacienți cu obezitate, doi pacienți cu diabet zaharat, doi pacienți cu vitiligo, șase pacienți cu litiază biliară și cinci pacienți cu litiază renală. Sub tratament cu fluconazol (150 mg/zi, 7-10 zile), candidoza orală a fost rezolvată la toți pacienții. Concluzii: prevalența înaltă a candidozei orale la pacienții cu hepatită cronică C, sub tratament cu IFN și RIB evidențiază necesitatea implementării metodelor eficiente de diagnostic precoce și profilaxie a candidozei la acești pacienți.

Cuvinte cheie: candidoză orală, hepatită cronică C, interferon, ribavirină.

The prevalence of oral Candidiasis in chronic hepatitis C patients under treatment with interferon and ribavirin

**I.Marincup, L.Tirnea¹, Nicoleta Bertici¹, Ioana Todor², V.Nastasa³, Ramona Moraru³,
Olimpia Iacob³, M.Mares³**

1. "Victor Babes" University of Medicine and Pharmacy, Timisoara, 2. "1 Decembrie 1918" University, Alba Iulia, 3. "Ion Ionescu de la Brad" University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine, Iasi

Background: Chronic hepatitis C is a major health concern. The purpose of the research is to determine the prevalence of fungal infections in a group of chronic hepatitis C patients treated with interferon (IFN) and ribavirin (RIB).

Materials and Methods: The study included a group of 42 patients, with chronic hepatitis C, hospitalized in Clinic of Infectious Diseases Timisoara. The positive diagnosis was established based on the subjective data (asthenia, hepatalgia, anorexia, etc.) associated with the results of the clinical examination (hepatomegaly, jaundice, white patches on the tongue, etc.), the results of the biological samples (blood cell identification, erythrocyte sedimentation rate, ALT, AST, gamma-GT, HCV Ab, electrophoresis, lingual swabs and CHROM-AGAR or Sabouraud medium culture, etc.) and paraclinical investigations (abdominal ultrasound, liver biopsy). The identification has been made by API Candida system, ATB Fungus 2 system testing for antifungal susceptibility and direct microscopy examination of fungal specimens. All patients were treated with peg-interferon (Pegasys 180 µg/weekly) plus ribavirin (Copegus 1000-1200 mg/daily) during 6-12 months. Results: Of study group 24 (57.14%) patients were females and 18 (42.85%) were males; five patients (11.90%) were diagnosed with oral Candidiasis. There were isolated: three strains of *Candida albicans* and two strains of *Candida non-albicans*

(one of *Candida glabrata* and one of *Candida kefyr*). All five strains of *Candida* were susceptible to fluconazole. Associated comorbidities registered: 12 patients with Dislipidemia, eight patients with intestinal Giardiasis, four patients with Obesity, two patients with Diabetes mellitus, two patients with Vitiligo, six patients with cholelithiasis and five patients with nephrolithiasis. Fluconazole therapy (150 mg/daily, 7-10 days) treated oral candidiasis in all patients. Conclusions: High prevalence of oral Candidiasis in chronic hepatitis C patients under treatment with IFN and RIB, highlights the need for the implementation of efficient prophylaxis and early diagnosis methods of candidiasis in these patients.

Keywords: oral candidiasis, chronic hepatitis C, interferon, ribavirin.

Contaminarea fungică a condimentelor iuți

Adrian Man¹, Irina Irimia², Anca Mare¹, Lidia Man², Felicia Toma¹

1. Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu-Mureș, Disciplina de Microbiologie, 2. Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu-Mureș

Introducere: Contaminarea fungică a plantelor și semințelor reprezintă un aspect problematic în industria alimentară. Scopul lucrării este determinarea calitativă și cantitativă a gradului de contaminare cu fungi filamentoși în condimentele iuți comercializate în magazinele din România.

Material și metodă: S-au analizat probe de condimente (piper negru, piper alb și chili) de la mai multe firme de distribuție în marile magazine din România, în perioada 1.11.2012 – 28.02.2013. S-au cântărit 10g din probă, care s-au omogenizat în 90 ml ser fiziologic steril. S-au efectuat diluții succesive din supernatant, din care s-au însămânțat câte 200 μ l pe medii specifice. Incubarea s-a efectuat timp de 3-5 zile, timp în care s-a urmărit dezvoltarea coloniilor fungice, numeric și calitativ (identificare după izolarea fiecărei colonii distincte). S-a calculat numărul de CFU/gram de produs pentru fiecare probă. S-a analizat doar cantitativ și gradul de contaminare bacteriană. Rezultate: S-au analizat probe de la 7 firme producătoare. Gradul de contaminare fungică a variat între 0 și 190 CFU/g, iar numărul bacteriilor/sporilor bacterieni între 0 și 20000 CFU/g, în funcție de producător. Contaminările masive au apărut la toate produsele aceluiși producător. Cel mai contaminat a fost piperul negru, urmat de chili. În piper alb nu s-au identificat fungi. Diversitatea speciilor/produs a variat între 1 și 7. Speciile identificate fac parte din genurile *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Circinella*, *Mucor*, *Rhizopus*, *Absidia*. Numărul cel mai mare de CFU s-a regăsit pentru *Penicillium* și *Aspergillus*. Concluzii: Gradul de contaminare al condimentelor iuți este divers, în funcție de producător. Sunt prezente specii de fungi cu potențial patogen, posibil producători de micotoxine. Contaminările masive regăsindu-se la anumite firme producătoare, se ridică întrebări legate de condițiile de păstrare a condimentelor-sursă respectiv legate de procesul industrial de prelucrare și ambalare.

Cuvinte cheie: fungi, condimente, contaminarea alimentelor, păstrarea alimentelor, manipularea alimentelor.

Fungal contamination of hot spices

Adrian Man ¹, Irina Irimia ², Anca Mare ¹, Lidia Man ², Felicia Toma ¹

1. University of Medicine and Pharmacy Tîrgu-Mureş, Departament of Microbiology, 2. University of Medicine and Pharmacy Tîrgu-Mureş

Background: Fungal contamination of plants and seeds is a problematic finding in food industry. Our purpose is to evaluate from a qualitative and quantitative point of view the contamination degree with filamentous fungi in several hot spices, commercialized in Romanian market.

Material and Methods: We have analyzed samples of spices (black pepper, white pepper and chili) from several distribution companies in many major stores in Romania, between 11.01.2012 - 02.28.2013. Ten grams from each sample were weighted and homogenized in 90 ml of sterile saline. Successive dilutions from supernatant were created and from each dilution 200 µl were inoculated on specific culture media. Incubation was from 3 to 5 days, while the fungal colonies development was monitorised, both quantitative and qualitative (identification after the isolation of each distinct colony type). Finally, the UFC/gram of product was determined for each sample. The degree of bacterial contamination was analyzed only quantitatively. Results: Samples from 7 manufacturing companies were analyzed. The degree of fungal contamination varied between 0 and 190 UFC/g, and the number of bacteria/bacterial spores between 0 and 20000 UFC/g, depending on manufacturer. Massive contamination occurred in all products from the same manufacturer. The black pepper was mostly contaminated, followed by chili. In white pepper, no fungi were identified. The diversity of species/product ranged from 1 to 7. The identified species belonged to the *Aspergillus*, *Penicillium*, *Fusarium*, *Circinella*, *Mucor*, *Rhizopus*, and *Absidia* genera. The highest number of UFC was recovered for *Penicillium* and *Aspergillus*. Conclusions: The contamination degree of hot spices is different, depending on the manufacturer. Several potentially pathogenic fungal species are present, possibly mycotoxin-producing ones. A massive contamination being found in some manufacturing companies, several questions about storage conditions of spices or related industrial processing and packaging processes are raised.

Keywords: fungi, spices, food contamination, food storage,

Evaluarea comparativă a acţiunii antifungice a voriconazolului şi a unui nou derivat de propiconazol (MXP405) pe tulpini levurice rezistente la fluconazol

Bogdan Minea¹, Ramona Moraru², Valentin Năstăsă², Bogdan Doroftei³, Iosif Marincu⁴, Mareş Mihai²

1. Institutul de Chimie Macromoleculară „Petru Poni” Iaşi, 2. Laboratorul de Chimioterapie Antimicrobiană, USAMV „Ion Ionescu de la Brad” Iaşi, 3. Clinica a II-a Obstetrică Ginecologie, UMF „Gr. T. Popa” Iaşi, 4. Universitatea de Medicină şi Farmacie "Victor Babeş", Timişoara

Introducere: În contextul unei incidenţe în creştere la nivel mondial a rezistenţei la fluconazol, îndeosebi în cazul izolatelor de *C. glabrata* şi al celor din speciile rare de *Candida* şi *nonCandida*, necesitatea adăugării de noi agenţi antifungici în arsenalul terapeutic devine tot mai evidentă.

Material şi Metodă: Au fost studiate 57 de izolate levurice provenind din prelevate clinice, izolate în perioada 2010-2011, din 4 spitale terţiare din diferite regiuni ale României (Iaşi, Cluj, Tg. Mureş, Timişoara). Sensibilitatea a fost determinată prin metoda diluţiilor în bulion EUCAST

E. Def. 7.1. Pentru încadrarea în categoria clinică de „rezistent” au fost folosite, după caz, puncte de ruptură, specifice sau nespecifice, sau ECOFF-uri. Rezultate: 18 izolate (31,58%) au provenit din infecții sistemice (BSI), 9 (15,79%) din infecții profunde (DEEP) și 30 (52,63%) din infecții superficiale (SUP). 53 de izolate aparțin *Candida* sp. (*C. albicans* - 4, *C. famata* - 1, *C. glabrata* - 6, *C. haemulonii* - 1, *C. inconspicua* - 2, *C. krusei* - 27, *C. lambica* - 1, *C. norvegensis* - 1, *C. parapsilosis* - 1, *C. pelliculosa* - 1, *C. robusta* - 3, *C. rugosa* - 2, *C. tropicalis* - 3), iar 4 altor genuri (*Geotrichum candidum* - 1, *Rhodotorula mucilaginosa* - 1, *Trichosporon asahii* - 1, *Trichosporon moniliiforme* - 1). 11 izolate de *Candida* sp. (6 BSI, 3 DEEP și 2 SUP) și unul nonCandida (SUP) au manifestat rezistență și la voriconazol. Concluzii: MXP405 a fost în general superior voriconazolului ($P < 0,05$), cu excepția speciei *C. krusei*, în cazul căreia noul compus a fost ușor inferior ($P=0,041$). Aparent MXP405 este îndeosebi eficient împotriva *C. glabrata* dar diferențele nu au fost semnificative statistic ($P=0,0625$) ceea ce era de așteptat cu doar 6 izolate testate. Totuși valorile apropiate de 0,05 ale lui P , indică necesitatea aprofundării cercetărilor în ambele cazuri.

Cuvinte cheie: candidemii, rezistență, fluconazol, voriconazol, MXP405, fungistatic

Comparative evaluation of the antifungal activity of voriconazole and a new propiconazole derivative (MXP405) against fluconazole-resistant yeast isolates

Bogdan Minea¹, Ramona Moraru², Valentin Năstasă², Bogdan Doroftei³, Iosif Marincu⁴, Mihai Mareș²

1. Institute of Macromolecular Chemistry “Petru Poni” of Iasi, 2. Antimicrobial Chemotherapy Laboratory, USAMV “Ion Ionescu de la Brad” of Iași, 3. Clinic II Obstetrics and Gynaecology, UMF “Gr. T. Popa” of Iasi, 4. “Victor Babes” University of Medicine and Pharmacy, Timisoara

Background: In the context of a worldwide increasing incidence of fluconazole resistance, especially with isolates of *C. glabrata* and also rare *Candida* and nonCandida species, the necessity of adding new antifungal agents to the therapeutic arsenal becomes evermore obvious.

Material and Methods: 57 resistant clinical yeast isolates collected within the 2010-2011 time-frame from four Romanian tertiary hospitals located in different parts of Romania (Iasi, Cluj, Tg. Mures and Timisoara) were investigated. The EUCAST E. Def. 7.1 broth dilution method was used to determine susceptibility. Assigning isolates to the “resistant” clinical category was done using specific or nonspecific breakpoints or ECOFFs, as applicable. Results: 18 isolates (31.58%) came from blood stream infections (BSI), 9 (15.79%) from deep seated infections (DEEP) and 30 (52.63%) from superficial infections (SUP). 53 isolates belong to *Candida* sp. (*C. albicans* - 4, *C. famata* - 1, *C. glabrata* - 6, *C. haemulonii* - 1, *C. inconspicua* - 2, *C. krusei* - 27, *C. lambica* - 1, *C. norvegensis* - 1, *C. parapsilosis* - 1, *C. pelliculosa* - 1, *C. robusta* - 3, *C. rugosa* - 2, *C. tropicalis* - 3) while 4 belong to other genera (*Geotrichum candidum* - 1, *Rhodotorula mucilaginosa* - 1, *Trichosporon asahii* - 1, *Trichosporon moniliiforme* - 1). 11 *Candida* sp. isolates (6 BSI, 3 DEEP and 2 SUP) and one nonCandida isolate (SUP) showed voriconazole resistance. Conclusions: In most cases MXP405 was superior to voriconazole ($P < 0.05$), except for *C. krusei*, in which case the new compound was slightly inferior ($P=0.041$). Apparently MXP405 is especially efficient against *C. glabrata*, the differences, however, were not statistically significant ($P=0.0625$) which was to be expected with only 6 isolates tested. Nonetheless P 's close to 0.05 values show the need for further research in both cases.

Keywords: candidiasis, resistance, fluconazole, voriconazole, MXP405, fungistatic

Evaluarea efectului fungicid al apei activate cu plasmă pe tulpini de levuri

Ramona Moraru¹, Valentin Năstasă¹, Eugen Hnatiuc², Marius Ursache², Mihai Mareș¹

1. Laboratorul de Chimioterapie Antimicrobiană, USAMV "Ion Ionescu de la Brad", Iași;

2. Universitatea Tehnică "Gheorghe Asachi", Iași

Introducere: Infecțiile invazive determinate de tulpini de *Candida* reprezintă o problemă gravă de sănătate publică datorită morbidității și mortalității crescute (Eggiman și col., 2011; Lockhart și col., 2011; Schmalreck și col., 2011).

Inactivarea microorganismelor cu potențial patogen utilizând lichide tratate cu plasmă rece reprezintă un domeniu de actualitate pentru medicină. Studiile recente arată că nu este necesară o tratare sub acțiunea directă a descărcării de tip plasmă rece a mediului contaminat pentru a obține o inactivare eficientă a microorganismului vizat (Oehmigen și col., 2011).

Material și Metodă: Efectul fungicid al apei activate cu plasmă rece (PAW) a fost evaluat pe 11 tulpini de levuri provenite din prelevate clinice (candidemii superficiale și profunde). Cele 11 tulpini levurice provin din Colecția Română de Tulpini Tip (RTCC) și au fost reprezentate de: *C. albicans* RTCC 1003, *C. lambica* RTCC 1104, *C. robusta* RTCC 1134, *C. krusei* RTCC 1001, *C. dubliniensis* RTCC 1044, *C. kefyr* RTCC 1019, *C. parapsilosis* RTCC 1018, *C. guilliermondii* RTCC 1055, *C. glabrata* RTCC 1054, *C. tropicalis* RTCC 1559 și *Rhodotorula rubra* RTCC 1254.

Rezultate: Reducția de minim 5 log₁₀ a fost considerată ca prag de sensibilitate a unui efect cid puternic. Sensibilitatea la PAW a tulpinilor testate este variabilă, reducția de 5 log₁₀ manifestându-se într-un interval de la 5 la 60 minute, cu un procent de 9,09% (*C. albicans*) redus în 5 minute de la contact cu PAW, 27,27% în 15 minute (*C. dubliniensis*, *C. glabrata* și *Rhodotorula rubra*), 36,36% în 30 minute (*C. krusei*, *C. kefyr*, *C. guilliermondii*, *C. tropicalis*), 9,09% în 45 de minute (*C. parapsilosis*), iar în cazul tulpinilor de *C. robusta* și *C. lambica* (18,19%) timpul optim de contact cu PAW pentru obținerea reducerii UFC a depășit 60 de minute. **Concluzii:** Tulpinile de *Candida* s-au comportat diferit față de efectul antifungic al PAW, acest aspect fiind direct legat de faptul că genul *Candida* este o grupare taxonomică neomogenă, de specii neînrudite, artificial creată. Astfel, majoritatea tulpinilor de *Candida* testate au fost reduse în 15 până la 30 minute de acțiune a PAW.

Cuvinte cheie: PAW, efect fungicid, levuri, *Candida*.

Assessment of the fungicidal effect of plasma activated water on yeast strains

Ramona Moraru¹, Valentin Năstasă¹, Eugen Hnatiuc², Marius Ursache², Mihai Mareș¹

1. Antimicrobial Chemotherapy Laboratory, USAMV "Ion Ionescu de la Brad", Iași; 2. Technical University "Gheorghe Asachi", Iași

Backgrounds: Invasive infections determined by *Candida* strains represent a serious public health problem due to its increased morbidity and mortality (Eggiman et al., 2011; Lockhart et al., 2011; Schmalreck et al., 2011).

The inhibition of the pathogen microorganisms using liquids treated with non-thermal plasma discharge represents an exciting domain in medicine. Latest studies prove that there is no need for direct treatment of the contaminated environment with non-thermal plasma discharges in order to obtain a complete inhibition of the microorganism (Oehmigen et al., 2011). **Material and Method:** Fungicide ef-

fect of the non-thermal plasma activated water (PAW) was assessed on eleven yeast strains representing clinical isolates (superficial and deep seated candidemia). The eleven strains are from Romanian Type Culture Collection (RTCC) and are represented by: *C. albicans* RTCC 1003, *C. lambica* RTCC 1104, *C. robusta* RTCC 1134, *C. krusei* RTCC 1001, *C. dubliniensis* RTCC 1044, *C. kefir* RTCC 1019, *C. parapsilosis* RTCC 1018, *C. guilliermondii* RTCC 1055, *C. glabrata* RTCC 1054, *C. tropicalis* RTCC 1559 and *Rhodotorula rubra* RTCC 1254.

Results: A reduction of minimum 5 log₁₀ was considered the susceptibility threshold for a good cid effect. The susceptibility of the tested strains to PAW was variable, the reduction of 5 log₁₀ was obvious between 5 to 60 minutes, 9.09% (*C. albicans*) from strains were reduced in 5 minutes from the contact with PAW, 27.27% in 15 minutes (*C. dubliniensis*, *C. glabrata* and *Rhodotorula rubra*), 36.36% in 30 minutes (*C. krusei*, *C. kefir*, *C. guilliermondii*, *C. tropicalis*), 9.09% in 45 minutes (*C. parapsilosis*), and for *C. robusta* and *C. lambica* strains (18,19%) the optimal contact time with PAW in order to decrease CFU/ml was more than 60 minutes.

Conclusions: *Candida* strains exhibited a different behavior towards antifungal effect of PAW, this being directly related to the fact that *Candida* genus is an inhomogeneous taxonomic group, of unrelated species and artificially created. Thus, the majority of the tested *Candida* strains were inhibited by PAW within 15 to 30 minutes.

Keywords: PAW, fungicide effect, yeasts, *Candida*.

Cercetări privind influența diferitelor concentrații de aflatoxină asupra unor organe vitale la șoarece

Necula V.¹, Puchianu G.¹, Enache D.V.¹

1. Universitatea Transilvania din Brașov, Facultatea de Alimentație și Turism

Introducere: Studiul reliefează impactul aflatoxinelor produse de diferiți fungi asupra unor organe vitale pe fondul dozelor inoculate subiecților din experiment.

Material și metodă: S-au izolat fungi de la o matrice de lucru reprezentată de cereale (porumb, grâu, secară) și s-a determinat micotoxina prin testul ELISA. Micotoxina identificată (aflatoxina) s-a inoculat la șoareci albi pentru stabilirea gradului de afectare a diferitelor organe țintă (ficat, cord, rinichi). Dozele inoculate au fost de 2,5 ppm pentru un lot și 4,5 ppm pentru celălalt lot de subiecți. După 15 zile șoarecii albi au fost sacrificați și s-au prelevat organe în vederea examenului histopatologic. Pentru colorare s-au utilizat metodele hematoxilină eozină și tricrom Masson, modificată.

Rezultate: Pentru subiecții aparținând lotului la care s-a administrat 2,5 ppm aflatoxină au predominat leziunile cu caracter distrofico-necrotic și ischemic. Pentru lotul la care subiecții au fost inoculați cu 4,5 ppm tabloul morfopatologic a fost dominat de leziuni cu un profund caracter proliferant oncogen. Concluzii: Dozele de 2,5 ppm induc leziuni cu caracter ischemic și distrofico necrotic iar dozele de 4,5 ppm induc leziuni cu caracter proliferant oncogen.

Cuvinte cheie: Fungi, aflatoxină, leziuni proliferativ-oncogene

Researches on the influence of different aflatoxin concentrations on vital organs in mice

Necula V.¹, Puchianu G.¹, Enache D.V.¹

1. Transilvania University, Braşov, Faculty of Foods and Turism

Background: This study reveals the impact of aflatoxin producing fungi on various vital organs due to dose inoculated on the experiment subjects.

Materials and methods: Fungi have been isolated from a working array represented by grains (corn, wheat and rye) and the mycotoxin was determined by ELISA. The white mice were inoculated with the identified mycotoxins (aflatoxin) in order to determine the lezional degree on different target organs (liver, heart, kidneys). The inoculated dosis were 2.5 ppm and 4.5 ppm for a group and respectively the other group of subjects. After 15 days the mice were sacrificed and organs were collected for histopathological examination. For staining method was used hematoxylin eosin and Masson tri-chrome, modified. **Results:** For the subjects belonging to group receiving 2.5 ppm aflatoxin, the predominant lesions were dystrophic - necrotic and of ischemic nature. The subjects belonging to the group inoculated with 4.5 ppm, had the pathological modifications mainly expressed by lesions with a obvious proliferative oncogenic character. **Conclusions:** The doses of 2.5 ppm induced ischemic and distrofic necrotic injuries and doses of 4.5 ppm induced injuries with proliferating oncogenic character.

Keywords: Fungi, aflatoxin - proliferative lesions, distrofico – oncogenic lesions

Observații clinice privind infecțiile cu *Malassezia* la pisică

Carmen Negoită

Facultatea de Medicină Veterinară, București

Introducere: *Malassezia* este recunoscută ca o levură comensală la pisică, cu localizare cutanată și auriculară. Infecțiile cu *Malassezia* sunt rar diagnosticate la această specie, fiind frecvent asociate altor afecțiuni, precum: atopie, alergie alimentară, imunosupresie (leucemia și imunodeficiența felină virală), sebooree, disfuncții hormonale, etc. În general, nu există o predispoziție de rasă și vârstă a dermatitei cu *Malassezia*; totuși, rasele Sfinx, Devon Rex, Persană și Himalaiană pot fi mai frecvent afectate.

Material și metodă: În practica mea dermatologică am surprins 2 cazuri particulare de dermatită cu *Malassezia*, la un mascul nesterilizat de 8 luni din rasa Sfinx și respectiv, la un mascul nesterilizat de 1 an din rasa Persană. În primul caz au fost semnalate leziuni de dermatită seboeică generalizată, cu aspect eritemato-scvamos și contur circular în diametru de 2-3 cm, foarte asemănătoare cu leziunile dermatofitice umane. În același caz au mai fost surprinse leziuni de paronichie și otită externă, alături de prezența unui exsudat brun-uleios la nivel periocular și interdigital. În al doilea caz, leziunile seboeice au avut o localizare facială (de tip acnee), fiind însoțite de hiperpigmentare în zona genitală și a cozii. În ambele cazuri, pruritul a fost slab, chiar absent.

Rezultate: Examenul citologic și cultural al leziunilor au fost relevante în stabilirea diagnosticului de malasezioză. **Concluzii:** Leziunile cutanate semnalate la rasa Sfinx s-au dovedit a fi foarte asemănătoare cu leziunile umane de tinea versicolor, astfel încât malasezioza felină de la această rasă ar putea fi considerată ca un echivalent (model) clinic al malaseziozei umane.

Cuvinte cheie: *Malassezia*, dermatită, pisică Sfinx

Clinical observations about Malassezia infections in cat

Carmen Negoită

Faculty of Veterinary Medicine, Bucharest

Background: Malassezia is a commensal yeast commonly found in the skin and ears of cats. Malassezia infections are rarely found in this species, in the most cases occurring secondarily to underlying disorders, such as: atopy, food allergy, immunosuppression (feline leukemia, viral immunodeficiency), seborrhea, hormonal troubles, etc. There is no apparent breed or age predisposition to Malassezia dermatitis; however Sphynx, Devon Rex, Persian and Himalayan cats may be more affected. **Material and methods:** In my dermatological practice, two particular cases of Malassezia dermatitis were recorded in a Sphynx unspayed male of 8 months old and a Persian unspayed male of 1 year old, respectively. The former showed a generalized seborrheic dermatitis consisting in erythematous to scaly round lesions of 2-3 cm in diameter, quite similar to human dermatophytic lesions. Additionally, paronychia and external otitis with the expression of a greasy-brown exudate around the eyes and in interdigital spaces were also found in this case. The latter manifested only a facial seborrheic dermatitis (acne lesions) associated with a tail and genital hyperpigmentation. Interestingly, both cases were characterised by poor to absent pruritus.

Results: Routine cytology and cultural examination from skin samples were relevant for diagnosis of Malassezia infection. **Conclusions:** We have found a clinical similitude between human lesions of tinea versicolor and feline malasseziosis, thus Malassezia dermatitis in Sphynx cat may be considered as a clinical match of human Malassezia infection.

Keywords: Malassezia, dermatitis, Sphynx cat.

Manifestări orale asociate cu candidoza la pacienții vârstnici spitalizați

Crînguța Paraschiv, Rodica Ghiuru, Cristina Maria Gavrilescu, Irina Cotea

Universitatea de Medicină și Farmacie „Gr.T.Popa” Iasi, Clinica a V-a de Medicină Internă a Spitalului CF Iași

Introducere: Candidoza orală, frecvent întâlnită în practica medicală este rezultatul colonizării mucoasei orofaringiene cu specii de Candida, în principal Candida albicans. Conversia acestei levuri de la starea comensală la cea patologică de parazit are loc sub acțiunea unor factori variați locali sau sistemici, mulți dintre aceștia fiind frecvent întâlniți la vârstnici. Scopul acestei lucrări este de a studia prevalența candidozei orale la pacienții vârstnici spitalizați și a identifica factorii de risc și caracteristicile clinice în vederea abordării unei atitudini terapeutice corecte. **Material și Metodă:** Am realizat un studiu prospectiv pe 60 de pacienți vârstnici internați în Spitalul CF Iași, aceștia fiind comparați cu un grup de control de 60 de pacienți cu vârste sub 65 de ani. **Rezultate:** Prevalența candidozei orale a fost semnificativ mai mare la pacienții vârstnici (58,33%) comparativ cu grupul de control (30%). Dintre pacienții vârstnici diagnosticați cu candidoză 94,28% prezentau leziuni orale, mai frecvente fiind candidoza cronică hiperplazică, glosita mediană romboidală, stomatita de proteză, cheilita angulară. Principalii factori de risc au fost edentația, protezele dentare, boala parodontală, igiena orală deficitară, diabetul zaharat, tratamentul prelungit cu antibiotice pentru infecții respiratorii sau urinare, corticosteroizi inhalatori pentru tratamentul bronhopneumopatiei cronice sau astmului bronșic, consumul cronic de somnifere. În grupul de studiu 45,71% dintre pacienții cu candidoză orală au asociat candidoză digestivă.

vă sau vaginală. S-a constatat abordarea terapeutică incorectă la cei mai mulți pacienți, ignorându-se identificarea și eliminarea factorilor de risc.

Concluzii: Candidoza orală este frecvent întâlnită la pacienții vârstnici spitalizați în corelație cu protezele dentare, igiena deficitară, boli sistemice și medicația asociată acestora. Tratamentul corect presupune nu doar administrarea de antifungice ci și tratamentul factorilor predispozanți.

Cuvinte cheie: candidoza orală, pacienți vârstnici, leziuni orale

Oral manifestations associated with candidiasis in hospitalized elderly patients

Crînguța Paraschiv, Rodica Ghiuru, Cristina Maria Gavrilă, Irina Cotea

University of Medicine and Pharmacy „Gr.T.Popa” Iasi, The Internal Medical Clinic of the Clinical Hospital CF Iasi

Background: Oral candidiasis, commonly encountered in medical practice, is the result of colonization of oral and pharyngeal mucosa by *Candida* species, especially *Candida albicans*. The conversion of these yeasts, from the comensale state to the pathological parasitic condition, take place under the action of a variety of local factors or systemic conditions, some of them common in the elderly. The purpose of this paper is to study the prevalence of oral candidiasis in elderly hospitalized patients and to identify the risk factors and clinical features in order to establish a correct therapeutic approach.

Material and Method: We performed a prospective study on 60 elderly patients hospitalized in CF Hospital Iasi. They were compared with a control group consisting of 60 adult patients. Results: The prevalence of oral candidiasis was significantly higher in elderly patients (58,33%) compared with the control group (30%). A total of 94.28% of elderly subjects diagnosed with candidiasis presented oral lesions such as chronic hyperplastic candidiasis, median rhomboid glossitis, denture related stomatitis, angular cheilitis. The main risk factors were edentation, dentures, periodontal disease, poor oral and denture hygiene, diabetes mellitus, prolonged antibiotic treatment for respiratory or urinary infections, inhaled corticosteroids for chronic obstructive pulmonary disease or asthma, chronic consumption of sleeping pills. In the study group a total of 45.71% patients with candidiasis were also diagnosed with digestive or vaginal candidiasis. An incorrect previous therapeutic approach was found in the elderly group, identification and elimination of predisposing factors being ignored.

Conclusions: Oral candidiasis is often observed in elderly hospitalized patients in significant correlation with dentures, poor oral hygiene, systemic diseases and chronic consumption of drugs. Management involves not only an appropriate antifungal treatment but also treatment of the predisposing factors.

Keywords: Oral candidiasis, elderly patients, oral lesions.

Evaluarea efectului fungicid al apei activate cu plasmă pe tulpini de fungi filamentoși

Marius Ursache¹, Ramona Moraru², Valentin Năstasă², Eugen Hnatiuc¹, Mihai Mareș²

1. Universitatea Tehnică "Gheorghe Asachi", Iași, 2. Laboratorul de Chimioterapie Antimicrobiană, USAMV "Ion Ionescu de la Brad", Iași

Introducere: Plasma reprezintă a patra stare de existență a materiei compusă din particule încărcate precum: ioni pozitivi, ioni negativi, electroni, fotoni, atomi sau molecule în stare neutră sau excitată și radicali. Această manifestare generată de obicei între doi sau mai mulți electrozi alimentați de la o sursă de înaltă tensiune posedă un potențial puternic antimicrobian (Czernichowsky și col., 1994; Hnatiuc și col., 2003; Brisset și col., 2008). Material și Metodă: S-a testat efectul fungicid al PAW pe 11 specii de fungi proveniți din diverse prelevate clinice (fungemii superficiale și profunde, dermatofitoze). Cele 11 tulpini fungice provin din Colecția Română de Tulpini Tip (RTCC) și au fost reprezentate de: *Aspergillus niger* RTCC, *Aspergillus fumigatus* RTCC, *Aspergillus flavus* RTCC, *Rhizopus oryzae* RTCC, *Aspergillus terreus* RTCC, *Trichophyton ajelloi* RTCC, *Epydermophyton floccosum* RTCC, *Microsporum cookei* RTCC, *Trichophyton menthagrophytes* RTCC, *Microsporum persicolor* RTCC, *Microsporum gypseum* RTCC. Rezultate: Pragul de sensibilitate a efectului PAW asupra fungilor testați a fost considerată o reducere de minim 5 log₁₀. Capacitatea de inhibare a PAW asupra tulpinilor de fungi testate a fost diferită. Astfel s-a evidențiat faptul că dermatofitiile (54,55% din totalul de tulpini testate) prezintă o sensibilitate mai mare, aceștia au fost inhibați în primele 5 minute de la contactul cu lichidul tratat (*T. ajelloi*, *E. floccosum*, *T. menthagrophytes*, *M. persicolor*, *M. gypseum*, *M. cookei*). 27,27% din tulpinile de fungi filamentoși (*A. niger*, *A. terreus*, *R. oryzae*) au fost inhibate în 30 de minute de la contactul cu PAW, 9,09% în 45 de minute (*A. flavus*) și 9,09% a depășit durata de 60 de minute (*A. fumigatus*). Concluzii: Dermatofitiile au manifestat o sensibilitate crescută la acțiunea PAW, fiind reduși în 5 minute. În general, fungii filamentoși au manifestat o duranță crescută la tratamentul cu PAW, timpul necesar pentru același nivel de reducere fiind de 30-60 minute.

Cuvinte cheie: PAW, efect fungicid, fungi filamentoși, fungi dermatofiti.

Assessment of the fungicidal effect of the plasma activated water on filamentous fungal strains

Marius Ursache¹, Ramona Moraru², Valentin Năstasă², Eugen Hnatiuc¹, Mihai Mareș²

1. "Gheorghe Asachi" Technical University of Iași, 2. Antimicrobial Chemotherapy Laboratory, "Ion Ionescu de la Brad" UASVM, Iași

Backgrounds: Plasma is the fourth state of matter existence, consisting of: positive ions, negative ions, electrons, atoms or molecules in the ground state or excited state, photons and radicals. This discharge type usually generated between two or more electrodes supplied by a high voltage power supply has a strong antimicrobial potential (Czernichowsky et al., 1994; Fridman et al., 1999; Lerouge et al., 2001; Laroussi et al., 2004; Brisset et al., 2008; Fridman et al., 2008; Moreau et al., 2008).

Materials and Methods: The fungicide effect of the Plasma Activated Water on 11 fungi strains representing different clinical samples (superficial and deep seated fungemia, dermatophytosis) has been tested. The fungal strains are provided by Romanian Type Culture Collection and are represented by: *Aspergillus niger* RTCC, *Aspergillus fumigatus* RTCC, *Aspergillus flavus* RTCC, *Rhizopus oryzae*

ae RTCC, *Aspergillus terreus* RTCC, *Trichophyton ajelloi* RTCC, *Epydermophyton floccosum* RTCC, *Microsporum cookei* RTCC, *Trichophyton menthagrophytes* RTCC, *Microsporum persicolor* RTCC, *Microsporum gypseum* RTCC. Results: A reduction of minimum 5 log₁₀ was considered the susceptibility limit for a good cid effect. The inhibitory effect of PAW in reducing the tested fungi strains was different. Thus it has been emphasized the fact that dermatophytes (54.55 % of the total tested strains) have a higher susceptibility. They were inhibited in the first 5 minutes from the contact with the plasma treated liquid (*T. ajelloi*, *E. floccosum*, *T. menthagrophytes*, *M. persicolor*, *M. gypseum*, *M. cookei*). The remaining percentage consists of filamentous fungi, 27.27% of them (*A. niger*, *A. terreus*, *R. oryzae*) was inhibited in 30 minutes of contact with PAW, 9.09% of them (*A. flavus*) was inhibited in 45 minutes and the rest of 9.09 % was inhibited in 60 minutes. Conclusions: A high susceptibility of the dermatophytes at the contact with the plasma activated water has been emphasized. Generally, the filamentous fungi expressed a high endurance at the treatment with PAW, the time required for the same reduction level was 30-60 minutes.

Keywords: PAW (plasma activated water), fungicide effect, filamentous fungi, dermatophytes fungi.

Information and Guidelines for Authors

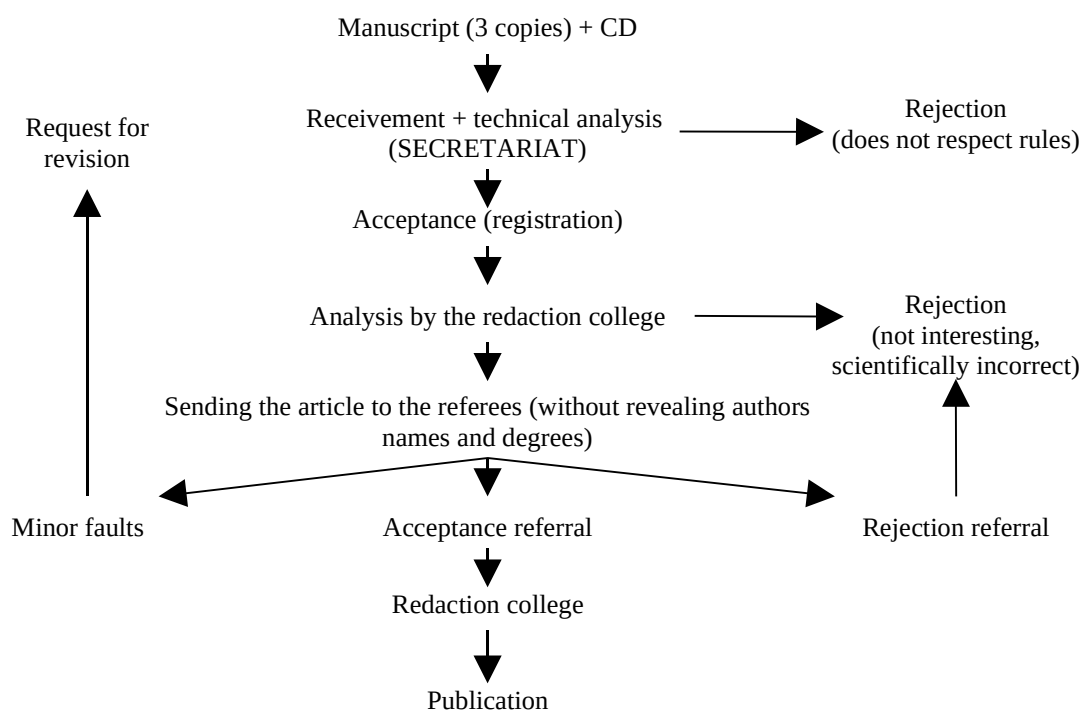
Version: March 1st 2013.

Revista Română de Medicină de Laborator (*The Romanian Review of Laboratory Medicine*) publishes editorials, original scientific and professional articles general reviews, case presentations, guidelines and recommendations of national and international scientific and professional associations, book reviews and announces events (congresses, symposia, courses) in the field of laboratory medicine. Its aim is to publish new information which can lead to a better understanding of the biological mechanisms of human diseases, improve prophylaxis and early diagnosis, as well as therapy evaluation and patient health

status. The *Review* also includes a “Course Notes” section for medical residents and for those who would like to update their knowledge into the approached fields. The frequency of the *Review* is currently four issues *per year*.

Manuscript submission

Manuscripts and all attached files (tables and illustrations) should be submitted in electronic form, either using the on-line manuscript submission form available on the website of the Romanian Review of Laboratory Medi-



cine (www.rrml.ro), or by regular mail to the Editor-in-Chief, on compact disk. It is preferable that three copies of the manuscript (including tables and figures), printed on one side of A4 paper format, double-spaced, with 2.5 cm margins, be also submitted to the same address.

Please note that general reviews and course notes are invited by the editor. Questions may be directed to Prof. Minodora Dobreanu (minodora.dobreanu@rrml.ro).

Submission documents

At the time of submission, the *Romanian Review of Laboratory Medicine* requires an explicit statement by the corresponding author warranting that the manuscript, as submitted, has been reviewed by and approved by all named authors; that the corresponding author is empowered by all of the authors to act on their behalf with respect to the submission of the manuscript; that the article does not infringe upon any copyright or other proprietary right of any third party; that neither the text nor the data have been published previously (abstracts excepted); and that the article or a substantially similar article is not under consideration by another journal at that time.

Upon submission of the manuscript, the corresponding author must provide the Editorial Board with documents proving that all those quoted for personal communications or listed in the *Acknowledgement* section have agreed to their inclusion. Authors are responsible for obtaining permission to reproduce copyrighted material from other sources and send an authenticated copy of the permission to the Editorial Board.

Each author must provide a clear **statement on potential conflicts of interest** in which he or she may be involved. The statement should include sources of funding, including internal support or grants from non-commercial institutions. The absence of funding should also be declared. The statement on conflicts of interest will be published at the end of the paper.

Mailing address. Please submit all requested signed documents by regular mail to the Secretariat in attention to Prof. Minodora Dobreanu (Editor-in-Chief), University of Medicine and Pharmacy, Tirgu Mures, code 540136, No. 38, Str. Gheorghe Marinescu, Romania.

Scanned copies sent electronically and fax submissions are not acceptable.

Authorship

All named authors should meet the criteria for authorship as stated in the "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication" issued by the International Committee of Medical Journal Editors (www.icmje.org):

"Authorship credit should be based on 1) substantial contributions to conception and design, acquisition of data, or analysis and interpretation of data; 2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content; and 3) final approval of the version to be published. Authors should meet conditions 1, 2, and 3. [...]"

Acquisition of funding, collection of data, or general supervision of the research group alone does not constitute authorship.

All persons designated as authors should qualify for authorship, and all those who qualify should be listed."

The *Romanian Review of Laboratory Medicine* considers all authors to be responsible for the content of the entire paper.

Authors are requested to describe their individual contributions to a study/ paper in a section that will be signed, attached to and sent together with the "Authorship Responsibilities" form.

Individuals who supplied reagents, strains or facilities should not be listed as authors, but may be recognized in the *Acknowledgements* section. Individuals who gave advice on the manuscript should be acknowledged, but are not considered authors.

Research involving human subjects or experimental animals

If the scientific project involves human subjects or experimental animals, authors must state in the manuscript that the protocol has been approved by the Ethics Committee of the institution within which the research work was undertaken. Experiments on live vertebrates or higher invertebrates must be demonstrated to be ethically acceptable and in accordance with institutional and national guidelines or regulations for laboratory animals. If the manuscript reports medical research involving human subjects, authors must include a statement confirming that informed consent was obtained from all subjects, according to the World Medical Association Declaration of Helsinki, revised in 2000, Edinburgh.

Editorial process and peer review

Submitted manuscripts are screened for completeness and quality of files and will not enter the review process until all files are satisfactory. The Secretariat will announce the corresponding author about the receipt and the status of the manuscript.

The articles are sent to referees with expertise in the laboratory medicine area, without revealing the authors' names and position. Also, the referees' identities are not known by the authors. Following the referees' recommendations, the Editors decide if a paper is published or not.

Submissions may be declined without external review as deemed appropriate by the Editor-in-Chief and the members of the Editorial Board.

The authors of the manuscripts that have been rejected or need revision will be announced. Revised manuscripts should be resubmitted as soon as possible, but **not later than 6 weeks**, unless otherwise requested by the Editor. Although unusual, a resubmission may be rejected after revision if the response to suggestions and requests is considered inadequate.

Corrections

Scientific fraud are rare events; however, they have a very serious impact on the integrity of the scientific community. If the Editorial Board uncovers possible evidence of such problems it will first contact the corresponding author in complete confidence, to allow adequate clarification of the situation. If the results of such interactions are not satisfactory, the Board will contact the appropriate official(s) in the institution(s) from which the manuscript originated. It is then left to the institution(s) in question to pursue the matter appropriately. Depending on the circumstances, the *Romanian Review of Laboratory Medicine* may also opt to publish errata, corrigenda, or retractions.

Manuscript preparation

Manuscripts must be written in English and prepared in conformity to the "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication" issued by the International Committee of Medical Journal Editors (www.icmje.org). 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. If reasonable corrections are necessary, the authors will be required to bear the cost of English supervision: the charge is 10 EUR (or equivalent in RON)/ supervised page.

Articles must be written in Microsoft Word, Style: Normal + Justified, Font: Times New Roman, font size 12. All manuscripts must be typed double-spaced. Original source files, not PDF files, are required. In text editing, authors should not use spacing with spacebar, tab or paragraph mark, but use the indentation and spacing options in Format → Paragraph. Automatic paging is preferred.

Please do not import tables or figures into the text document, but only specify their insertion in text (e.g. *Table No3 insertion*). They have to be sent in separate files. Files should be labeled with appropriate and descriptive file names, without diacritics (e.g. Popescu Imunofluorescenta.doc, Popescu Imunofluorescenta Fig1.tiff, Popescu Imunofluorescenta Table2.doc).

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, malrotation). 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.

Publication fee

An application fee of 100 EUR will have to be paid for articles submitted for publication in the Romanian Review of Laboratory Medicine (invited contributions excepted). The fee will be paid when the manuscript acceptance for scientific evaluation is prompted by the Editorial Secretariat. The author will bear the cost of publication for color illustrations, if their number exceeds two color figures (invited contributions excepted). The charge is 25 EUR (or equivalent in RON) for each color figure, starting with the third illustration). The authors will also bear the cost of English supervision (if the manuscript needs assistance): the charge is 10 EUR/page (see Manuscript Preparation section).

The total charge for color figures and English supervision will be communicated by the Editorial Secretariat upon acceptance of the manuscript for publication.

All payments will be operated in RO56BRDE270SV16682302700 bank account open for Romanian Association of Medical Laboratories – CF 17383407 – at BRD-Groupe Société Générale SA, Agenția Petru Maior, Str. Mihai Viteazu 31, Tîrgu Mureș. Please fax a copy of the bank draft at the Editorial Secretariat (+40 265 217 425).

Manuscript organization

Text will be structured on separate pages, as follows:

Page 1: Title of the paper, having no more than 150 characters, with no abbreviations.

Page 2: First name, middle initial and surname of the authors, without any scientific, didactic or military degrees; full name of the working-place (institution and department) for each author; contact details of the corresponding author (full address, telephone number, fax number, e-mail address) and the address of the institution and department where the study has been carried out. Contact details will be published unless otherwise requested by the author.

Page 3: Abstract page.

The **abstract** should have no more than 250 words and describe briefly the purpose of the study, methods and procedures used, the most important results, main conclusions, new aspects and importance of the study. **Key words** (at least 3) according to *Index medicus*.

Pages 4 and next:

The text of original papers will be organized in: introduction (no more than 25% of the text), material and methods, results, comments or discussions and acknowledgements. **Material and methods** have to be described in enough detail to permit reproduction by other teams. The same product names should be used throughout the text (with the brand name in parenthesis at the first use). **Results** should be presented concisely. Tables and figures should not duplicate text. The **discussion** should set the results in context and set forth the major conclusions of the authors. Information

from the Introduction or Results should not be repeated unless necessary for clarity. The discussion should also include a comparison among the obtained results and other studies from the literature, with explanations or hypothesis on the observed differences, comments on the importance of the study and the actual status of the investigated subject, unsolved problems, questions to be answered in the future. In addition to the customary recognition of non-authors who have been helpful to the work described, the **acknowledgements** section must disclose any substantive conflicts of interest.

Abbreviations shall be preceded by the full term at their first apparition in text. A list of all used abbreviations shall be made at the end of the article.

Separate pages: tables, graphics, pictures and schemes will appear on separate pages.

Tables will have a reasonable number of rows and columns.

Please do not forget to send the tables, charts, schemes etc. in their original file format (for example, .xls files if they were created in Microsoft Excel), and not embedded in the article text file (see **Manuscript preparation** section).

References should be numbered consecutively in the order in which they are first mentioned in the text. Identify references in text, tables, and legends by Arabic numerals in parentheses. References cited only in tables or figure legends should be numbered in accordance with the sequence established by the first

identification in the text of the particular table or figure. The titles of journals should be abbreviated according to the style used in *Index Medicus*. Consult the list of Journals Indexed for MEDLINE, published annually as a separate publication by the National Library of Medicine. Authors are responsible for the accuracy and completeness of all references and are also responsible for ensuring that references are not used out of context.

For journal articles use the following form: authors' surnames and first names initials, article's title, the journal abbreviation according to the *Index Medicus*, year, volume, starting and ending pages of the article. If there are more than six authors, list the first six and add et al.

e.g. Zimmermann MB, de Benoist B, Corigliano S, Jooste PL, Molinari L, Moosa K, et al. Assessment of iodine status using dried blood spot thyroglobulin: development of reference material and establishment of an international reference range in iodine-sufficient children. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006 Dec;91(12):4881-7

For books or monographs: the names of the cited chapter's authors, chapter's title, the editors, the book's or monograph's title, Editure's name and location, the year of the appearance and pages.

Please do not insert spaces between the year, issue number and pages interval.

Revista Română de Medicină de LaboratorOfficial publication of the *Romanian Association of Medical Laboratories***Editorial Office:**

Prof. Minodora Dobreanu

University of Medicine and Pharmacy, Tîrgu Mureş

Dept. of Clinical Biochemistry

Str. Gh. Marinescu, Nr. 38, Tîrgu Mureş, Romania

Tel./Fax: +40 265 217 425, E-mail: office@rrml.ro, Website: www.rrml.ro

A L M R

Authorship responsibilities

Signing this form, the authors of the manuscript entitled:

guarantee that:

- the corresponding author is empowered by all of the authors to act on their behalf with respect to the submission of the manuscript;
- the article, as submitted, has been reviewed by and approved by all named authors;
- all named authors have participated substantially in the work;
- all those who have participated in the work in a substantive way have been named as authors of the paper;
- the paper is original (only applies to articles reporting research results);
- the article does not infringe upon any copyright or other proprietary right of any third party;
- neither the text nor the data have been published previously, abstracts excepted (applies to articles reporting research results)
- the article or a substantially similar article is not under consideration by another journal at submission time. If this can not be certified, permission from the copyright owner to republish copyrighted material must be included with the manuscript.

The author(s), in consideration of the acceptance of the above paper for publication, does hereby assign to the Editorial Board of the Romanian Review of Laboratory Medicine the rights to publish the above mentioned paper, in its current form and in any form subsequently revised for publication and/or electronic dissemination and they will republish/ re-disseminate this material only with the written consent from the Editor-in-Chief of the Romanian Review of Laboratory Medicine.

Authors:

Name, Signature, Date

- | | |
|----------|----------|
| 1. _____ | 5. _____ |
| 2. _____ | 6. _____ |
| 3. _____ | 7. _____ |
| 4. _____ | 8. _____ |