

**REVISTA ROMÂNĂ DE
MEDICINĂ DE LABORATOR**

Supliment la Vol. 24, Nr. 1, Martie, 2016

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



REVISTA ROMÂNĂ DE MEDICINĂ DE LABORATOR

Romanian Journal of Laboratory Medicine

Publicație Oficială a ASOCIAȚIEI DE MEDICINĂ DE LABORATOR DIN ROMÂNIA
Vol. 24, Nr. 1, Martie, 2016

Comitetul de redacție

Redactor șef
Minodora Dobreanu

Redactor adjunct
Adrian Man

Secretariat redacție
Floredana Șular

Redactori de specialitate
Anca Bacărea
Claudia Bănescu
Simona Cernea
Carmen Duicu
Andrada Loghin
Edit Szekely

Redactori tehnici
Adrian Man
Cosmin Moldovan
Valeriu Moldovan
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 2014: 0.239

Elsevier Bibliographic Databases

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

Index Copernicus Master journal List - din anul 2009.

CNCSIS

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

CMR

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

OBBCSSR

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

Table of contents

1st Conference of the Romanian Association of Laboratory Medicine with International Participation.....	S7
Abstracts* / Rezumate.....	S11
Authors Index / Index de autori	S149
Information and Guidelines for Authors	S155

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



**1st Conference of the
Romanian Association of Laboratory Medicine
with international participation**

Under IFCC and EFLM auspices



ABSTRACT BOOK

18-21st May 2016, Cluj Napoca, Romania

Organizers

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

Organizing Committee

Cluj Napoca

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

Tîrgu Mureș

Minodora Dobreanu (RALM Vice-president)
Floredana Șular
Alina Mărginean
Adina Huțanu

Bucharest

Ariadna Rădulescu
Daniela Miricescu

Scientific Committee and Reviewers

Assoc. Prof. dr. Ioana Brudașcă
Prof. dr. Eugen Carasevici
Prof. dr. Dan Coliță
Prof. dr. Mircea Cucuianu
Assoc. Prof.dr. Irina Codiță
Prof. dr. Daniel Coriu
Senior researcher Anca Cristea
Senior researcher Crezante Lazăr

Prof.dr. Minodora Dobreanu
Prof. dr.Olga Dorobăț
Prof. dr.Maria Greabu
Prof. dr. Maria Mohora
Assoc. Prof. Mariana Pațiu
Prof. dr. Alexandru Rafila
Cristina Selicean, MD, PhD

General Information

Venue

The Opening ceremony and scientific sessions of the 1st Conference of the Romanian Association of Laboratory Medicine will be held at Hotel NAPOCA, Cluj Napoca.

Secretariat

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

Wednesday, 18th May 2016, between 12.00-19.00

Participants registration

Thursday, 19th May 2016, between 8.30 – 13.30 and 15.30 – 19.00:

Participants registration

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

Subscription to the Romanian Review of Laboratory Medicine

Friday, 20th May 2016, between 8.30 - 13.00

Subscription to the *Romanian Review of Laboratory Medicine*

Application for RAML membership and payment of the RAML membership fee

Upon registration, participants will receive the conference materials and accomodation

Accomodation

Guest accomodation will be made at NAPOCA Hotel, Cluj Napoca

Poster and oral presentations

Presentations will be assigned the following amount of time:

20 minutes – plenary report (R)

10 minutes – oral communication (C)

5 minutes – poster presentation (P)

PARTENER OFICIAL
SANTE INTERNATIONAL

PARTENER DE AUR
MEDIST
ROCHE DIAGNOSTICS

PARTENER DE ARGINT
KRKA
TOP DIAGNOSTICS

PARTENER DE BRONZ
DIAMEDIX
NOVAINTERMED
ELTA 90 MEDICAL

PARTENERI
ROCO SISTEM
BIVARIA
ABBOTT
ANTISEL RO
BIO AQUA GROUP
SANAFORT / AVENA
BIOMEDICA
NOBIS
BIOSYSTEMS DIAGNOSTIC
HEMATROM
BALMED
TUNIC
PALMED PATRONAT
BIOCLINICA

MEDIA PARTNER
EDITURA MEDICAL MARKET
JURNALUL DE SANATATE

Wednesday 18th of May 2016

R1 THE IFCC E-ACADEMY

Janet SMITH

Chair of the IFCC Education and Management Division (EMD)

In recent years distance learning has become a key initiative of IFCC and the EMD Committee on Distance Learning (C-DL) and the CPD Committee on the Internet and e-Learning (C-IELE) have been working together to develop the IFCC eAcademy, which will make high quality educational modules available to its membership. The eAcademy will provide a resource for individuals in their training and CPD requirements as well as for those in the planning and organisation of educational programmes.

The eAcademy is a Learning Management System using a curriculum based approach to catalogue and access educational material and contains linked presentations, webinars and other educational material managed through the Umbraco content management system. There are 3 phases in its development, the first launched in Paris in 2015. Preliminary work on content has concentrated on some of the topics highlighted as priority needs by National Societies.

Two approaches are being used to acquire high quality material for the eAcademy. The first is using the present.me software, which enables powerpoint slides to be coupled with video and voiceover, to prepare short modules covering specific topics. The second is to identify interesting presentations at IFCC and National Society scientific meetings for recording and inclusion in the eAcademy. Appropriate presentations are identified from the published programmes for upcoming events and we need the support and help of National Societies to work with us to arrange the recordings. It is through the generous financial support of Siemens that we are able to finance this approach.

A further part of the project is to identify high quality material published by other organisations and we are working with these, including EFLM and AACB, to allow link to distance learning modules on their websites.

C 1 ARMONIZAREA PREGĂTIRII PROFESIONALE A SPECIALIȘTILOR DIN LABORATOARELE DE ANALIZE MEDICALE ÎN UNIUNEA EUROPEANĂ

Constanța POPA¹, Georgeta SORESCU¹, Dorina POPA¹,

Cristina Elena NEAGOE¹, Nicoleta Mihaela STAN¹

¹ Ordinul Biochimistilor Biologilor și Chimistilor în Sistemul Sanitar din România, București

Introducere. În România 65% dintre specialiștii cu studii universitare de lungă durată din laboratoarele de analize medicale sunt biologi, chimiști și biochimiști și 35% dintre specialiștii cu studii superioare de lungă durată sunt medici.

Material și metodă. Am studiat comparativ curriculum de pregătire în timpul studiilor universitare, al rezidențiatului în medicina de laborator atât pentru medici cât și pentru oamenii de știință – biologi,

chimiști și biochimiști pentru a evidenția situația României în ceea ce privește pregătirea profesională a tuturor specialiștilor din laboratoarele de analize medicale.

Rezultate. Pregătirea profesională a medicilor se realizează în cadrul facultăților de medicină cu durata studiilor de 6 ani și prin rezidențiat în medicina de laborator de 4 ani conform tematicii European Syllabus.

Pregătirea profesională a specialiștilor cu studii universitare de lungă durată din laboratoarele de analize medicale biologi, chimiști și biochimiști se realizează în cadrul facultăților nemedicale și nu există aplicată o perioadă de specializare instituțională pentru medicina de laborator deși există legislație națională.

Concluzii România are legislație națională în concordanță cu Directiva 2013/55/UE prevăzută în Legea nr. 460/2003 – specializarea de 4 ani fără plată a biologilor, chimiștilor și biochimiștilor din sistemul sanitar, ea trebuie doar aplicată pentru a realiza armonizarea pregătirii tuturor specialiștilor din laboratoarele de analize medicale.

Cuvinte cheie: armonizare, pregătire, specialiști

HARMONIZATION OF THE PROFESSIONAL TRAINING OF SPECIALISTS FROM MEDICAL ANALYSIS LABORATORIES IN THE EUROPEAN UNION

In Romania, 65% of the specialists with university studies from the medical analysis laboratories are biologists, chemists and biochemists and the remaining 35% of the specialists with higher education are physicians (doctors).

Material and method. We have made a comparative study between various curricula during university studies of laboratory medicine both for doctors before and during residency as well as for scientists - biologists, chemists and biochemists to emphasize the situation in Romania regarding professional training of all specialists in medical analysis laboratories.

Results. Professional training of physicians (doctors) is realized within medical faculties with duration of studies of 6 years and through laboratory medicine residency of 4 years according to the European Syllabus.

Biologists, chemists and biochemists working in medical laboratories have 3 years of academic studies in non medical faculties, and a 2 years master programme. There is no institutional framework for a period of further specialization in laboratory medicine, although there is a national legislation.

Conclusions. Romania has the national legislation in accordance with Directive 2013/55 / EU provided in Law no. 460/2003 – specialization of 4 years without pay of biochemists, biologists and chemists in the healthcare system, it just has to be applied to achieve harmonization of professional training for all specialists from medical analysis laboratories.

Keywords: harmonization, training, specialists

R2. GUIDELINES FOR PUBLICATION OF SCIENTIFIC PAPERS IN HIGH-IMPACT INTERNATIONAL JOURNALS (interactive presentation)

William W. AU, Ph.D., Professor and Chairman, Shantou University Medical College, Shantou, China; Distinguished Professor, University of Texas Medical Branch, Texas, USA.

Publication of scientific papers in high-impact international journals is not only a standard recognition for excellent achievement but is also useful for professional promotion. However, such publications are becoming more and more difficult. On the other hand, not understanding the precise requirements severely denies success for such publications.

For high quality journals, submitted papers usually undergo two levels of peer-review process. One is via the editors of the journals and the other is via outside scientists. Very often, the first level of review would reject approximately 50% of submitted papers. The second level would reject about 20%. The first level usually considers fitness of the paper to the Aims and Scope of the journal, quality of the English writing, use of innovative ideas and technology, and value of the paper to international readers, etc. The second level usually considers justification of the study, innovations, quality of the data, interpretation of the results, significant contributions to science, etc. Therefore, the workshop will provide detailed presentation of the requirements/guidelines. Discussions will also be conducted.

R3. CONSIDERENTE ETICE IN PUBLICAȚIILE ȘTIINȚIFICE – EXPERIENȚA REDACȚIEI RRML

Minodora DOBREANU, Floredana ȘULAR, Adrian MAN

Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș, Redacția RRML

Este obligatoriu atât pentru autorii, recenzorii cât și pentru editorii revistelor științifice să urmeze reglementări de etică în scrierea / recenzarea / publicarea materialelor. Comitetul editorial al Revistei Române de Medicină de Laborator (RRML) a implementat reguli referitoare la cele mai importante aspecte etice în procesul de publicare: protecția și confidențialitatea subiecților / pacienților implicați în diverse studii (http://www.rrml.ro/ethics/ethics_rights.php, http://www.rrml.ro/ethics/ethics_consent.php), creditarea corectă a statutului autorilor și contributorilor (http://www.rrml.ro/instr_autori/license_to_publish.pdf, http://www.rrml.ro/instr_autori/cover_letter.pdf), declararea eventualului conflict de interese din partea tuturor celor implicați (http://www.rrml.ro/ethics/ethics_conflict.php), reglementări transparente referitoare la definirea, detecția și penalizarea abaterilor în materialele științifice trimise spre publicare în RRML (http://www.rrml.ro/ethics/ethics_misconduct.php). Începând cu anul 2012 RRML este membră și a adoptat principiile Committee on Publication Ethics (COPE) și World Association of Medical Editors (WAME) și folosește în mod sistematic metode specializate (<http://www.checkforplagiarism.net>, <http://www.scanmyessay.com/plagiarism>, <http://www.ithenticate.com>) pentru detecția similitudinilor textuale cu materiale deja publicate ale articolelor primite în redacție, pentru a evita plagiatul intenționat sau nu. Diverse forme de plagiat pot fi identificate, în funcție de: dimensiunea, originalitatea materialului copiat, contextul, citarea și limba în care este scris materialul. Plagiatul poate varia de la greșeli neintenționate (utilizarea unor mici porțiuni de text fără citarea corespunzătoare a autorului inițial), la aspecte grave (falsificare/ fabricare de date). Metodele prin care RRML răspunde

la abaterile de la etica publicațiilor științifice sunt: dialogul și educarea autorilor, publicarea de corecții, erate și retracții (http://www.rrml.ro/articole/2012/2012_3_1.pdf).

Keywords: scrieri științifice, abateri, etica publicațiilor

ETHICAL CONSIDERATIONS IN SCIENTIFIC PAPERS – EXPERIENCE OF RJLabM EDITORIAL OFFICE

It is compulsory to all the authors, peer reviewers and editors of scientific journals to follow ethical guidelines while scientific writing / reviewing / publishing. Romanian Journal of Laboratory Medicine (RJLabM) editorial board developed and implemented policies regarding the most important ethical aspects of publishing process: protection, privacy and confidentiality for the subjects / patients involved in the studies (http://www.rrml.ro/ethics/ethics_rights.php, http://www.rrml.ro/ethics/ethics_consent.php), correct authorship and contributorship credits (http://www.rrml.ro/instr_autori/license_to_publish.pdf, http://www.rrml.ro/instr_autori/cover_letter.pdf), conflict of interests declaration from all partners involved in publication process (http://www.rrml.ro/ethics/ethics_conflict.php), transparent policies regarding definition, detection and penalties for scientific misconduct in publications submitted to RJLabM (http://www.rrml.ro/ethics/ethics_misconduct.php). Since 2012 RJLabM is member and subscribes to the principles of Committee on Publication Ethics (COPE) and World Association of Medical Editors (WAME) and systematically uses few specialized plagiarism detection tools/software (<http://www.checkforplagiarism.net>, <http://www.scanmyessay.com/plagiarism>, <http://www.ithenticate.com>) for matching texts in the submitted materials, in order to avoid false publication practice by both intentional and unintentional authors. Different types of plagiarism can be distinguished in terms of their: extent, originality of the copied material, context, referencing, and language. Plagiarism can range from simple dishonesty (minor copy paste without giving adequate credit to the main source) to more serious problems (data falsification/fabrication). RJLabM response to plagiarism includes: educating authors, issuing corrections and retractions (http://www.rrml.ro/articole/2012/2012_3_1.pdf).

Keywords: Scientific writing, misconduct in publication, ethical publication practice

P1. ANALIZA GENOTIP-FENOTIP A PARAOXONAZEI 1 (PON1) LA PACIENȚII CU SCHIZOFRENIE TRATAȚI CU ANTIPSIHOTICE ATIPICE

Eleonora DRONCA¹, Denis PAVĂL¹, Bogdan NEMEȘ², Răzvan RUSU¹

¹ UMF Iuliu Hațieganu, Cluj-Napoca

³ Spitalul Județean de Urgență, Cluj-Napoca

Introducere: Antipsihoticele atipice (AAP) sunt tratamentul de primă linie pentru schizofrenie. În ciuda eficacității lor terapeutice vizibile, aceste medicamente sunt asociate cu efecte metabolice negative, ce pot conduce la boli cardiovasculare grave (BCV). Olanzapina este AAP cu cel mai mare potențial de a induce efecte metabolice negative. Studii recente au sugerat o posibilă implicare a enzimei paraoxonaza 1 (PON1) în asocierea dintre schizofrenie, tratamentul cu AAP și riscul crescut de BCV.

Obiective: În prezentul studiu ne-am propus să investigăm statusul PON1 într-un grup de 60 de pacienți cu schizofrenie, tratați fie cu olanzapină (n = 27) sau un alt antipsihotic (n = 33), comparativ cu un grup de 34 martori sănătoși.

Metode: Am evaluat trei polimorfisme comune ale genei *PON1* (Q192R, L55M, -108C>T) și activitățile arilesterazică (ARE.ase) și paraoxonazică (PO.ase) ale PON1.

Rezultate: S-a găsit o diferență semnificativă între grupuri privind distribuția polimorfismului L55M, în timp ce distribuția polimorfismelor Q192R și -108C>T au fost similare. Mai mult, am găsit o activitate ARE.ase semnificativ mai mică la pacienții cu schizofrenie, asociată cu o activitate PO.ase semnificativ mai mică la pacienții cu genotip QQ tratați cu olanzapină.

Concluzii: Pacienții cu schizofrenie tratați cu AAP ar putea avea un risc crescut de BCV datorită activităților PON1 scăzute.

Cuvinte cheie: paraoxonaza 1, antipsihotice atipice, schizofrenie

GENOTYPE–PHENOTYPE ANALYSIS OF PARAOXONASE 1 (PON1) IN SCHIZOPHRENIC PATIENTS TREATED WITH ATYPICAL ANTIPSYCHOTICS

Rationale: Atypical antipsychotics (AAP) are the first-line treatment for schizophrenia. Despite their noticeable therapeutic efficacy, these drugs are associated with adverse metabolic effects, which may lead to serious cardiovascular disease (CVD). Olanzapine is the AAP with the highest potential of inducing adverse metabolic effects. Recent studies suggested a possible involvement of the paraoxonase 1 (PON1) enzyme in the association between schizophrenia, AAP treatment and increased CVD risk.

Objectives: In the present study, we aimed at investigating the PON1 status in a group of 60 schizophrenic patients treated with either olanzapine (n=27) or other antipsychotic (n=33), as compared to a group of 34 healthy controls.

Methods: We assessed three common polymorphisms of *PON1* gene (Q192R, L55M, -108C>T) and the arylesterase (ARE.ase) and paraoxonase (PO.ase) activities of PON1.

P2. PARAMETRII SALIVARI – INSTRUMENTE DE EVALUARE A EROZIUNII DENTARE LA PACIENȚI CU BOALĂ DE REFLUX- GASTROESOFAGIAN

Doina Paula BALABAN¹, Lucian Cristian PETCU¹, Oana MORARU²,
Mircea GRIGORIAN¹, Victoria BADEA¹, Aureliana CARAIANE¹

¹ Universitatea Ovidius, Constanța

² Cabinet Medical Individual, Constanța

Introducere. Eroziunea dentară este un proces fizico-chimic de dizolvare a țesutului dur dentar fără implicare bacteriană. Numeroase studii clinice și de laborator au arătat că există o legătură evidentă între boala de reflux gastroesofagian (BRGE) și eroziunea dentară (ED). Pacienții cu BRGE prezintă modificări la nivelul unor parametri salivari: pH, capacitate tampon salivară. Scopul acestui studiu este

de a evalua modificările la nivelul unor parametri salivari la persoanele cu BRGE și corelațiile acestora cu igiena orală.

Material și metode. Au fost selectați în acest studiu 15 pacienți cu BRGE și ED și 15 persoane sănătoase (PS). Igiena orală a fost evaluată cu Indicele de Igienă Orală (IIO). Parametrii salivari, pH – ul și capacitatea tampon salivară (CT), au fost determinați cu kit-ul G.C. Saliva Check Buffer.

Rezultate. Valorile IIO pentru persoanele cu BRGE și ED au fost crescute comparativ cu cele obținute pentru persoanele sănătoase: 3.4 (BRGE) și 0.29 (PS) ($p < 0.001$). Pacienții au prezentat valori medii semnificativ scăzute ($p < 0.001$) ale pH – ului salivei totale comparativ cu persoanele sănătoase: 6.13 (BRGE) și 7.08 (PS). Au fost detectate valori medii semnificativ scăzute ($p < 0.001$) ale capacității tampon salivare ale pacienților comparativ cu persoanele sănătoase: 5.06 (BRGE) și 10.73 (PS). Există o corelație puternică între parametrii salivari și indicele de igienă orală: $r = -0.951$ (pH), $r = -0.933$ (CT), $p < 0.001 < \alpha = 0.05$.

Concluzii. Pacienții cu boală de reflux gastroesofagian prezintă un risc crescut de apariție a eroziunii dentare. Există o corelație puternică între parametrii salivari, eroziunea dentară și igiena orală.

Cuvinte cheie: BRGE, eroziune, salivă

SALIVARY PARAMETERS - ASSESSMENT TOOLS OF DENTAL EROSION IN PATIENTS WITH GASTRO-ESOPHAGEAL REFLUX DISEASE

Introduction. Dental erosion is a physical-chemical process of dissolution of dental hard tissue without bacterial involvement. Numerous clinical and laboratory studies have shown that there is a clear link between gastro-esophageal reflux disease (GERD) and dental erosion (DE). Patients with GERD display changes of the salivary parameters: pH, salivary buffer capacity. The aim of this study is to evaluate changes in the level of some salivary parameters in patients with GERD and their correlations with oral hygiene.

Material and methods. Fifteen patients with GERD and DE and 15 healthy individuals (H) were included in the study. Oral hygiene was assessed by Oral Hygiene Index (OHI). Salivary parameters, pH and the salivary buffer capacity (SB) were determined by using the G.C. Saliva Check Buffer kit.

Results. The OHI values for patients with GERD and DE were increased compared with those obtained for healthy individuals: 3.4 (GERD) - 0.29 (H) ($p < 0.001$). Patients with GERD had significantly lower average values of total salivary pH compared to healthy individuals: 6.13 (GERD) - 7.08 (PS) ($p < 0.001$). Significantly lower mean values of buffer capacity were detected in saliva of patients with GERD compared to healthy subjects: 5.06 (GERD) - 10.73 (H) ($p < 0.001$). There is a strong correlation between salivary parameters and oral hygiene index: $r = -0.951$ (pH), $r = 0.933$ (SB), $p < 0.001 < \alpha = 0.05$.

Conclusions. Patients with gastro-esophageal reflux disease show an increased risk of dental erosion. There is a strong correlation between salivary parameters, dental erosion and oral hygiene.

Keywords: GERD, erosion, saliva

P3. PROFILUL METABOLIC ȘI IDENTIFICAREA FACTORILOR DE RISC METABOLIC PENTRU STAREA DE SĂNĂTATE ÎN RELAȚIE CU VÂRSTA

Elena LUPEANU¹, Monica BÂRSAN¹, Rodica HNIDEI¹, Ileana JUGURICĂ¹,
Ileana RĂDUCANU¹, Bogdan MOROȘANU¹, Elisabeta CONSTANTINESCU¹,
Petru GHERASIM¹

¹Institutul Național de Gerontologie și Geriatrie „Ana Aslan”, București

Introducere: Modificările metabolismului în îmbătrânire pot deveni factori de risc pentru unele stări patologice asociate procesului îmbătrânirii. Scopul studiului este să evalueze variațiile parametrilor metabolici și corelațiile acestora cu vârsta, și să identifice factorii de risc metabolic care pot influența starea de sănătate.

Material și metode S-au investigat, pacienți grupați în funcție de vârsta: **A** între 50 și 59 ani; **B** între 60 și 69 ani; **C** între 70 și 79 ani și **D** între 80 și 92 ani. S-au determinat nivelele serice pentru glucoză, uree, creatinină, acid uric, colesterol total, HDL-colesterol, non-HDL-colesterol, LDL-colesterol, trigliceride, transaminaze și proteine totale, și s-au calculat rapoartele colesterol total/HDLc, LDLc/HDLc, non-HDLc/HDLc, trigliceride/HDLc și coeficientul de corelație Pearson dintre acești parametri și vârsta pacienților.

Rezultate: Investigațiile au arătat creșterea semnificativă a creatininei($p<0,025$), ureei($p<0,001$) și acidului uric($p<0,0205$), și reducerea semnificativă a HDLcoolesterol($p<0,022$) cu vârsta pacienților. S-au evidențiat corelații semnificativ pozitive ale creatininei($r=0,24305$; $p<0,01$), ureei($r=0,3825$; $p<0,01$) și acidului uric($r=0,1778$; $p<0,05$), și semnificativ negative ale colesterolului total($r= -0,1924$; $p<0,02$) și LDLcoolesterol($r= -0,1937$; $p<0,01$) cu vârsta. Valorile glucozei(>110 mg/dl), colesterolului total(>220 mg/dl), LDLcoolesterol(>130 mg/dl) și trigliceridelor(>150 mg/dl) și valorile HDLcoolesterol < 40 mg/dl la bărbați și < 50 mg/dl la femei sunt factori de risc metabolic pentru patologia cardiovasculară. 25-56% din pacienți, din toate categoriile de vârstă, prezintă risc de patologie cardiovasculară. Toate grupele de vârstă au pacienți cu risc aterogen crescut (col/HDL > 5 și LDL/HDL $> 3,5$).

Concluzii: Studiul a evidențiat modificarea profilului metabolic cu înaintarea în vârstă și a identificat existența factorilor de risc metabolic pentru unele patologii asociate procesului îmbătrânirii. Studiile s-au realizat în cadrul contractului nr. 335/2014(PN II PCCA 2013 4 1686).

Cuvinte cheie: metabolism, factori de risc metabolic, îmbătrânire

METABOLIC PROFILE AND IDENTIFICATION OF METABOLIC RISK FACTORS FOR THE HEALTH IN RELATION TO AGE

Background: Metabolism changes in aging may become risk factors for several pathologies associated with aging process. The aim is to assess variations in metabolic parameters and their relationships with age, and to identify metabolic risk factors that can influence the health of the elderly. Material and methods: Patients were divided into groups according to age: **A**: 50 to 59 years; **B**: between 60 and 69 years; **C**: between 70 and 79 years and **D**: between 80 and 92 years. We measured the serum levels for glucose, urea, creatinine, uric acid, total cholesterol, HDL-cholesterol, non-HDL-cholesterol, LDL-cho-

lesterol, triglycerides, transaminases and total proteins and we calculated the ratios: total cholesterol/HDLc, LDLc/HDLc, non-HDLc/HDLc, triglycerides/HDLc and Pearson correlation coefficient between these parameters and the patient's age.

Results Investigations showed significant increase in creatinine($p < 0.025$), urea($p < 0.001$) and uric acid($p < 0.0205$), and significantly reduce HDLcholesterol($p < 0.022$) with age. There were significant positive correlations for creatinine($r = 0,2405; p < 0.01$), urea($r = 0,3825; p < 0.01$) and uric acid($r = 0,1778; p < 0.05$), and significantly negative correlation of the total cholesterol($r = -0,1924; p < 0.02$) and LDLcholesterol($r = -0,1937; p < 0.01$) with age. Glucose levels (> 110 mg/dL), total cholesterol(> 220 mg/dl), LDL cholesterol(> 130 mg/dL) and triglycerides (> 150 mg/dL) and values of HDL cholesterol < 40 mg/dL in men and < 50 mg /dl in women are metabolic risk factors for cardiovascular pathology. 25-56% of patients of all ages are at risk for cardiovascular pathology. All age groups have patients with increased atherogenic risk (col/HDL > 5 and LDL/HDL > 3.5).

Conclusions: The study showed metabolic profile change with age and has identified metabolic risk factors for certain diseases associated with the aging process. Studies were done under contract nr. 335/2014 (PN II PCCA 2013 1686).

Keywords: metabolism, metabolic risk factors, aging

P4. SCREENINGUL NEONATAL PENTRU FENILCETONURIE SI HIPOTIROIDISM CONGENITAL: REZULTATELE CENTRULUI CLUJ 2011-2015

Andreea FAUR¹, Carmen COSTACHE²

¹Spitalul Clinic Județean de Urgență, Cluj-Napoca

²Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca

Introducere: Screeningul neonatal in Romania este legiferat prin intermediul unui program național de prevenire a encefalopatiei congenitale aplicat în 5 centre regionale, al doilea ca acoperire fiind centrul Cluj, căruia îi sunt arondate 7 județe (Cluj, Bihor, Sălaj, Maramureș, Satu-Mare, Sibiu, Harghita).

Material și metodă: Prezentăm un studiu descriptiv transversal bazat pe datele obținute la screening-ul a 101.739 nou-născuți în perioada 2011 – 2015. Screeningul se efectuează pentru 2 boli rare: fenilcetonurie (PKU) și hipotiroidism congenital (CH) din spoturi de sange recoltate pe hartie de filtru standardizată (DBS). Concentrația fenilalaninei (Phe) și a hormonilor tiroidieni (TSH) este măsurată prin intermediul unui test imunofluorimetric. Nou-născuții cu valori peste limitele superioare ale testelor (TSH > 18 μ UI/ml sau Phe > 3 mg/dl) sunt rechemati pentru evaluare clinic-biologică și confirmați prin dozarea free-T4 sau Phe plasmatică (chromatografie în strat subțire cuplată cu video-densimetrie) înainte de ziua 21 de la naștere pentru prevenirea encefalopatiei.

Rezultate: Au fost confirmate 10 cazuri cu PKU (10 % mii), 6 cu hiperfenilalaninemie și 10 cu CH toate beneficiind de tratament. Nici unul nu a dezvoltat encefalopatie. Totalul de nou-născuți în cele 7 județe a fost de 115.779, iar numărul de teste trimise laboratorului 101.739, ceea ce aparent arată că 14.040 (13.80%) nu au fost testați. Județele în care implementarea programului este deficitară sunt Sibiu 6537 (44.19%), Maramures 4811 (25.41%), Bihor 3349 (12.78%).

Concluzii: 1. Procentul mare de nou-născuții netestați face posibilă apariția cazurilor de encefalopatie diagnosticată tardiv. 2. Numărul de cazuri confirmate susține dezvoltare programului în viitor cu cuprinderea eventual și a altor boli rare congenitale.

Cuvinte cheie: screening neonatal, fenilcetonurie, hiperfenilalaninemie

NEWBORN SCREENING FOR PHENYLKETONURIA AND CONGENITAL HYPOTIROIDISM: RESULTS FROM CLUJ CENTER, 2011-2015

Background: Newborn screening (NBS) in Romania is implemented by a National Program for the prevention of congenital encephalopathy enrolled in 5 regional centers, Cluj being the second according with samples number, covering 7 counties (Cluj, Bihor, Sălaj, Maramureș, Satu-Mare, Sibiu, Harghita).

Material and Methods: This is a transversal descriptive study based on data obtained from the screening of 101,739 between 2011 – 2015. The screening is performed for two congenital diseases: phenylketonuria (PKU) and congenital hypothyroidism (CH) based on dry blood spot (DBS) collected on standardized filter paper. The concentration of phenylalanine (Phe) and thyroid stimulating hormone (TSH) in the blood was measured through a fluorometric assay. Newborns with abnormal screening results ($TSH > 18 \mu\text{UI/ml}$ and $\text{Phe} > 3 \text{ mg/dl}$) were confirmed by the dosage of free T4 and plasma phenylalanine (thin-layer chromatography method coupled with densitometry video) respectively, before 21-st days of life in order to prevent neurologic impairment.

Results: We detected 10 cases with PKU (~10/100.000), 6 cases with hyper-phenylalaninemia (HPA), and 10 cases with CH, all being treated and none of them developed neurologic disorders. From a total of 115,779 newborns, 101,739 were screened (87.87%) and apparently 14,040 were not tested (13.80%). Counties where screening program was deficient are: Sibiu 6,537 (44.19%), Maramures 4.811 (25.41%) and Bihor 3,349 (12.78%).

Conclusions: 1. A high number of unscreened/undiagnosed newborns open the possibility of not reversible neurologic disorders. 2. The number of confirmed cases claims for the future development of the program with introduction, eventually, of other rare congenital diseases.

Keywords: neonatal screening, phenylketonuria, congenital hypothyroidism

P5. SELENIUL ȘI DEIODINAZA 2: DOI PROTAGONIȘTI DISCREȚI, DAR IMPORTANTI PE SCENA HIPOTIROIDISMULUI

Alexandra TOTAN¹, Maria MOHORA², Daniela MIRICESCU¹, Radu RADULESCU¹,
Bogdan CALENIC¹, Maria GREABU¹

UMF Carol Davila, Bucuresti

Introducere. Microelementul seleniu apare în structura proteinelor sub formă de selenocisteină. Un exemplu de selenoproteină foarte importantă este deioduraza 2 (D2), care catalizează conversia tiroxinei (T4) în triiodotironina (T3). D2 activă poate stimula sau inhiba, local, cascada de semnalizare a hormonului tiroidian, într-o manieră țesut - și temporal specifică, independent de variațiile concentrației serice a tiroxinei.

Obiectivul studiului: evaluarea unor posibile corelații între concentrațiile serice de Se, D2, TSH, FT4 și FT3, la pacienții cu hipotiroidism și dislipidemie.

Materiale și metode. Studiul nostru a inclus:

- 20 voluntari clinic sănătoși – grup 1

-20 pacienți cu niveluri serice crescute de TSH, concentrații scăzute de FT4 și valori serice normale pentru FT3 și antiTPO – grup 2

Concentrațiile serice de TSH, FT4, FT3 și antiTPO au fost determinate utilizând un analizor automat de chemiluminescență. Pentru determinarea activității D2 serice s-a utilizat tehnica ELISA. Pentru dozarea Se s-a folosit spectrometria de masă.

Rezultate: Concentrațiile serice de Se au avut valori semnificativ mai mici în grupul 2 *versus* control ($p < 0.01$). Nu am observat diferențe semnificative între cele două grupuri în ceea ce privește activitatea serică a D2. Există o corelație pozitivă semnificativă între concentrațiile serice de Se și FT4 ($r = 0.75$).

Concluzii: Rezultatele studiului nostru confirmă asocierea concentrațiilor serice scăzute de Se cu valori reduse ale FT4, în contextul hipotiroidismului. Se trebuie privit ca un important factor de influență în contextul funcției tiroidiene.

Cuvinte cheie: seleniu, deioduraza 2

SELENIUM AND 2 DEIODINASE: TWO HIDDEN BUT IMPORTANT ACTORS ON HYPOTHYROIDISM SCENE

Introduction: The trace element selenium (Se) occurs in the form of the amino acid selenocysteine in selenoproteins. Selenoproteins exerts multiple physiological effects in human health, many of which are related to the regulation of reduction-oxidation processes. An important selenoprotein is the iodothyronine deiodinase 2 (D2), which catalyzes the conversion of thyroxine (T4) to triiodothyronine (T3). The activated D2 can locally increase or decrease thyroid hormone signaling in a tissue- and timed-specific manner, independent of changes in thyroid hormone serum concentrations.

Objective: to evaluate possible correlations between serum levels of Se, D2 activity, TSH, FT4 and FT3, in patients with hypothyroidism and dyslipidemia.

Material and methods. Our study included :

- 20 volunteers with normal TSH, FT4, FT3 and antiTPO – group 1

- 20 patients with high TSH, low FT4, normal low FT3 and normal antiTPO – group 2

Serum TSH, FT4, FT3 and antiTPO levels were analysed on Immulite 1000 chemiluminescence automatic analyser. D2 serum levels were analyzed by ELISA. Serum Se was measured by mass spectrometry.

Results: Serum Se activity levels in patients group were significantly lower ($P < 0.01$) compared with controls. Our study revealed no significant differences for the D2 activity between the two groups. Moreover, there was a strong positive correlation ($r = 0.75$) between Se and FT4 serum levels.

Conclusions: These data confirm the association between low serum Se levels and reduced FT4 in patients with hypothyroidism. It seems likely that selenium concentration is a very important influence factor of thyroid function.

Keywords: selenium, deiodinase 2

P6. INFLUENȚA VÂRSTEI ASUPRA ACTIVITĂȚII SUPEROXID DISMUTAZEI ERITROCITARE, LA SUBIECȚI SĂNĂTOȘI: UN STUDIU ÎN POPULAȚIA DIN ROMÂNIA

Elena Cristina CRĂCIUN¹, Horațiu Alexandru COLOSI¹

¹ Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu", Cluj-Napoca

Introducere: Numeroase studii au evidențiat rolul major pe care îl joacă stresul oxidativ atât în fenomenul de îmbătrânire cât și în apariția și evoluția patologiilor asociate îmbătrânirii. Obiectivul prezentului studiu a fost investigarea, la subiecți sănătoși din România, a influenței, vârstei și a sexului asupra activității superoxid dismutazei (SOD) eritrocitare, un component cheie al sistemului defensiv antioxidant.

Subiecți și metode: În studiu au fost incluși 385 de subiecți sănătoși (248 femei și 137 bărbați) cu vârste cuprinse între 19 și 77 ani. Activitatea SOD eritrocitare s-a determinat cu kitul RANSOD (Randox Labs., Crumlin, UK). Concentrația hemoglobinei s-a determinat prin metoda Drabkin.

Rezultate: Nu s-au observat diferențe semnificative din punct de vedere statistic privind activitatea SOD eritrocitare, la femei față de bărbați (1454.4 ± 220.9 U/gHb vs. 1418.8 ± 214.5 U/gHb, $p > 0.05$). O relație lineară invers proporțională a fost observată, la ambele sexe, între activitatea SOD eritrocitare și vârsta subiecților: femei ($r = -0.125$, $p < 0.05$), bărbați ($r = -0.178$, $p < 0.05$). La femei, activitatea SOD eritrocitare a scăzut semnificativ ($p < 0.05$) post-menopauză: 60-77 ani (1377.8 ± 206.9 U/gHb) vs. 19-39 ani (1460.4 ± 229.2 U/gHb).

Concluzii: Rezultatele studiului evidențiază o scădere progresivă a activității SOD eritrocitare la subiecți sănătoși, odată cu înaintarea în vârstă. Declinul semnificativ al activității SOD la femei, post-menopauză, ar putea fi datorat pierderii protecției antioxidante conferite de estrogeni.

Cuvinte cheie: superoxid dismutaza, vârsta, subiecți sănătoși

THE INFLUENCE OF AGE ON ERYTHROCYTE SUPEROXIDE DISMUTASE ACTIVITY IN HEALTHY SUBJECTS: A STUDY IN THE ROMANIAN POPULATION

Introduction: It is widely accepted that the aging process, the diseases that accompany aging and their complications have oxidative stress as a major determinant. Therefore, the aim of this study has been to examine, in healthy Romanian subjects, the influence of age and gender on the erythrocyte superoxide dismutase (SOD) activity, a key part of the antioxidant defense system.

Subjects and Methods: The study was conducted on 385 healthy volunteers (248 women and 137 men) aged between 19 and 77 years. Erythrocyte SOD activity was determined using the RANSOD kit (Randox Labs., Crumlin, UK) and the hemoglobin concentration was assayed by Drabkin's method.

Results: No statistically significant differences in erythrocyte SOD activity were observed between women and men (1454.4 ± 220.9 U/gHb vs. 1418.8 ± 214.5 U/gHb, $p > 0.05$). An inverse linear correlation has been observed between SOD activity and age, in both genders: women ($r = -0.125$, $p < 0.05$) and men ($r = -0.178$, $p < 0.05$). The erythrocyte SOD activity decreased significantly ($p < 0.05$) in post-menopausal women of 60-77 years (1377.8 ± 206.9 U/gHb) vs. 19-39 years old women (1460.4 ± 229.2 U/gHb).

Conclusions: The results of this study showed a progressive age-dependent decrease in erythrocyte SOD activity, in healthy subjects. The significant decline of erythrocyte SOD activity in post-menopausal women may be due to the vanishing antioxidant protection offered by estrogen hormones.

Keywords: age, superoxide dismutase, healthy subjects

P7. CORELAȚII ÎNTRE NIVELUL PEROXIDĂRII LIPIDICE ȘI ASPECTUL HISTOPATOLOGIC PLACENTAR LA FEMELE WISTAR GESTANTE OBEZE

Diana-Elena COMANDAȘU¹, Bogdana VÎRGOLICI¹, Maria MOHORA¹, Daniela LIXANDRU¹, Daniela MIRICESCU¹, Maria CONSTANTINESCU¹, Claudia MEHEDINȚU¹, Elvira BRĂȚILĂ¹

¹ *Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila”, București*

Introducere. Problemă de sănătate publică ce a atins cote pandemice, obezitatea induce riscuri metabolice intens studiate. Obezitatea maternă pe perioada gestației implică însă, adițional consecințelor nefaste pentru mamă, generarea unui mediu feto-placentar stresant, care are implicații directe asupra dezvoltării fetale atât pe termen scurt cât și lung.

Material și metodă. Efectele ale obezității materne au fost studiate pe un lot experimental de 50 de femele de șoareci Wistar la care s-a indus obezitatea prin aport alimentar. Acestea au fost ulterior împărțite în 5 loturi la care s-au inițiat terapii adjuvante – suplimentare cu acizi grași Omega 3 sau Omega 6 și fructe de cătină, adoptarea unei diete normocalorice normolipidice, și continuarea dietei grase fără intervenții. Femelele au fost sacrificate la termen și s-a măsurat nivelul seric de peroxidare lipidică (malonidialdehida, tiolii totali și glutatationul), iar placentele au fost analizate histopatologic.

Rezultate. Nivelele crescute ale markerilor de peroxidare lipidică și respectiv scăzute ale antioxidanților s-au corelat pozitiv cu aspectul histopatologic al placentelor analizate, care au prezentat aspect de hiperemie cu acumulare de celule inflamatorii, cu precădere macrofage. Cele mai ridicate nivele de peroxidare lipidică s-au înregistrat la loturile cu dietă grasă și respectiv la cel cu suplimente de acizi grași Omega 6. (MDA 28nmol/g țesut placentar respectiv 14nmol/g; $p < 0,05$). Pentru aceste loturi arhitectura placentară a prezentat cele mai importante alterări, cu apariția infiltratului inflamator și a încărcării lipidice.

Concluzii. Obezitatea maternă induce un nivel crescut de peroxidare lipidică serică care se corelează pozitiv cu alterarea structurii placentare. Acest aspect poate reprezenta o explicație pentru schimburile materno-fetale deficitare ceea ce generează un metabolism fetal patologic.

Cuvinte cheie: obezitate maternă, peroxidare lipidică, morfologie placentară

CORRELATION OF LIPID PEROXIDATION LEVEL WITH PLACENTAL HISTOPATHOLOGICAL ASPECT IN OBESE WISTAR RAT FEMALES

Introduction. Obesity is a public health issue that has reached pandemic proportions, and induces metabolic risks. Besides the adverse consequences for the mother maternal obesity during pregnancy generates a fetal-placental stressful environment, which has direct implications for the fetal development in both the short and long term.

Material and method. The effects of maternal obesity have been studied in an experimental group of 50 female Wistar rats in which obesity was induced by food intake. They were then divided into five groups which were initiated adjuvant therapies – supplementation with Omega-3 or Omega 6 fatty acids, sea buckthorn fruit, initiation of a normolipidic normocaloric diet, while a lot continued the fat diet without intervention. Females were sacrificed at delivery, serum lipid peroxidation parameters were assessed (malondialdehyde, glutathione and total thiols) and placentas were analyzed by histopathology.

Results. High levels of lipid peroxidation markers and low antioxidants level were positively correlated with the histopathological aspect of analyzed placentas, which presented a hiperemic aspect with inflammatory cells accumulation, mostly macrophages. The highest levels of lipid peroxidation were recorded in the groups with fat diet, respectively with Omega 6 supplementation. (MDA 28nmol/g placental tissue respectively 14nmol/g; $p < 0,05$). These groups presented the most significant alterations in placental architecture with the appearance of inflammatory infiltrate and lipid load.

Conclusions. Maternal obesity induces high levels of serum lipid peroxidation which is positively correlated with altered placental structure. This may be an explanation for poor maternal-fetal exchanges which generate a pathologic fetal metabolism.

Keywords: maternal obesity, lipid peroxidation, placental morphology

P8. PROGRAMAREA METABOLICĂ FETALĂ INDUSĂ DE OBEZITATEA MATERNĂ – PROCES REVERSIBIL?

Diana-Elena COMANDAȘU¹, Bogdana VÎRGOLICI¹, Maria MOHORA¹, Daniela LIXANDRU¹, Daniela MIRICESCU¹, Maria CONSTANTINESCU¹, Costin BERCEANU¹, Elvira BRĂTILĂ¹

¹ Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila”, București

Introducere. Programarea fetală reprezintă un proces descris recent, prin care intervenții externe apărute în perioade critice de dezvoltare au consecințe metabolice pe termen mediu și lung. Obezitatea maternă induce alterări fetale cu programarea unui metabolism advers exprimat prin obezitate infantilă și la vârsta adultă, toleranță alterată la glucoză, riscuri cardiovasculare și posibilitatea transmiterii acestora generației următoare.

Material și metodă. Fenomenul de reprogramare metabolică a feților proveniți din mame obeze a fost studiat pe un lot de 50 de șoareci Wistar la care s-a indus obezitatea prin aport alimentar și ulterior au fost supuse la intervenții terapeutice. Acestea au constat în suplimentarea cu acizi grași Omega 3 și Omega 6, fructe de cătină și inițierea unei diete normolipidice normocalorice pe perioada gestației, comparativ cu un lot martor care a continuat dieta grasă. După 3 săptămâni de alăptare, puii au fost sacrificați, fiind analizate nivelele de peroxidare lipidică pe omogenate tisulare pancreatice și hepatice prin valorile

malonildialheidei și tiolilor totali, statusul antioxidant fiind exprimat prin valoarea glutatationului. Acestea au fost corelate cu valorile serice materne ale acelorași markeri și nivelul markerilor biochimici uzuali.

Rezultate. Puii proveniți din mame la care s-au administrat acizi grași Omega 3 și cătină au prezentat valori ale peroxidării tisulare corelate cu cele serice materne semnificativ mai mici comparativ cu celelalte loturi. De asemenea, o ameliorare s-a remarcat și în cazul lotului la care s-a inițiat dieta standard.

Concluzii. Rezultatele obținute sugerează existența fenomenului de reprogramare metabolică fetală, prin intervenții terapeutice prompte în perioada de dezvoltare fetală.

Cuvinte cheie: obezitate maternă, reprogramare metabolică fetală, intervenții terapeutice

FETAL METABOLIC PROGRAMMING INDUCED BY MATERNAL OBESITY - A REVERSIBLE PROCESS?

Introduction. Fetal programming is a recently described process by which external interventions during critical periods of development have metabolic consequences in the medium and long term. Maternal obesity induces fetal alterations with the programming of adverse metabolism expressed through infant and adult obesity, impaired glucose tolerance, cardiovascular risks and the possibility of transmitting them to the next generation.

Material and method. The phenomenon of metabolic reprogramming of fetuses derived from obese mothers was studied on a group of 50 Wistar rats that were induced obesity through dietary intake and subsequently underwent therapeutic interventions. These consisted in supplementation with Omega 3 and Omega 6 fatty acids, sea buckthorn fruit and starting a normolipidic normocaloric diet during pregnancy, compared to a control group that continued the fat diet. After 3 weeks of breastfeeding, the pups were sacrificed and analyzed the levels of lipid peroxidation on liver homogenates and pancreatic homogenates by the values of malonildialdehyde and total thiols, antioxidant status being expressed by the glutathione level. These values were correlated with the same maternal serum markers and the usual biochemical markers.

Results. Pups from mothers that were given Omega 3 fatty acids and sea buckthorn had tissular peroxidation values correlated with maternal serum peroxidation level significantly lower compared to the other groups. Also, improvements were noted in the case of the group to which the standard diet was started.

Conclusions. These findings suggest the existence of the phenomenon of fetal metabolic reprogramming through prompt therapeutic interventions during fetal development.

Keywords: maternal obesity, metabolic reprogramming fetal, therapeutic interventions

P9. SALIVA: FLUIDUL ORAL UTILIZAT PENTRU DIAGNOSTICAREA ȘI MONITORIZAREA STRESULUI OXIDATIV ȘI A INFLAMAȚIEI ÎN CANCERUL ORAL

Radu RĂDULESCU¹, Alexandra TOTAN¹, Daniela MIRICESCU¹, Bogdan CALENIC¹,
Maria GREABU¹

¹Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila" București

Saliva poate fi utilizată ca fluid de diagnostic pentru numeroase afecțiuni orale inclusiv cancerul oral, datorită prezenței unui număr mare de biomarkari și datorită ușurinței recoltării probelor. În dezvoltarea cancerului oral, factori importanți sunt stresul oxidativ (SO) și inflamația, SO fiind generat chiar de celulele inflamatorii. IL-6 este un factor inflamator cheie care reglează inflamația cronică, proliferarea celulară, invazivitatea osoasă precum și procesele de apoptoză.

Obiective: Evaluarea potențialului diagnostic al biomarkerilor salivari IL-6 și CAT (capacitatea totală antioxidantă) în cancerul oral.

Materiale și metode: Studiul de față a inclus 30 de pacienți diagnosticați cu carcinom oral cu celule scuamoase și 14 voluntari sănătoși. IL-6 a fost detectată folosind metoda chemiluminescenței, iar CAT utilizând metoda TEAC.

Rezultate: Nivelul salivar al IL-6 a fost semnificativ mai crescut la pacienții diagnosticați cu cancer oral versus lotul control (2.9 pg IL-6 / mg albumină ± 0.4 pg IL-6 / mg albumină vs. 0.8 pg IL-6 / mg albumină IL-6 ± 0.07 pg / mg albumină, p<0,01). În schimb, nivelul salivar al CAT s-a observat a fi semnificativ scăzut în cazul grupului pacienților cu cancer oral versus lotul subiecților sănătoși (0.62 mmol / mg albumină ± 0.12 mmol / mg albumină vs. 1.31 mmol / mg albumină ± 0.8 mmol / mg albumină, p<0.005). O corelație negativă, statistic semnificativă, s-a observat între nivele salivare ale IL-6 și CAT (r=-0,66, p<0.005).

Concluzii: IL-6 și CAT pot fi utilizați ca viitori biomarkari în diagnosticarea și monitorizarea cancerului oral.

Cuvinte cheie: cancer oral, inflamație, stres oxidative

ORAL FLUID BASED DIAGNOSTIC FOR MONITORING OXIDATIVE STRESS AND INFLAMMATION IN ORAL CANCER

Background: Saliva can be utilized as a diagnostic fluid for a number of oral affections including oral cancer due to the high number of biomarkers contained and the ease of sampling. Oxidative stress (OS) and inflammation are important factors in cancer development, OS being generated by inflammatory cells. A key inflammatory factor is IL-6 regulating chronic inflammation, cell proliferation, bone invasiveness and apoptosis. Objective: Evaluation of the diagnostic potential of salivary biomarkers IL-6 and TAC (Total Antioxidant Capacity) in oral cancer.

Materials and methods: The present study included 30 patients, diagnosed with oral squamous cell carcinomas and 14 volunteers as control. IL-6 was detected using chemiluminescence while TAC detection was performed using the TEAC method ((Trolox Equivalent Antioxidant Capacity).

Results: Salivary IL-6 levels showed a significant increase in the oral cancer group compared to the control group (2.9 pg IL-6 / mg albumin ± 0.4 pg IL-6 / mg albumin vs. 0.8 pg IL-6 / mg albumin IL-6

± 0.07 pg / mg albumin). Salivary TAC showed a significant decrease in the oral cancer group when compared to respective controls (0.62 mmol / mg albumin ± 0.12 mmol / mg albumin vs. 1.31 mmol / mg albumin ± 0.8 mmol / mg albumin). A statistically significant negative correlation was found between IL-6 and TAC levels.

Conclusions: The present study showed that IL-6 and TAC could be used in the future as biomarkers in diagnosing and monitoring oral cancer.

Keywords: oral cancer, inflammation, oxidative stress

P10. FLUIDUL CREVICULAR GINGIVAL: DETECTAREA DE BIOMARKERI AI DEGRADĂRII TISULARE ȘI AI STRESULUI OXIDATIV ÎN PATOLOGIA PARODONTALĂ

Iulia STĂNESCU, Alexandra TOTAN, Daniela MIRICESCU, Radu RĂDULESCU, Bogdan CALENIC, Maria GREABU

¹Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila" București

Introducere: Saliva și fluidul crevicular gingival (FCG) reprezintă fluide de diagnostic foarte valoroase atât pentru afecțiunile orale, cât și pentru cele sistemice, fiind ușor accesibile, non-invasive și abundente în biomarkeri. Stresul oxidativ (SO) este implicat în patogeneza a numeroase afecțiuni sistemice, dar și orale, precum boala parodontală, lichenul plan oral sau cancerul oral, fiind un element de legătură între afecțiunile orale și cele sistemice.

Obiective: Scopul acestui studiu a fost să coreleze biomarkeri ai SO și ai degradării colagenului proveniți atât din saliva, cât și din FCG al pacienților cu parodontopatii și rolul SO în patogeneza bolii parodontale. **Materiale și Metode:** 30 de pacienți au fost examinați și diagnosticați cu boală parodontală cronică prin determinarea indicelui de placă, a indicelui de sângerare, stabilirea prezenței și a adâncimii pungilor parodontale. 20 de subiecți sănătoși au reprezentat grupul de control. Utilizând tehnica ELISA au fost determinate concentrațiile salivare și din FCG ale 8-hidroxideoxiguanozinei (8-OHdG) și ale β -CTX.

Rezultate: Rezultatele noastre au evidențiat nivele statistic crescute ale 8-OHdG și ale β -CTX atât în salivă, cât și în FCG la pacienții cu boală parodontală *versus* lotul control ($p < 0.05$).

Concluzii: Aceste **Rezultate** reflectă posibilul rol al speciilor reactive ale oxigenului în boala parodontală și remarcă prezența 8-OHdG ca un important biomarker al degradării oxidative. De asemenea, prin nivelele crescute ale β -CTX, acest studiu evidențiază existența degradării colagenului și a resorbției osoase în cazul pacienților cu parodontopatii cronice. Studiul nostru promovează utilizarea FCG și a salivei ca remarcabile fluide de diagnostic.

Cuvinte cheie: fluid crevicular gingival, stres oxidativ, degradare tisulară

GINGIVAL CREVICULAR FLUID – BIOMARKERS FOR TISSUE DEGRADATION AND OXIDATIVE STRESS IN PERIODONTAL PATHOLOGY

Background: Saliva and gingival crevicular fluid (GCF) are body fluids valuable for the diagnostic of both oral and systemic diseases by being easily accessible, collected non-invasively and abundant in biomarkers. Meanwhile, oxidative stress (OS) is involved in the pathogenesis of numerous systemic and oral disorders, including periodontal disease, oral lichen planus and oral cancer. Furthermore, OS can be considered as a possible link between systemic and oral diseases.

Objectives: The aim of this study was to correlate biomarkers of the OS and collagen degradation from both saliva and GCF in patients with periodontal disease and to estimate the OS role in disease's pathogenesis.

Materials and methods: 30 patients were examined and diagnosed with chronic periodontal disease by determining the plaque, the bleeding indices and the presence and size of the periodontal pockets. 20 control subjects were included in the study. Salivary and GCF levels of 8-hydroxydesoxyguanosine (8-OHdG) and β -CTX were determined using the ELISA method.

Results: Our results showed increased levels of 8-OHdG and β -CTX both saliva and GCF for patients with periodontal disease *versus* control group ($p < 0.05$).

Conclusions: These results reflected the possible role of reactive oxygen species in periodontal disease and distinguished 8-OHdG as an important marker for oxidative degradation. Also, through the increased levels of β -CTX the study reflects the existence of degradation in collagen and of bone resorption in periodontitis patients. Our results promote the use of GCF and saliva as reliable diagnostic fluids.

Keywords: gingival crevicular fluid, oxidative stress, tissue degradation

P11. BIOMARKERI SALIVARI, SERICI ȘI DIN FLUIDUL CREVICULAR GINGIVAL UTILI ÎN MONITORIZAREA ȘI PROGRESIA AFECȚIUNILOR PARODONTALE

Daniela MIRICESCU, Alexandra TOTAN, Bogdan CALENIC, Radu RĂDULESCU,
Iulia STĂNESCU, Maria GREABU

¹Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila" București

Introducere: Fluidele orale sunt folosite în prezent ca noi metode de diagnostic pentru afecțiunile sistemice și orale. O serie de biomarkeri specifici parodontopatiilor cronice pot fi exprimați în salivă, ser și fluidul crevicular gingival (FCG) cum sunt cei ai inflamației, degradarea osului alveolar (fosfataza alcalină, FA) și ai stresului oxidativ (SO) (acidul uric).

Scopul studiului: Evaluarea a doi biomarkeri (acid uric și ALP) în salivă, ser și FCG utili în monitorizarea și progresia severității afecțiunilor parodontale.

Materiale si metode: În studiu au fost incluși 30 de pacienți diagnosticați cu parodontopatie cronică și 20 de voluntari sănătoși. Atât FA cât și acidul uric a fost determinați în salivă, ser și FCG utilizând un analizor automat de biochimie.

Rezultate: Nivelele salivare, serice și din FCG au fost statistic scăzute în cazul acidului uric la pacienți cu parodontopatii cronice comparativ cu lotul sănătos ($p < 0.05$). În schimb, FA a prezentat nivele statistic

creștute la pacienții cu parodontopatii cronice *versus* lotul control la nivelul celor 3 fluide de diagnostic ($p < 0.05$). Nivelele salivare și din FCG scăzute ale acidului uric observate, reflectă prezența SO generat de reacțiile inflamatorii din timpul progresiei parodontale. Creșterea nivelelor salivare și din FCG a FA reflectă procesele degradative care au afectat osul alveolar în fazele acute de boală parodontală. Modificările serice ale celor doi biomarkeri reflectă o asocieră a acestei afecțiuni orale cu unele sistemice.

Concluzii: Acidul uric și FA pot fi considerați importanți biomarkeri utili în progresia afecțiunilor parodontale.

Cuvinte cheie: fluid crevicular gingival, saliva, ser, parodontopatie cronică

SALIVARY, GINGIVAL CREVICULAR FLUID AND SERUM BIOMARKERS USEFUL IN MONITORING AND PROGRESSION OF PERIODONTAL DISEASE

Introduction: Oral fluids are used currently as a new diagnostic tools for oral and systemic diseases. Many biomarkers associated with chronic periodontitis are expressed in patient's saliva, GCF and serum such as inflammatory, alveolar bone loss (alkaline phosphatase (ALP) and oxidative stress (OS) (uric acid).

Aim: Evaluation of two biomarkers (uric acid and ALP) in saliva, serum and GCF useful in progression and monitoring periodontal disease severity.

Materials and methods: 30 patients with chronic periodontitis and 20 healthy subjects were included in our study. Both ALP and uric acid were detected in saliva, serum and GCF using special analysis kits on automatic analyser.

Results: Salivary, serum and GCF activities of uric acid were significantly decreased in patients with chronic periodontitis *versus* controls ($p < 0.05$). Instated salivary, serum and GCF ALP levels were significantly higher at chronic periodontitis group compared with controls ($p < 0.05$). Salivary and GCF uric acid lower levels detected at patients with periodontitis reflect the presence of OS generated by inflammatory reactions during periodontitis progression. Destructive processes that effected alveolar bone in acute phase of periodontal disease, are observed by salivary and GCF ALP increased levels at periodontal patients. Serum changes of uric acid and ALP may reflect and association between periodontal disease with systemic diseases.

Conclusions: Uric acid and ALP can be regarded as important biomarkers useful in periodontal disease progression.

Keywords: gingival crevicular fluid, saliva, serum, chronic periodontitis

P12. EVALUAREA TULBURĂRILOR METABOLISMULUI GLUCIDIC LA COPII ȘI ADOLESCENȚI CU EXCES PONDERAL

Bianca Ioana CHEȘARU¹, Ciprian Adrian DINU¹, Michaela DOBRE¹

¹Facultatea de Medicină și Farmacie, Universitatea "Dunărea de Jos", Galați

Introducere: Studiul efectuat și-a propus identificarea și estimarea prevalenței insulinoresistenței și a tulburărilor de glicoreglare într-un lot de copii și adolescenți cu exces ponderal, în vederea depistării precoce a riscului de a dezvolta diabet zaharat, cu potențial de evoluție în sindrom metabolic.

Material și metodă: Studiul s-a efectuat pe un lot de 55 de copii și adolescenți (6-18 ani) cu exces ponderal diagnosticat pe baza măsurătorilor antropometrice. S-a analizat profilul glucidic pe baza glicemiilor și a insulinemiilor bazale și după încărcarea cu glucoză per os. Insulinorezistența a fost evaluată prin calculul indicelui HOMA-IR iar secreția de insulină prin calculul indicelui HOMA-B. Pacienții au fost considerați insulinorezistenți la o valoare a indicelui HOMA-IR ≥ 2.5 .

Rezultate: Evaluarea profilului glucidic a relevat tulburări de glicoreglare datorate alterării glicemiei à jeun (5.4%) sau toleranței la glucoză (14.6%). Nu s-a înregistrat nici un caz de diabet zaharat de tip 2. Hiperinsulinismul a fost identificat la 12.7% dintre subiecți. Copiii și adolescenții cu exces ponderal au prezentat insulinorezistență într-un procent de 25.5%. Per total, alterările homeostaziei glucozei au fost identificate la 29.1% din cazurile investigate.

Concluzii: Tulburările homeostaziei glucozei și riscul pe care acestea îl asociază susțin abordarea terapeutică individualizată și măsuri eficiente de profilaxie a excesului ponderal la copil și adolescent. Schimbarea stilului de viață și monitorizarea atentă a glicemiei și a toleranței la glucoză pot împiedica sau măcar întârzia apariția diabetului zaharat la populația tânără.

Cuvinte cheie: HOMA-IR, HOMA-B

EVALUATION OF GLUCOSE METABOLISM DISORDERS IN OVERWEIGHT CHILDREN AND ADOLESCENTS

Introduction: The study aims to identify and estimate the prevalence of insulin resistance and gluco-regulation impairments in a group of overweight children and adolescents, to enable early identification of diabetes risk, which can then potentially evolve into metabolic syndrome.

Material and Methods: The study was carried out on a group of 55 children and adolescents (aged 6-18 years) diagnosed as overweight based on anthropometric measurements. Their carbohydrate profile was compiled based on glucose and insulin values (basal and after oral glucose intake). Insulin resistance was assessed via the HOMA-IR index and insulin secretion via the HOMA-B index. Patients were considered as insulin resistant when HOMA-IR index value ≥ 2.5 .

Results: The evaluation of the carbohydrate profile revealed glucose metabolism disorders in the form of fasting glucose (5.4%) or glucose tolerance (14.6%) impairments. There was no case of diabetes mellitus type 2. Hyperinsulinism was identified in 12.7% of subjects. Overweight children and adolescents had a rate of insulin resistance of 25.5%. Overall, alterations in glucose homeostasis were identified in 29.1% of investigated cases.

Conclusions: The rate of glucose homeostasis disorders identified and their associated risks should draw attention to the need for an individualized therapeutic approach to cases and effective measures for prevention of overweight in children and adolescents. Lifestyle changes and careful monitoring of blood glucose and glucose tolerance may prevent or delay the onset of diabetes in young people.

Keywords: HOMA-IR, HOMA-B

P13. ASPECTE ALE CARACTERISTICILOR BIOCHIMICE ÎN RÂNDUL PACIENȚILOR INFECTAȚI CRONIC CU VIRUSUL HEPATITEI C (VHC)

Coralia-Luciana STANCIU¹, Ștefan MANEA², Cristina Maria POPESCU³,
Andra RĂDULESCU⁴, Corina MUSCUREL⁵, Laura GAMAN⁵, Codruța VÂGU⁵

¹Spitalul Universitar de Urgență Militar Central „Dr. Carol Davila” București

²Direcția de Sănătate Publică a Municipiului București

³Spitalul Clinic de Urgență „Bagdasar Arseni” București

⁴Spitalul Clinic de Copii „Dr. Victor Gomoiu” București

⁵UMF „Carol Davila” București

Introducere. Infecția cu virusul hepatitei C (VHC) reprezintă o problemă majoră de sănătate publică. La nivel global, aproximativ 200 de milioane de persoane sunt infectate cronic, aflându-se la risc de a dezvolta ciroză, carcinom hepato-celular și afectarea numeroaselor funcții hepatice.

Scopul acestui studiu a constat în investigarea în rândul pacienților infectați cronic cu VHC a unui set de parametri biochimici serici, cât și în stabilirea anumitor corelații între parametrii virali și biochimici și gradul fibrozei hepatice.

Metode. Am investigat 87 de pacienți infectați cronic cu VHC. Diagnosticul a fost stabilit prin detecția anticorpilor anti-VHC, prin electrochemiluminescență și confirmat de prezența de ARN-VHC folosind tehnica real-time PCR. Am utilizat Fibrotest-ul pentru a detecta gradul fibrozei hepatice. ALT (Alanin Aminotransferaza), AST (Aspartat Aminotransferaza), glucoza serică, fierul seric, trigliceridele, colesterolul total, HDL-C (lipoproteine cu densitate mare), and LDL-C (lipoproteine cu densitate joasă) au fost măsurate enzimatic cu un analizor automat. Feritina și alfa-fetoproteina (AFP) au fost determinate prin chemiluminescență.

Rezultate. În lotul analizat, nu am obținut diferențe semnificative statistic între parametrii biochimici (AST, ALT, markerii serici ai fierului, lipidele serice, glucoza serică) și nivelul de ARN VHC. Între următoarele stadii, absența fibrozei/fibroza ușoară versus fibroza severă, am obținut diferențe statistic semnificative pentru ALT ($p < 0,0001$), AST ($p = 0,0118$), AFP ($< 0,0001$), fier seric (0,013), feritină (0,0021) și HDL-C (0,029).

Concluzii. În rândul pacienților infectați cronic cu VHC, enzimele hepatice (AST, ALT), HDL-C și markerii serici ai fierului pot fi factori de risc independenți pentru progresia bolii hepatice.

Cuvinte cheie: VHC, parametri biochimici

ASPECTS OF BIOCHEMICAL FEATURES AMONG CHRONIC HEPATITIS C INFECTED PATIENTS

Introduction. Hepatitis C viral infection (HCV) is a serious global health problem; about 200 million people are chronically infected and at risk for the development of cirrhosis and hepatocellular carcinoma. These diseases interfere with the liver's numerous functions: cholesterol synthesis, lipogenesis, iron storage and carbohydrate metabolism.

The **aim** of this study was to investigate in chronic HCV infected patients several serum biochemical parameters and to determine if there are any correlations between biochemical and viral parameters and stages of liver fibrosis.

Methods. We have investigated 87 adult patients suffering from CHC (chronic hepatitis C). The diagnosis was established by the presence of HCV antibody on electrochemiluminescence assay and confirmed by the presence of HCV RNA using real-time PCR. We used Fibrotest to detect stages of liver fibrosis. ALT (Alanine Aminotransferase), AST (Aspartate Aminotransferase), serum glucose, serum iron, triglyceride, total cholesterol, HDL-C (High-density Lipoprotein Cholesterol), and LDL-C (Low-Density Lipoprotein Cholesterol) were measured with automated analyzer. Ferritin and alpha-fetoprotein (AFP) were determined by chemiluminescence immunoassay.

Results. There were no statistical association between biochemical parameters (AST, ALT, serum iron markers, serum lipids, serum glucose) and HCV viral load. Regarding liver fibrosis, we obtained statistical significance between no/mild fibrosis stage and severe fibrosis stage, only for ALT ($p < 0.0001$), AST ($p = 0.0118$), AFP (< 0.0001), serum iron (0.013), ferritin (0.0021) and HDL-C (0.029).

Conclusions. Among CHC patients, liver enzymes (AST, ALT), HDL-C and serum iron markers can be independent risk factors for progressive liver disease.

Keywords: CHC, biochemical parameters

P14. CORELAȚIILE ADIPOKINELOR SERICE CU DEPRESIA ȘI ANXIETATEA ÎN DIABETUL ZAHARAT TIP 2

Simona CERNEA^{1,2}, Adina HUȚANU^{1,2}

¹Universitatea de Medicină și Farmacie, Târgu Mureș

²Spital Clinic Județean de Urgență, Târgu Mureș

Introducere: Scopul acestei evaluări a fost stabilirea corelației dintre două adipokine, leptina și adiponectina, cu depresia și anxietatea la pacienții cu diabet zaharat tip 2 (DZ2), în vederea identificării unor biomarkeri asociați acestei patologii psihiatrice, întrucât relația complexă dintre DZ2 și depresie/anxietate este incomplet elucidată.

Material și metodă: În acest studiu transversal au fost incluși 216 pacienți cu DZ2 (62.2±7.8 ani). Depresia a fost evaluată cu Patient Health Questionnaire-9 (PHQ-9) și Center for Epidemiologic Studies-Depression (CES-D), anxietatea cu Generalized Anxiety Disorder-7 (GAD-7), iar stress-ul specific diabetului (SSD) cu Diabetes Distress Scale (DDS). Leptina și adiponectina serică au fost analizate prin ELISA. Semnificația statistică a fost stabilită la $p < 0.05$.

Rezultate: Leptina, adiponectina și raportul leptină:adiponectină (RLA) au fost mai mari la femeile cu DZ2 (15.8±10 ng/ml vs. 6.8±4.5 ng/ml; $p < 0.0001$; 7.8±2.9 μg/ml vs 6.1±2.6 μg/ml, $p = 0.0008$ și respectiv 2.5±1.7 vs. 1.2±0.8, $p < 0.0001$). Leptina serică a fost corelată cu depresia (PHQ-9: 0.2230 [95%CI: 0.0574; 0.3767], $p = 0.0070$; CES-D: 0.2248 [95%CI: 0.0592; 0.3783], $p = 0.0066$), anxietatea generală (0.2436 [95%CI: 0.0790; 0.3952], $p = 0.0032$), dar nu cu SSD (0.0905; [95%CI: -0.0784; 0.2544], $p = 0.2790$). Adiponectina nu a fost corelată cu depresia, anxietatea sau SSD ($p = \text{NS}$). RLA a fost corelată pozitiv cu depresia (PHQ-9: 0.2279 [95%CI: 0.0625; 0.3811]; $p = 0.0058$; CES-D: 0.2252 [95%CI: 0.0596; 0.3786]; $p = 0.0065$) și anxietatea (0.2890 [95%CI: 0.1274; 0.4356]; $p = 0.0004$). Nivelele medii ale leptinei și RLA au crescut progresiv la pacienții fără depresie, cu depresie ușoară și severă (11.6±9.1 ng/ml, 13.3±8.4 ng/ml, 19.4±14.0 ng/ml; $p = 0.0331$; 1.7±1.4, 2.3±1.7, 2.8±1.8; $p = 0.0142$).

Concluzii: Leptina și RLA s-au corelat cu anxietatea, depresia și severitatea depresiei la pacienții cu DZ2.

Cuvinte cheie: DZ2, leptina, adiponectină, depresie

Proiect finanțat prin Granturile interne de cercetare de către Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu Mureș (număr 1/23.12.2014).

CORRELATION OF SERUM ADIPOKINES WITH DEPRESSION AND ANXIETY IN TYPE 2 DIABETES

Introduction: The aim of this evaluation was to assess the correlation of two adipokines, leptin and adiponectin, with depression and anxiety in patients with type 2 diabetes (T2D), in order to identify biomarkers associated to these psychiatric diseases, as the complex relationship between T2D and depression/anxiety is not completely elucidated.

Material and methods: In this cross-sectional study 216 subjects with T2D were included (age: 62.2 ± 7.8 years). Depression was assessed by Patient Health Questionnaire-9 (PHQ-9) and Center for Epidemiologic Studies-Depression (CES-D), anxiety by the Generalized Anxiety Disorder-7 (GAD-7), while diabetes-specific psychological distress (DSD) by the Diabetes Distress Scale (DDS). Serum leptin and adiponectin were analyzed by ELISA. Statistical significance was assumed at $p < 0.05$.

Results: Serum leptin, adiponectin and leptin-to-adiponectin ratio (LAR) were higher in female than male patients with T2D (15.8 ± 10 ng/ml vs. 6.8 ± 4.5 ng/ml; $p < 0.0001$; 7.8 ± 2.9 μ g/ml vs 6.1 ± 2.6 μ g/ml, $p: 0.0008$ and 2.5 ± 1.7 vs. 1.2 ± 0.8 , $p < 0.0001$, respectively). Serum leptin was significantly correlated with depression (PHQ-9: 0.2230 [95%CI: 0.0574; 0.3767], $p: 0.0070$; CES-D: 0.2248 [95%CI: 0.0592; 0.3783], $p: 0.0066$), general anxiety (0.2436 [95%CI: 0.0790; 0.3952], $p: 0.0032$), but not with DSD (0.0905; [95%CI: -0.0784; 0.2544], $p: 0.2790$). Adiponectin was not correlated with depression, anxiety or DSD ($p: NS$). LAR correlated positively with depression (PHQ-9: 0.2279 [95%CI: 0.0625; 0.3811]; $p: 0.0058$; CES-D: 0.2252 [95%CI: 0.0596; 0.3786]; $p: 0.0065$) and anxiety (0.2890 [95%CI: 0.1274; 0.4356]; $p: 0.0004$). Mean leptin levels and LAR progressively increased in patients without depression, mild and severe depression (11.6 ± 9.1 ng/ml, 13.3 ± 8.4 ng/ml, 19.4 ± 14.0 ng/ml; $p: 0.0331$; 1.7 ± 1.4 , 2.3 ± 1.7 , 2.8 ± 1.8 ; $p: 0.0142$).

Conclusions: Leptin and LAR were correlated with anxiety, depression and the severity of depression in patients with T2D.

Keywords: T2D, leptin, adiponectin, depression

P15. INFLUENȚA TEHNICII DE RECOLTARE ASUPRA CONCENTRAȚIEI TSH-ului LA NOU-NĂSCUȚI, DETERMINATĂ PRIN TEHNICA DE SCREENING

Oana OPREA^{1,2}, Adina HUȚANU^{1,2}, Ștefan BARBU¹, Minodora DOBREANU^{1,2}

¹Spitalul Clinic Județean de Urgență Târgu Mureș

²UMF Târgu Mureș

Introducere: Conform programului național de screening pentru hipotiroidie congenitală în ziua externării nou-născuților li se recoltează sânge pentru testarea TSH prin tehnica FEIA. Tehnica de recoltare practică este cea de tip spot pe hârtie de filtru iar corectitudinea recoltării poate influența în mod semnificativ rezultatele testului furnizând rezultate de tip fals pozitiv și fals negativ.

Material și metodă: S-au luat în considerare 154 de probe retestate pe parcursul anului 2015. Retestarea s-a efectuat din același spot dar din zone impregnate diferit cu sânge. Rezultatele obținute au fost comparate cu rezultatele tuturor loturilor de control intern efectuate pe parcursul anului 2015 la fiecare serie analitică.

Rezultate: Între loturile de control intern nu există diferențe semnificative privind dispersia valorilor. Coeficientul de variație al controlului intern nivel normal a fost între 21,65% și 17,90%. Coeficientul de variație al controlului intern nivel patologic a fost între 13,18% și 17,44%. La nou-născuți s-a constatat o diferență semnificativă între determinările inițiale și repetări ($p = 0.0143$), cu un coeficient de variație de 96,47% pentru determinări respectiv 58,75% pentru repetări. Procentul de retestare în centrul nostru a fost de 2,54% iar al producătorului de 0,34%.

Concluzii: Recoltarea incorectă pe hârtia de filtru de tip spot influențează în mod semnificativ rezultatele testului de screening. Recoltarea corectă previne apariția de rezultate fals pozitive și poate scădea rata rechemărilor și retestărilor.

Cuvinte cheie: TSH, recoltare, coeficient de variație

THE INFLUENCE OF SAMPLING TECHNIQUE ON CONCENTRATIONS DETERMINED WITH THE TSH SCREENING METHOD ON NEWBORNS

Introduction: a blood sample is taken from newborns on discharge day according to the national screening method for congenital hypothyroidism. This sample is analyzed by FEIA technique. The blood is embedded in filter paper with designated spots for each newborn. The quality of sampling can significantly influence the results by providing false negative and false positive results.

Method and materials: We analyzed 155 samples taken during the year 2015 retesting the same designated spot but from a different area with different blood embedding. The values from newborn testing were compared with the values obtained from internal control samples during each run.

Results: there was no significant statistical difference between different control lots that were taken into account. The coefficient of variation of the normal level internal control was between 21.65% and 17.90%. The coefficient of variation of the high level internal control was between 13.18% and 17.44%.

There was a significant statistical difference between the values obtained on the first run and the second run of each sample taken from newborns ($p=0.0143$) also having a coefficient of variation between 96.47% for the first run and 58.75% for the second run. The percentage of retesting in our center was 2.54% while the manufacturers were 0.34%.

Conclusions: Incorrect sampling technique significantly influences the results of the screening test. Adequate sampling technique prevents false positive results and diminishes the recalling and retesting rates.

Keywords: TSH, sampling, coefficient of variation

P16. EFECTELE BENEFICE ALE SUPLIMENTELOR CU ULEI DE CHIMEN LA FEMELE OBEZE DE ȘOBOLANI WISTAR

Maria Zinaida CONSTANTINESCU¹, Bogdana VIRGOLICI¹, Diana COMANDASU¹, Daniela LIXANDRU¹, Daniela MIRICESCU¹, Laura POPESCU¹, Olivia TIMNEA³, Maria MOHORA¹

¹UMF "Carol Davila", București

²Universitatea Ecologică București

Introducere. Uleiul de chimen (*Nigella sativa*) a fost utilizat încă din cele mai vechi timpuri pentru vindecarea diferitelor boli. Uleiul este bogat în timochinone, acizi grași nesaturați, vitamine și minerale.

Scopul lucrării. Scopul acestui studiu a fost de a investiga efectele anti-obezitate ale suplimentului Immunoprotect® (ulei de *Nigella sativa* asociat cu doze mici de vitamina E, biotină și seleniu).

Materiale și metode. Două grupuri a câte zece femele obeze de șobolani Wistar au fost hrănite cu dietă hipercalorică / hiperlipidică de când erau pui (lotul 1), respectiv de la vârsta adultă (lotul 2). Ajunși la vârsta de 2 luni, șobolanii din ambele grupuri au continuat timp de 3 săptămâni cu dietă hipercalorică / hiperlipidică, dar fiecare grup a fost împărțit în câte două subgrupuri: unul căruia i-a fost administrat supliment cu ulei de chimen 100 mg/kg, pe lângă dieta grasă, și un subgrup fără supliment. Secțiunile de hematoxilină și eozină ale diferitelor țesuturi (ficat, pancreas, creier, inimă și rinichi) au fost analizate și s-au efectuat măsurători biochimice ale variabilelor plasmatiche uzuale.

Rezultate. În urma tratamentului, hepatopatia medie a regresat către hepatopatie minoră în lotul 1 și la lotul 2 hepatopatia minoră s-a ameliorat la aspect normal. În toate celelalte organe, tratamentul a avut efect anti-inflamator, a redus hiperemia și la lotul 2, au fost observate aspecte normale în creier și pancreas. În plasmă, tratamentul a redus ($p < 0,05$) valorile transaminazelor în lotul 1 și a ameliorat dislipidemia din lotul 2, prin reducerea colesterolului total ($p < 0,05$) și creșterea HDL-ului ($p < 0,05$).

Concluzie. Suplimentele cu ulei de chimen au efect protector asupra leziunilor tisulare induse de obezitate și îmbunătățesc profilul plasmatic al lipidelor.

Cuvinte cheie: *Nigella sativa* (ulei de chimen), obezitate, histopatologie

BENEFICIAL EFFECTS OF NIGELLA SATIVA OIL SUPPLEMENTS IN OBESE WISTAR RATS

Background. *Nigella sativa* oil is used for several diseases in traditional popular medicine. The oil is rich in thymoquinone, unsaturated fatty acids, vitamins and minerals.

Aim. The aim of this study was to investigate the anti-obesity effects of Immunoprotect® drug (*Nigella sativa* oil associated with low doses of vitamin E, biotin and selenium).

Materials and Methods. Two groups of ten obese females Wistar rats were fed with hypercaloric/hyperlipidic diet since childhood (group 1) and since adulthood, respectively (group 2). The 2 months old rats from both groups continued for 3 weeks the hypercaloric/hyperlipidic diet but each group was divided in subgroups: one receiving (*Nigella sativa* oil 100mg/kg as supplement associated to the diet and one subgroup without supplements. Hematoxylin and eosin stained sections of different tissues (liver, pancreas, brain, heart and kidney) were analyzed and biochemical measurements of usual plasma variables were done.

Results. The treatment transformed medium hepatopathy to minor hepatopathy in group 1 and in group 2 it reversed minor hepatopathy to normal aspect. In all the other organs, the treatment had anti-inflammatory effect and reduced hyperemia. In group 2, normal aspects were observed in brain and pancreas. In plasma, the treatment significantly reduced ($p<0.05$) the transaminases activities in group 1 and improved dyslipidemia in group 2, by significantly reducing total cholesterol ($p<0.05$) and increasing HDL-c ($p<0.05$).

Conclusion. *Nigella sativa* oil supplements had protective effect against obesity induced tissue damage and improved the lipid plasma profile.

Keywords: *Nigella Sativa*, obesity, histopathology

P17. DIAGNOSTICUL SALIVAR AL INFLAMAȚIEI ÎN LUPUSUL ERITEMATOS SISTEMIC

Bogdan CALENIC¹, Radu RADULESCU¹, Alexandra TOTAN¹, Iulia STĂNESCU¹,
Daniela MIRICESCU¹, Alina DIMA², Cristian BAICUS², Maria GREABU¹

¹Universitatea de Medicină și Farmacie Carol Davila, București

²Spitalul Clinic Colentina, București

Introducere: La ora actuală saliva este recunoscută ca un fluid de diagnostic cu un potențial solid în diagnosticarea și monitorizarea multor afecțiuni locale și sistemice. Totuși legătura dintre biomarkerii salivari și procesul inflamator din bolile autoimune este insuficient explorată. Principalul obiectiv al prezentei lucrări este analiza posibilelor corelații între markerii salivari ai inflamației și lupusul eritematos sistemic (LES).

Materiale și metodă: Studiul a inclus pacienți care au îndeplinit criteriile de diagnostic pentru lupus stabilite de către Systemic Lupus International Collaborating Clinics (SLICC), 2012. Concentrațiile salivare și serice de IL-6 (interleukina 6); leptina; PAI -1 (plasminogen activator inhibitor-1) și MCP-1 (monocyte chemoattractant protein-1) au fost determinate folosind tehnica ELISA.

Rezultate: Atât concentrația salivară cât și cea serică de IL-6 și leptina a fost statistic semnificativă mai mare la pacienții cu LES prin comparație cu grupul control non-LES [media (limite inf-sup): 2.6 (0.2 – 4.7) vs. 0.8 (0.4 – 1.2) pg/mL; $p=0.029$, 2.7 (1.7 – 5.3) vs. 1.2 (0.5 – 1.7) pg/mL; $p=0.001$, respectiv 118.9 (53.5 – 182.2) vs. 51.4 (32.4 – 137.2) ng/mL; $p=0.029$]. În același timp concentrația salivară de IL-6 s-a corelat statistic cu concentrația serică de IL-6 ($p=0.001$; $r=0.873$). Nu s-au evidențiat nici o corelație statistică între markerii PAI-1 și MPC-1 din salivă sau ser.

Concluzii: Prezentul studiu arată că nivelele salivare și serice de IL-6 pot reprezenta un marker de interes pentru monitorizarea procesului inflamator în SLE.

Cuvinte cheie: saliva, IL-6, lupus eritematos

ORAL FLUID BASED DIAGNOSTIC FOR INFLAMMATION IN SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS

Background: Saliva is currently used as a reliable diagnostic fluid in a wide range of local and systemic diseases. However the link between salivary diagnosis and the inflammatory process in autoimmune diseases has not yet been explored. Objective: The main aim of the present work is to assess possible correlations between salivary inflammatory markers and systemic lupus erythematosus (SLE).

Material and Methods: Patients fulfilling the 2012 Systemic Lupus International Collaborating Clinics (SLICC) diagnosis criteria and control subjects were included. Salivary and serum levels of interleukin-6 (IL-6), leptin, monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and plasminogen activator inhibitor-1 (PAI-1) were determined ELISA methods.

Results: Both salivary and serum IL-6 as well as serum leptin had significant higher levels in SLE patients when compared to non-SLE controls [mediane (inf – sup limits): 2.6 (0.2 – 4.7) vs. 0.8 (0.4 – 1.2) pg/mL; $p=0.029$, 2.7 (1.7 – 5.3) vs. 1.2 (0.5 – 1.7) pg/mL; $p=0.001$, respectively 118.9 (53.5 – 182.2) vs. 51.4 (32.4 – 137.2) ng/mL; $p=0.029$]. At the same time, salivary IL-6 levels were highly correlated with the serum IL-6 levels ($p=0.001$; $r=0.873$). No significant increments or correlations between serum and salivary markers could be observed in PAI-1 and MPC-1 markers in SLE patients when compared with controls.

Conclusions: A positive correlation was found between salivary and serum levels of IL-6 suggesting that salivary IL-6 represents a reliable marker for assessing the inflammation process in SLE.

Keywords: Saliva, IL-6, lupus erythematosus

P18. EVALUAREA FUNCȚIEI HEPATICE ÎN INTOXICAȚIA CU ORGANOFOSFORICE PE FONDUL HEPATOPATIEI PREEXISTENTE

Gabriela PUHA¹, Cătălina LIONTE¹, Amelia SURDU¹, Liliana FOIA¹, Laurențiu ȘORODOC¹

¹Universitatea de Medicină și Farmacie “Gr. T. Popa” Iași

Introducere. Prezentul studiu experimental a fost inițiat ca urmare a constatărilor din clinică referitoare la modificările unor parametri biologici în cazul asocierii dintre intoxicația cu substanțe organofosforice (SOF) și o alterare hepatică preexistentă, cauzată frecvent în practică de către consumul cronic de acetaminofen.

Material și metodă. Studiul a fost efectuat pe șobolani Wistar, urmărindu-se evoluția lactat dehidrogenazei (LDH) și gama glutamil transferazei (GGT) după inducerea intoxicației acute cu insecticid organofosforic-Triclorfon-dimetil triclor hidroxietilfosfonat, pe fondul hepatopatiei determinate de acetaminofen, pe mai multe loturi: netratat, tratat cu atropină, tratat cu atropină și obidoximă și un lot cu asociere de atropină, obidoximă și diazepam.

Rezultate. Rezultatele au arătat că inducerea intoxicației cronice cu acetaminofen a determinat o creștere semnificativă din punct de vedere statistic a activității LDH seric prin supraadăugarea intoxicației acute cu SOF, $p<0,001$. Tratamentul cu atropină cauzează o reducere semnificativă a activității serice a LDH, cu diminuare ulterioară prin asociere de obidoximă, fără diferențe semnificativ statistice prin adăugare de diazepam. În ce privește GGT, inducerea intoxicației cronice cu acetaminofen a determinat o

augmentare semnificativă a valorilor acesteia, cu o creștere suplimentară prin supraadăugarea intoxicației acute cu insecticid ($p < 0,05$). Terapia cu atropină, singulară sau asociată cu obidoximă nu determină modificări ale activității GGT, dar asocierea diazepamului determină o reducere semnificativă a valorilor acesteia.

Concluzii. Studiul demonstrează importanța asocierii diazepamului la dubla terapie antidot în intoxicațiile acute cu SOF și posibilitatea folosirii unor markeri biologici de prognostic al acestora.

Cuvinte cheie: intoxicație, substanțe organofosforice, ficat

EVALUATION OF LIVER FUNCTION IN ORGANOPHOSPHORUS INTOXICATION UPON PRE-EXISTING LIVER IMPAIRMENT

Introduction. This experimental study was initiated as a result of clinical practice that reveals modifications of biological parameters during organophosphorus (OP) poisoning associated to preexisting liver impairment, often caused by chronic consumption of acetaminophen.

Material and methods. The study was conducted on Wistar rats, following the evolution of serum lactate dehydrogenase (LDH) and gamma glutamyl transferase (GGT) activity after induction of acute poisoning with OP insecticide trichloro-1-hydroxyethyl-phosphonic acid dimethyl ester –Trichlorfon– upon preexisting liver injury caused by acetaminophen, using several batches: untreated (control), treated with atropine, atropine and obidoxime and a combination of atropine, obidoxime and diazepam.

Results. Our results pointed out that induction of chronic intoxication with acetaminophen associated to acute OP poisoning determined a statistically significant increase in serum LDH ($p < 0.001$). Proper atropine therapy promotes significant serum LDH activity alleviation, further reduction being registered by additional obidoxime association ($p < 0.05$). No statistically significant difference was obtained by the addition of diazepam. Considering serum GGT activity, induction of chronic intoxication with acetaminophen caused a significant augmentation, with a further increase by acute OP poisoning ($p < 0.05$). Therapy with atropine alone or in combination with obidoxime, do not result in compelling changes in GGT activity, but diazepam association causes a significant reduction.

Conclusions. The present study proves the importance of associating diazepam to the specific double antidote therapy in acute OP poisoning and the prognostic utility of biological markers.

P19. DETERMINĂRI IMUNOCROMATOGRAFICE ALE PROTEINEI DE LEGARE A ACIZILOR GRAȘI FRAȚIA CARDIACĂ (HFABP) FOLOSIND NANOPARTICULE FLUORESCENTE

Mihaela SAVIN¹, Dana STAN², Iulia MATEI¹, Rodica IOSUB³, George MUSCALU³,
Carmen MOLDOVAN³, Carmen-Marinela MIHĂILESCU²

¹Universitatea din București, ²DDS Diagnostic, București

³Institutul Național pentru Cercetare și Dezvoltare în Microtehnologii (IMT) București

Introducere: Detecția rapidă și cantitativă a markerilor cardiaci prin determinări imunocromatografice folosind nanoparticule fluorescente (NPF) este esențială în diagnosticarea specifică și imediată a infarctului de miocard acut (IMA). HFABP este markerul cardiac eliberat cel mai repede în sânge după instalarea IMA, respectiv în 1-3 ore de la debut.

Scopul: Realizarea unui strip (de tip “Point-of-Care” – POC) format din membrane de reacție pe care sunt imobilizați anticorpi specifici și bioconjugate NPF-anti-hFABP pentru determinarea hFABP cu o sensibilitate crescută.

Material și metodă: S-au folosit NPF nemarcate cu anticorpi care au următoarele caracteristici: culoare portocalie, masă moleculară de 81000 g/mol, dimensiuni teoretice de 3.5 nm, lungime de undă de emisie la 610 nm±5nm. Pentru functionalizarea NPF s-au folosit acidul mercaptopropionic, alcool etilic și agenți chimici de legare precum EDC și NHS. Condiții de lucru: la temperatura camerei cu agitare și apoi centrifugare pentru separarea bioconjugatelor. Stripul a fost realizat prin suprapunerea mai multor membrane poroase cu scopul optimizării fluxului de lichid capilar. Stripul are 4 zone: zona probă, zona bioconjugat NPF-anti-hFABP, zona reacție și zona absorbție exces lichid. Curba de calibrare s-a făcut prin diluții seriale ale antigenului hFABP în soluție tampon PBS.

Rezultate: Algoritmul liniar de fitare calculat arată o valoare a coeficientului de regresie $R^2 = 0.980$ și o sensibilitate de 3 ng/mL pe domeniul de calibrare 5-160 ng/mL. Pe viitor se va realiza testarea stripului utilizând probe de ser/sânge pacient.

Concluzii: Având în vedere că IMA este o urgență medicală, realizarea sistemului de diagnostic de tip POC prezintă reale beneficii pentru salvarea vieții pacienților.

Mulumiri; Această lucrare a fost publicată cu sprijinul financiar al proiectului PN-II-PT-PCCA-2013-4-1731 (AMI DETECT).

IMMUNOCHROMATOGRAPHIC MEASUREMENTS FOR HEART-TYPE FATTY ACID BINDING PROTEIN (HFABP) USING FLUORESCENT NANOPARTICLES

The rapid and quantitative detection of cardiac biomarkers by immunochromatographic determinations using fluorescent nanoparticles (FNPs) is essential in the specific and immediate diagnosis of acute myocardial infarction (AMI). The HFABP is the cardiac marker released fastest in the blood after the inception of AMI, respectively within 1-3 hours of the AMI inception.

The object of the study was the production of a strip (“Point-of-Care” type - POC) composed of reaction membranes on which are immobilized specific antibodies and FNPs-anti-hFABP bioconjugates in order to determine increased sensitivity hFABP.

We used FNPs unmarked with antibodies that have the following characteristics: orange color, molecular weight of 81,000 g/mol, theoretical dimension of 3.5 nm, emission wavelength of 610 nm±5nm. For the functionalization of the FNPs there were used mercaptopropionic acid, ethylic alcohol and chemical cross-linking agents such as EDC and NHS. Working conditions: at room temperature by shaking and then centrifugation to separate the bioconjugate. The strip was made by overlapping several porous membranes in order to optimize the capillary fluid flow. The strip has four areas: the sample zone, the bioconjugate zone (FNPs-anti-hFABP), the reaction zone and the excess liquid absorption zone. The calibration curve was made by preparing serial dilutions of the hFABP antigen in PBS buffer.

The results show that linear fitting algorithm gave a value of 0.98 for the regression coefficient R^2 , and a sensitivity of 3 ng/mL in the calibration range of 5-160 ng/mL. In the future, the strip will be tested using patient’s serum/blood.

Given that AMI is a medical emergency, completing the POC diagnostic system type presents real benefits to saving patients’ lives.

Acknowledgments. This work was published with the financial support of the project PN-II-PT-PC-CA-2013-4-1731 (AMI DETECT).

P20. SUPLIMENTELE CU ULEI DE CHIMEN ADMINISTRATE FEMELELOR OBEZE DE ȘOBOLANI WISTAR PE TIMPUL SARCINII AU EFECTE BENEFICE ASUPRA DESCENDENȚILOR ACESTORA

Maria Zinaida CONSTANTINESCU¹, Diana COMANDASU¹, Bogdana VIRGOLICI², Daniela LIXANDRU², Daniela MIRICESCU², Laura POPESCU², Horia VIRGOLICI², Maria MOHORA²

¹UMF "Carol Davila", București, ²Universitatea ecologică București

Introducere. Prevenirea efectelor negative ale obezității mamei asupra dezvoltării puilor are nevoie de un management mai bun.

Scop. Scopul acestui studiu este de a analiza dacă suplimentele cu ulei de chimen (*Nigella sativa*) la mamele obeze, în timpul sarcinii și alăptării au efecte benefice în dezvoltarea puilor.

Materiale si metode. Cinci femele de șobolani Wistar au fost hrănite cu dietă hipercalorică / hiperlipidică până la maturitate și au devenit obeze. În timpul sarcinii și alăptării au continuat această dietă, dar uleiul de chimen (*Nigella sativa*) (100 mg / kg șobolan) s-a adăugat ca supliment. Lotul de comparație a fost similar cu primul, dar fără suplimentul cu ulei de chimen. Profilul metabolic și histopatologic al descendenților pe organele recoltate (ficat, creier, inimă, rinichi, pancreas), analizat pe lame cu eozină hematoxilină, în prima zi de la oprirea alăptării au fost studiate.

Rezultate. Descendenții de la femelele obeze fara suplimentul cu ulei de chimen au avut hepatopatie medie, mici pete hemoragice în creier, inflamație peripancreatică, grăsime ectopică în jurul inimii, tubulonefroză vacuolară și granulară. Descendenții din femelele obeze cărora le-a fost administrat și suplimentul de ulei de chimen au avut hepatopatie minoră, aspect normal al creierului și pancreasului, tubulonefroză reversibilă, fără grăsime ectopică în jurul inimii. Prin comparația loturilor, colesterolemia și trigliceridele de la descendenții din grupul tratat au avut valori mai mici ($p < 0,05$).

Concluzie. Aportul de ulei de chimen în timpul sarcinii și alăptării, la mamele obeze au efecte benefice în dezvoltarea puilor.

Cuvinte cheie: *Nigella Sativa*, obezitate, descendenți

NIGELLA SATIVA SUPPLEMENTS IN OBESE WISTAR RATS DURING PREGNANCY IMPROVE OFFSPRING DEVELOPMENT

Background. Prevention the adverse outcome of the mother's obesity on the offspring development needs a better management.

Aim. The aim of this study is to analyze if supplements with *Nigella sativa* oil in obese mothers, during pregnancy and breast feeding have beneficial effects in the offspring development.

Materials and Methods. Five females Wistar rats were raised on hypercaloric/hyperlipidic until maturity and they became obese. During pregnancy and breast feeding they continued this diet but *Nigella*

sativa oil (100 mg/kg rat) was added as a supplement. The control group was similar with the first but didn't receive supplements. We studied the metabolic profile (serum cholesterol and triglycerides) and examined the hematoxylin eosine stained slides from liver, brain, heart, kidney, pancreas collected from the offspring, in the first day of ab lactation.

Results. The offspring from the obese females without a supplement had medium hepatopathy, small hemorrhagic spots in the brain, peripancreatic inflammation, ectopic fat surrounding the heart, vacuolar and granular tubulonephrosis. The offspring from the obese females with supplement had minor hepatopathy, normal aspect of brain and pancreas, reversible tubulonephrosis, no ectopic fat surrounding the heart. The offspring of the group receiving *Nigella sativa* supplement had significantly lower cholesterolemia and triglyceridemia ($p < 0.05$) than the offspring control group.

Conclusion. The intake of *Nigella sativa* oil during pregnancy and breast feeding, in obese mothers have beneficial effects in offspring development.

Keywords: *Nigella Sativa*, obesity, offspring

P21. EVALUAREA EXCREȚIEI URINARE A IODULUI LA COPII ȘCOLARI

Zita FAZAKAS¹, Victor BALOGH-SAMARGHIȚAN¹, Enikő NEMES-NAGY¹,
Zsuzsanna SIMON-SZABÓ¹

Universitatea de Medicină și Farmacie, Tg-Mureș

Excreția urinară a iodului este un marker bun al aportului alimentar de iod și este indicele pentru evaluarea gradului de deficit a iodului cât și toxicitatea acestuia.

Scopul studiului a fost evaluarea excreției de iod urinar la un eșantion reprezentativ de copii școlari.

Metoda. În studiu au fost incluși 50 copii aparent sănătoși cu vârste 8-11 ani, medie 9 ± 1 an. Nivelul iodului urinar a fost măsurat folosind un potențiomtru cu electrozi ion selectivi pentru iod. Următoarele date au fost înregistrate după fiecare recoltare a urinei în perioadele 9 seara la 7 dimineața, pA, respectiv 8 dimineața la 16 după amiaza, pB: excreția de iod pentru cele două perioade (mcg/L); rata de excreție a iodului (mcg/h); estimarea excreției de iod conform formulei: $\text{mcg/LA} \times \text{pA} + \text{mcg/LB} \times \text{pB} + \text{mcg/h} \times (24 - \text{pA} - \text{pB})$. Datele au fost introduse într-o bază de date pentru prelucrare statistică pentru obținerea mediei zilnică a excreției iodului la copii școlari.

Rezultate. Valoarea mediei zilnică a excreției iodului a fost de $42,95 \pm 20,65$ mcg/L/24h, ceea ce denotă un aport insuficient. Conform clasificării iodurinei recomandată de Organizația Mondială a Sănătății și Consiliul Internațional pentru Controlul Tulburării prin Deficit de iod, rezultatele au arătat că din cei 48 de copii școlari luați în studiu, 4,16% (2) au avut un deficit sever de iod (< 20 mcg/L), 68,75% (33) au avut deficit moderat de iod (20-49 mcg/L), 16,66% (8) au avut deficit ușor de iod (50-99 mcg/L) și 10,42% (5) au avut o cantitate suficientă (100- 200 mcg/L).

Concluzii. Acest studiu arată nivelul iodului urinar scăzut la copii școlari, care poate avea implicații asupra sănătății publice.

Cuvinte cheie: iodurie, deficit de iod, potențiometrie cu electrozi ioni selectivi.

ASSESSMENT OF URINARY IODINE EXCRETION IN SCHOOL CHILDREN

Urinary iodine excretion is a good marker of the dietary intake of iodine and is the index for evaluating the degree of iodine deficiency disorders and toxicity.

The **aim** of our study was the measurement of urinary iodine excretion on a representative group of school children.

Method. We studied iodine excretion in 50 clinically healthy children aged 8-11 (mean 9 ± 1 years). Urinary iodine level was measured using the standard method with a iodine-sensitive electrode ionometer.

The following data were recorded after each urine sampling period (pA, from 9 p.m to 7a.m., and pB from 8 a.m to 4 p.m): iodine excretion in that 2 periods in mcg/L; iodine excretion rate (mcg/h); estimate of iodine excretion according to formula $\text{mcg/LA} \times \text{pA} + \text{mcg/LB} \times \text{pB} + \text{mcg/h} \times (24 - \text{pA} - \text{pB})$. Data was introduced into a database for statistical analysis in order to obtain the daily median urinary iodine excretion.

Results. The daily median urinary iodine excretion value was 42.95 ± 20.65 mcg/L/24h, reflecting an insufficient iodine intake. Out of the 48 investigated children, 4.16% (2) had severe iodine deficiency (<20 mcg/L), 68.75% (33) had moderate iodine deficiency (20-49 mcg/L), 16.66% (8) had mild iodine deficiency (50-99 mcg/L) and 10.42% (5) had a normal iodine status (100-200 mcg/L). The clinical significance of the results was interpreted according to World Health Organization and International Council for the Control of Iodine Deficiency Disorders recommendations.

Conclusions. This study showed that low urinary iodine level is present in the studied school children and it has public health implication.

Keywords: iodine excretion, iodine deficiency, ionometer

P22. ASPECTE PREANALITICE ALE RECOLTĂRII PRODUSELOR PATOLOGICE ÎN SECȚIILE DE ANESTEZIE-TERAPIE INTENSIVĂ (ATI)

Márta Andrea FODOR^{1,2}, Bernadette BLÉNESI¹, Enikő NEMES-NAGY¹

¹Universitatea de Medicină și Farmacie, Tîrgu Mureș

²Spitalul Clinic Județean de Urgență, Tîrgu Mureș

Introducere: Greșelile preanalitice reprezintă cea mai frecventă cauză a erorilor de laborator.

Scop: Evaluarea celor mai frecvente și mai importante greșeli din faza preanalitică în secțiile de ATI.

Material și metodă: Am evaluat modul de recoltare și transport al produselor patologice din Secția Clinica ATI din Spitalul Clinic Județean de Urgență Tg. Mureș și Secția Clinică Chirurgie Cardiovasculară – Compartiment ATI adulți Tîrgu Mureș în perioada mai - iulie 2015. 47 de asistente medicale au fost evaluate prin completarea unui chestionar cu 12 întrebări, referitoare la: date demografice, recoltarea sângelui venos, transportul probelor biologice.

Rezultate: Marea majoritate a celor intervievați au dat dovadă de o bună cunoaștere a recomandărilor privind recoltarea și transportul produselor patologice. 96% verifică identitatea pacienților înainte de recoltare. 77% dintre asistenți înregistrează datele de identitate pe eprubetă înainte de recoltare. 60%

dintre respondenți nu mențin garoul pe brațul bolnavului mai mult de 1 minut. 68% dintre respondenți organizează transportul probelor biologice imediat după recoltare. Totuși, am identificat câteva aspecte care ar putea fi îmbunătățite: doar 21% dintre cadrele medicale cunosc ordinea corectă a tuburilor de recoltare, 37% au declarat că a fost nevoie de repetarea recoltării din cauza hemolizei sau a coagulării (42%). 85% dintre asistentele intervievate recoltează cu seringă, 96% recoltează din cacer.

Concluzii: Utilizarea chestionarelor adaptate specificului fiecărei secții clinice reprezintă un mijloc eficient de identificare a problemelor existente și permite elaborarea unor măsuri de corectare al acestora.

Cuvinte cheie: Preanalitic, erori, recoltare

PREANALYTICAL ASPECTS OF SPECIMEN COLLECTION IN ICU (INTENSIVE CARE UNITS)

Introduction: Preanalytical phase mistakes are the most common cause of laboratory errors.

Purpose: To evaluate the most frequent and most important problems during preanalytical phase/ specimen collection in ICU.

Methods: We evaluated 47 health care professionals from ICU of Țirgu Mureș Emergency Clinical County Hospital and Emergency Institute for Cardiovascular Diseases and Transplantation Țirgu Mures between May- July 2015. The study staff was assessed by completing a questionnaire, relating to demographic data and sample collection aspects: patient identification, venous blood collection, sample transport.

Results: The majority of respondents showed a good knowledge of specimen collection and transport procedures. 96% of respondents check the patient's identity before sampling. 77% of healthcare professionals labels the collection tubes before sample collection. 60% of respondents do not maintain tourniquet on the arm of the patient more than 1 minute. 68 % of respondents organise the samples transport immediately after collection. However, we have identified some aspects that could be improved: only 21% of health care professionals know the correct order of the blood collection tubes, the relatively high number of repeted venipunctures due to hemolysis (37% of respondents) or coagulation (42% of respondents), blood draws from indwelling catheters (85% of healthcare professionals), or failure to use vacutainers for blood collection (96% of interviewed persons).

Conclusions: Using specific questionnaires adapted to different clinical departments we can identify the existing problems and we can implement the proper corrective actions.

Keywords: Preanalytical, errors, sampling

P23. DEFICITUL DE VITAMINA D LA COPII SUB 2 ANI IN ZONA SIBIU

Camelia GRIGORE¹, Maria TOTAN², Nicolae GRIGORE¹

¹Spitalul Clinic de Pediatrie, Sibiu ²Universitatea Lucian Blaga, Sibiu

Introducere: Vitamina D este cunoscută pentru rolul său în promovarea sănătății scheletului, iar studiile din ultimii ani arată în plus că niveluri optime de vitamina D oferă protecție împotriva bolilor autoimune, cancerului, asigură echilibrul psihic și păstrarea memoriei. Scopul acestui studiu a fost analiza nivelului de 25 (OH) vitamina D la copiii din zona Sibiu, internați în Spitalul Clinic de Pediatrie Sibiu pentru diverse patologii.

Metodă: S-au luat în studiu 100 de copii cu vârste cuprinse între 1 lună și 2 ani internați. Determinările au fost efectuate în perioada 15 august - 15 noiembrie 2015. S-a analizat nivelul de 25 (OH) D, prin metoda ELFA, folosind analizorul Vidas PC, BioMerieux. S-a considerat că nivel optim de vitamina D are valoarea peste 30 ng / ml.

Rezultatele: Nivelul 25(OH) vitaminei D în întregul grup testat a fost de $28,68 \pm 4,2$ ng/ml. 55,5 % din copiii au avut nivel de 25(OH) vit D sub 30 ng/ml (22.61 ± 4.1 ng/ml).

Concluzii: Determinarea nivelului de vitamina D este importantă la copiii sub 2 ani, pentru a stabili o corectă profilaxie a rahitismului la această grupă de vârstă.

Cuvinte cheie: copii, 25(OH)vit D, nivel optim

VITAMIN D DEFICIENCY IN CHILDREN UNDER 2 YEARS OLD, IN SIBIU COUNTY

Background: Vitamin D is known for its role in promoting skeletal health, and recent studies show that optimal levels of vitamin D protect against autoimmune diseases, cancer, contribute to mental balance and to the preservation of memory.

The **aim** of this study was to analyze the level of 25 hydroxyvitamin vitamin D in children admitted in Children`s Hospital Sibiu with various pathologies.

Method: We studied 100 children, aged between 1 month - 2 years old. The tests have been done between 15 august-15 november 2015. The laboratory determined the 25(OH) vitamin D level, using ELFA method, Vidas PC analyzer, BioMerieux. The optimal level is considered to be ≥ 30 ng / ml.

Results: Hydroxy vitamin D level in all children was $28,68 \pm 4,2$ ng/ml. 55,5% of all tested children had levels of 25 (OH) vitamin D below 30 ng/ml (22.61 ± 4.1 ng/ml).

Conclusions: Measurement of 25(OH) vitamin D is an important test for children below 2 years old, in order to settle an efficient rickets prevention at this age.

Keywords: children, 25 (OH) vitamin D, optimal levels

P24. TESTUL SUDORII FALS POZITIV LA COPII ABUZAȚI FIZIC ȘI PRIN NEGLIJARE

Simona CHEREGI¹, Radu SPINEANU¹, Cristian SAVA¹, Andrei CSEP², Laura LELE¹

¹ Facultatea de Medicină, Universitatea din Oradea, ²Spital Clinic Municipal, Oradea

Introducere. În afara mucoviscidozei, concentrații crescute ale electroliților din sudoare sunt raportate într-un număr de entități clinicobiologice; majoritatea pot fi diferențiate ușor prin caracteristicile lor clinice. Creșterea concentrației clorurilor din sudoare la copiii abuzați a fost mai puțin pusă în valoare și rar comunicată.

Material. Două prezentări de caz ale unor copii preșcolari abuzați sever fizic și prin neglijare care au prezentat valori anormal crescute ale concentrației clorurilor în sudoare stimulate prin iontoforeza cu pilocarpina.

Rezultate. Cazul 1. Băiat de patru ani dintr-o familie disfuncțională, agresat fizic și cu privațiuni multiple, internat cu numeroase echimoze, hematoame, arsuri, escoriații, suprainfecții. Greutatea este de 8 kg, înălțimea 85 cm, abdomenul este mărit de volum. Prezintă câteva scaune zilnic, voluminoase,

lucioase, dureri abdominale. Testul sudorii indică valoarea clorului 68 mEq/L, repetat 70 mEq/L sugerând fibroză chistică. După externare și dare în îngrijire bunicilor este revăzut după 9 luni cu stare de nutriție refăcută, cu valori ale clorurilor de 45 mEq/L. Cazul 2. Fetiță de 5 ani, cu mamă dezechilibrată, agresivă, alcoolică care a abuzat-o fizic repetat, a înfometat-o și neglijat-o. Greutate 10 kg, înălțime 90 cm. Prezintă echimoze, hematoame, țesut subcutanat diminuat, abdomen mărit de volum, scaune frecvente, voluminoase, flatulență, epigastralgie. Testul sudorii indică clor 75 mEq/L iar repetat 72 mEq/L. Prezența contextului clinic asociat sugerează fibroză chistică. Este externată și dată în îngrijire la familia unor rude. Este revăzută după 11 luni, recuperată fizic și psihic, cu cloruri în sudoare de 42 mEq/L.

Concluzii. Copiii abuzați fizic și prin neglijare pot prezenta creșteri ale concentrației clorurilor în sudoare. Creșterea este însă pasageră, valorile se normalizează odată cu recuperarea copilului.

Cuvinte cheie. testul sudorii, copil, abuz.

FALSE POSITIVE SWEAT TEST RELATED TO PHYSICAL ABUSE IN CHILDREN

Introduction. Apart cystic fibrosis, high levels of electrolytes in sweat are reported in a number of clinicobiological entities, majority easily distinguishable by their clinical characteristics. Increased concentration of chloride in sweat of abused children has been less highlighted and rarely reported.

Material. Authors report two cases of severely physically abused pre-schoolers presenting abnormal high concentration of chloride in sweat induced by pilocarpine iontophoresis.

Results. Case 1. Four years-old boy from dysfunctional family, physically abused, with multiple deprivations, hospitalized for numerous bruises, hematomas, burns, abrasions and superinfection; weight 8 kg, height 85 cm and abdominal distension. The child presents several bulky, shiny stools daily, associating abdominal pain. Sweat test indicates values of 68 mEq/L and 70 mEq/L, respectively, in two different tests, suggesting cystic fibrosis. Discharged and entrusted to his grandparents, after 9 months he regains adequate nutrition status, with sweat chloride levels of 45 mEq/L. Case 2. 5 year-old girl raised by a disturbed alcoholic mother, who physically abused her repeatedly, starved and neglected her. Physical findings: weight 10 kg, height 90 cm, bruising, hematoma, diminished subcutaneous tissue, abdominal distension, frequent, bulky stools, flatulence and epigastralgia. Repeated sweat tests indicated 75 mEq/L and 72 mEq/L. The presence of associated clinical context suggests cystic fibrosis. Given in care to family relatives, after 11 months she was recovered physically and mentally, with the sweat chloride of 42 mEq/L.

Conclusions. Physically abused and neglected children may have high concentration of chloride in sweat. This transient elevation normalizes with the child's recovery.

Keywords. Sweat test, child abuse.

Thursday 19th of May 2016

R4. MACROGLOBULINEMIA WALDENSTRÖM (MW): ELEMENTE ACTUALE ÎN DIAGNOSTIC, PATOGENEZĂ, MONITORIZARE ȘI TRATAMENT

**Adriana COLIȚĂ¹, Dan COLIȚĂ¹, Didona VASILACHE¹, Anca GHEORGHE¹,
Camelia DOBREA¹, Monica POPESCU¹, Mihaela CÎRSTEA¹, Daniel CORIU¹**

¹Clinica de Hematologie, Institutul Clinic Fundeni, București

MW este un neoplasm limfoid rar care rezultă din acumularea, predominant în măduva osoasă, a unei populații clonale de limfocite, limfoplasmocite și plasmocite care secretă o imunoglobulină M (IgM) monoclonală – markerul clasic al boii. WHO clasifică MW ca limfom limfoplasmocitic (LLP/MW).

Determinante pentru expresia clinică sunt infiltrația tumorală în țesuturi și organe (măduva osoasă, ganglioni limfatici, splină și ficat, în principal) și acumularea IgM monotipice care generează hipervâscozitate și tulburări legate de crioglobulinemie, neuropatie, anemie hemolitică cu anticorpi la rece și amiloidoză. Evoluția naturală a bolii parcurge 3 faze: o fază inițială de gamapatie monoclonală IgM cu semnificație neprecizată, o fază intermediară asimptomatică (“smoldering”) și o fază finală simptomatică. MW trebuie diferențiată de alte boli limfoproliferative cronice care asociază secreție de IgM monotipică: mielomul multiplu IgM, limfomul non-Hodgkin splenic de zonă marginală, leucemia limfatică cronică.

Un mare ajutor în diagnosticul diferențial îl furnizează descoperirea unor mutații genice care conduc la elaborarea unor proteine cu funcție aberantă. MYD88^{L265P} este o astfel de proteină mutantă care stimulează selectiv proliferarea limfocitelor monoclonale și a fost izolată în 2012 în cca.90% dintre cazurile de MW floridă. Este socotită un biomarker util nu numai în diagnostic dar și în urmărirea evoluției. Este obiectul unei terapii țintite cu Ibrutinib care ar inhiba selectiv proliferarea celulelor tumorale. Alte opțiuni terapeutice includ agenți alkilanți, analogi purinici, Rituximab, Bortezomib (în diverse combinații propuse). Ca și transplantul autolog cu CS periferice este o opțiune restrânsă la cazuri selecționate în recădere sau rezistente. În cazurile cu sindrom de hipervâscozitate se aplică plasmafereza cu schimbare de plasmă.

Cuvinte cheie : macroglobulinemie Waldenstrom, diagnostic, monitorizare

WALDENSTRÖM MACROGLOBULINEMIA (WM): TOPICAL ELEMENTS IN DIAGNOSIS, PATHOGENESIS, MONITORING AND TREATMENT

WM is a rare lymphoid neoplasm resulting from the accumulation (predominantly in the bone marrow) of a clonal population of lymphocytes, lymphoplasmocytic cells and plasma cells which secrete a monoclonal immunoglobulin M (IgM) (the classical marker of the disease). According to WHO classification, WM is considered as a lymphoplasmocytic lymphoma (LPL/WM).

Determining for the clinical expression are the tumoral infiltration in tissues and organs (e.g. bone marrow, nodes, spleen, liver ...) and the accumulation of the monotypic IgM which produces hypervis-

cosity and other perturbations associated with cryoglobulinemia, neuropathy, hemolytic anemia with warm antibodies and amyloidosis. The natural evolution of WM crosses 3 phases: an initial one – the monoclonal gammopathy IgM of unknown semnification, an intermediate, asymptomatic (“smoldering”) WM and a final overt disease. WM must be differentiated from other chronic lymphoproliferative diseases which express monotypic IgM: IgM multiple myeloma, the nonHodgkin lymphoma of splenic marginal zone, chronic lymphocytic leukemia.

A mutation which provokes the synthesis of a protein involved in the proliferation of WM cells: MYD88^{L265P} was recently (2012) discovered. It is present in about 90% of overt WM and, at present, it is considered the biomarker for the diagnosis and the pursuit of the evolution. Some drugs as the Ibrutinib inhibit the proliferation of the malignant cells and represent a promise for the future. Other therapies employed include alkilators, purine-analogs, Rituximab, Bortezomib (in diverse combinations). The autologous transplant of peripheral hematopoietic stem cells is a restraint option for relapsed/resistant cases. Plasma exchange is indicated for the hyperviscosity syndrome.

Keywords: Waldenstrom Macroglobulinemia, diagnosis, monitoring

R5. LEUCEMIA LIMFATICĂ CRONICĂ: DE LA BIOLOGIE, LA DIAGNOSTIC ȘI PROGNOSTIC

Mihail BADEA¹, Daniela BADEA¹, Amelia GENUNCHE-DUMITRESCU¹, Aurelian BADEA¹, Cristina PETRICĂ¹

¹ Universitatea De Medicină Și Farmacie Craiova

Leuceimia limfatică cronică (LLC) este o neoplazie limfoidă B matură, ce se consideră a fi identică cu limfomul limfocitic difuz cu celule mici, caracterizată de acumularea continuă a unor limfocite monoclonale incompetente funcțional.

Biologia moleculară a LLC este un proces, complex multistep (stimulare antigenică, facilitarea de către micromediu, mutații genetice, modificări epigenetice și anomalii citogenetice), ce conduce la limfocitoză monoclonală B (LMB), progresia acesteia către LLC, evoluția/selecția clonală ce determină, în timp, rezistență la tratament. LMB cu imunofenotip de tip LLC este prezentă în 5-15% din populația de peste 60 de ani și evoluează către LLC într-un procent de aproximativ 1% pe an.

Diagnosticul de LLC necesită: limfocitoză (limfocite mici cu morfologie matură) B (CD19, CD20, CD23) absolută $\geq 5000/\text{microL}$ cu SmIg redusă, restricția k/λ și expresia CD5.

LLC este o entitate extrem de heterogenă, iar evaluarea prognostică necesită: stadializarea Rai/Binet, hibridizarea fluorescență in situ, de rutină, pentru del (17p), del (11q), trisomia 12 și del 13q, determinarea beta-2 microglobulinei și dacă este posibil, statusul mutațional al genei lanțului greu (IGHV), CD38, ZAP-70.

Grupul German de studiu al LLC a identificat opt factori independenți, în analiză multivariațională, ce asociază supraviețuire scurtă: (Del(17p)– 6puncte; timidin kinază serică ≥ 10 units/L– 2puncte; beta-2-microglobulin >3.5 mg/L– 2puncte; beta-2-microglobulin 1.7 to 3.5 mg/L– 1punct; IGHV nemutant– 1punct; statusul de performanță ECOG >0 –1punct; Del(11q)– 1punct, subliniind că supraviețuirea globală la 5 ani variază de la 95% pentru grupul cu prognostic favorabil(0-2puncte) la 19% pentru cel cu prognostic foarte grav (11–14puncte).

Cuvinte cheie: LLC, diagnostic, prognostic

CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA: FROM BIOLOGY TO DIAGNOSIS AND PROGNOSIS

Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is a mature (peripheral) B cell neoplasm, considered to be identical to the small lymphocytic lymphoma, characterized by a progressive accumulation of functionally incompetent, monoclonal lymphocytes.

The molecular pathogenesis of CLL is a complex, multistep process (antigenic stimulation, microenvironmental support, gene mutations, epigenetic modification, and cytogenetic abnormalities) leading to monoclonal B cell lymphocytosis (MBL), progression from MBL to CLL and clonal evolution/selection leading to treatment resistance. MBL with a CLL-phenotype is present in 5-15% of the population above the age of 60 and progresses to CLL at a rate of approximately 1% per year.

CLL diagnosis needs: absolute B (CD19,CD20,CD23) lymphocyte (morphologically mature–small lymphocytes) count in the peripheral blood $\geq 5000/\text{microL}$, with extremely low levels of Smlg, κ/λ restriction and CD5 expression.

CLL is an extremely heterogeneous disease, and prognostic evaluation is needed: Rai/Binet study, in situ fluorescence hybridization for del(17p), del(11q), trisomy 12, and del(13q), measurement of beta-2 microglobulin and if possible, mutation status of immunoglobulin heavy chain gene (IGHV), CD38, ZAP-70.

German CLL Study Group identified eight factors as independent predictors of short survival on multivariate analysis (Del (17p) – 6points; serum thymidine kinase ≥ 10 units/L– 2points; serum beta-2-microglobulin >3.5 mg/L– 2points; serum beta-2-microglobulin 1.7 to 3.5 mg/L– 1point; Unmutated IGHV– 1point; Eastern Cooperative Oncology Group performance status >0 –1point; Del(11q)– 1point; male gender– 1point; Age >60 years– 1 point) and assigned a weighted score about rate of overall survival at five-year: from low risk (0–2 points) – 95%; to very high risk (11–14 points) – 19%.

R6. SINDROAMELE LIMFOPROLIFERATIVE CRONICE- ACTUALITĂȚI ÎN DIAGNOSTIC ȘI PROGNOSTI

Anca BOJAN

Institutul Oncologic “Ion Chiricuță”, Cluj-Napoca

Sindroamele limfoproliferative cronice întrunesc un grup heterogen de boli, mecanismul patogenetic fiind proliferarea clonală a limfocitelor mature în sângele periferic, măduva osoasă, ganglioni limfatici, splină, alte țesuturi limfoide. Sunt distincte în privința evoluției clinice, morfologiei celulelor și caracterelor imunohistochimice. Sunt clasificate în funcție de apartenența la lineajul B, T sau NK.

În trecut, diagnosticul limfoproliferărilor cronice se baza pe trăsăturile clinice și descrierea morfologică a celulelor, dar multe din aceste boli pot avea trăsături asemănătoare. Introducerea tratamentelor cu molecule noi, țintă, în tratamentul limfoproliferărilor a determinat necesitatea de a avea un diagnostic cât mai corect. Flow-citometria și examinările imunohistochimice sunt la ora actuală indispensabile pentru confirmarea diagnosticului în fiecare subtip de limfoproliferare.

Limfoproliferările cronice B exprimă o varietate de marker de limfocit B comune (S μ g, CD19, CD20) sau specifice diferitelor subclase.

Limfoproliferările cronice T sunt clasificate conform diferențelor clinice, hematologice, morfologice, imunofenotipice și prezența unor modificări genetice specifice. Toate subclasele exprimă fenotipic

antigene pan-T, TCR α/β , iar particular leucemia cu limfocite mari granulare-T exprimă CD8, CD57; Sindromul Sezary CD4, CD25 și reducerea CD7.

Examinările citogenetice și moleculare sunt importante atât în diferențierea unor subclase de limfoproliferări cronice, cât și în nuanțarea prognosticului bolii. Absența mutațiilor în regiunea genelor IgVh, expresia importantă de CD38, expresia de ZAP70, delețiile cromozomilor 7, 11 selectează pacienți cu supraviețuire mai scurtă, cu risc de progresie mai mare și care necesită tratament mai precoce. În limfomul de manta au fost descrise translocații ale cromozomilor 11, 18, 14.

CHRONIC LYMPHOPROLIFERATIVE NEOPLASMS-NEW DIAGNOSTIC METHODS AND PROGNOSTIC FACTORS

Chronic lymphoproliferative neoplasms represent clonal proliferations of morphologically and immunophenotypically mature B or T cells in peripheral blood, bone marrow, lymph nodes, spleen and other lymphoid tissues. They are a heterogeneous group of diseases with variability in the clinical course, in the morphological and immunophenotypic profile. Chronic lymphoid neoplasms are categorized into mature B-cell, T-cell and natural killer cell neoplasms.

Despite rigorous morphology many diseases can have similar appearance and clinical presentation. In the era of new, targeted therapies determining the correct diagnosis is of great importance. Flow cytometry is the new approach to establish the diagnosis of chronic lymphoproliferative disorder.

A mature B-cell neoplasms immunophenotypic profile includes expression of pan B antigens and distinguishes antigens for specific subtypes.

Mature T-cell neoplasms express pan T antigens and typical immunophenotypic profile in different entities.

Recurrent cytogenetic abnormalities may provide support for the diagnosis and prognosis of some B- and T-Cell chronic lymphoproliferative neoplasms. The mutation status of the variable segments of the immunoglobulin heavy chain genes or surrogate markers for these factors, such as CD38 and ZAP-70, deletions of 11q, 17p predicts inferior survival, rapid disease progression, and shorter median time to initial therapy. Mantle cell lymphoma shows a large number of chromosomal alterations including chromosome 11, 18, 14.

Keywords: CLL, diagnosis, prognosis

C2. NANOPARTICULE DE AUR CONJUGATE CU RITUXIMAB PENTRU TERAPIA LEUCEMIEI LIMFATICE CRONICE

Ioana FRINC^{1,2}, Sanda BOCA³, B PETRUSHEV², Timea SIMON³, C BERCE², GA GAFENCU²,
Delia DIMA¹, Sonia SELICEAN², Valentina PILECZKI², Anca BUZOIANU², A FLOREA²,
A IRIMIE², S ASTILEAN³, Ioana BERINDAN-NEAGOE^{1,2}, A CUCUIANU^{1,2}, Anca BOJAN^{1,2},
Mariana PATIU^{1,2}, C TOMULEASA^{1,2}

¹Institutul Oncologic Prof. Dr. Ion Chiricuță, Cluj-Napoca

²UMF Iuliu Hațieganu, Cluj-Napoca, ³Universitatea Babeș-Bolyai, Cluj-Napoca

Introducere. Leucemia limfocitară cronică (LLC) este o boală monoclonală caracterizată de o acumulare continuă de limfocite maligne. În ciuda progreselor realizate în vederea obținerii unui

tratament țintit pentru LLC, acesta poate să determine recidivarea sau progresia către un sindrom Richter. Astfel, este nevoie de o terapie țintită care să realizeze prin creșterea concentrației de citostatic în tumoră reducând în același timp toxicitatea sistemică.

Materiale și metode. În acest studiu este evidențiată conjugarea medicamentului rituximab cu nanoparticule de aur. Transportul transmembranar în interiorul celulelor LLC și validarea potențialului lor terapeutic conduc la creșterea eficacității.

Rezultate. Eficiența formării nano-transportorilor de medicamente a fost dovedită prin caracterizare spectroscopică a particulelor. Internalizarea rituximab-nano-transportori a fost evidențiată ca urmare a disipării puternice a luminii provenită din nanoparticulele de aur, unde rezultatele obținute au fost comparate cu cele de la TEM și microscopia în câmp întunecat.

Concluzie. Efectele terapeutice ale medicamentelor noi sintetizate au fost net superioare față de cele ale medicamentului neconjugat, efecte investigate prin câteva metode incluzând testul MTT, numărarea celulelor, biologie celulară (citometrie de flux, apoptoză și testul de autofagie), genomică (RT-PCR pentru MS4A1) și proteomică (confocal și western blotting pentru CD20).

Cuvinte cheie: rituximab, nanoparticule de aur, leucemie cronică limfocitară

GOLD NANOPARTICLES CONJUGATED WITH RITUXIMAB FOR THE TREATMENT OF CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

Introduction. Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is a monoclonal disorder that is characterized by a continuous accumulation of malignant lymphocytes. Despite progress in targeted therapy options for CLL, relapse or progression to a Richter syndrome still appears. Thus, a more focused and targeted therapeutic option is required. This can be achieved by increasing the concentration of a cytostatic drug in the tumor while reducing its' systemic toxicity. In the continuous effort toward the development of more efficient therapeutic approaches for the treatment of CLL, in the current study we report the conjugation of rituximab antibody drug onto spherical gold nanoparticles, their effective trans-membrane delivery inside CLL cells and their validation as real-potential therapeutics with increased efficacy, in comparison with drug alone.

Materials and methods. In the continuous effort toward the development of more efficient therapeutic approaches for the treatment of CLL, in the current study we report the conjugation of rituximab antibody drug onto spherical gold nanoparticles, their effective trans-membrane delivery inside CLL cells and their validation as real-potential therapeutics with increased efficacy, in comparison with drug alone.

Results. The efficient formation of drug-nanocarriers was proved by spectroscopic characterization of the particles. The internalization of rituximab-nanocarriers was proved as a result of the strongly scattered light from gold nanoparticles and was correlated with the results obtained by TEM and dark field microscopy.

Conclusion. The new drug was found to be superior when compared with the drug alone, data confirmed by state-of-the-art analyses of internalization, cell biology (flow cytometry, apoptosis and autophagy assay), genomics (RT-PCR for MS4A1) and proteomics (confocal microscopy and western blotting for CD20).

Keywords: rituximab, gold nanoparticles, chronic lymphocytic leukemia

C3. STUDIU CLINICO-PATOLOGIC AL UNEI CAZUISTICI DE LIMFOAME LENNERT

GA GAFENCU¹, Sonia SELICEAN¹, Ciprian TOMULEASA^{1,2}, B PETRUSHEV¹, Delia DIMA², Ioana FRINC^{1,2}, C BERCE¹, R BUIGA², Anca BOJAN^{1,2}, A CUCUIANU^{1,2}, Mariana PATIU^{1,2}

¹UMF Iuliu Hațieganu, Cluj-Napoca

²Institutul Oncologic Prof. Dr. Ion Chiricuță, Cluj-Napoca

Introducere. Limfoamele nodale T/ celulă NK Epstein-Barr virus (EBV) pozitive au un caracter extrem de agresiv, cu o medie a timpului de supraviețuire de 3,5 luni. În prezentul studiu, vom prezenta o serie de 8 cazuri, din cazuistica Institutului Oncologic Ion Chiricuță. Cluj-Napoca, cu un fenotip asemănător, exceptând pozitivitatea EBV.

Material și metode. Am reanalizat 8 cazuri (2 femei și 8 bărbați) aflate în cazuistica Institutului Oncologic Ion Chiricuță, Cluj-Napoca între anii 1987 și 2014, atât prin prisma imunohistochimiei pieselor de biopsie cât și prin prisma evoluției clinice a pacienților. Piesele au fost evaluate anatomopatologic și testate pentru CD3, CD4, CD8, PD1, TIA1, Granzyme B, CD15, CD20, CD21, CD30 și proteina latentă membranară a virusului Epstein-Barr (EBV LMP-1), urmând protocoalele recomandate de producători.

Toți pacienții au primit cura standard CHOP (ciclofosamidă, doxorubicină, vincristină și prednisolon), în prealabil determinându-se International Prognostic Index (IPI) și mai apoi statusul de performanță Eastern Cooperative Oncology Group (ECOG). Pacienții au fost chemați la controale biannuale în primii 2 ani iar mai apoi anual.

Rezultate. Din punct de vedere anatomopatologic, marea majoritate a cazurilor au prezentat fenotip limfocitic T citotoxic inactiv (TIA+ Granzyme B -), mare parte din limfocite fiind CD4+ și CD8+ și EBV LMP-1 negativ. Vascularitatea pieselor corespunde cu descrierea de limfom T angioimunoblastic. Șapte din 8 pacienți au fost în stagiul III-IV dar în urma curei cu CHOP au intrat în remisiune în marea lor majoritate.

Concluzii. Aceste **Rezultate** sugerează că infecția cu EBV ar putea fi un predictor de supraviețuire în cadrul acestei maladii, pentru confirmare fiind necesare studii viitoare în acest domeniu .

Cuvinte cheie: virus Epstein-Barr, prognostic, agresivitate

CLINICO-PATHOLOGICAL STUDY OF A CASE SERIES OF LENNERT'S LYMPHOMA

Introduction. Nodal T-Cell Lymphomas/ Epstein-Barr virus (EBV) positive are highly aggressive, with a mean survival rate of 3.5 months. In this study, we present 8 cases from Ion Chiricuta Oncology Institute, Cluj-Napoca, with a similar phenotype, except EBV positivity.

Materials and methods. We assessed 8 cases (2 women and 6 men) from Ion Chiricuta Oncology Institute, Cluj-Napoca, collected between 1987 and 2014, by immunohistochemistry and evaluation of the clinical evolution of patients. Samples were assessed histopathologically and tested for CD3, CD4, CD8, PD1, TIA1, granzyme B, CD15, CD20, CD21, CD30 and Epstein-Barr virus latent membrane protein (EBV LMP-1) following the recommended protocols producers.

All patients received the standard CHOP treatment (cyclophosphamide, doxorubicin, vincristine and prednisolone), and had previously determined International Prognostic Index (IPI) and Eastern Cooper-

ative Oncology Group (ECOG) effectiveness status. The patients were called for biannual inspections in the first two years and then annually.

Results. Histopathologically, most of the cases presented inactive cytotoxic T lymphocyte phenotype (TIA + Granzyme B -) with most of the lymphocytes CD4 + and CD8 +. All cases were EBV LMP-1 negative. The vascularity of the samples was consistent with the description of Lymphoma T angioimmunoblastic. In seven of eight cases initially in stages III-IV, remission was observed after treatment with CHOP.

Conclusion. These results suggest that EBV infection is a possible predictor of survival in this disease, but future studies are mandatory for confirmation.

Keywords: Epstein-Barr virus, prognosis, aggressivity

C4. DIAGNOSTICUL STANDARD AL LEUCEMIILOR ACUTE MIELOIDE PRIN CITOMETRIE ÎN FLUX MULTIPARAMETRICĂ

Mihaela ZLEI, Oana-Maria PINTILIE, Iona-Doina POPA, Costel ŞLINCUI, Georgiana BUTURĂ, Cătălin-Doru DĂNĂILĂ, Angela DĂSCĂLESCU, Ion ANTOHE, Daniela JITARU

Institutul Regional de Oncologie, Iaşi, Universitatea de Medicină şi Farmacie Gr. T. Popa, Iaşi

Citometria în flux are cea mai mare sensibilitate de detecție a direcțiilor timpurii de maturare a precursorilor mieloizi comuni, anomaliilor fenotipice și blocajelor maturative. Capacitatea de detecție cu acuratețe a abaterilor de la profilele maturative normale depinde de utilizarea unor metode standardizate și prezintă o relevanță clinică majoră.

Material și metodă. Implementarea standardului european (EuroFlow) de diagnostic imunofenotipic al leucemiei acute mieloblastice (LAM) în unitatea noastră (2013-2015) a fost evaluată în dinamică. Au fost re-analizate fișierele de date generate prin evaluarea imunofenotipică a 306 de probe de aspirat medular (178 la diagnostic și 128 la evaluarea post-terapeutică). Combinațiile de markeri utilizate au suferit modificări etapizate, de la cele din rutina tradițională a laboratorului, la cele recomandate la nivel european (<http://euroflow.org/usr/pub/pub.php>). De asemenea, am utilizat panelul EuroFlow pentru diagnosticul LAM pentru evaluarea distribuției și profilului fenotipic asociate lineajelor granulocitar și monocitic în două probe de aspirat medular normal.

Rezultate. Implementarea protocoalelor EuroFlow a avut următoarele avantaje; 1. detecția cu frecvență crescută a unor tipuri rare de LAM (cu precursori megakarioblastici, bazofilici, mastocitici); 2. stabilirea unor profile de referințe (controale interne) în seriile celulare ne-afectate; 3. identificarea mai corectă a nivelelor anormale de expresie, atât prin utilizarea unor markeri exprimați diferit în diferite stadii, cât și prin utilizarea procedurilor Euroflow de set-up al instrumentului; 4. o identificare optimă a blocajelor maturative și asincronismului maturativ.

Concluzii. Standardul EuroFlow de diagnostic al leucemiilor acute mieloide permite distincția optimă a stadiilor maturative, urmând ca utilitatea sa în monitorizarea bolii minime reziduale să fie evaluată.

Cuvinte cheie: imunofenotipare, leucemie acuta mieloidă, citometrie în flux

STANDARD DIAGNOSIS OF ACUTE MYELOID LEUKEMIAS BY MULTIPARAMETRIC FLOW-CYTOMETRY

Introduction. Flow-cytometry has shown the highest sensitivity for the detection of early lineage commitment of common myeloid precursors, phenotype abnormalities, and maturation blockades. Our ability to recognize those deviated maturation patterns depends on accurate protocols and has undisputable clinical impact.

Material and method. A dynamic technical evaluation during the implementation process of the European standard (EuroFlow) for the immunophenotypic diagnosis of Acute Myeloid Leukemia (AML) during 2013-2015 was performed. Data files generated from 306 bone marrow samples (178 at diagnosis, 128 at evaluation) were re-analyzed. Combinations of markers gradually changed from those used traditionally within our past routine laboratory to those recommended at European level (<http://euroflow.org/usr/pub/pub.php>). We have also applied the EuroFlow panel to the analysis of the distribution and phenotypic profile of granulocytic and monocytic-lineage cells from two normal bone marrow samples.

Results: The implementation of EuroFlow protocol has the following advantages: 1. increased detection of rare types of AML (involving precursors of megakaryocytic, basophilic, mast cell lineages); 2. establishment of reference images (internal controls) in cell lineages un-affected by the malignant process, but also present in patient sample analyzed; 3. a more accurate identification of abnormal intensity expression, due to the use of markers known to be expressed with specific membrane level for specific maturative stage and due to a standardized instrument set-up; 4. an optimal identification of hiatuses and asynchronous differentiation

Conclusion: The EuroFlow approach is highly informative for the delineation of maturation stage, while its utility for residual disease monitoring in AML remains to be evaluated.

Keywords: immunophenotyping, acute myeloid leukemia, EuroFlow, flow-cytometry

C5. ANOMALII CROMOZOMIALE LA PACIENȚI CU LEUCEMIE ACUTĂ

Oana-Elena BOCA¹, C. BUJORAN¹, I.C. IVANOV¹, Adriana SIRETEANU¹,
Mihaiela Loredana DRAGOS¹, Mihaela ZLEI¹, Oana Maria PINTILIE¹, Carmen COZMEI¹,
Anca Viorica IVANOV², Angela DASCALESCU^{1,2}, C. DANAILA^{1,2} Georgiana ZAHARIA¹,
I. ANTOHE², Georgiana BUTURA², A. GLUVACOV¹, Doramina GHIORGHIU²,
Cristina BURCOVEANU¹, Gabriela DORHOI¹ E. CARASEVICI¹,
Daniela JITARU¹

¹Institutul Regional de Oncologie, Iasi, ²Universitatea de Medicina si Farmacie „Gr. T. Popa”, Iasi

Introducere: Deși prezintă dezavantajul unei rezoluții scăzute, cariotipul standard reprezintă unele dintre cele mai valoroase tehnici pentru diagnosticul și prognosticul leucemiilor acute. În literatură sunt prezentate date contradictorii cu privire la prognosticul anomaliilor citogenetice specifice, studiile fiind limitate de mărimea eşantioanelor și de abordările terapeutice diferite.

Material și metodă: Lotul de studiu cuprinde 35 de pacienți, investigați în perioada decembrie 2014-ianuarie 2016, în Institutul Regional de Oncologie Iași, confirmați cu leucemie acută prin

imunofenotipare și citologie medulară, la care s-a efectuat analiza cromozomială standard la diagnosticul bolii.

Rezultate: Din cele 35 cazuri cu leucemie acută, la 17 pacienți (48,5%) s-a identificat o anomalie cromozomială. Acestea au fost de tip numeric – apariția unuia sau mai multor cromozomi suplimentari sau prezența de monosomii, și anomalii structurale - translocații echilibrate: $t(15;17)(q24;q21)$, $t(9;22)(q34;q11)$, $t(8;14)(q24;q32)$. Pentru elucidarea unora dintre rearanjările cromozomiale, în anumite cazuri, s-a utilizat tehnica FISH. Tipul și frecvența anomaliilor cromozomiale întâlnite în studiu au fost comparate cu datele din literatură.

Concluzii: Pentru identificarea corectă a anomaliilor cromozomiale multiple, a numărului de clone maligne și a raportului procentual al fiecăreia dintre acestea, este strict necesară combinarea analizei cromozomiale standard cu tehnica FISH.

Cuvinte cheie: leucemie acută, anomalii cromozomiale, FISH

CHROMOSOMAL ABNORMALITIES IN PATIENTS WITH ACUTE LEUKEMIA

Introduction: Standard karyotyping represents some of the most valuable techniques, for the diagnosis and prognosis of acute leukemia, leaving aside the drawback of lower resolutions. Conflicting data are presented in literature regarding the prognostic of cytogenetic abnormalities, specific studies being limited by cohort size and different therapeutic protocols used.

Materials and methods: The study group consisted of 35 patients, investigated during December 2014-January 2016 in Iasi Regional Oncology Institute, confirmed with acute leukemia by immunophenotyping and bone marrow cytology.

Results: Within our study group, chromosomal abnormalities were detected in 17 patients (48,5%). The identified cytogenetic abnormalities were numerical, which consisted of occurrence of one or more extra chromosome or the presence of monosomies and structural abnormalities: balanced translocations $t(15;17)(q24;q21)$, $t(9;22)(q34;q11)$, $t(8;14)(q24;q32)$. In order to elucidate some of chromosomal rearrangements, in some cases, the FISH technique was used. The type and frequency of chromosomal abnormalities found in the study were correlated with those cited in the literature.

Conclusions: In order to have a correct identification of multiple chromosomal aberrations, the number and the percentage ratio of malignant clones, it is strictly required the corroboration between classical cytogenetic and FISH.

Keywords: acute leukemia, chromosomal abnormalities, FISH

C6. BIOCONJUGATE DIN NANOPARTICULE DE AUR CA AGENȚI DE CONTRAST DE LIVRARE AI INHIBITORILOR DE TIROZIN KINAZE IN LEUCEMIA ACUTA MIELOIDA

C. TOMULEASA^{1,2}, Ioana BERINDAN-NEAGOE^{1,2}, Sanda BOCA-FARCAU^{1,3}, Timea SIMON³, Sorina SUARASAN³, Sonia SELICEAN², G. GAFENCU², Ioana FINC², M. ZDRENGHEA², C. BERCE², B. PETRUSHEV³, S. ASTILEAN³, Delia DIMA¹, Mariana PATIU^{1,2}, Anca BOJAN^{1,2}, A. CUCUIANU^{1,2}

¹Institutul Oncologic Prof. Dr. Ion Chiricuță, Cluj-Napoca, ²UMF Iuliu Hațieganu, Cluj-Napoca

³Universitatea Babes-Bolyai, Cluj-Napoca

Introducere. Nanoparticulele de aur sunt intens valorificate în aplicațiile biomedicale datorită modului simplu de obținere și a potențialului de biocompatibilitate. Acestea prezintă proprietăți optice unice caracterizate prin starea de excitație a așa numitelor rezonanțe plasmonice de suprafață localizate (LSPR) din zona vizibilă spre zona infraroșu (NIR) a spectrului electromagnetic, care facilitează detecția acestora *in vivo* folosind tehnici inovative și non-invasive. O aplicație recentă a nanoparticulelor este utilizarea lor în noi entități moleculare farmacologice, transportate la locuri țintă din organism, în vederea maximizării aportului terapeutic și minimizarea efectelor secundare.

Metode. S-au sintetizat nanoparticule de aur cu diferite răspunsuri plasmonice (de la Vis la NIR), particulele sunt conjugate fie cu fluorofori (izotiocianat de fluoresceina, perclorat cresil violet) pentru imagistică sau cu medicamente anti-leucemice (quizartinib, midostaurin, sorafenib, lestauritinib) pentru efecte terapeutice. Particulele conjugate au fost caracterizate prin microscopia de transmisie electronică, spectroscopia de absorbție UV-Vis-NIR, difuzia luminii dinamice, potențial zeta, fluorescență și/sau spectroscopie Raman amplificată de suprafață (SERS). Efectele biologice ale nanoparticulelor conjugate sunt evidențiate pe liniile celulare OCI-AML (leucemie acută mieloidă) și THP-1 (leucemie monocitară umană) prin teste precum MTT, numărarea celulelor, analiza ciclului celular și apoptoza.

Rezultate. Testele comparative dintre nanoparticulele non-conjugate și conjugate au aratat o dependență directă între citotoxicitate și concentrația particulelor, dar și caracteristicile lor morfologice și chimice. S-a observat că quizartinib, lestauritinib și sorafenib prezintă un efect *in vitro* îmbunătățit în acest context.

Concluzii. Rezultatele evidențiază potențialul nano-conjugatelor ca instrumente de imagistică ultrasensibile pentru identificarea celulelor canceroase și vehicule transportoare de medicamente.

Cuvinte cheie. Imagistică, spectroscopie, nano-terapii, *in vitro*

GOLD NANOPARTICLES ENHANCE THE EFFECT OF TYROSINE KINASE INHIBITORS IN ACUTE MYELOID LEUKEMIA THERAPY

Introduction. Gold nanoparticles are extensively exploited in biomedical applications because of their easy preparation, ready bioconjugation and potential biocompatibility. They have unique optical properties dominated by the excitation of so called localized surface plasmon resonances (LSPR) from the visible to the near-infrared (NIR) region of the electromagnetic spectrum which facilitates their detection *in vivo* using innovative, non-invasive techniques. One recent application of nanoparticles is their use in new pharmacological molecular entities which can be delivered to targeted locations within the body to maximize therapeutic ratio and minimize side effects.

Methods. We chemically synthesized gold nanoparticles of various plasmonic responses (from Vis to NIR) and conjugated the particles either with fluorophores (eg. fluorescein isothiocyanate, cresyl violet perchlorate) for imaging applications or anti-leukemic drugs (quizartinib, midostaurin, sorafenib, lestauritinib) for therapeutic effect. Bioconjugated particles were characterized by transmission electron microscopy, UV-Vis-NIR absorption spectroscopy, dynamic light scattering, zeta potential, fluorescence and/or surface enhanced Raman scattering (SERS). The biological effects of conjugated nanoparticles were investigated on OCI-AML3 acute myeloid leukemia cells and THP-1 human monocytic leukemia cells by MTT assay, cell counting, cell cycle analysis and apoptosis assay.

Results. Comparative tests between non-conjugated and conjugated nanoparticles revealed a direct dependence of cytotoxicity on particle concentration and also on their morphological and surface chemistry features. We have found that quizartinib, lestauritinib and sorafenib had an enhanced *in vitro* effect if conjugated with gold nanoparticles.

Conclusion. The presented results show the potential of nano-conjugates to serve as ultra-sensitive imaging tools for cancer cell identification and drug delivery vehicles for cancer nanotherapy.

Keywords: Imaging, spectroscopy, nanotherapy, *in vitro*

C7. EVALUAREA IN VIVO A POTENTIALULUI MEDULOTOXIC DAT DE NANOPARTICULELE DE AUR UTILIZAND SOARECI CRL:CD1(ICR)

C BERCE^{1,2}, Valentina PILECZKI¹, B PETRUSHEV², C TOMULEASA², Delia DIMA¹, G GAFENCU², M ZDRENGHEA^{1,2}, Ioana FRÎNC^{1,2}, Mariana PAȘIU^{1,2}, Anca BOJAN^{1,2}, A CUCUIANU^{1,2}

¹Institutul Oncologic Prof. Dr. Ion Chiricuță, Cluj-Napoca, ²UMF Iuliu Hațieganu, Cluj-Napoca

Introducere. Nanoparticulele de aur (GNP) influențează viabilitatea celulară *in vitro* a liniilor celulare de LLC, fiind un posibil agent terapeutic pentru diferite tipuri de leucemii. Cu toate acestea, rezultatele obținute în studii toxicologice realizate *in vivo* privind efectele acestor nanoparticule asupra sănătății organismului sunt insuficiente și neconcludente până la momentul actual.

Materiale și metode. Au fost folosiți 20 de șoricei masculi Crl:CD1(ICR). Grupa A a primit zilnic intravenos retro-orbital injecții cu GNP+TWEEN pentru 21 de zile sub anestezie generală cu izofluran, în timp ce grupa B a primit doar izofluran. După 21 de zile a fost recoltat sânge și sternul și femurul animalelor. Ficatul a fost de asemenea recoltat datorită aspectului verzui, de stază biliară, la toți membrii grupului A. Parametrii hematologici au fost evaluați folosind un analizor hematologic Abacus Vet, în timp ce concentrația de aur din organele recoltate a fost determinată utilizând ICP-MS. Analiza histopatologică a organelor a fost efectuată cu colorația standard hematoxilina-eozina.

Rezultate. Numărul total de leucocite în grupul control a arătat leucopenie, în timp ce grupul supus tratamentului a exprimat leucocitoză. Enzimele hepatice au prezentat valori crescute în grupul supus tratamentului. ICP-MS a dat **Rezultate** uniforme în ceea ce privește concentrația de aur. Evaluarea histopatologică a măduvei osoase a confirmat modificări în structura și funcția acesteia. La nivelul ficatului s-au observat stază biliară și steatoză macroveziculară.

Concluzii. GNP-urile au determinat modificarea structurii măduvei osoase. Doza de 1000 µg/kg a fost considerată NOAEL (No-observed-adverse-effect level) de către unii autori la administrarea orală, dar s-a dovedit că prezintă o anumită toxicitate atunci când este administrată parental.

Cuvinte cheie: in vivo, nano-terapii, toxicologie, hepatotoxic

IN VIVO ASSESSMENT OF THE POTENTIAL MEDULOTOXIC PROPERTIES OF GOLD NANOPARTICLES ON MALE CRL: CD1(ICR) MICE

Introduction. Gold nanoparticles (GNPs) have been reported to influence cell viability of CLL cell lines *in vitro* and have been suggested as possible aiding therapeutic agent for several types of leukemia. However, toxicological *in vivo* studies on the full effects of these GNPs on healthy organisms have yielded insufficient and inconclusive data.

Materials and methods. Twenty male Crl:CD1(ICR) mice were used. Group A received a daily intravenous retro-orbital injection of GNPs+TWEEN for 21 days under general anesthesia with isoflurane, while group B received isoflurane only. After 21 days blood was harvested and the sternum and femurs were collected. The liver was also harvested due to its greenish appearance in all individuals from the experimental group (group A). Hematological parameters were assessed using an Abacus Vet hematological analyzer while the gold concentration in the harvested organs was determined using ICP-MS. Histopathological analysis of the collected organs was done using a standard hematoxylin-eosin staining.

Results. The total WBC count in the control group showed leukopenia, while the experimental group expressed borderline leukocytosis. Liver enzymes were elevated in the experimental group. ICP-MS yielded uniform gold concentration in all samples. The histopathological evaluation of the bone marrow showed modifications in its structure and functionality. The liver showed signs of biliary stasis and macrovesicular steatosis.

Conclusions. GNPs have altered the cellular structure of the bone marrow. The dose of 1000 µg/kg was the NOAEL (No-observed-adverse-effect level) according to some authors when administered orally, but it proved to have a certain toxicity, especially to the liver, when administered parenterally.

Keywords: in vivo, nanotherapy, toxicology, hepatotoxic

C8. MORFOLOGIE PARTICULARĂ ÎNTR-UN CAZ DE LEUCEMIE ACUTĂ MIELOBLASTICĂ- MONOCITARĂ

Elena-Cristina SELICEAN¹, Delia DIMA¹, Manuela SFICHI², B. FETICA¹, Mariana PAȚIU¹

¹ Institutul Oncologic Profesor Dr. Ion Chiricuță, ² Spitalul Clinic de Urgență Cluj

Un bărbat în vârstă de 23 de ani se prezintă cu pancitopenie și 4% blaști în tabloul din sânge periferic. Aspiratul medular relevă infiltrat masiv cu blaști hipergranulari, negativi la colorațiile citochimice efectuate (mieloperoxidază, albastru de toluidină).

La imunofenotiparea prin citometrie în flux continuu blaștii au fost pozitivi pentru CD33, CD4, CD(16+56), HLA-DR și negativi pentru CD13, CD34 și CD117. În imunohistochimie blaștii au fost pozitivi pentru CD4, CD56, CD68 și negativi pentru CD7, CD2, TdT, PAX5, CD34, CD10, MPO și CD123. Nu au fost identificate anomalii citogenetice sau aberații la nivel molecular (FLT3 ITD și D835,

NPM1 tip a și BCR-ABL p210). În consecință cazul a fost încadrat ca leucemie acută monoblastică- monocitară nespecificată.

În acest context menționăm morfologia particulară pentru această entitate, în condițiile în care citometria în flux continuu a pus de asemenea unele probleme de diagnostic diferențial, iar stabilirea naturii granulațiilor numeroase și grosiere a rămas la nivel de supoziții, în pofida unei revizuirii extinse a datelor din literatură și a reexaminării de către mai mulți colegi citologi a imaginilor.

PARTICULAR MORPHOLOGY IN A CASE OF ACUTE MONOBLASTIC- MONOCYTIC LEUKEMIA

A 23 year old man presents with pancytopenia and 4% blasts in the blood film. Bone marrow examination reveals massive infiltration with heavy granular blasts which proved to be negative for cytochemical stains (myeloperoxidase and toluidine blue).

Imunofenotiparea prin citometrie în flux a arătat pozitivitate pentru CD33, CD4, CD(16+56), HLA-DR și negativitate pentru CD13, CD34 și CD117. Prin imunohistochimie, celulele blastice au fost pozitive pentru CD4, CD56, CD68 și negative pentru CD7, CD2, TdT, PAX5, CD34, CD10, MPO și CD123. Nu au fost detectate anomalii citogenetice și nici markeri moleculari (FLT3 ITD și D835, NPM1 tip a și BCR-ABL p210) au fost detectate.

Cazul a fost categorizat ca leucemie monocitară- monocitică monoblastică și nu altfel specificată. Totuși morfologia a fost foarte nespecifică pentru această entitate, citometria în flux a pus de asemenea unele probleme de diagnostic diferențial și natura granulațiilor a rămas o chestiune de speculații deși s-a realizat o revizuire extinsă a literaturii și a imaginilor microscopice.

C9. POLIMORFISMELE MONONUCLEOTIDICE *XPC* LYS939GLN SI *XPG* ASP1104HIS LA PACIENTII ROMANI CU LEUCEMIE MIELOIDA CRONICA

Claudia BĂNESCU¹, Valeriu G MOLDOVAN¹, Florin TRIPON¹, Andrei CRAUCIUC¹,
Carmen DUICU¹, Alina BOGLIȘ¹, Minodora DOBREANU¹

¹Universitatea de Medicină și Farmacie, Tg Mureș

Introducere: Genele *XPC* și *XPG* sunt implicate în sistemul de reparare a ADN-ului și anume în repararea prin excizia de nucleotide (NER). Ținând cont de faptul că polimorfismele genice pot influența capacitatea de recunoaștere și reparare a leziunilor de la nivelul ADN-ului am emis ipoteza că polimorfismele *XPC* Lys939Gln și *XPG* Asp1104His pot crește riscul de apariție a leucemiei.

Material și metode: Am efectuat un studiu caz-control pentru a investiga polimorfismele genelor *XPC* și *XPG* la pacienții cu CML din Clinicile de Hematologie Tg Mureș. Studiul a inclus 82 de pacienți cu leucemie mieloidă cronică (LMC), BCR-ABL și/sau Philadelphia pozitivi și 170 de cazuri fără istoric de afecțiune malignă.

Rezultate: Genotipul variant *XPC* Lys939Gln și *XPG* Asp1104His este asociat cu riscul de apariție a CML. Genotipul homozigot variant combinat al polimorfismelor investigate a fost asociat cu un risc crescut de apariție a CML (OR=1.32, 95%CI=1.02-2.31, p=0.02). Genotipul variant al polimorfismelor genice investigate (Gln/Gln, Lys/Gln pentru *XPC* Lys939Gln, respectiv His/His, Asp/His pentru *XPG*

Asp1104His) nu a fost asociat semnificativ statistic cu prezența anomaliilor cromozomiale adiționale dar nici cu tratamentul primit (Gleevec, Nilotinib, Dasatinib) ($p > 0.05$).

Concluzii: Genotipul variant *XPC* Lys939Gln și *XPG* Asp1104His poate reprezenta un factor de risc pentru apariția LMC. Considerăm că este necesar să fie investigați un număr mai mare de pacienți cu LMC pentru confirmarea rezultatelor obținute în studiul de față.

Mulțumiri: Studiul a fost finanțat de Grantul Intern de Cercetare a Universității de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș, România. Contract nr. 19/11.12.2013.

Cuvinte cheie: *XPC*, *XPG*, leucemie mieloidă cronică

SINGLE NUCLEOTIDE POLYMORPHISMS *XPC* LYS939GLN AND *XPG* ASP1104HIS IN ROMANIAN PATIENTS WITH CHRONIC MYELOID LEUKEMIA

Introduction. *XPC* and *XPG* are implicated in DNA repair system and in particular in the nucleotide excision repair (NER) system. Taking into account that polymorphisms of the genes may alter recognition and repair of DNA damages we hypothesized that *XPC* Lys939Gln and *XPG* Asp1104His gene polymorphisms may increase the risk of developing leukemia.

Material and methods. We conducted a case-control study to investigate *XPC* and *XPG* gene polymorphisms in CML patients from the Hematology Clinics Tg Mures. The study enrolled 82 patients with chronic myeloid leukemia (CML), BCR-ABL and/or Philadelphia Ph1 positive and 170 cases with no history of any malignant disease.

Results. *XPC* Lys939Gln and *XPG* Asp1104His variant genotypes are significantly associated with CML risk. Homozygous variant combined genotype of investigated gene polymorphisms was associated with an increased risk of CML (OR=1.32, 95%CI=1.02-2.31, $p=0.02$). Variant genotypes of the investigated gene polymorphisms (Gln/Gln, Lys/Gln for *XPC* Lys939Gln, His/His, Asp/His for *XPG* Asp1104His, respectively) were not significantly statistic associated with additional chromosomal abnormalities and neither with treatment received (Gleevec, Nilotinib, Dasatinib) ($p > 0.05$).

Conclusions. Variant genotype of *XPC* Lys939Gln and *XPG* Asp1104His gene polymorphisms may represent a risk factor for developing CML. We consider that an increased number of CML cases are necessary to be investigated to validate the findings of the present study.

Acknowledgement: This work was supported by Internal Research Grants of the University of Medicine and Pharmacy Tîrgu Mureș, România. Project No. 19/11.12.2013.

Keywords: *XPC*, *XPG*, chronic myeloid leukemia

C10. SCREENING FARMACOLOGIC IN VITRO PENTRU MIELOFIBROZA PRIMARA

Sonia SELICEAN¹, C TOMULEASA^{1,2}, B PETRUSHEV¹, Delia DIMA², Ioana FRINC^{1,2}, GA
GAFENCU², C BERCE¹, Mariana PATIU^{1,2}, Anca BOJAN^{1,2}, A CUCUIANU^{1,2},
Anca BUZOIANU¹

¹UMF Iuliu Hațieganu, Cluj-Napoca, ²Institutul Oncologic Prof. Dr. Ion Chiricuță, Cluj-Napoca

Introducere. Mielofibroza primară este caracterizată printr-o activare și proliferare necontrolată a fibroblaștilor sub influența diferitelor semnale transmise de către megacariocite anormale dar și de către diferitele elemente ale micromediului măduvei osoase. În urma acestei activări, fibroblaștii vor produce o matrice extracelulară abundentă, care într-un final va înlocui măduva osoasă și va interfera cu funcționarea normală a acesteia.

Materiale si metode. La momentul actual, tratamentul acestei afecțiuni este limitat și în mare parte nespecific. De aceea, dezvoltarea unor noi strategii de terapie este foarte importantă. Mai multe trialuri clinice, cu **Rezultate** promițătoare până la momentul actual, se axează pe utilizarea ruxolitinibului, inhibitor al tirozin-kinasei JAK, mutantă în mielofibroză, în combinație cu un agent anti-fibrotic (#NCT01369498; #NCT01981850).

În prezentul studiu, prezentăm screeningul a 500 substanțe, medicamente utilizate curent în diferite afecțiuni, în vederea identificării acelor care vor inhiba activarea fibroblastică și diferențierea spre un fenotip miofibroblastic, producător de matrice extracelulară. A fost utilizată linia de celule stem mezenchimale SR-4987, pe care le-am supus unui proces de inactivare prin procedeul hanging drops, care permite izolarea acestora față de majoritatea stimulilor, atât de tip chimic, biologic cât și fizic. Ulterior inactivării, celulele sunt expuse medicamentelor investigate.

Rezultate. În urma screeningului am obținut trei substanțe care au inhibat semnificativ proliferarea și diferențierea fibroblastică: ciclosporina, micofenolatul mofetil și bisfosfonatul risedronat.

Concluzii. În continuare, aceste trei substanțe vor fi investigate individual, atât pe linii celulare stabilizate, cât și pe linii celulare primare, izolate de la pacienți cu mielofibroză primară.

Cuvinte cheie: fibroblasti, hanging drops, in vitro

PHARMACOLOGICAL STUDY FOR THE SCREENING OF PRIMARY MYELOFIBROSIS

Introduction. Primary myelofibrosis is characterized by uncontrolled proliferation and activation of fibroblasts under the influence of different signals transmitted by the abnormal megakaryocytes but also by various elements of the bone marrow microenvironment. Following this activation, fibroblasts will produce an abundant extracellular matrix, which eventually will replace the bone marrow and interfere with its normal function.

Materials and methods. Currently, the treatment of this disease is limited and mostly nonspecific. Therefore, the development of new therapeutic strategies is very important. Several clinical trials with promising results are based on the use of ruxolitinib, JAK inhibitor, mutant in myelofibrosis, in combination with an anti-fibrotic agent (# NCT01369498, NCT01981850 #).

In this study, we present the screening of 500 substances, drugs currently used in various diseases to identify those who will inhibit the activation and differentiation of fibroblast into myofibroblasts pheno-

type, extracellular matrix producer. The mesenchymal stem cell line SR-4987 was used. The cells were cultured with the hanging drops method, through which they are isolated from any chemical, biological and physical stimuli, thus entering an inactive state. After inactivation, cells were exposed to the drugs investigated.

Results. After the screening, we obtained three substances which inhibited the proliferation and differentiation of fibroblast: cyclosporine, mycophenolate mofetil and risedronate.

Conclusions. Further, these three substances will be investigated individually, both on established cell lines and primary cell lines isolated from patients with primary myelofibrosis.

Keywords: fibroblasts, hanging drops, in vitro

R7. HOW TO DIAGNOSE COAGULATION FACTOR DEFICIENCIES DUE TO OR COMPLICATED BY ANTI-FACTOR ANTIBODIES

László MUSZBEK

*University of Debrecen, Division of Clinical Laboratory Science,
Department of Laboratory Medicine, Debrecen, Hungary*

Antibodies against a coagulation factor may develop in patients deficient for the respective clotting factor (alloantibody) or in patients without factor deficiency (autoantibody). The latter might be associated with an autoimmune disease or, particularly in elderly patients may be idiopathic. In both cases the management of patients becomes extremely difficult and fatal outcome is not rare. The antibodies can be classified as neutralizing, non-neutralizing and combined type. The former one interferes with the process of factor activation or with the activity of activated clotting factor or exerts multiple inhibitory effects. The non-neutralizing antibody simply binds to the protein and accelerates its elimination. Neutralizing and non-neutralizing effects might also occur in combination. In the management overshooting the antibody by the addition of excess factor in the form of concentrate usually does not help. If possible, for instance in hemophilia, products with by-passing activity (e.g., recombinant factor VIIa) may provide a solution. In other cases elimination of the antibody by immunoabsorption or immunosuppressive therapy and their combination might be of help. Immune tolerance induction according to the Malmö or Malmö-Bonn protocol had a promising success rate in patients with anti-FVIII/FIX antibodies. The diagnosis and classification is not always an easy task, either. For the detection of neutralizing antibody a mixing study, and for its quantitative measurement a Bethesda/Nijmegen type inhibitor assay is recommended. For the diagnosis of non-neutralizing antibody binding studies using purified factors are to be performed. In addition, the accelerated elimination of the supplemented factor should also be demonstrated. The process of diagnosis and classification and the clinical course is demonstrated on three cases of Factor XIII (FXIII) deficiency. In the first case neutralizing alloantibody against FXIII A subunit (FXIII-A) developed in a young girl with inherited FXIII-A deficiency. In the second case acquired FXIII deficiency was diagnosed in an elderly patient without autoimmune disease and without previous bleeding history. In the third case autoantibody forming complex with the carrier FXIII B subunit accelerated the elimination of FXIII from the circulation.

C11. IMPACTUL POLIMORFISMELOR CYP2C19, A VARIABILELOR CLINICE ȘI DE LABORATOR ASUPRA RĂSPUNSULUI LA TERAPIA CU ANTIAGREGANTE PLACHETARE

Alina MĂRGINEAN¹, Claudia BĂNESCU¹, Valeriu MOLDOVAN¹, Alina SCRIDON¹,
Mihai MĂRGINEAN¹, Rodica BĂLAȘA¹, Smaranda MAIER¹, Mariana ȚĂRUȘI²,
Minodora DOBREANU¹

¹Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș, Tîrgu Mureș

²Institutul de Urgența pentru Boli Cardiovasculare și Transplant Tîrgu Mureș

Introducere. Antiagregantele plachetare sunt utilizate pe scară largă la pacienții cu sindroame coronariene acute sau atac vascular cerebral ischemic acut.

În ciuda terapiei adecvate, unii pacienți dezvoltă evenimente ischemice. Acest lucru este parțial atribuit faptului că unii pacienți prezintă reactivitate plachetară înaltă în ciuda terapiei.

Scopul acestui studiu a fost evaluarea impactului unor variabile clinice și de laborator asupra răspunsului la terapia cu clopidogrel și/sau aspirină, evaluat prin agregometrie de impedanță într-o populație din România.

Material și metodă. Am inclus în studiu 189 de pacienți cu sindrom coronarian acut sau atac vascular cerebral ischemic acut. Agregarea plachetară a fost evaluată prin agregometrie de impedanță. Polimorfismele CYP2C19 au fost detectate utilizând tehnica PCR-RFLP. Am colectat de asemenea variate date clinice și de laborator.

Rezultate. 81% din pacienți au fost responderi și 19% non-responderi la terapia cu antiagregante plachetare. Distribuția polimorfismelor CYP2C19 a fost după cum urmează: 61.1% din pacienți au fost identificați ca fiind homozigoți non-mutanti, 27.7% heterozigoți CYP2C19*2, 1.1% heterozigoți CYP2C19*3, și 10% homozigoți CYP2C19*2. Cel mai înalt grad de asociere cu statusul de responder la clopidogrel s-a găsit pentru polimorfismele CYP2C19, terapia concomitentă cu aspirină, numărul de leucocite și plachete, istoricul de infarct miocardic și hipertensiunea arterială. Statusul de responder la terapia cu aspirină s-a asociat cu administrarea concomitentă de blocați beta-adrenergici, și cu istoricul de infarct miocardic.

Concluzii. Prevalența rezistenței la antiagregante plachetare în populația studiată de noi s-a încadrat în limitele raportate pentru alte populații europene. Răspunsul la terapia cu clopidogrel a fost influențat semnificativ de prezența polimorfismelor CYP2C19. Utilizarea concomitentă a aspirinei a avut impact asupra răspunsului la terapia cu clopidogrel, indicând existența unei interacțiuni sinergice între acestea două.

Keywords: antiagregante plachetare, rezistența, CYP2C19

THE IMPACT OF CYP2C19 POLYMORPHISMS, CLINICAL AND LABORATORY VARIABLES ON PLATELET RESPONSE TO ANTIPLATELET AGENTS

Introduction. Antiplatelet drugs are widely used in patients with acute coronary syndromes or stroke. Despite adequate antiplatelet therapy, some patients develop acute ischemic events. This is partly attributed to the fact that they have poor inhibition of platelet reactivity despite treatment.

This study aimed to assess the impact of clinical and laboratory variables on platelet response to clopidogrel and/or aspirin, evaluated using impedance aggregometry in a Romanian population.

Methods. The study included 189 patients with acute coronary syndromes or non-cardiogenic ischemic stroke. Platelet aggregation was evaluated by impedance aggregometry. CYP2C19 loss-of-function polymorphisms were detected using the Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism technique. Various clinical and laboratory data were also recorded.

Results. In our data set, 81% of the patients were responders and 19% non-responders to antiplatelet therapy. The distribution of CYP2C19 polymorphisms was as follows: 61.1% of patients were CYP2C19 wild-type homozygotes, 27.7% CYP2C19*2 heterozygotes, 1.1% CYP2C19*3 heterozygotes and 10% of patients CYP2C19*2 homozygotes. The highest level of association with clopidogrel response status was found for CYP2C19 polymorphisms, concomitant aspirin treatment, leukocyte and platelet count, history of myocardial infarction and arterial hypertension. Aspirin response status was associated with coadministration of beta-adrenergic blockers and with history of myocardial infarction.

Conclusion. The prevalence of antiplatelet resistance in our population was in line with that reported for other European populations. Clopidogrel response was significantly influenced by the presence of CYP2C19 polymorphisms. Interestingly, the concomitant use of aspirin had a significant impact on platelet response to clopidogrel, indicating a synergic interaction between these drugs.

Keywords: antiplatelet drugs, resistance, CYP2C19

R8. ANOMALIILE MORFOLOGICE ERITROCITARE - INSTRUMENT EFICIENT ÎN SCOP DIAGNOSTIC

Mariana PAȚIU¹, Elena-Cristina SELICEAN¹

¹ Institutul Oncologic Profesor Dr. Ion Chiricuță

Analizoarele moderne de hematologie oferă, cu înaltă precizie și acuratețe, o serie de parametri utili în caracterizarea hematiilor (numărătoare, indici eritrocitari, informații privind distribuția, dimensiunile, conținutul de hemoglobină al populației / populațiilor eritrocitare). Pe de altă parte ele nu oferă nici o informație despre modificările morfologice ale hematiilor (poichilocite), cu excepția semnalării eventualei prezențe de schizocite.

Deoarece prezența unor poichilocite ar putea fi de importanță crucială în orientarea diagnosticului, examenul microscopic al sângelui periferic rămâne un important instrument de diagnostic. Terminologia asociată anumitor anomalii morfologice este uneori confuză și sistemele de raportare a anomaliilor celulelor roșii sunt greu de standardizat.

Este evident că avem nevoie de un consens din acest punct de vedere, motiv pentru care vom prezenta o serie de poichilocite, terminologia conexă și valoarea lor în diagnostic.

RED BLOOD CELLS ABNORMAL MORPHOLOGY FINDINGS - A POWERFUL DIAGNOSTIC TOOL

Modern automated analyzers provide accurate and precise parameters for red blood cell characterization (red blood cell counts and red cell indices, information on population distribution, size and hemoglobin content, etc), with the sole exception of signaling the eventually presence schistocytes.

Because the presence of certain poikilocytes might be of crucial importance for diagnosis, peripheral blood microscopic examination remains an important diagnostic tool. The terminology for red blood cell abnormalities is sometimes confusing and the reporting systems of red blood cell abnormalities are difficult to standardize.

Thus, it is obvious that a consensus is needed. Therefore we hereby present some of the pokilocytes, related terminology and diagnostic significance

C12. EVALUAREA METABOLISMULUI FIERULUI LA PACIENȚI CU POLIARTRITĂ REUMATOIDĂ

A.M. CRĂCIUN¹, A. SABĂU², M. VĂLEANU¹, H.D. BOLOȘIU¹

¹ UMF Iuliu Hațieganu, Cluj-Napoca, ² Spitalului Clinic Județean de Urgență, Cluj-Napoca

Obiective: Poliartrita reumatoidă (PR) este o boală inflamatorie cronică asociată frecvent cu deficiența de fier și anemie. Hepcidina este un nou marker al reglării metabolismului fierului care a fost luat în considerare. În studiul nostru ne-am propus să evaluăm variații markeri ai metabolismului fierului în corelație cu statusul inflamator, cu scopul de a evalua în ce măsură hepcidina reflectă efectul inflamației asupra hemoglobinei (Hb) și corelarea cu activitatea bolii în PR.

Pacienți și metode: 54 pacienți cu PR și 15 subiecți sănătoși au fost incluși într-un studiu transversal. Pacienții cu PR a fost grupați în două grupuri: anemic și non-anemic (NA) în funcție de nivelele de hemoglobină (Hb). Grupul anemic a fost împărțit în două subgrupuri în funcție de indexul receptorilor solubili de transferină/feritină: anemie cu inflamație cronică (ACD) și anemie cu inflamație cronică+deficiența de fier (ACD+IDA). Markerii inflamatori și activitatea bolii au fost evaluate prin determinarea vitezei de sedimentare a hematiilor (VSH), proteina C reactivă (CRP) și scorul activității bolii (DAS28).

Rezultate: Pacienții cu PR cu anemie (ACD și ACD+IDA) au nivele serice de hepcidină semnificativ mai mari față de grupul de control ($p < 0.001$, $p < 0.001$) și față de grupul de pacienți cu PR NA ($p < 0.006$, $p < 0.002$). Între cele două subgrupuri de pacienți cu PR și anemie nu au fost diferențe în nivelul de hepcidină serică, deși nivelele de hepcidină s-au corelat negativ cu Hb ($r = -0.459$, $p < 0.000$) și fierul seric ($r = -0.357$, $p < 0.01$) și pozitiv cu markerii inflamatori VSH ($r = 0.352$, $p < 0.01$), CRP ($r = 0.369$, $p < 0.01$), DAS28 score ($r = 0.289$, $p < 0.05$).

Concluzii: Hepcidina crește la pacienții anemici cu PR, nivelele ei corelându-se cu Hb și reflectându-se în variabilele care definesc progresia activității bolii

Cuvinte cheie : hepcidină, poliartrită reumatoidă

EVALUATION OF IRON METABOLISM IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS

Objective: Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic inflammatory disease frequently associated with iron deficiency. Hepcidin as a new marker for iron metabolism regulation was taken in consideration. We have evaluated various iron metabolism markers in relation with inflammation, aiming to analyze to which extent hepcidin reflects the effect of inflammation on hemoglobin (Hb) and its relation to disease activity in RA.

Patients and methods: 54 RA patients and 15 healthy subjects were included in a cross-sectional study. Laboratory evaluation of anemia, iron metabolism parameters, serum hepcidin levels and disease

activity was carried out. RA patients were divided in two groups: anemic group and non-anemic group (NA), according to Hb levels. Soluble transferrin receptor-ferritin index (sTfR-F index) was used to classify anemia types: anemia of chronic disease (ACD) and anemia of chronic disease + iron deficiency anemia (ACD+IDA). Inflammatory markers and disease activity were reflected by erythrocyte sedimentation rate (ESR), C-reactive protein (CRP) and disease activity score (DAS28).

Results: ACD and ACD+IDA groups had significantly higher serum hepcidin concentrations than controls ($p < 0.001$, $p < 0.001$) and NA group ($p < 0.006$, $p < 0.002$). No difference in hepcidin levels was observed between ACD and ACD+IDA. In RA patients serum hepcidin concentration was significantly negatively correlated with Hb ($r = -0.459$, $p < 0.000$) and serum iron ($r = -0.357$, $p < 0.01$) and positively with inflammation markers: ESR ($r = 0.352$, $p < 0.01$), CRP ($r = 0.369$, $p < 0.01$) and DAS28 score ($r = 0.289$, $p < 0.05$).

Conclusion: Hepcidin increases in RA patients with anemia, its levels correlating with Hb and disease activity variables.

Keywords: hepcidin, rheumatoid arthritis

R9. MICROANGIOPATIA TROMBOTICĂ: O PATOLOGIE CU IMPLICAȚII NEFROLOGICE

Ina Maria KACSO

UMF Iuliu Hațieganu, Cluj Napoca

Microangiopatia trombotică (MAT) este o patologie multisistemică acută de gravitate extremă care se caracterizează prin agregare plachetară microvasculară, anemie hemolitică microangiopatică, trombopenie și manifestări organ-specifice. Implicațiile nefrologiei în diagnosticul și tratamentul MAT sunt legate de cel puțin două aspecte.

În primul rând sindromul hemolitic uremic, entitate în cadrul MAT, este caracterizat prin afectare predilectă renală, evoluează cu insuficiență renală acută și necesită frecvent epurare extrarenală. Ilustrăm această situație prin prezentarea unui sindrom hemolitic uremic la adult. În al doilea rând este vorba de tratamentul purperei trombotice trombocitopenice, în care plasmafereza aplicată precoce este un pilon esențial în tratament. Având în vedere posibilitatea de a efectua schimburi plasmatic prin filtrare cu aparatele de proceduri continui disponibile în secțiile de nefrologie (sau în secțiile de terapie cu profil nefrologic), similaritățile tehnice cu hemodializa, inclusiv în ceea ce privește abordul vascular, nefrologii sunt adesea implicați în efectuarea acestor proceduri, chiar și la pacienți fără insuficiența renală semnificativă.

Prezentăm un caz de purpură trombotică trombocitopenică postvaccinală tratat cu plasmafereză. Colaborarea între specialiștii hematologi și nefrologi este esențială în ambele situații.

Cuvinte cheie: microangiopatie trombotică, nefrologie

THROMBOTIC MICROANGIOPATHY: A PATHOLOGY WITH NEPHROLOGY IMPLICATIONS

Thrombotic microangiopathy (TMA) is a life-threatening acute multisystem disorder defined by platelet aggregation in microvasculature, microangiopathic hemolytic anemia, thrombocytopenia and

organ-specific disease. Nephrology involvement in diagnosis and treatment of TMA concerns at least two aspects.

Firstly, the hemolytic uremic syndrome, a clinical entity of TMA, has primarily renal manifestations, leads frequently to acute renal failure and need of renal replacement therapies. We present a case of adult hemolytic uremic syndrome. Second, timely start of plasma exchange is an essential pillar of treatment of thrombotic thrombocytopenic purpura. Filtration based plasma exchange is performed with equipment for continuous renal replacement therapies, frequently found in nephrology units or intensive care units of nephrology profile. This fact, as well as similarities to hemodialysis technique, including central venous access, lead to frequent participation of nephrologists in these procedures, even in the absence of significant renal disease.

We present a case of postvaccinal thrombotic thrombocytopenic purpura treated in our unit. Excellent collaboration between nephrologists and hematologists is essential in every case.

Keywords: thrombotic microangiopathy, nephrology

P25. CARCINOMUL EPITELIAL-MIOEPITELIAL DE GLANDĂ PAROTIDĂ (PREZENTARE DE CAZ)

Alexandra FAUR¹, Mărioara CORNIANU¹, Octavia VIȚA¹, Aura JURESCU¹,
Mariana PETERKA², Razvan TÎRZIU¹, Camelia Vidița GURBAN^{1,2}

¹UMF Victor Babeș” Timișoara, ²Spitalul Clinic Municipal de Urgențe Timișoara

Obiectiv: Prezentarea aspectelor biochimice, histopatologice și imunohistochimice ale carcinomului epitelial-mioepitelial (CEM) de glandă parotidă.

Metodă: La un bărbat de 57 de ani diagnosticat cu tumoră de glandă parotidă stângă s-au analizat nivelele markerilor inflamatori standard (hemoleucogramă HLG,VSH, proteină C reactivă CRP, fibrinogen Fib), biochimici (amilază AMI,ALAT,ASAT,GGT, fosfatază alcalină ALP, LDH, bilirubină totală BT/și directă BD) și imuni (IgA,IgG,IgM). Secțiunile tisulare au fost studiate cu ajutorul tehnicilor imunohistochimice (anticorpi CK20, CK7, EMA, proteina S100 și TTF1).

Rezultate: Procesul inflamator a fost prezent (VSH,CRP, Fib crescute față de valorile de referință), iar HLG a evidențiat o anemie macrocitară și trombocitopenie. Nivelele serice ale parametrilor biochimici: Ami, LDH, ALP, și imuni IgG, IgA au fost semnificativ crescute față de valorile de referință. Celulele tumorale au fost imunopozitive pentru markerii EMA, proteina S100-pattern difuz de colorare, CK7-cele luminales, negative pentru TTF1 și focal pozitive/negative pentru CK20.

Concluzie: CME este o tumoră cu grad de malignitate scăzut care reprezintă un procent de 1-2% din tumorile salivare primare. În perioada 2003-2014 acesta este unicul caz de CME diagnosticat în Spitalul Clinic Municipal de Urgențe Timișoara. Medicii trebuie familiarizați cu această neoplazie rară întrucât prezintă o rată crescută de recidivă, iar pacientul necesită urmărirea susținută a evoluției postoperatorie și reevaluare periodică.

Cuvinte cheie: carcinom epitelial-mioepitelial, parotidă

EPITHELIAL-MYOEPITHELIAL CARCINOMA OF THE PAROTID GLAND (CASE REPORT)

Objective: To present the biochemical, histopathological and immunohistochemical findings of a salivary epithelial-myoepithelial carcinoma (EMC) of the parotid gland.

Method: In a 57-year-old man diagnosed with a tumor of the left parotid gland we investigated: standard inflammation markers: (complete blood count CBC, ESR, CRP, Fib), serum levels of the biochemical markers: (amylase Amy, ALAT, ASAT,GGT, ALP, LDH, total (TB) and direct (DB) bilirubin and immunoglobulins (IgG, IgA, IgM). The tissue samples were studied by a five-antibody immunohistochemical pannel including CK20, CK7, EMA, S100 protein and TTF1.

Results: The inflammatory process was present (levels of the ESR,-CRP,-FIB were increased in reference to the rank), HLG showed anemia and lowered platelet. The serum levels of the biochemical markers: AMY,-LDH,-ALP and immunoglobulin IgG, IgA were significantly increased. The tumor cells were positive for EMA, S100 protein-diffusely, CK7-the luminal cells, and were negative for TTF1 and weak focal positive/negative for CK20.

Conclusion: EMC is a low grade malignant tumor with a prevalence of 1-2% among all primary salivary gland tumors. Between 2003-2014 this is the only case diagnosed in our pathology department. The doctors must be aware of this rare neoplasm with a relatively high likelihood of local recurrence which needs long term follow-up.

Keywords: epithelial-myoepithelial carcinoma, parotid

P26. CAPCANĂ ÎN URMĂRIREA PRIN BETA HCG A MOLEI HIDATIFORME

Claudia MEHEDINȚU^{1,2}, Elvira BRĂTILĂ^{1,*}, Diana-Elena COMANDAȘU¹, Costin BERCEANU³, Monica CÎRSTOIU¹, Sorin IONESCU², Ana Maria ROTARU², Oana IONESCU⁴

¹ Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București, ² Spitalul Clinic „Nicolae Malaxa”, București, ³ Universitatea de Medicina si Farmacie Craiova, ⁴ Spitalul Clinic „Filantropia”, București

Introducere. β -hCG este un marker endocrin ușor de determinat, valoros în diagnosticul și urmărirea pacientelor cu boală trofoblastică gestațională. Testele de laborator pot fi fals pozitive datorită unei reacții încrucișate cu anticorpii heterofili sau hormonul luteinizant. Prezentăm cazul unei paciente de 29 de ani cu molă hidatiformă completă și nivele pozitive β -hCG postterapeutic datorită anticorpilor heterofili.

Material și metodă. Pacientă septagestă, secundipară s-a prezentat pentru sângerări vaginale și test de sarcină efectuat din urina (TIS) pozitiv. Diagnosticul ecografic și imunologic de molă (β -hCG 160000 mUI/ml) a impus chiuretaj uterin cu examen histopatologic (molă hidatiformă completă). Postmanevră pacienta a primit 80 mg de Metotrexat, cu dozarea săptămânală a β -hCG, care a scăzut până la 16 mUI/ml. După 2 luni s-a constatat creșterea β -hCG până la 149 mUI/ml, motiv pentru care s-a practicat chiuretaj uterin și o nouă doză de Metotrexat (80 mg). Evoluția a fost aparent favorabilă, dar testele de urmarire au constatat creșterea β -hCG la 180 mUI/ml.

Rezultate. CT de cap, torace, abdomen și pelvis au infirmat determinări secundare. Datorită TIS negativ s-a luat în considerare un test fals pozitiv prin reacție încrucișată cu anticorpi heterofili. În serul pacientei, posesoare a unei pisici, au fost indentificați anticorpi tip IgE pentru epiderm de animal. După

îndepărtarea factorului de stress, β -hCG revine lent la normal, în doua luni.

Concluzii. Deși rar întâlnită, reacția încrucișată între anticorpii heterofili și β -hCG poate conduce la erori în urmărirea pacientelor cu molă hidatiformă. Datorită faptului ca anticorpii heterofili nu se elimina prin urină, la pacientele cu TIS negativ și β -hCG pozitiv, diagnosticul trebuie orientat către o reacție imunologică aberantă și nu către o recidivă a bolii.

Cuvinte cheie: gonadotropină corionică umană, rezultat fals-positiv, anticorpi heterofili

THE TRAP IN FOLLOW-UP OF THE HYDATIDIFORM MOLE TROUGH BETA-HCG

Introduction. β -hCG is an endocrine marker easily quantified, valuable in diagnosis and monitoring the patients with gestational trophoblastic disease. Laboratory tests can be false positive due to cross-reactivity with heterophile antibodies or luteinizing hormone. We present the case of 29 years old women with complete hydatidiform mole and posttherapy β -hCG positive levels due to heterophile antibodies.

Material and Methods. The patient presented for vaginal bleeding and positive urinary pregnancy test. The ultrasound and immunological diagnosis of mole (β -hCG 160000 mUI/ml) required curettage with histological examination (complete hydatidiform mole). The patient received 80 mg Methotrexate with weekly β -hCG dosing, which decreased until 16 mUI/ml. After 2 months we observed an increase of β -hCG to 149 mUI/ml, followed by uterine curettage and another dose of Methotrexate (80 mg). The evolution was apparently favorable, but the follow-up tests revealed a β -hCG increase to 180 mIU/ml.

Results. CT scan of head, thorax, abdomen and pelvis did not confirm secondary determinations. Because of the negative pregnancy test, this reaction was considered a false positive test by cross-reaction with heterophile antibodies. In patient serum, owner of a cat, were identified IgE antibodies for the animal epidermis. After removing the stress factor, β -hCG slowly returns to normal in two months.

Conclusion. Although rare, cross-reaction between heterophile antibodies and β -hCG can lead to errors in following patients with hydatidiform mole. Due to lack of urinary elimination, in patients with negative pregnancy test and positive β -hCG, diagnosis should be oriented towards an aberrant immunological reaction, not a relapse of the disease.

Keywords: human chorionic gonadotropin, false-positive results, heterophile antibodies

P27. ROLUL IMUNOHISTOCHEMIEI IN DECIZIA INTERVENTIEI RADICALE A TUMORILOR OVARIENE BORDERLINE LA VARSTA TANARA

Roxana BOHÎLȚEA¹, Nicolae BACALBASA¹, George SIMION¹, Natalia ȚURCAN¹,
Monica CÎRSTOIU¹

¹UMF "Carol Davila" București

Tumorile borderline sunt un grup heterogen de leziuni cu aspect histologic de proliferare epitelială atipică fără invazie stromală. Tumorile borderline seroase sunt cel mai frecvent întâlnite, ele pot prezenta structuri micropapilare care sunt asociate cu o rată mai mare de recurență și posibilitatea prezenței implanturilor peritoneale.

Prezentăm cazul unei paciente asimptomatice, foarte tanara, diagnosticată cu tumoră ovariană borderline seroasă/tumora seroasa proliferativa atipica. Paraclinic fără modificări patologice, exceptând valoarea CA125 care a fost 128U/ml, cu valoare prag 35U/ml. Ultrasonografia a pus în evidență vegetații multiple vascularizate cu punct de plecare capsula epitelială de înveliș groasă, hiperecogenă, a ambelor ovare, precum și 7 cm lichid peritoneal periuterin. Tesutul tumoral al ambelor ovare a fost biopsiat laparoscopic. Examenul histopatologic cu Hematoxilin Eozina și aspectul anatomo-clinic au fost corelate cu testele imunohistochimice efectuate pe secțiuni de 3 μm din blocurile de parafina fixate cu formol 10% pe care s-a aplicat o tehnică bistadială indirectă cu Max Polymer Detection System – Leica Ref: RE 7280-k, relevând prezenta unei expresii puternice difuze a citocheratinei 7, WT1 and PAX8; P53 a fost găsită pozitivă în 25% dintre celulele tumorale, receptori pentru estrogeni și progesteron, fiecare în 85% dintre celule, 15% dintre acestea fiind pozitive pentru Ki67. Pacienta și-a dat acordul pentru intervenția chirurgicală radicală, cu o recuperare postoperatorie rapidă și lipsită de complicații. Tumorile ovariene borderline sunt mai dificil de diagnosticat decât tumorile ovariene benigne și maligne. Vârsta pacientei și o serie de investigații au fost luate în considerare pentru a confirma diagnosticul și a evalua necesitatea intervenției chirurgicale radicale.

Cuvinte cheie: tumoră seroasă borderline, imunohistochimie, Ki67

THE ROLE OF IMMUNOHISTOCHEMISTRY IN THE DECISION OF RADICAL INTERVENTION FOR BORDERLINE OVARIAN TUMOR AT YOUNG AGE

Roxana BOHÎLȚEA¹, Nicolae BACALBASA¹, Dana Cristina Terzea², George SIMION¹,
Natalia ȚURCAN¹, Monica CÎRSTOIU¹

¹"Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest

²OncoTeam, Monza Hospital, Bucharest

Borderline tumors are a heterogeneous group of lesions, with the histological aspect of atypical epithelial proliferation without stromal invasion. Serous borderline tumors, are the most encountered and they can present micropapillary features that are associated with a higher rate of recurrence and the possibility of peritoneal implants.

We present the case of a young asymptomatic patient, diagnosed with serous borderline ovarian tumor/atypical proliferative serous tumor. Laboratory tests were normal, except the value of CA 125 which was 128 U/ml, for a 35 U/ml cut-off value. Abdominal and transvaginal ultrasound revealed both ovaries with multiple irregular vegetation, moderately vascular on Doppler examination, with the starting point in epithelial capsule shell, that appeared thick and hyperechogenic. About 7 cm of pelvic fluid was also present. During laparoscopy the surrounding tissue of both ovaries was biopsied. Histopathological evaluation with hematoxylin and eosin and anatomical clinical data have been correlated with immunohistochemical (IHC) assays that was performed on 3 μm sections from 10% formalin-fixed paraffin-embedded tissues according to the IHC method an indirect bistadial technique performed with Max Polymer Detection System – Leica Ref: RE 7280-k and revealed that the tumor cells presented a diffuse strong expression for cytokeratin 7, WT1 and PAX8; P53 was positive in about 25% in the tumor cells, estrogen and progesteron receptors were each positive in about 85% of the tumor cells, and Ki67 was positive in about 15% in the tumor cells. The patient agreed and underwent radical surgery with a quick and

uneventful recovery. Borderline ovarian tumors are more difficult to diagnose correctly than the benign and invasive malignant ovarian tumors. The age of the patient and a series of investigations have to be considered in order to confirm the diagnosis and the necessity of the radical surgery.

Keywords: serous borderline tumor, immunohistochemistry, Ki67

P28. INVESTIGAȚII GENETICE LA PACIENȚII CU ÎNTÂRZIERE ÎN DEZVOLTAREA NEUROPSIHOMOTORIE ȘI ANOMALII CONGENITALE

Alina BOGLIȘ¹, Valeriu George MOLDOVAN¹, Claudia BĂNESCU¹,

¹UMF Tg. Mureș

Introducere: Întârzierea în dezvoltarea neuropsihomotorie (NPM) afectează 1-5% din populația generală. Investigațiile genetice reprezintă un mare progres în stabilirea diagnosticului etiologic și tratamentului la pacienții cu întârziere în dezvoltarea NPM și anomalii congenitale.

Material și metodă: Un total de 331 copii cu întârziere în dezvoltarea NPM și anomalii congenitale au fost investigați prin examene genetice, pentru determinarea anomaliilor cromozomiale microscopice și submicroscopice. La toți pacienții investigațiile genetice s-au efectuat din sângele periferic în cadrul Laboratorului de Genetică, Spitalului Clinic Județean de Urgență, Tg. Mureș, după o evaluare clinică amănunțită.

Rezultate: Anomaliile cromozomiale s-au observat la 184 pacienți (96 băieți) cu întârziere în dezvoltarea NPM depistate prin analiza cromozomială clasică, 132 copii cu cariotip normal. Cea mai frecventă anomalie cromozomială a fost trisomia 21 (48,1%), urmată de trisomia 13 (1,9%), 4 cazuri de anomalii heterozomale și 3 cazuri cu trisomie 18. Anomaliile cromozomiale structurale evidențiate au fost delețiile (7 cazuri), cromozomii derivativi (5 cazuri), izocromozomi (3 cazuri), respectiv 2 cazuri cu cromozom inelar. Dintre cele 15 cazuri selectate și investigate prin tehnici de genetică moleculară au fost confirmate 9 cazuri (5 cu sindrom Prader-Willi, 1 cu retard mental sever, 1 sindrom Cri-du-chat, 1 sindrom Wolf-Hirschhorn, respectiv 1 sindrom Beckwith-Wiedemann).

Concluzie: Analiza citogenetică clasică și analiza moleculară combinate cresc rata de detecție a anomaliilor cromozomiale la pacienții cu întârziere în dezvoltarea NPM și anomalii congenitale, pentru stabilirea diagnosticului etiologic precoce și sfatului genetic precis.

Cuvinte cheie: investigații genetice; întârziere în dezvoltarea neuropsihomotorie; anomalii congenitale

GENETIC INVESTIGATIONS IN PATIENTS WITH DEVELOPMENTAL DELAY AND CONGENITAL ANOMALIES

Introduction: Developmental delay affects 1 to 5% of the general population. Genetic investigations represent a major breakthrough in etiologic diagnosis and early management in patients with developmental delay and congenital anomalies.

Material and method: A total of 331 children with developmental delay and congenital anomalies were investigated by genetic testing in order to determine microscopic and submicroscopic chromosomal abnormalities. In all patients genetic investigations were performed from fresh peripheral blood in the Genetics Laboratory of Clinical Emergency County Hospital, Tirgu Mures after a thorough clinical assessment.

Results: Chromosomal abnormalities were present in 184 patients (96 boys) with developmental delay and congenital anomalies detected by conventional cytogenetic analysis, 132 patients had a normal karyotype. The most common autosomal abnormality was trisomy 21 (48.1%) followed by trisomy 13 (1.9%), 4 cases of sex chromosomes abnormalities and 3 cases were trisomy 18. Structural chromosomal abnormalities observed were deletions (7 cases), derivative chromosomes (5 cases), isochromosomes (3 cases) and 2 cases with ring chromosome. Among the fifteen selected cases investigated by molecular cytogenetic testing, nine were confirmed (5 with Prader-Willi syndrome, 1 with severe intellectual disability, 1 with Cri-du-chat syndrome, 1 with Wolf-Hirschhorn syndrome and one case with Beckwith-Wiedemann syndrome).

Conclusion: Conventional cytogenetic and molecular analysis combined increase the detection rate of chromosomal abnormalities in patients with developmental delay and congenital abnormalities for an early etiologic diagnosis and an accurate genetic counseling.

Keywords: genetic investigations; developmental delay; congenital anomalies

P29. ASPECTE ALE TEHNICII MLPA

Valeriu G MOLDOVAN¹, Florin TRIPON¹, Andrei CRAUCIUC¹, Alina BOGLIȘ¹,
Carmen DUICU¹, Minodora DOBREANU¹, Claudia BĂNESCU¹

¹Universitatea de Medicină și Farmacie Tg Mures

MLPA Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification este o tehnică bazată pe reacția de polimerizare în lanț de tip mutiplex care permite studiul a maximum 60 de regiuni ale genomului uman printr-o singură reacție. Este utilă în detectarea delețiilor și/sau duplicațiilor exonilor, trisomiilor, în identificarea statusului de purtător sănătos, definirea anomaliilor cromozomiale, a polimorfismelor mononucleotidice precum și a statusului de metilare al ADN-ului.

Având în vedere că, folosind o singură pereche de amorse, nu ADN-ul țintă ci sondele sunt amplificate, tehnica este una avantajoasă, permițând utilizarea numai a 50ng de ADN. Ampliconii rezultați, cu lungimi între 120-500 nucleotide sunt separați prin electroforeză capilară.

Detectarea variației numărului de copii este posibilă datorită modificărilor în secvența sonda-țintă MLPA care produc o cantitate relativă mai mică sau mai mare a ampliconilor, ulterior comparată cu semnalul mediu al aceleiași sonde, dar în proba de referință.

Identificarea mutațiilor punctiforme se realizează cu ajutorul enzimei ligază-65, sensibilă la modificările locusului de ligare la capătul 3' al sondei. Există numeroase sonde specifice pentru mutații punctiforme sau pentru familii de gene omoloage.

“Methylation-sensitive MLPA (MS-MLPA)”, o altă variantă a tehnicii, permite identificarea simultană a statusului de metilare și a variațiilor numărului de copii prin utilizarea enzimei de restricție HhaI sensibilă la metilare.

Față de reacția convențională de polimerizare în lanț, tehnica MLPA este mai sensibilă în situația contaminării sau a degradării ADN-ului. Totodată, numărul de sonde disponibile este relativ redus (aproximativ 300). Tehnica nu permite identificarea mutațiilor punctiforme necunoscute. Spre deosebire de tehnica FISH, nu permite studiul unei singure celule.

Cuvinte cheie: MLPA, MS-MLPA, PCR

SHORT OVERVIEW ON MLPA

Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification (MLPA®) is a multiplex polymerase chain reaction (PCR)-based technique allowing the study of up to 60 regions of the human genome in one single-tube reaction. It is useful in the detection of exon deletions and/or duplications, trisomy-detection, carrier-status, characterization of chromosomal aberrations, single-nucleotide-polymorphisms and mutations detection besides DNA methylation status.

MLPA is advantageous as it only requires 50ng of human DNA, because not the sample DNA but the probes are amplified, using a single PCR primer pair. The resulting amplicons, varying in size 120-500 nucleotides, are separated by sequencing electrophoresis.

Copy number variation detection by MLPA is possible as changes in the MLPA probe-target sequence produce a lower or higher relative amount of amplification products which is subsequently compared to the average relative signal of the same probe but in the reference sample.

Point mutation detection by MLPA is done with the help of the ligase-65 enzyme which is sensitive to mismatches at the ligation site at the 3' end of the probe. There are several available probemixes specific for point mutations or for specific genes with multiple homologous family members.

A MLPA variant, "methylation-sensitive MLPA (MS-MLPA)" simultaneously detects changes in the genes' methylation status and copy number variations, using the HhaI methylation-sensitive restriction enzyme.

Compared to conventional PCR, MLPA is more sensitive to contaminants and DNA degradation and the number of probemixes is rather limited (approximately 300). It can't detect unknown point mutations and as opposed to FISH it can't investigate single cells.

Keywords: MLPA, MS-MLPA, PCR

P30. POLIMORFISMUL UGT1A1*28 LA PACIENȚII CU NIVELE CRESCUTE DE BILIRUBINĂ

Viorica RADOI^{1,2}, Roxana BOHILTEA², Georgeta CARDOS¹, Gratiela CHELU¹, Radu URSU^{1,2}, Oana MANTESCU¹, Marinela MALAGEANU¹, Sandra GRIGORE¹, Cosmin ARSENE¹

¹Laboratorul Central Synevo, București

²Universitatea de Medicină și Farmacie Carol Davila, București

Introducere: Polimorfismul UGT1A1*28, genei UGT1A1 (uridine diphosphate-glucuronosyltransferase 1A1), apare în urma atașării a doua nucleotide (TA) în regiunea TATA box a promotorului, rezultând astfel o repetiție 7TA, ce este asociată cu expresia scăzută a genei și cu hiperbilirubinemie. Variantele cu 5 sau 8 repetiții TA apar cu o frecvență foarte scăzută. Prezența variantei 8TA a fost asociată cu sindromul Gilbert. Având în vedere că există mai multe polimorfisme ale UGT1A1 ce conduc la nivele de bilirubină crescute, acest studiu dorește să expună în ce măsură polimorfismul UGT1A1*28 este implicat în hiperbilirubinemie pacienților suspecionați clinic de sindrom Gilbert.

Materiale și metode: 213 indivizi, 157 bărbați și 56 femei, cu vârste cuprinse între 2 săptămâni și 73 ani, suspecți clinic de sindrom Gilbert au fost introduși în acest studiu. De la acești pacienți a fost recoltat sânge periferic din care s-a efectuat extracția ADN, folosind kit-ul DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen), iar polimorfismele au fost identificate folosind reacția PCR și analizând ampliconii.

Rezultate: 173 indivizi homozigoți 7TA/7TA (82.63%) și 31 indivizi heterozigoți 6TA/7TA (14.55%), 3 indivizi 6TA/6TA (1.41%), 2 indivizi 7TA/8TA (0.94%) și 1 individ 5TA/7TA (0.47%). Genotipurile 7TA/7TA, 7TA/8TA sunt asociate cu hiperbilirubinemie, acestea reprezentând 83.57% din pacienții analizați.

Concluzii: Deoarece și alte polimorfisme au fost asociate cu sindromul Gilbert, absența polimorfismului UGT1A1*28, nu exclude această condiție. Rezultatele obținute în acest studiu arată că există o corelație strânsă între polimorfismul UGT1A1*28 și hiperbilirubinemia pacienților suspecți clinic de sindrom Gilbert.

Cuvinte cheie: Sindrom Gilbert, hiperbilirubinemie, UGT1A1*28

UGT1A1*28 POLYMORPHISM IN PATIENTS WITH ISOLATED INCREASED LEVELS OF BILIRUBIN

Introduction: UGT1A1*28 polymorphism, in the uridine diphosphate-glucuronosyltransferase 1A1 gene (UGT1A1), results from the addition of two nucleotides (TA) to the TATA box promoter region, resulting 7TA repeats associated with lowered gene expression and mild hyperbilirubinemia. Variants with 5 or 8 repeats occur at much lower frequencies. The presence of 8 TA repeats has been associated with Gilbert's syndrome. Given the fact that there are more UGT1A1 variants that lead to isolated increased levels of bilirubin, this study aims to see in what degree the UGT1A1*28 polymorphism is involved in hyperbilirubinemia, in Romanian patients clinically suspected of Gilbert's syndrome.

Materials and Methods: A total of 213 individuals, 157 male and 56 females, age 2 weeks -73 years clinically suspected of Gilbert's syndrome were enrolled in this study. Peripheral blood was taken from patients, along with their informed consent. The DNA extraction was performed with DNeasy Blood & Tissue Kit (Qiagen), followed by PCR and amplicon analysis.

Results: We found 173 homozygous individuals 7TA/7TA (82.63%) and 31 heterozygous individuals 6TA/7TA (14.55%), 3 individuals 6TA/6TA (1.41%), 2 individuals 7TA/8TA (0.94%) and 1 individual 5TA/7TA (0.47%). The 7TA/7TA, 7TA/8TA genotypes are associated with hyperbilirubinemia, representing 83.57 % of the analyzed patients.

Conclusions: Because other polymorphisms have been associated with Gilbert's syndrome, absence of the UGT1A1*28 allele does not rule out this condition. The results in this study are suggesting that in the Romanian population there is a strong correlation between the UGT1A1*28 polymorphism and hyperbilirubinemia in Gilbert's syndrome clinically suspected patients.

Keywords: Gilbert's syndrome, hyperbilirubinemia, UGT1A1*28

P31. PARTICULARITĂȚI BIOCHIMICE ÎN DIAGNOSTICUL BOLILOR GENETICE METABOLICE: EXPERIENȚA NOASTRĂ PRIN SPECTROSCOPIE RMN

Romana VULTURAR¹, Alina NICOLESCU², Paula AVRAM³, Călin DELEANU²,

*1*Disciplina Biologie Celulară și Moleculară, Universitatea de Medicină și Farmacie din Cluj-Napoca, Laboratorul de Neuroștiințe Cognitive, Universitatea Babeș-Bolyai, Cluj-Napoca, România;

*2*Institutul de Chimie Macromoleculară "P.Poni" Iași, Institutul de Chimie Organică "C.D. Nenițescu" al Academiei Române, București, România;

*3*Serviciul de Terapie Intensivă Pediatrică al Spitalului Universitar Croydon, Londra, Marea Britanie;

Introducere: Etapele importante legate de diagnosticul și managementul modern al bolilor genetice de metabolism (BGM) sunt strict legate de investigațiile de laborator. În secțiile de urgență, acele BGM care nu au fost diagnosticate prin «*screening*»-ul neonatal trebuie avute în vedere în etiologia acută a afecțiunilor neurologice, hepatice sau renale, însoțite uneori de acidoză și/sau hiperamoniemie, diagnosticul rapid fiind esențial. Spectroscopia ¹H-RMN a fluidelor biologice nu necesită prelucrări pre-analitice sau sunt minore.

Material și metodă: S-au identificat modificările biochimice în spectrele metaboliților din urina unor pacienți suspecți pentru BGM; datele clinice și biochimice pentru unele cazuri sunt adesea nespecifice (episoade de tip accident vascular, retard în dezvoltare, transaminaze crescute, coagulopatie, ș.a.), iar un diagnostic diferențial rapid este esențial. Metaboliții (acidul lactic, galactoza, acidul metilmalonic, derivații 4-hidroxifenilici, acidul orotic, aminoacizi, ș.a.) au fost măsurați cu ajutorul Spectrometrului Bruker-Avance-400-MHz, prin "NOESY-pulse-sequence". Limita de detecție a metaboliților pentru concentrația creatininei de 1 mmol/l este de cca 80- 100 mmol/mol creatinină.

Rezultate: Spectrele **Rezultate** arată înregistrări de ansamblu ale metaboliților conținând protoni, și ne-a permis diagnosticul galactozemiei, aciduriei metilmalonice, ale unor aminoacidopatii, anomaliilor din ciclul ureei, alcaptonuriei, și altele. Un diagnostic diferențial timpuriu realizat într-o probă-urinară-unică aduce avantaje majore. În plus, prezentăm utilitatea acestei metode în managementul galactozemiei și alcaptonuriei.

Concluzii: Coroborarea datelor clinico-biochimice și abordarea generală a metaboliților prin spectroscopia RMN conferă acestei metode un rol primordial în metabolomică; acest tip de analiză a fluidelor biologice poate fi considerată ca o abordare analitică alternativă pentru diagnosticul biochimic al unor BGM cunoscute sau încă neidentificate.

Cuvinte cheie: Spectroscopie RMN, boli genetice de metabolism.

BIOCHEMICAL PECULIARITIES IN THE DIAGNOSTIC OF GENETIC METABOLIC DISEASES: OUR EXPERIENCE USING NMR SPECTROSCOPY

Introduction: Important steps forward for the modern diagnosis and management of inborn errors of metabolism (IEM) are highly dependent on laboratory investigations. In critical care setting, IEM not-diagnosed through the neonatal screening should be considered as cause of acute neurologic, hepatic or renal decline, associates sometimes with acidosis and/or hyperammonemia, rapid diagnosis being essential. ¹H-NMR spectroscopy of body fluids requires minimal or no sample pretreatment.

Material and method: We identified the peculiarities regarding the urinary spectrum of metabolites from patients suspected for IEM; the clinical and biochemical findings in some IEM are often nonspecific (stroke-like-episodes, developmental-delay, elevated transaminases, coagulopathy, etc), and an early differential diagnosis is essential. The metabolites (lactic acid, galactose, methylmalonic acid, 4-hydroxyphenyl-derivatives, orotic acid, aminoacids, etc) were measured using a Bruker-Avance-400-MHz-Spectrometer, and the spectra were recorded with "NOESY-pulse-sequence". The limit of detection in the spectral region of these metabolites for creatinine concentration of 1 mmol/l is about 80-100 mmol/mol creatinine.

Results: The resulting spectra show the majority of proton-containing-compounds that provide an overall-view on metabolism, being able to establish the diagnosis of galactosemia, methylmalonic aciduria, several aminoacidopathies, urea-cycle-disorders, alkaptonuria, and others. An early differential diagnosis made in a single-urinary-sample it gives an important advantage. Beside this, we present the utility of this method for management in galactosemia and alkaptonuria.

Conclusions: The clinical-biochemical data and the holistic view makes NMR spectroscopy a cornerstone of metabolomics. ¹H-NMR-spectroscopy of body fluids may be considered as an alternative-analytical-approach for biochemical diagnostic known but also as yet unknown IEM.

Keywords: NMR-spectroscopy, inborn errors of metabolism

P32. INHIBAREA REPLICĂRII HERPES SIMPLEX VIRUS TIP 1 DE CĂTRE CDK5 INHIBITORY PEPTIDE

Adrian MAN^{1,2}, Mark SLEVIN³, Cornel FRAEFEL²

¹Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș, ²Universitatea Zurich, Zurich, Elveția

³Universitatea Metropolitană Manchester, UK

Scop: Evaluarea influenței Cdk5 inhibitory peptide (CIP) asupra replicării Herpes simplex virus tip 1 (HSV-1).

Material și metode: Am construit doi vectori virali recombinanți pe baza adeno-associated-virus 2 (AAV2) care codifică CIP legat de cyan-fluorescent-protein (CFP), cu și fără semnal de localizare nuclear. Al treilea vector care codifică CIP separat de CFP a fost de asemenea construit. Culturi de celule HeLa și HEK293T au fost infectate cu vectorii AAV-CIP la o rată MOI de 5000, în prezența respectiv absența HSV-1 recombinant care codifică yellow-fluorescent-protein (HSV48Y; MOI = 1). Celulele coinfectate cu HSV48Y și vectori AAV care nu exprimă CIP (AAV-CFP-Neo) au fost folosite ca și control. După 24 ore de incubare, efectul CIP asupra replicării HSV-1 a fost evaluat prin PCR, qRT-PCR, Western-blot, flow-citometrie, epifluorescență și microscopie confocală.

Rezultate: În culturile coinfectate cu AAV-0CFP-Neo, 43% din celulele pozitive pentru CFP au prezentat locuri de replicare ale HSV48Y. În schimb, în culturile coinfectate cu vectorii AAV care codifică CIP și HSV48Y, doar 8-27% dintre celulele pozitive pentru CFP au prezentat locuri de replicare ale HSV48Y, în funcție de varianta vectorului folosit. Flow-citometria a arătat că sub 40% din celulele coinfectate HSV48Y/AAV-CIP și peste 75% din celulele coinfectate HSV48Y/AAV-CFP-Neo au fost pozitive pentru ambii produși transgenici.

Concluzii: Datele de microscopie și flow-citometrie suportă faptul că CIP inhibă replicarea HSV-1.

Cuvinte cheie: Vectori virali AAV2, replicare HSV-1, clonare moleculară

INHIBITION OF HERPES SIMPLEX VIRUS TYPE 1 REPLICATION BY CDK5 INHIBITORY PEPTIDE

Purpose: To evaluate the influence of Cdk5 inhibitory peptide (CIP) on Herpes simplex virus type 1 (HSV-1) replication.

Materials and methods: We constructed two recombinant adeno-associated-virus 2 (AAV2) vectors encoding CIP fused with cyan-fluorescent-protein (CFP), with or without nuclear localization signal. A third vector encoding non-fused CIP and CFP was also constructed. HeLa and HEK293T cells were infected with the AAV-CIP vectors at multiplicity of infection (MOI) of 5000, in absence or presence of a recombinant HSV-1 that encodes a yellow-fluorescent-protein (HSV48Y; MOI = 1). Cells co-infected with HSV48Y and AAV vectors that do not express the CIP gene (AAV-CFP-Neo) served as controls. At 24 h after infection, the effect of CIP on HSV48Y replication was assessed by PCR, qRT-PCR, Western-blot, flow-cytometry, epifluorescence and confocal microscopy.

Results: In cultures co-infected with AAV-CFP-Neo, 43% of the CFP-positive cells presented HSV48Y replication compartments. By contrast, in cultures co-infected with CIP-encoding AAV2 vectors and HSV48Y only 8-27% of the cells positive for CIP showed HSV48Y replication compartments, depending on the CIP variant. Flow-cytometry showed that less than 40% of the HSV48Y/AAV-CIP, and more than 75% of HSV48Y/AAV-CFP-Neo co-infected cells were positive for both transgenes products.

Conclusions: The microscopy and flow-cytometry data support the hypothesis that CIP is inhibiting HSV-1 replication.

Keywords: AAV2 viral vectors, HSV-1 replication, molecular cloning

P33. SCREENINGUL PRIMAR PENTRU LEZIUNILE CERVICOVAGINALE-TIPARE HPV VS. CITOLOGIE CERVICOVAGINALĂ

Gabriel RADU², Maria SOLOMON¹, Diana VOICU², Oana BODEAN², Costin BERCEANU³, Elvira BRATILA¹, Octavian MUNTEANU¹, Irina HORHOIANU¹, Monica CÎRSTOIU¹

¹UMF 'Carol Davila', Bucuresti, ²Spitalul Universitar de Urgență București

³Universitatea de Medicină și Farmacie Craiova

Introducere. Screeningul pentru cancer cervical poate detecta un stadiu incipient al afecțiunii sau o fază precursoră, diminuând incidența și mortalitatea acestuia. Metodele de screening includ testarea citologică (Papanicolau) și genotiparea tulpinilor HPV cu risc înalt. S-a urmărit eficiența metodelor de screening primar pentru leziunile cervicovaginale (Papanicolau și genotipare HPV).

Materiale și metode. Am efectuat un studiu pe două loturi de paciente cu vârste cuprinse între 23 și 55 de ani. În primul lot am inclus 50 de paciente la care rezultatul citologiei cervicovaginale indică ASC-US (atypical cells of undetermined significance). În cel de-al doilea lot am inclus 50 de paciente cu infecție HPV prezenta, cu tulpini cu risc înalt. Ulterior, tuturor pacientelor le-a fost efectuată examinare colposcopică cu biopsierea leziunilor cervicale pentru detectarea leziunilor precanceroase.

Rezultate. În urma examenului colposcopic, 10 (20%) paciente din primul lot au prezentat leziuni cervicovaginale. Din al doilea lot, 13 (26%) paciente au prezentat leziuni cervicovaginale. Leziunile evaluate colposcopic au fost confirmate histopatologic ca leziuni CIN II și CIN III.

Concluzii. Considerăm ambele variante de screening ca fiind eficiente în depistarea leziunilor precanceroase (Papanicolau, genotipare HPV). Atât la pacientele cu ASC-US, cât și la cele cu tulpini HPV cu risc înalt, diagnosticul leziunilor cervicovaginale se stabilește pe baza biopsiei țintite colposcopic, colposcopia dovedindu-se astfel indispensabilă managementului acestor paciente.

Cuvinte cheie: HPV, Papanicolau, ASC-US

PRIMARY SCREENING IN CERVICAL LESIONS - HPV GENOTYPING VS. CERVICOVAGINAL CYTOLOGY

Introduction. Cervical cancer screening can detect early stages of the disease. Screening has reduced cervical cancer's incidence and mortality. Screening methods include Pap-smear and high risk HPV strains detection. We have followed the efficiency of screening methods for primary cervical lesions.

Materials and methods. We performed a study on two groups of patients with ages between 23 and 55 years. In the first group we included 50 patients with ASC-US result on Pap smear. In the second group we included 50 patients diagnosed with high risk HPV infection. Subsequently, colposcopy was performed on all patients, with biopsy of the lesion for histopathological examination in order to detect precancerous lesions.

Results. Following colposcopic examination, 10 (20%) patients from the first group had cervicovaginal lesions. From the second group, 13 (26%) patients had cervicovaginal lesions. The colposcopic evaluated lesions were confirmed histologically as CIN II and CIN III.

Conclusions. We believe that both screening methods are effective in detecting precancerous cervical lesions (Pap smear, HPV genotyping). The order of examinations in primary screening with HPV infection require more detailed studies, as this study could not establish whether Pap-smear should be performed first or HPV detection, followed by colposcopic examination. In the case of patients with ASC-US and those with high-risk HPV types, the diagnosis of cervicovaginal lesions is established based on targeted colposcopic biopsies. Colposcopic examination is mandatory in the management of these patients.

Keywords: HPV, Pap smear, ASC-US

P34. FRECVENȚA BOLILOR TIROIDIENE AUTOIMUNE LA PACIENȚII CU VITILIGO

Liliana FOIA¹, Amelia Surdu MACOVEI¹, Gabriela PUHA¹, Daniel CIOLOCA¹,
Anca CHIRIAC^{2,3}

¹UMF "Gr. T. Popa" Iași, ²Centrul Medical Nicolina, Iași, ³Universitatea Apollonia, Iași

Introducere. Asocierea vitiligo cu bolile tiroidiene autoimune și prevalența crescută a autoanticorpilor, inclusiv autoanticorpi tiroidieni în vitiligo a fost dovedită în studii recente.

Scopul acestui studiu a fost de a detecta prevalența valorilor anormale ale anticorpilor anti-tireoperoxidaza (anti-TPO) și de a evalua statusul tiroidian la pacienții cu vitiligo.

Material și metodă. În studiu au fost înrolați un număr de 61 de pacienți (46 femei și 15 bărbați) diagnosticați clinic cu diferite tipuri de vitiligo. Au fost colectate probe de sânge pentru determinarea nivelurilor anti-TPO, ale hormonului tireostimulant (TSH), tiroxinei libere (FT4) și triiodotironinei libere (FT3).

Rezultate. Nivelurile anti-TPO au fost depistate peste valorile standard la 22 dintre cei 61 de pacienți, reprezentând un procent de 36,06%; valorile anticorpilor anti-TPO s-au înscris pe o plajă în limite normale la 36 dintre subiecții înrolați în studiu, reprezentând 59,01%.

Tiroidita autoimună a fost detectată la un număr de 13 subiecți (21,31%) din cei 61 diagnosticați clinic cu vitiligo; hipotiroidismul în doar 5 dintre cazuri (8,2%).

Concluzie. Datele înregistrate indică prezența disfuncțiilor autoimune tiroidiene la un număr redus dintre pacienții cu vitiligo înrolați în studiu.

Cuvinte cheie: vitiligo, anticorpi anti-TPO

THE FREQUENCY OF AUTOIMMUNE THYROID DISEASE IN VITILIGO PATIENTS

Introduction. The association of vitiligo with autoimmune thyroid diseases and the increased prevalence of autoantibodies including thyroid autoantibodies in vitiligo had been proven by several recent studies.

Our objectives were to detect the prevalence of abnormal values of thyroid peroxidase antibody (anti-TPO) and to evaluate thyroid status within vitiligo patients.

Material and method. A total of 61 patients (46 women and 15 men) diagnosed on clinical grounds with different types of vitiligo (51 women and 23 men) were enrolled in the study. Blood samples were collected for determination of anti-TPO levels, thyroid stimulating hormone (TSH), free thyroxine (FT4) and free triiodothyronine (FT3).

Results. Anti - TPO levels were detected over the normal range in 22 of the 61 patients, representing a rate of 36.06 %; anti- TPO recorded values within normal limits in 36 of the subjects enrolled in the study, representing 59.01 %.

Autoimmune thyroiditis was detected in a total of 13 subjects (21.31 %) of the 61 clinically diagnosed with vitiligo; hypothyroidism in only 5 cases (8.2 %).

Conclusion. Our records indicate the presence of autoimmune thyroid dysfunction in a restricted number of vitiligo patients enrolled in the study.

Keywords: vitiligo, thyroid autoantibodies

P35. TESTAREA IgE PENTRU ACARIENI LA COPIII CU PRURIGO STROPHULUS

Anca CHIRIAC^{1,2}, Piotr BRZEZINSKI³, Vasilica TOMA⁴, Alina URMĂ⁵, Liliana FOIA⁴

¹ Centrul Medical Nicolina, Iași, ² Universitatea Apollonia, Iași, ³ Unitatea Militară 6, Ustka, Polonia, ⁴UMF "Gr. T. Popa" Iași, ⁵Spitalul Sf. Maria Iași

Introducere. Prurigo strophulus este o tulburare frecvent întâlnită la nivelul pielii la copiii cu vârsta de 2-7 ani. Diagnosticul se bazează pe elemente clinice: papule centrate de mici leziuni veziculare, eritem, prurit intens și semne consecutiv zgârierii, mai ales pe zonele expuse. Mecanismul intim de instalare al prurigo nu este cunoscut, deși atopia este considerată ca un factor predispozant. Leziunile se remit fără nici o cicatrice după o administrare pe termen scurt de antihistaminice, eventualele tratamente profilactice nefiind obligatorii.

Material și metodă. Având în vedere că printre teoriile patogenice ale strophulus prurigo, una dintre ipoteze acreditează ideea conform căreia prurigo se instalează pe fondul unei hipersensibilități întârziate la paraziții din mediu precum acarienii, de tipul *Dermatophagoides pteronyssinus*, cu ajutorul kit-ului EUROLIne Immunoblot am determinat titrul anticorpilor de tip IgE pentru *Dermatophagoides pteronyssinus*, pe un lot de 17 copii diagnosticați cu prurigo strophulus. Nivelul anticorpilor a fost înregistrat înainte de începerea tratamentului cu antihistaminice. Prezența semnelor de teren atopic, astm și alte alergii au fost excluse, astfel încât au fost înrolați în studiu copiii care prezentau doar prurigo.

Rezultate. Nivelul IgE *Dermatophagoides pteronyssinus* la pacienții cu prurigo strophulus a fost în limite normale (media valorilor 0.17 ± 0.08 KUA/L).

Concluzie. Prezentul studiu nu a dovedit existența vreunei corelații între apariția manifestărilor prurigo și nivelul IgE pentru *Dermatophagoides pteronyssinus*.

Cuvinte cheie: *Dermatophagoides pteronyssinus*, prurigo strophulus, IgE

TESTING FOR HOUSE DUST MITES/DERMATOPHAGOIDES PTERONYSSINUS - IgE IN PRURIGO STROPHULUS IN CHILDREN

Introduction. Prurigo strophulus is a commonly skin problem in children aged 2-7 years. Diagnosis is based on clinical grounds: papules centred by small vesicles lesions, erythema, intense pruritus and scratching marks mostly on exposed areas. The exact mechanism of prurigo strophulus is not known, although atopy is considered as a predisposing factor. Lesions resolve without any scar with a short course of antihistamines, but no prophylactic cure is mandatory.

Material and method. Considering that among many pathogenic theories of prurigo strophulus, one hypothesis is based on the idea that prurigo is a delayed hypersensitivity to environmental parasites, for example house dust mites such as *Dermatophagoides pteronyssinus*, we tested our 17 cases of clinically diagnosed children with prurigo strophulus for *Dermatophagoides pteronyssinus* – IgE, using EURO-Line Immunoblot kit.

The antibodies were measured before starting the therapy with antihistamines. Atopy, asthma and other allergies were excluded and only children with prurigo strophulus were enrolled in the study.

Results. *Dermatophagoides pteronyssinus* IgE in patients with prurigo strophulus recorded values well within the normal range (mean values of 0.17 ± 0.08 KUA/L).

Conclusion. No correlation was proved between the occurrence of prurigo strophulus and the level of *Dermatophagoides pteronyssinus* - IgE.

Keywords: *Dermatophagoides pteronyssinus*, prurigo strophulus, IgE

P36. ALTERĂRI CELULARE ÎN HIPERPLAZIA GINGIVALĂ INDUSĂ EXPERIMENTAL

Ancuța GORIUC¹, Vasilica TOMA¹, Liliana FOIA¹, Amelia SURDU¹,
Daniel CIOLOCA¹, Marcel COSTULEANU¹

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

Introducere: Hiperplazia gingivală indusă de ciclosporina A fost frecvent asociată în cazul pacienților tratați cu acest medicament, dar mecanismul de apariție al acestei afecțiuni rămâne controversat. Datele din literatură menționează o posibilă implicare a celulelor inflamatorii în variate leziuni fibrotice incluzând hiperplazia gingivală indusă medicamentos.

Scopul studiului: Cercetările au vizat evaluarea funcționării porului de permeabilitate mitocondrial (PTM) în condițiile supraîncărcării citosolice cu Ca^{2+} precum și cuantificarea interleukinei IL-1 β la nivelul fibroblastelor normale și al celor tratate cu CsA în cultură.

Material și Metodă: Fibroblastele gingivale obținute prin tehnica explantului din gingia de șobolan netratat, au fost crescute în mediu de cultură specific timp de 30 de zile cu și fără CsA (1 μ g/ml). Supraîncărcarea cu Ca^{2+} a celulelor a fost realizată utilizând ionoforul A23187 iar funcționarea PTM a fost observată prin citometrie în flux, utilizând calceina AM ca marker. Cantitatea de IL-1 β produsă de fibroblastele normale și cele tratate cu CsA a fost măsurată prin metoda ELISA.

Rezultate: Fibroblastele tratate cu CsA în mediu de cultură au prezentat o disipare accentuată a potențialului mitocondrial membranar comparativ cu fibroblastele normale. În ceea ce privește eliberarea de IL-1 β s-au observat valori mai mici la nivelul fibroblastelor tratate cu CsA timp de 30 de zile (valoarea medie IL-1 β = 17,12pg/ml) comparativ cu fibroblastele normale (valoarea medie IL-1 β =23,45pg/ml)

Concluzii: Supraîncărcarea cu Ca^{2+} indusă de ionoforul A23187 are drept rezultat deschiderea PTM, mai evidente în cazul CsA. Tratarea fibroblastelor cu CsA un timp mai îndelungat duce la o scădere a nivelului IL-1 β secretată de aceste celule.

Cuvinte cheie: Ciclosporina A, por de permeabilitate tranzitorie mitocondrial, citometrie in flux, interleukina-1 β , ionofori de calciu

CELL ALTERATIONS IN EXPERIMENTALLY INDUCED GINGIVAL HYPERPLASIA

Introduction: Cyclosporine A - induced gingival hyperplasia has been frequently reported in patients treated with this drug, but the mechanism of occurrence remains controversial. Data from previous literature mention a possible involvement of inflammatory cells in various fibrotic lesions including drug-induced gingival hyperplasia.

Aim: to evaluate the functionality of mitochondrial permeability transition pore (MPTP) in terms of cytosolic Ca^{2+} overload and quantification of interleukin IL-1 β both in the normal and CsA treated fibroblasts.

Methods: Gingival fibroblasts obtained using explant technique from untreated rats gum were grown in a specific culture medium with or without CsA (1 μ g/ml) for 30 days. Ca^{2+} overload of cells was performed using the ionophore A23187 and the function of the MPTP was observed by flow cytometry and calcein AM as a marker. The amount of IL-1 β produced by normal fibroblasts and those treated with CsA was measured using the ELISA technics.

Results: Fibroblasts treated before with CsA in culture medium had a strong dissipation of mitochondrial membrane potential under the action of ionophore A23187. Regarding the release of IL-1 β we observed lower values released from the fibroblasts treated with CsA for 30 days (mean value IL-1 β = 17,12 pg / ml) compared to normal fibroblasts (mean value IL-1 β = 23,45 pg / ml).

Conclusion: MPTP opening under Ca^{2+} overload was observed using ionophore A23187 both in normal fibroblasts and especially in those treated with CsA in culture medium. The CsA fibroblasts treatment for a longer time leads to a decrease in IL-1 β secreted by these cells.

Keywords: cyclosporin A, permeability transition pore, flow cytometry, interleukin 1- β , calcium ionophore

R10. 2D-DIGE – STANDARDUL DE AUR AL ELECTROFOREZEI BIDIMENSIONALE

Ileana FUNDUC, București

Concomitent cu apariția proteomului, s-a emis conceptul proteinelor marcate fluorescent și a migrării mai multor probe pe același gel. Metoda denumită „Electroforeza Bidimensională Diferențială” (2D-DIGE) folosește coloranți cianici fluorescenți special modificați. Marcarea este de două tipuri: marcarea minimală și marcarea saturată. După prezentarea etapelor analizei se arată avantajele acestei metode față de electroforeza bidimensională, dar și limitele acesteia. Final se descriu aplicațiile profilului proteomic bazat pe metoda 2D-DIGE.

2D-DIGE – THE GOLDEN STANDARD FOR 2D ELECTROPHORESIS

Along with the emergence of proteomics, fluorescently labeled proteins concept and the migration of several samples on the same gel were issued. The method called “Two-dimensional electrophoresis differentiation” (2D-DIGE) uses specially modified fluorescent cyanic dyes. The marking is of two types: minimal marking and saturated marking. After presenting the stages of analysis, the advantages of this method compared to two-dimensional electrophoresis and also its limitations are shown. In the end, applications of the proteomic profile based on the 2D-DIGE method are described.

C13. PROFIL METABOLIC IN DIABETUL ZAHARAT TIP 1 PRIN METODA SPECTROSCOPIEI DE REZONANȚĂ MAGNETICĂ NUCLEARĂ (¹H-RMN) METABOLITE PROFILES IN TYPE 1 DIABETES PATIENTS BY MAGNETIC RESONANCE SPECTROSCOPY (¹H-NMR)

Lorena Ivona STEFAN¹, Alina NICOLESCU², Magda SANDU¹, Maria MOȚA³, C. DELEANU⁴

¹Spitalul Clinic de Urgență, Craiova

²Institutul de Chimie Macromoleculară „Petru Poni”, Iași

³Universitatea de Medicină și Farmacie, Craiova

⁴Institutul de Chimie Organică C.D.Nenițescu, București

În prima secțiune a acestui studiu metoda ¹H-RMN a fost aplicată pentru a investiga profilurile urinare la pacienții cu diabet zaharat tip 1 (DZ tip 1) și subiecții de control cu scopul de a obține informații de bază despre posibile anomalii în excreția urinară și de a evalua potențialului ¹H-RMN ca instrument de diagnostic. În următoarea secțiune a studiului pacienții cu DZ tip 1 au fost analizați în funcție de vârstă și durata diabetului zaharat și, stabilit profilul metabolic spectral al concentrațiilor metaboliților urinari.

Probe de urină recoltate de la 167 subiecți de control și 132 pacienți DZ tip 1 au fost investigate prin ¹H-RMN. Pacienții au avut un istoric al DZ tip 1 de sub 5 ani. Spectrele RMN au fost înregistrate cu un spectrometru Bruker Avance DRX 400 MHz. Rezultatele au fost evaluate în mmol/ mol Crn.

S-a înregistrat diferențe semnificative între excreția urinară a Lac, Cit, Hipp și GABA la subiecții de control și pacienți cu DZ tip 1. Pacienții DZ tip 1 cu vârsta sub 35 de ani au avut tendința de a avea valori mai mari pentru Lac, Ala, Pyr, Cit, Cho și Hipp decât pacienții cu DZ tip 1 cu vârsta de peste 35 de ani. Excreția urinară de Val, Lac, Cit, Gly, TMAO și GABA crește la pacienții cu o durată a T1DM sub 1 an.

¹H-RMN poate fi o metodă pentru evaluarea metaboliților urinari ca markeri pentru depistarea precoce a bolilor asociate și a complicațiilor în T1DM.

Cuvinte cheie: diabet zaharat tip 1, urină, spectroscopie de rezonanță magnetică nucleară

METABOLITE PROFILES IN TYPE 1 DIABETES PATIENTS BY MAGNETIC RESONANCE SPECTROSCOPY (¹H-NMR)

In the first section of this study ¹H-NMR was applied to investigate the urinary profiles of healthy individuals and type 1 diabetes mellitus (T1DM) patients trying to obtain basic knowledge of possible abnormalities in the urinary excretion or concentrations of a series of metabolites and to assess the NMR potential as a diagnostic tool. In the next section of the study T1DM patients were evaluated according to age and duration of T1DM and the NMR profile of metabolites concentrations established.

Serial urine samples of 167 control subjects and 132 T1DM patients were investigate by ¹H-NMR method. The patients had a history of T1DM less than 5 years. The NMR spectra were recorded on a Bruker Avance DRX 400 MHz spectrometer. To 0.9 ml urine, 0.1 ml of stock solution of 5 mM sodium 3-(trimethylsilyl)-[2, 2, 3, 3-d₄]-1-propionate in D₂O has been added. The results are evaluated in mmol/ mol of creatinine. p<0.05 was taken as significant.

A significant difference between the urinary excretion of lactate, citrate, hippurate and gamma-aminobutyrate at the healthy individuals and T1DM patients was found.

The T1DM patients below 35 years old tended to have higher urinary values of lactate, alanine, pyruvate, citrate, choline and hippurate than T1DM patients above 35 years old. The urinary excretion of valine, lactate, citrate, glycine, trimethylamine-N-oxide and gamma-aminobutyrate are higher in patients with duration of T1DM less than 1 year.

¹H-NMR spectroscopy can be a method to explore urinary metabolite as markers for early detection of associated diseases and complications in T1DM.

Keywords: nuclear magnetic resonance spectroscopy method, type 1 diabetes mellitus, urine

C14. INFLUENȚA UNOR FACTORI PREANALITICI ASUPRA BIOMARKERILOR DE SINDROM CORONARIAN ACUT (SCA)

Dorina POPA¹, Carmen Daniela NECULOIU¹, Dragoș Tudor MICU¹

¹Spitalul Clinic Județean de Urgență, Brașov

Introducere: Pentru diagnosticarea precoce a infarctului miocardic acut și creșterea siguranței pacientului este esențială determinarea biomarkerilor SCA în laboratorul medical.

Material și metodă: Obiectivul studiului este evaluarea influenței a doi factori de interferență din faza preanalitică: aspectul probei primare (hemoliza) și statusul imunologic, asupra biomarkerilor SCA. Studiul prospectiv, derulat timp de 6 luni pe pacienți internați, a urmărit influența acestor factori asupra biomarkerilor enzimatici (determinați spectrofotometric și imunoturbidimetric) și asupra biomarkerului imunologic Troponina T – TnT (determinat prin electrochemiluminescență). Evaluarea neconformității specimenelor s-a efectuat prin inspecție vizuală, după etapa de prelucrare primară.

Rezultate: Am comparat rezultatele testărilor efectuate pe probe biologice neconforme cu cele obținute pe speciimenele recepționate după repetarea prelevării. Analiza rezultatelor a evidențiat existența unor valori fals crescute pentru CKMB – chiar cu 200% mai mari pentru probele hemolizate. S-au obținut valori foarte înalte – peste 3000 ng/mL, la pacienți cu status imunologic alterat (patologie malignă/autoimună), necorelate cu nivelele CKMB.

Concluzii: Rezultatele studiului confirmă importanța indicatorilor calității stabiliți ca și criterii de respingere a specimenelor în faza preanalitică și necesitatea unei comunicări eficiente cu clinicienii.

Cuvinte cheie: factori preanalitici, markeri enzimatici, markeri imunologici

PREANALYTICAL FACTORS INFLUENCE ON ACUTE CORONARY SYNDROME (ACS) BIOMARKERS

Background: For the early diagnosis of acute myocardial infarction and to improve patient safety medical labs assays for specific ACS biomarkers are mandatory.

Materials and methods: This study assesses the influence on SCA biomarkers for two types of factors that interfere in preanalytical phase: the primary sample aspect (hemolysis) and the immunological patient's status. The prospective study, carried out for 6 months in ECCH Brasov on hospitalized patients, aimed at assessing the effect of these factors on enzymatic ACS biomarkers (spectrophotometric and immunoturbidimetric methods) and on immunological biomarker troponin T - TnT values (electrochemiluminescence assay). We assessed the degree of inappropriateness through visual inspection of samples after primary samples processing.

Results: We compared the results of the measurements performed on inappropriate biological samples with those obtained for samples received after repeated request. The analysis of the results showed the occurrence of falsely elevated CKMB values – even 200 % higher for hemolysed samples. Very high TnT hsst values - more than 3000 ng/mL, were obtained in patients with altered immune status (malignancy/ autoimmune pathology), even uncorrelated with CK and CKMB levels.

Conclusions: Study results confirmed the importance of quality indicators (QIs) established as samples rejecting criteria in preanalytical phase and the need for effective communication with clinicians.

Keywords: preanalytical factors, enzymatic markers, immunological markers

C15. EVALUAREA ECHILIBRULUI METABOLIC, LIPOPEROXIDĂRII ȘI A FACTORILOR DE RISC CARDIOVASCULAR LA DIABETICI DE TIP 2

Enikő NEMES-NAGY¹, Erzsébet FOGARASI¹, Mircea CROITORU¹, Annamária NYÁRÁDI¹, Kinga KOMLÓDI¹, Sándor PÁL¹, Adél KOVÁCS¹, Orsolya KOPÁCSY¹, Robert TRIPON¹, Kovács ZSOLT¹, Zita FAZAKAS¹, Cosmina UZUN¹, Zsuzsánna SIMON-SZABÓ¹, Victor Balogh-SĂMĂRGIȚAN¹, Előd Ernő NAGY¹, Mónika SZABÓ¹, Mariana TILINCA¹

¹Universitatea de Medicină și Farmacie, Tîrgu Mureș

Introducere: Stresul oxidativ, creșterea nivelului de homocisteină (HC) și proteina C reactivă ultra-sensibilă (U-CRP) reprezintă factori de risc pentru complicațiile cardiovasculare la pacienți diabetici. Metforminul cauzează malabsorbția vitaminei B₁₂. Deficitul acestei vitamine poate duce la valori crescute ale homocisteinei. Cistatina C este un parametru modern în diagnosticul precoce al nefropatiei.

Material și metode: Un studiu clinic prospectiv s-a desfășurat între 2013-2015 la Laboratorul Procardia din Tîrgu Mureș, România pe 224 de adulți cu diabet de tip 2 împărțiți în două loturi în funcție de tratament (metformin respectiv alte terapii). Vitamina B₁₂ și homocisteina serică au fost dozate prin chemiluminiscență (Immulate), HbA1c prin reflectometrie (Nycocard Reader). Stresul oxidativ s-a determinat prin dozare de malondialdehidă (MDA) serică prin metoda TBARS (22 voluntari sănătoși au oferit valorile normale pentru concentrația MDA prin metoda HPLC). Testele biochimice de rutină, dozarea mineralelor, U-CRP și a cistatinei C s-au efectuat pe analizorul Konelab20XTi. Formula MDRD s-a aplicat pentru calcularea ratei de filtrare glomerulară bazată pe creatinină și cistatină C. Programul GraphPad InStat a fost folosit pentru prelucrarea statistică a datelor.

Rezultate: HC serică a fost crescută la 87% dintre pacienți, am observat corelație inversă între valorile serice ale vitaminei B₁₂ și HC (p<0,05). Subiecții tratați cu metformin au avut valori semnificativ mai scăzute de vitamină B₁₂ (p<0.05) comparativ cu diabeticii aflați pe alt tratament. 46% dintre pacienții diabetici au avut deficit de zinc, la 41% am observat valori crescute de U-CRP. Majoritatea pacienților diabetici au avut un control bun al bolii diabetice (HbA1c sub 7%). Am observat corelație pozitivă între valorile de MDRD cistatină C și MDRD creatinină (p<0.0001). La pacienții diabetici am obținut valori semnificativ mai crescute ale concentrației de MDA comparativ cu subiecții lotului control (p<0.0001).

Concluzii: Valori crescute ale homocisteinei și U-CRP reprezintă factori de risc cardiovascular pentru acești pacienți, cistatina C este utilă în diagnosticul precoce al nefropatiei diabetice. Stresul oxidativ

intens, deficitul de vitamine și minerale apar la mulți subiecți diabetici, folosirea unor suplimente alimentare asociate la terapia de bază ar putea fi benefic în aceste cazuri.

Cuvinte cheie: homocisteină, malondialdehidă, metformin

Suportul financiar pentru acest studiu a fost oferit de Universitatea de Medicină și Farmacie din Tîrgu Mureș, grant intern nr. 7/23.XII.2014.

EVALUATION OF METABOLIC BALANCE, LIPID PEROXIDATION PRODUCTS AND CARDIOVASCULAR RISK FACTORS IN TYPE 2 DIABETIC PATIENTS

Introduction: Oxidative stress, elevated homocysteine (HC) and ultra-sensitive C reactive protein (U-CRP) levels represent risk factors for cardiovascular complications in diabetic patients. Metformin causes vitamin B₁₂ malabsorption. The deficiency of this vitamin can lead to elevated homocysteine levels. Cystatin C is a modern parameter to detect early nephropathy.

Material and methods: A prospective clinical research was conducted between 2013-2015 at the Procardia Laboratory in Tîrgu Mureș, Romania on 224 type 2 diabetic adults included in two groups depending on their treatment (metformin vs. other therapy). Serum vitamin B₁₂ and HC were tested by chemiluminiscent method (Immulite), HbA1c by reflectometry (Nycocard Reader). Oxidative stress was determined by serum malondialdehyde (MDA) dosage by TBARS reaction (22 healthy volunteers provided normal values for MDA concentration by HPLC method). Routine biochemical tests, dosage of minerals, U-CRP and cystatin C were performed on Konelab20Xti analyzer. MDRD formula was applied for calculation of creatinine- and cystatin C-derived glomerular filtration rate. GraphPad InStat software was used for statistical analysis of the data.

Results: Serum HC was elevated in 87% of the patients, we found inverse correlation between serum vitamin B₁₂ and HC levels ($p < 0.05$). Subjects treated with metformin had significantly lower B₁₂ vitamin concentration ($p < 0.05$) compared to diabetic patients receiving other treatment. 46% of the diabetic patients presented zinc deficiency, 41% had elevated U-CRP. The majority of the diabetic patients had good control of their diabetes (HbA1c under 7%). Positive correlation was found between MDRD cystatin C and MDRD creatinine values ($p < 0.0001$). Significantly higher MDA concentrations occurred in diabetic patients compared to control subjects ($p < 0.0001$).

Conclusions: High homocysteine and U-CRP levels represent increased cardiovascular risk for these patients, cystatin C is useful for early detection of diabetic nephropathy. Intense oxidative stress, vitamin and mineral deficiencies can be found in many diabetic subjects, intake of dietary supplements associated to regular therapy could be beneficial in these cases.

Keywords: homocysteine, malondialdehyde, metformin

R11. HIDROGENUL SULFURAT: ASPECTE NOI DESPRE O BIOMOLECULĂ DUPLICITARĂ

Maria GREABU¹, Alexandra TOTAN¹, Daniela MIRICESCU¹, Bogdan CALENIC¹,
Radu RADULESCU¹, Maria MOHORA¹, Iustina VIRLAN¹

¹Universitatea de Medicină și Farmacie Carol Davila, București

Numeroase studii în ultimul deceniu au arătat că hidrogenul sulfurat (H_2S) este un compus cu roluri multiple în reglarea homeostaziei organismului uman. Alături de monoxidul de carbon și de oxizii de azot, este implicat în procese biologice ca: apoptoza, angiogeneza, vasodilatație sau respirația mitocondrială.

La ora actuală, direcțiile de cercetare au ca deziderat elucidarea unor aspecte cheie ale biochimiei H_2S cum ar fi implicarea sa în patologia diferitelor țesuturi și organe, căile biochimice care îl generează sau sinteza de substanțe active care îi blochează sau stimulează biosinteza. În cavitatea orală, H_2S joacă atât un rol estetic, fiind unul dintre compușii volatili cu sulf strâns corelați cu intensitatea halenei orale dar și un rol toxic asupra țesuturilor moi.

Lucrarea de față are ca scop prezentarea rolurilor biologice ale H_2S cu un accent special pe cavitatea orală și implicarea acestui compus în patologia bolilor parodontale.

Cuvinte cheie: hidrogen sulfurat, parodontopatii, halenă, apoptoză

HYDROGEN SULFIDE: NOVEL INSIGHTS INTO A DOUBLE-FACED BIOMOLECULE

Numerous studies in the past decade have shown that hydrogen sulfide (H_2S) is a compound with multiple roles in regulating the homeostasis of the human body. Along with other gases such as carbon monoxide and nitrogen oxide, is involved in biological processes: apoptosis, angiogenesis, vasodilatation or mitochondrial respiration.

To date, research in H_2S focuses on several key aspects of biochemistry such as its functions in various tissues and organs pathology, biochemical pathways that generate the synthesis of this active compound or drugs who block or stimulate its biosynthesis. In oral cavity, H_2S plays both an aesthetic role being one of volatile sulfur compounds linked with oral halitosis intensity as well as a toxic role for soft tissues.

This work addresses issues on H_2S biological roles with a particular focus on the oral cavity and the periodontal disease pathology generated by this compound.

Keywords: hydrogen sulfide, periodontitis, halena, apoptosis

C16. ROLUL FIBRELOR ALIMENTARE ÎN MANAGEMENTUL NUTRIȚIONAL AL HIPERURICEMIEI

Zita FAZAKAS¹, Mariana TILINCA¹, Monica TARCEA¹, Zsolt KOVÁCS¹, Cosmina UZUN¹,
Viktória SZÚCS², Raquel GUINÉ³

¹Universitatea de Medicină și Farmacie, Tg.Mureș, ²Hungarian Chamber of Agriculture, Budapest, Hungary, ³Food Science Research Institute, Viseu, Portugal

Alimentele bogate în nucleobazele purinice adenină și hipoxantină măresc semnificativ nivelul uricemiei. Hiperuricemia se asociază frecvent cu celelalte componente ale sindromului metabolic.

Scopul lucrării este determinarea impactului dietei bogate în fibre asupra uricemiei la pacienți cu sindrom metabolic.

Metode: Au fost incluși în studiu 46 de pacienți de sex masculin cu sindrom metabolic, toți dintre ei prezentând hipertensiune, obezitate, hiperglicemie, hiperuricemie și mobilitate redusă la degetele mâinii. Informațiile legate de dietă au fost colectate printr-un chestionar validat care s-a aplicat la începerea studiului și după 6 săptămâni timp în care pacienții au avut un regim alimentar bogat în fibre (prin adăugarea zilnică a câte 2 porții de cereale – în total 60g și 200g legume, respectiv 300g fructe). Alimentele de origine animală au fost eliminate din dietă. Parametrii urmăriți au fost: tensiunea arterială, indicele de masă corporală, glicemia și uricemia, care au fost mășurați la începerea studiului și după 6 săptămâni de regim bogat în fibre alimentare.

Rezultate: Studiul arată că la începutul studiului toți pacienții au avut un regim alimentar inadecvat în aportul de fibre alimentare, $28,5 \pm 2,2$ g/zi în loc de 38 grame pe zi. Creșterea aportului de fibre cu 10 ± 5 g/zi a fost asociată cu scăderea uricemiei cu 69,87%, de la $8,3 \pm 0,6$ mg/dL la $5,8 \pm 0,5$ mg/dL, $p=0.008$, scăderea nesemnificativă statistic a BMI (de la $26,8 \pm 4,5$ la $26,4 \pm 4,6$ kg/m², $p<0.01$), scăderea semnificativă a glicemiei (de la $130 \pm 0,8$ la $105 \pm 4,2$ mg/dL, $p<0.001$) și scăderea semnificativă a tensiunii arteriale (de la $150 \pm 10,6$ la $130 \pm 8,4$ mmHg, $p<0.001$).

Concluzie: Alimentația bogată în fibre ameliorează uricemia, glicemia și valorile tensionale la pacienții cu sindrom metabolic.

Cuvinte cheie: fibre alimentare, acidul uric, sindrom metabolic.

ROLE OF DIETARY FIBERS IN THE NUTRITIONAL MANAGEMENT OF HYPERURICEMIA

Foods rich in adenine and hypoxanthine may contribute to the increase of uricemia. Hyperuricemia is associated with other pathological conditions pertaining to metabolic syndrome.

Objective: the assesment of the impact of fiber rich diet on uricemia in patients with metabolic syndrome.

Methods: the study involved 46 male patients with metabolic syndrome who claimed to have reduced mobility in fingers, hypertension, obesity, hyperglycemia and hyperuricemia. A validated questionnaire about dietary habits was applied at the beginning of the study and after 6 weeks of fiber-rich diet (consisting of daily consumption of 2 servings of added grains - 60g totally and vegetables 200g, fruits 300g respectively). The diet was animal-product free. Blood presure, body mass index, blood glucose and uric acids were measured at the beginning of the study and after 6 weeks of fiber rich diet.

Results: The study shows that at baseline all patients had an inadequate dietary intake of dietary fiber, 28.5 ± 2.2 g/day instead of 38 g per day. The increase in fiber intake of 10 ± 5 g/day was associated with a decrease of serum uric acid by 69.87% from 8.3 ± 0.6 mg/dL to 5.8 ± 0.5 mg/dL, $p = 0.008$, non-significant decrease of BMI (from 26.8 ± 4.5 to 26.4 ± 4.6 kg/m², $p < 0.01$), significant decrease of glycemia (from 130 ± 0.8 to 105 ± 4.2 mg/dL, $p < 0.001$) and significant decrease in blood pressure (from 150 ± 10.6 to 130 ± 8.4 mmHg, $p < 0.001$).

Conclusion: The fiber rich diet decreased blood uric acid, blood glucose levels and arterial pressure in patients with metabolic syndrome.

Keywords: dietary fiber, uric acid, metabolic syndrome.

P37. PANCITOPENIA LA COPIL – PREZENTĂRI DE CAZ

Cristian SAVA¹, Ladislau RITLI¹, Andreea BALMOȘ¹

¹Facultatea de Medicină, Universitatea din Oradea

Introducere Cazurile noi de pancitopenie au o etiologie extrem de variată, putând crea dificultăți în stabilirea diagnosticului, al tratamentului adecvat și al prognosticului.

Prezentare de caz. Autorii prezintă 3 cazuri diagnosticate cu pancitopenie de etiologii diferite, internate în clinică pe parcursul ultimului an. Cazul 1: fetiță în vârstă de 3 luni, se prezintă cu purpură cutaneo-mucoasă, fără febră, limfadenopatie sau hepato-splenomegalie; testele de laborator au evidențiat pancitopenie și infecție cu CMV; după inițierea terapiei cu ganciclovir, hipoplazia măduvei osoase s-a remis. Cazul 2: fetiță de 10 de ani care se prezintă pentru febră, echimoze și sângerări gingivale; a fost diagnosticată cu pancitopenie prin deficit de vitamina B12, cu evoluție clinică și paraclinică favorabilă sub tratamentul deficitului nutrițional. Cazul 3: fetiță de 7 ani se internează pentru febră, paloare severă, purpură umedă, cașexie, limfadenopatie și hepato-splenomegalie; testele de laborator au evidențiat pancitopenie și un aspect al măduvei osoase relevant pentru anemie aplastică severă, confirmată prin citometrie în flux; programată pentru transplant de celule hematopoietice, asociază în evoluție o infecție pulmonară multirezistentă la tratament, care a condus la sepsis și, în final, la deces.

Concluzii. Aprecierea gradului de severitate al pancitopeniei și identificarea etiologiei acesteia stau la baza stabilirii tratamentului corect și al prognosticului.

Cuvintele cheie. pancitopenie, copil, anemie aplastică

PANCYTOPENIA IN CHILDREN – A CASE SERIES

Introduction. New-onset pancytopenia can be caused by a wide variety of etiologies, leading to a diagnostic dilemma and difficulties regarding appropriate therapy and prognostication.

Case reports. The authors present 3 cases of pancytopenia of different etiology affecting children, which were referred to the clinic during last year. Case 1: a 3 months old girl presenting wet purpura without fever, lymphadenopathy or hepato-splenomegaly; pancytopenia and CMV infection were revealed by laboratory tests; after initiation of ganciclovir therapy the bone marrow hypoplasia was resolved. Case 2: a 10 years old girl presenting fever, bruising and gum bleeding was diagnosed with pancytopenia and vitamin B12 deficiency with favorable clinic and paraclinic evolution under the nutritional deficiency treatment. Case 3: a 7 years old girl was admitted for fever, severe pallor, wet purpura, cachexia, lymphadenopathy and hepato-splenomegaly; laboratory tests revealed pancytopenia and bone marrow biopsy

aspect of severe aplastic anemia, confirmed by flow cytometry immunophenotyping; hematopoietic cell transplantation was scheduled but a multidrug resistant pulmonary infection made the survival impossible.

Conclusions. The severity of pancytopenia and the underlying pathology determine the management and prognosis. Thus, identification of the correct cause will help in implementing appropriate therapy.

Keywords. Pancytopenia, child, aplastic anemia

P38. TESTAREA IN VIVO A CANDIDAȚILOR PENTRU SUBSTITUTE DE SÂNGE PE BAZĂ DE HEMOGLOBINĂ: CARACTERIZARE HISTOPATOLOGICĂ

**Vlad Al. TOMA^{1,2}, Anca D. FARCAS^{1,2}, Ioana ROMAN¹, Florina SCURTU-DEAC²,
Radu SILAGHI-DUMITRESCU²**

¹ *Institutul de Cercetări Biologice Cluj-Napoca, filială a INCDSB, București*

² *Universitatea Babeș-Bolyai, Cluj-Napoca*

Introducere. Interacțiunea dintre hemoglobina nederivatizată și sistemul circulator implică captarea NO și tulburări vasculare (hipertensiune și hipoxie) care frecvent conduc spre exitus. În acest studiu este prezentat comportamentul *in vivo* al unor hemoglobinoderivați cu proprietăți transportoare de gaze respiratorii atât în doză mică (studiu exploratoriu) cât și în doză mare (condiții hemoragice) folosind șobolanul alb din rasa Wistar.

Materiale și Metode. Experimentul a implicat șase tipuri de candidați pentru substitute de sânge: Hb nativă, poli-Hb, Hb-BSA, Hb-rubreritriină (HbRbr), Hb-rubreritriină-NROR, Hb-o-ATP și poli-Hb ovină. Pentru fiecare tip de Hb, s-a utilizat câte un lot de șobolani (n=8). Histochemic, s-a analizat fierul în rinichi, ficat și splină (colorația Pearls) iar evaluarea morfologică s-a efectuat prin colorația H&E (rinichi și plămâni).

Rezultate. Hb bovină și cea copolimerizată cu BSA stimulează formarea hemosiderinei în ficat. În hemoragie, spațiul urinar a marcat o ușoară creștere. Hb bovină polimerizată în matrice de plasmă a indus leziuni tubulare semnificative, marcate prin descuamare epitelială și distrofii moderate. După administrarea intravenoasă a HbRbr, toate animalele au decedat. Examinarea histopatologică a arătat hiperemie pasivă renală și edem pulmonar. Aceste modificări au condus spre exitus. Hemoglobina ovină a prezentat un bun comportament renal și pulmonar. Polihemoglobina ovină ar putea fi cel mai bun candidat pentru substitutele de sânge, în cadrul designului experimental folosit.

Concluzii. Noile substitute de sânge dezvoltate au prezentat un efect dozo-dependent. Condițiile hemoragice au indus modificări histologice caracteristice în plămân și rinichi iar polihemoglobina ovină a fost optim tolerată.

Cuvinte cheie: hemoglobinoderivați, fier, hemoragie, organe-țintă

IN VIVO TESTS OF THE CELL-FREE HEMOGLOBIN-BASED BLOOD SUBSTITUTES CANDIDATES: HISTOPATHOLOGICAL CHARACTERIZATION

Introduction. The interaction between underivatized hemoglobin and circulatory system involves NO scavenging and vascular associated diseases such as hypertension and hypoxia-induced changes

which frequently led to exitus. In this work we present the impact of the newly developed hemoglobin based oxygen carriers - HBOCs on Wistar rats in initial experimental low doses and hemorrhagic conditions. Hemoglobin-based blood substitutes are infusible oxygen-carrying liquids, obtained from bovine blood.

Materials and Methods. The experiment was performed on six types of blood substitutes candidates (HBOCs): Native hemoglobin, poli-Hemoglobin, Hemoglobin with BSA, Hemoglobin with rubrerythrin (HbRbr), Hemoglobin with rubrerythrin-NROR, Hemoglobin-o-ATP and Polymerized ovine hemoglobin. For each Hb it was used one group of rats (n=8). Iron histochemistry (Pearls staining for liver, spleen and kidney) and morphological evaluation (H&E) of kidney and lung are reported.

Results. An overall view of the iron deposits revealed that polymerized Hb and Hb copolymerized with BSA stimulates formation of the iron deposits in liver. In hemorrhagic conditions, Bowman's space presented a slight increase. Hemorrhage induced an inflammatory response in lung. After intravenous administration of HbRbr, all animals were died. Histopathological examination (H&E) revealed renal passive hyperemia and pulmonary edema. These pathological changes led to exitus. Ovine hemoglobin it would be most better HBOCs (minimal pathological changes).

Conclusions. Newly developed hemoglobin-based blood substitutes present a dose-dependent relationship. Explorative studies revealed a good behavior of HBOCs kidney's microscopic morphology. Hemorrhagic conditions induced typically histological changes in lungs and kidneys and ovine hemoglobin was well tolerated. .

Keywords: hemoglobin, iron, hemorrhage, target organs.

P39. MARKERI MOLECULARI LA PACIENȚI CU LEUCEMIE ACUTĂ

Mihaiela Loredana DRAGOȘ¹, Iuliu Cristian IVANOV¹, Adriana SIRETEANU¹, Mihaela ZLEI¹, Oana Elena BOCA¹, Oana Maria PINTILIE¹, Carmen COZMEI¹, Silvia DUMITRAȘ², Ingrith-Crenguța MIRON², Anca IVANOV², Angela DĂSCĂLESCU^{1,2}, Cătălin DĂNĂILĂ^{1,2}, Alexandru GLUVACOV¹, Doramina GHIORGHIU¹, Cristina BURCOVEANU¹, Gabriela DORHOI², Eugen CARASEVICI¹, Daniela JITARU¹

¹Institutul Regional de Oncologie, Iași, ²Universitatea de Medicină și Farmacie "Gr. T. Popa", Iași

Introducere: Leucemiile acute sunt un grup de boli maligne, foarte heterogene, care diferă între ele prin etiologie, patogeneză, prognostic și răspuns la tratament. Tehnicile de biologie moleculară sunt utile pentru diagnosticul, subclasificarea și evaluarea post-terapeutică a leucemiilor acute.

Material și metodă: Lotul de studiu a cuprins 227 de pacienți din Institutul Regional de Oncologie, Iași și din Spitalul de Pediatrie "Sf. Maria", Iași, investigați în perioada ianuarie 2014- ianuarie 2016. Pacienții diagnosticați cu leucemie acută (128 cu LAM- leucemie acută mieloidă : 118 adulți și 10 copii, 99 cu LAL- leucemie acută limfoblastică : 71 adulți și 28 copii) au fost investigați prin tehnicile de RT-PCR și migrare electroforetică în secvențiator, pentru următorii markeri: în LAL: MLL-AF4, TEL-AML1, BCR-ABL-p190, E2A-PBX; în LAM: PML-RAR α , AML1-ETO, CBF β -MYH11 FLT3/ITD și NPM1.

Rezultate: Incidența markerilor caracteristici pentru LAL a fost: BCR-ABL-p190 – 1,8% copii și 12,7% adulți, TEL-AML1 – 9,1% copii, MLL-AF4 - 3,6% adulți, E2A-PBX – 1,8% copii și 1,8% adulți, iar în cazul LAM: AML1-ETO – 9,1% adulți, PML-RAR α – 16,4% adulți, CBF β -MYH11 – 3.6% adulți,

FLT3/ITD – 10,9% adulți și 3,6% copii, NPM1 - 23,6% adulți și 1,8% copii. Comparativ cu datele din literatură, incidența E2A-PBX și a TEL-AML1 a fost mai mică în lotul studiat, iar incidența PML-RAR α și a m-BCR a fost mai mare, restul rezultatelor fiind concordante.

Concluzie: Deși RT-PCR este o tehnică țintită, ce nu poate evidenția apariția unor anomalii structurale sau numerice suplimentare în leucemiile acute, aceasta prezintă avantajul unei rezoluții superioare tehnicilor de citogenetică clasică.

Cuvinte cheie: leucemie acută limfoblastică, leucemie acută mieloidă, markeri moleculari, RT-PCR

MOLECULAR MARKERS IN PATIENTS WITH ACUTE LEUKEMIA

Introduction: Acute leukemias are a group of very heterogeneous malignant diseases, which differ in etiology, pathogenesis and response to treatment. Molecular biology techniques are useful for diagnosis, subclassification and post-therapeutic evaluation of acute leukemias.

Material and method: The studied group included 227 patients from Regional Institute of Oncology, Iași and also from “Sf. Maria” Hospital, Iași, which were investigated from January 2014 until January 2016. Patients diagnosed with acute leukemia (128 with AML- acute myeloid leukemia: 118 adults and 10 children, 99 with ALL- acute lymphoblastic leukemia: 71 adults and 28 children) have been investigated through RT-PCR assay coupled with capillary electrophoresis for the following markers: in ALL: MLL-AF4, TEL-AML1, BCR-ABL-p190, E2A-PBX; in AML: PML-RAR α , AML1-ETO, CBF β -MYH11 FLT3/ITD, and NPM1.

Results: Incidence of characteristic markers for ALL have been: BCR-ABL-p190 – 1.8% children and 12.7% adults, TEL-AML1 – 9.1% children, MLL-AF4 - 3.6% adults, E2A-PBX – 1.8% children and 1.8% adults, and for AML: AML1-ETO – 9.1% adults, PML-RAR α – 16.4% adults, CBF β -MYH11 – 3.6% adults, FLT3 /ITD – 10.9% adults and 3.6% children, NPM1 – 23.6% adults and 1.8% children. Compared with the literature, the incidence of E2A-PBX and TEL-AML1 was lower in the study group and the incidence of PML- RAR α and m-BCR was higher, the remaining results being consistent.

Conclusion: Even if RT-PCR is a targeted technique which can't detect any additional structural and numeric abnormalities in acute leukemia, it presents the advantage of a higher resolution compared with standard cytogenetic techniques.

Keywords: acute lymphoblastic leukemia, acute myeloid leukemia, RT-PCR and molecular markers

P40. EVALUAREA PROFILULUI MATURATIV ÎN CADRUL SERIEI LIMFOIDE B PRIN CITOMETRIE ÎN FLUX MULTIPARAMETRICĂ

Oana-Maria PINTILIE, Mihaela ZLEI, Iona-Doina POPA, Costel ȘLINCU, Georgiana BUTURĂ, Cătălin-Doru DĂNĂILĂ, Angela DĂSCĂLESCU, Ion ANTOHE, Daniela JITARU

Institutul Regional de Oncologie, Iași, Universitatea de Medicină și Farmacie Gr. T. Popa, Iași

Introducere. Managementul terapeutic al pacienților diagnosticați cu neoplazii hematologice depinde în mare măsură de evaluarea profilelor imunofenotipice maturative în cadrul seriilor celulare afectate. Depistarea abaterilor maturative (asincronisme, hiatusuri, markeri aberanți) are o relevanță clinică incontestabilă.

Material și metodă. Lucrarea de față prezintă evaluarea în dinamică a implementării standardului european (Euroflow) de diagnostic imunofenotipic al leucemiei acute cu precursor limfoid B, în unitatea noastră (2013-2015). Impactul tehnic al introducerii sau eliminării unor markeri în panelurile de rutină, precum și al modificării modului de asociere a unor markeri în același tub a fost evaluat în dinamică. Au fost re-analizate fișierele de date generate prin evaluarea imunofenotipică a 239 de probe de aspirat medular (93 la diagnostic și 146 la evaluarea post-terapeutică). Combinațiile de markeri utilizate au suferit modificări etapizate, de la cele din rutina tradițională a laboratorului, la cele recomandate la nivel european (<http://euroflow.org/usr/pub/pub.php>).

Rezultate. Implementarea noului standard permite: 1. detecția optimă a prezenței markerilor ilegiti, prin creșterea numărului de markeri destinați acestui scop (CD13, CD33, CD123, CD66c, CD15, CD65, CD117, NG2); 2. evidențierea optimă a anomaliilor de intensitate membranară, atât prin utilizarea unor markeri exprimați diferit în diferite stadii (CD24, CD81, CD9, CD21), cât și prin utilizarea procedurilor Euroflow de set-up al instrumentului; 3. orientarea testelor de biologie moleculară (NG2, CD66c, CD15, CD9); 4. identificarea optimă a asincronismelor și hiatusurilor maturative.

Concluzii. Calitatea acestui tip de investigație de laborator necesită eforturi coordonate cu cele ale grupurilor de studiu internaționale, asigurând în final o aplicare unitară, standardizată, a rezultatelor în rutina clinică.

Cuvinte cheie: imunofenotipare, leucemie acuta, diferențiere limfoidă B, citometrie în flux

DIFFERENTIATION PATTERNS WITHIN B LYMPHOID LINEAGE ASSESSED BY POLYCHROMATIC FLOW CYTOMETRY

Introduction. Therapeutic management of patients diagnosed with hematologic malignancies largely depends on the immunophenotypic assessment of differentiation patterns within the cell lineage affected. The presence of maturative anomalies (asynchrony, hiatuses, aberrant markers) has unquestionable clinical relevance.

Material and method. This current study presents a dynamic technical evaluation during the implementation process of the European standard (EuroFlow) for the immunophenotypic diagnosis of B Cell Precursors – Acute Lymphoid Leukemia (BCP-ALL) in our unit (2013-2015). The impact of the following factors was considered: 1. introduction/ removal of cell markers and 2. various ways of multiple markers association. Data files generated from 239 bone marrow samples (93 at diagnosis and 146 at evaluation) were re-analyzed. Combinations of markers gradually changed from those used traditionally within our past routine laboratory to those recommended at European level (<http://euroflow.org/usr/pub/pub.php>).

Results: The implementation of EuroFlow protocol has the following advantages: 1. an optimal detection of aberrant markers due to an increased number of particular markers used (CD13, CD33, CD123, CD66c, CD15, CD65, CD117, NG2); 2. a more accurate identification of abnormal intensity expression, due to the use of markers known to be expressed with specific membrane level for specific maturative stage (CD24, CD81, CD9, CD21) and due to a standardized instrument set-up; 3. some guidance for further molecular tests; 4. an optimal identification of asynchronous differentiation.

Conclusion: The accuracy of this type of investigation requires the unitary alignment to international standards, for the maximal benefit of clinical practice.

Keywords: immunophenotyping, acute leukemia, B lymphoid differentiation, flow-cytometry

P41. VARIAȚII IMUNOHISTOCHEMICE ȘI IMUNOFENOTIPICE ÎN LIMFOMUL NONHODGKIN DE MANTA

Julia Andrea ZSOLDOS, Andrada PÂRVU

Institutul Oncologic "Ion Chiricuță", Cluj-Napoca

Introducere: Limfomul cu celule de manta (LNHM) se încadrează ca subtip în sindroamele limfoproliferative cronice. Reprezintă 6-7% din totalul limfoamelor nonhodgkin la adulți, fiind o entitate bine definită din punct de vedere clinic și patologic, prezentând o variabilitate extrem de mare a evoluției clinice, a profilului imunofenotipic, care poate crea dificultăți de diagnostic.

Material și metodă: Pentru a studia variabilitatea imunofenotipică a bolii, am efectuat un studiu analitic, observațional, longitudinal, retrospectiv pe un lot de pacienți diagnosticați cu LNHM între anii 2009 și 2015 în cadrul Institutului Oncologic Cluj-Napoca. Variabile cercetate: profilul imunofenotipic, imunohistochimic al pacienților, caracteristicile demografice ale pacienților, stadiul bolii.

Rezultate: Am identificat 34 de pacienți cu LNHM, media vârstei fiind de 62 ani, majoritatea pacienților fiind în stadiul IV la diagnostic (79%). În lotul studiat, s-au detectat variații imunofenotipice, cele mai mari referindu-se la CD5 și CD23 (13 pacienți /38%). 23 de pacienți au necesitat două sau mai multe linii terapeutice. Evoluția a fost favorabilă la 4 (11%) din cazuri.

Concluzii: Deoarece variațiile imunofenotipice și imunohistochemice ale limfomului de manta conduc spre erori în diagnosticul și tratamentul pacienților, diagnosticul trebuie stabilit cu acuratețe pentru a selecta schema de tratament cea mai adecvată, chimioterapie intensivă +/- transplant medular în cazul limfomului de manta.

Cuvinte cheie: limfom de manta, imunohistochimie, imunofenotipare

IMMUNOHISTOCHEMICAL AND IMMUNOPHENOTYPICAL VARIATIONS IN MANTLE CELL LYMPHOMA

Introduction: Mantle cell lymphoma (MCL) is classified as a subtype of mature B cell lymphoproliferative neoplasm. It is a rare type of lymphoma, representing about 6-7% of all adult non Hodgkin lymphomas. MCL is a well characterized pathological and clinical entity, but the clinical course of patients is variable.

Materials and methods: To determine the immunophenotypical variations of MCL we conducted a longitudinal prospective, observational study, using the clinical charts of patients diagnosed with mantle cell lymphoma from 2009 to 2015. We analyzed the stage of the disease, the immunohistochemical and immunophenotypic profile, demographic characteristics of the patients.

Results: 34 cases were included in the study, with a median age of 62 years. 79% were diagnosed in advanced stage (IV). Variant immunophenotypes were identified in 13 (38%) patients, most including CD5 negativity and CD23 positivity. 23 patients were treated with two or more therapy lines. Among the 34 of cases, 4 (11%) had a positive clinical course.

Conclusions: Some of the variant immunophenotypes could lead to misdiagnosis and treatment error. It is mandatory to have a correct diagnosis, because in general, MCL patients are candidates for intensive chemotherapy +/- stem cell transplant.

Keywords: mantle cell lymphoma, immunohistochemistry, immunophenotyping

P42. FALSA TROMBOCITOPENIE INDUSĂ DE ANTICOAGULANTE: PREZENTARE DE CAZ ȘI SCURT STUDIU DE LITERATURĂ

**Iulia BERCEANU, Mariana PAȚIU, Cristina SELICEAN, Anca Daniela LUP,
Mihnea Tudor ZDRENGHEA**

Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu", Institutul Oncologic "Ion Chiricuța" Cluj-Napoca

Falsa trombocitopenie indusă de EDTA este un fenomen binecunoscut în activitatea zilnică a laboratoarelor de hematologie, însă frecvent subdiagnosticat. Gestionarea unei suspiciuni de falsă trombocitopenie impune repetarea hemoleucogramei din tuburi cu citrat de sodiu sau estimare manuală a trombocitelor pe frotiu din sângele periferic, metoda laborioasă și imprecisă.

Prezentăm un caz în care agregarea plachetelor și falsa trombocitopenie secundară acestui fenomen a avut loc nu doar în cazul recoltării probelor în tuburi cu EDTA, ci și pe alte anticoagulante, respectiv citrat de sodiu și heparină.

Cuvinte cheie : falsa trombocitopenie, EDTA

ANTICOAGULANT RELATED SPURIOUS THROMBOCYTOPENIA : A CASE REPORT AND LITERATURE REVIEW

EDTA-related spurious thrombocytopenia is a well known phenomenon in the routine haematology laboratory, unfortunately underrecognized in our medical community. The management of suspected falsely low platelet count consists of repeating the measurement on blood prelevated on a sodium citrate tube while the more elaborate, but resource-consuming, labour-intensive method is the confirmation of platelet count on cytological examination of blood smears.

We here report a case where aggregation and consecutive spurious thrombocytopenia occurred not only on EDTA, but also on heparin and sodium citrate anticoagulants.

Keywords: spurious thrombocytopenia, EDTA

P43. STUDIUL MUTAȚIEI T315I ÎNTR-O COHORTĂ UNICENTRICĂ DE PACIENȚI CU LEUCEMIE MIELOIDĂ CRONICĂ. CORELAȚII CU STATUSUL BOLII, RĂSPUNSUL LA TRATAMENTUL CU INHIBITORI DE TIROZINKINAZĂ ȘI INDICAȚIA DE TRANSPLANT ALOGENIC

**Delia DIMA¹, Andrei CUCUIANU^{1†}, Ioana FRINC¹, Adrian P.TRIFA², Elena-Cristina
SELICEAN¹, Mariana PAȚIU¹, Ciprian TOMULEASA¹**

¹Institutul Oncologic "Ion Chiricuța" Cluj-Napoca, secția Hematologie

²Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" Cluj-Napoca, Departamentul de Genetica

Introducere. În ciuda progresului înregistrat de la introducerea inhibitorilor de tirozinkinază (ITK) în tratamentul leucemiei mieloide cronice (LMC), transplantul alogenic rămâne singura opțiune curativă. La unii pacienți, rezistența la ITK apare timpuriu, mai ales prin mutații ale domeniului ABL, dintre acestea mutația T315I conferă rezistență la cei 3 ITK disponibili. Mutația T315I apare la aproximativ 20%

din pacienții cu boală rezistentă la ITK. Mai multe alternative terapeutice sunt în studii. Ponatinib, ITK de generația a 3-a a dovedit eficiență și nu s-au decelat mutații rezistente. Alte opțiuni în curs de investigație: MK-0457 inhibitor de aurora kinază, homoharringtonină, rebastinib, ABL001 cu ținta-buzunarul myristoyl al kinazei ABL.

Metode. Am efectuat un studiu prospectiv pe 74 pacienți diagnosticați cu LMC, la care am evaluat mutația T315I. Studiul mutațional a fost efectuat utilizând ARMS-PCR la interval de 6 luni, în caz de răspuns suboptimal, pierdere a răspunsului sau progresie. Mutația T315I a fost corelată cu caracteristicile bolii, răspunsul la tratament și supraviețuirea. Pacienții au fost urmăriți conform ELN (European LeukemiaNet).

Rezultate. Mutația T315I a fost decelată la 3 pacienți și prezența ei a fost corelată cu vârsta tânără la diagnostic, terapie de linia a 2-a cu ITK, boală progresivă și supraviețuire redusă din momentul detecției. Transplantul alogenic a fost propus celor 3 pacienți.

Concluzii. Analiza T315 I trebuie efectuată la intervale de timp regulate. ARMS-PCR este o metodă sensibilă, cu raport bun cost/eficiență pentru detecția mutației T315I. Singurul tratament curativ este transplantul alogenic.

Cuvinte cheie. Leucemie mieloidă cronică, mutație T315I

DETECTION OF T315I MUTATION IN CHRONIC MYELOID LEUKEMIA PATIENTS IN A SINGLE CENTER COHORT. CORRELATIONS WITH DISEASE CHARACTERISTICS, RESPONSE TO TYROSINE KINASE INHIBITOR TREATMENT AND INDICATION OF ALLOGENEIC STEM CELL TRANSPLANTATION

Introduction. Despite the dramatic improvement in hematologic, cytogenetic and molecular responses in the last decade, since the introduction of the tyrosine kinase inhibitors (TKIs) in the treatment of chronic myeloid leukemia (CML), allogeneic stem cell transplantation remains the only proven curative option. Unfortunately, in certain patients, resistance to TKI develops relatively early, especially due to point mutations in the ABL kinase domain, among which the T315I mutation confers resistance to all three currently available TKIs (imatinib, dasatinib, nilotinib). T315I mutation is found in up to 20% of patients with TKI resistant disease. Alternatives have been sought to overcome resistance. No ABL mutation conferring resistance to 3rd generation TKI ponatinib, was observed, but the adverse events profile was important. Many other options are under investigation: aurora kinase inhibitor MK-0457, homoharringtonine, rebastinib, ABL001 targeting the myristoyl pocket of ABL kinase. A peptidomimetic to block dimerization of the N-terminal coiled-coil (CC) dimerization domain of BCR-ABL1 has been explored by several groups. Despite all attempts, the only available option for these patients is allogeneic stem cell transplantation.

Methods. We performed a prospective study on 74 patients diagnosed with CML, for whom we analyzed the T315I mutation. T315 I analysis was performed using ARMS-PCR (with subsequent confirmation by direct sequencing) at intervals of 6 months, in cases of suboptimal response, loss of response or progression. T315I mutation was correlated with disease characteristics, response to treatment and survival. The patients were followed and evaluated according to European Leukemia Net (ELN) criteria.

Results. T315I mutation was detected in 3 patients (4.05%) and its presence was correlated with younger age at diagnosis, second line TKI therapy, progressive disease and decreased survival from the moment of detection. Allogeneic stem cell transplantation was proposed to all 3 patients: 1 patient died before the search for a matched unrelated donor was complete, 1 patient died due to non-engraftment secondary to a sibling transplant, 1 patient is alive and waiting for a donor.

Conclusions. The highly resistant T315I is associated with disease progression, previous multiple lines of TKI therapy, decreased response rate and survival. Mutational analysis should be done at regular intervals and a search for a donor should begin as soon as T315I mutation is found. ARMS-PCR is a sensitive, cost/effective method of T315I mutation detection. The only curative available therapy remains allogeneic stem cell transplantation.

Keywords. Chronic myeloid leukemia, mutation, T315I

P44. INCIDENȚA ȘI SENSIBILITATEA LA ANTIBIOTICE A SPECIILOR DE ACINETOBACTER

Dana Carmen ZAHA¹, Csilla SZABO², Lucia Georgeta DAINA¹

¹Facultatea de Medicină și Farmacie, Universitatea din Oradea

²Laboratorul Clinic al Spitalului Clinic Județean de Urgență Oradea

Introducere: *Acinetobacter* este cunoscut ca agent semnificativ patogen în spital prezentând rezistență crescută la antimicrobienele prescrise. Acest studiu are drept scop de a izola *Acinetobacter* spp. din diverse probe clinice și de a determina spectrul de sensibilitate antimicrobiană în spitalul nostru.

Metode: Studiul a fost realizat în perioada ianuarie-decembrie 2015. Probele au fost secreții traheale sau aspirate bronșice, sputa, sânge, puroi, urină, lichid cefalorahidian, lichid peritoneal. Identificarea speciilor a fost efectuată utilizând tehnicile standard de microbiologie. Testarea sensibilității antimicrobiene s-a realizat prin metoda difuzimetrică.

Rezultate: Dintr-un număr total de 9861 probe prelucrate au fost izolate 249 tulpini *Acinetobacter* spp. (0.025%) dintre care 201 (80.7%) au fost de la ATI și 48 (19.2%) de la secțiile chirurgicale și interne, diferența fiind semnificativ statistic ($p = 0.04$). *Acinetobacter* spp a fost izolat mai frecvent în secrețiile traheale (54.2%), urmate de infecții ale plăgilor (20.4%) și aspiratele bronșice (14%). Infecțiile au fost mai frecvente la bărbați (57.4%) fiind asociate cu factori majori de risc (post-chirurgical, diabet zaharat, cateterizare, spitalizare prelungită, administrare prelungită de antibiotice). *Acinetobacter baumannii* a fost cel mai frecvent izolat (85%). Sensibilitatea maximă a fost observată la colimicina (98.9%), tige-ciclina (66.3%), cefoperazona-sulbactam (43.1%) și intermediară pentru fluorochinolone. Tulpinile nu au prezentat sensibilitate la cefalosporine, piperacilina-tazobactam, macrolide și carbapeneme.

Concluzii: Infecțiile cu *Acinetobacter* spp. ridică probleme deosebite având în vedere rezistența antimicrobiană în creștere. Identificarea precoce și supravegherea continuă vor ajuta la prevenirea răspândirii în mediul spitalicesc.

Cuvinte cheie: Acinetobacter, rezistența antimicrobiană

THE INCIDENCE AND ANTIBIOTIC SENSITIVITY OF ACINETOBACTER SPECIES

Introduction: Acinetobacter spp. is known as significant hospital pathogen with antibiotic resistance to most of the commonly prescribed antimicrobials. This study aims to isolate Acinetobacter spp from various clinical specimens and to determine its antimicrobial sensitivity pattern in our hospital.

Methods: The study was carried out during January-December 2015. Clinical specimens were tracheal or bronchial aspirates, pus, sputum, blood, urine, cerebrospinal fluid, peritoneal fluid. Identification was performed using the standard microbiological methods. Testing for antibiotic sensitivity was done by Kirby-Bauer diffusion method.

Results: From the total 9861 processed specimens, 249 Acinetobacter spp strains (0.025%) were isolated of which 201 (80.7%) were from ICU and 48 (19.2%) isolates were from surgical and internal departments, the difference being significantly statistics ($p = 0.04$). Most common Acinetobacter spp was isolated from tracheal aspirates (54.2%), followed by wound infection (20.4%) and bronchial aspirates (14%). Infections were more common in males (57.4%) and were associated with major risk factors (post-surgical, diabetes mellitus, catheterization, extended hospital stay, prolonged antibiotic usage). Acinetobacter baumannii was the most common species isolated (85%). The maximum sensitivity of Acinetobacter spp. was seen to colistin (98.9%), tigecycline (66.3%), cefoperazone-sulbactam (43.1%) and sensitivity was intermediary for fluoroquinolones. The strains showed no sensitivity to cephalosporins, piperacillin tazobactam, carbapenems and macrolides.

Conclusion: Acinetobacter infections, especially in ICU raises special problems in view of increasing antimicrobial resistance. Early identification and continued surveillance will help prevent the spread of it in hospital environment.

Keywords: Acinetobacter, antimicrobial resistance.

P45. ASPECTE PARTICULARE ALE INFECȚIEI CU CLOSTRIDIUM DIFFICILE ÎN JUDEȚUL BIHOR

Andrei CSEP

Facultatea de Medicină și Farmacie, Universitatea din Oradea

Introducere: Colita produsă de *Clostridium difficile* este o boală infecțioasă și contagioasă, fiind rezultatul modificării florei bacteriene normale a colonului, a colonizării cu *Clostridium difficile*, ducând astfel la inflamația și distrugerea mucoasei.

Obiective: Studiarea cazurilor de infecție cu *Clostridium difficile* în perioada 01.01.2014-31.12.2015, în rândul bolnavilor internați pe secțiile Spitalelor Clinic Județean și Municipal din Oradea, transferați apoi pe secția de Boli Infecțioase în vederea izolării și a tratamentului etiologic.

Metode: Studiul a cuprins un număr de 73 de pacienți diagnosticați cu infecție cu *Clostridium difficile*. Diagnosticul s-a stabilit prin pozitivarea toxinei A și/sau B respectiv a enzimei glutamatdehidrogenaza, folosind metoda imunocromatografică.

Rezultate: La peste 1/3 din pacienți (35,6%), infecția a survenit în urma administrării de clindamicină. Cea mai incriminată secție de unde au provenit pacienții a fost cea de pneumologie cu un procent de 38% din cazuri. Bolnavii cu vârste cuprinse între 51-60 de ani (45%), au fost într-un procent semnificativ

crescut, față de celelalte grupe de vârstă. Formele ușoare de boală (28,8%), au fost tratate cu metronidazol 3x500 mg/zi, formele medii (24,6%) cu asocierea metronidazol 3x250 mg/zi + rifaximină α 4x200 mg/zi, iar formele severe (46,5%) cu vancomicină 4x250 mg/zi + metronidazol 3x250 mg/zi timp de 10 zile.

Concluzii: Medicamentele din clasa lincosamidelor au fost cel mai frecvent implicate în producerea infecției.

Cuvinte cheie: Clostridium difficile, Clindamicină, Metronidazol

PARTICULARITIES OF INFECTION WITH CLOSTRIDIUM DIFFICILE IN BIHOR COUNTY

Introduction. *Clostridium difficile* colitis is an infectious and contagious disease which results from alterations in the normal bacterial flora of the colon, which is then colonized by *Clostridium difficile*, thereby leading to inflammation and destruction of the mucosa.

Objectives. This study reviews cases of infection with *Clostridium difficile* from 01 January 2014 to 31 December 2015, of patients admitted in the County and Municipal Hospitals of Oradea, who were then transferred to the Infectious Disease department for isolation and treatment.

Methods. The study included 73 patients infected with *Clostridium difficile*. The diagnosis was established by positive results for toxin A and/or toxin B, and the enzyme glutamate dehydrogenase, by immunochromatographic method.

Results. In more than $\frac{1}{3}$ of the patients (35.6%), infection resulted after the administration of clindamycin. The pneumology department contributed to most of the cases of infection (38%). The incidence was greater in patients included in the 51-60 years age group (45%) as compared to other age groups. The mild form of the disease (28.8%) was treated with metronidazole 500mg tid, the moderate form (24.6%) with a combination of metronidazole 500 mg tid and rifaximin α 200mg qid, whilst the severe form (46.5%) with vancomycin 250mg qid and metronidazole 250 mg tid for 10 days.

Conclusion. Drugs from the lincosamide class were the most incriminated in causing the infection.

Keywords: Clostridium difficile, vancomycin, metronidazole

P46. STUDIU PRIVIND EVALUAREA HUMAN BETA DEFENSIN-3 ȘI A PROFILULUI MICROBIOLOGIC ÎN PERIIMPLANTITĂ

Afef AL JABOABI¹, Aureliana CARAIANE¹, Mircea GRIGORIAN¹, Ciprian Florin BADEA¹,
Ayla RESIT², Doina Paula BALABAN¹, Victoria BADEA¹

¹Universitatea Ovidius, Constanța, ²Cabinet privat de medicină dentară, Constanța

Introducere. Apariția și evoluția periimplantitei este dependentă de colonizarea rapidă a implantului dentar cu specii bacteriene Gram negative anaerobe și de particularitățile imunologice ale gazdei. Scopul acestui studiu a fost de a analiza relația dintre Human Beta Defensin-3 (hBD-3) și microbiota prezentă în lichidul periimplantar (LPI) la pacienții cu implant dentar cu evoluție favorabilă și la pacienții cu periimplantită.

Material și metode. În studiu au fost cuprinși 20 de pacienți cu implant dentar evaluați clinic oro-dentar și s-au delimitat două loturi de studiu: 8 pacienți cu implant dentar cu evoluție favorabilă și 12 pacienți cu periimplantită. Recoltarea LPI s-a făcut la 3 săptămâni după inserarea implantului dentar.

Cuantificarea hBD-3 s-a făcut prin metoda ELISA, iar pentru identificarea bacteriilor Gram negative anaerobe s-a folosit metoda API. Rezultatele au fost analizate statistic folosind MedCalc 11.0.

Rezultate. Prezența în asociație a speciilor parodontopatogene *Porphyromonas sp.* și *Bacteroides sp.* se asociază cu adâncimea pungii parodontale la pacienții cu periimplantită ($p=0,045$).

Au fost găsite valori mari ale hBD-3 în LPI la pacienții cu periimplantită în comparație cu cei cu evoluție favorabilă a implantului existând diferențe înalt semnificativ statistice între cele două șiruri de valori ($p<0,0001$).

Am identificat de asemenea existența unei asocieri negative între nivelul hBD-3 și adâncimea pungii parodontale la pacienții cu evoluție favorabilă a implantului ($p=0,0003$; $r=-0,952$) și în același timp o asociație pozitivă între cei doi parametrii la pacienții cu periimplantită ($p=0,024$; $r=0,640$).

Concluzii. Relația dintre statusul orodentar, hBD-3 și speciile bacteriene sugerează că nivelurile hBD-3 pot fi folosite ca biomarker în diagnosticul și aprecierea evoluției periimplantitei.

Cuvinte cheie: periimplantită, Human Beta Defensin-3, bacterii anaerobe

STUDY REGARDING HUMAN BETA DEFENSIN-3 AND MICROBIOLOGICAL PROFILE IN PERI-IMPLANTITIS

Introduction. The development of peri-implantitis is dependent on both early colonization of the dental implant with Gram negative anaerobic bacteria species and the hosts immunological particularities. The aim of this study was to analyze the relationship between Human Beta Defensin-3 (hBD-3) and microbiota present in peri-implant sulcular fluid (PISF) in healthy implant and peri-implantitis patients.

Material and methods. The study comprised 20 patients with dental implants that were clinically oro-dental evaluated leading to two study groups: 8 patients with healthy implant and 12 patients with peri-implantitis. PISF samples harvesting was done 3 weeks after dental implant insertion. Quantification of hBD-3 was made by ELISA method and API method was used for the identification of Gram-negative anaerobic bacteria. The results were statistically analyzed using MedCalc 11.0.

Results. *Porphyromonas spp.* and *Bacteroides spp.* were associated with the periodontal pocket depth in peri-implantitis patients ($p = 0.045$).

We found high levels of hBD-3 in PISF of peri-implantitis patients compared to healthy implant patients, and in the same time there are highly significant statistical differences between the two sets of values ($p < 0.0001$).

We also identified the existence of a negative association between the hBD-3 level and periodontal pocket depth in patients with healthy implant ($p = 0.0003$; $r = -0.952$) and at the same time a positive association between the two parameters in peri-implantitis patients ($p = 0.024$; $r = 0.640$).

Conclusions. The relationship between the oro-dental status, hBD-3 and the bacterial species suggests that the levels of hBD-3 can be used as a biomarker in the diagnosis and evolution assessment of the peri-implantitis.

Keywords: peri-implantitis, Human Beta Defensin-3, anaerobic bacteria species

P47. MASTRING™ID VERSUS API®20A ÎN IDENTIFICAREA BACTERIILOR ANAEROBE DIN PERIIMPLANTITE

Mircea GRIGORIAN¹, Aureliana CARAIANE¹, Ciprian Florin BADEA¹, Afef AL JABOOBI¹,
Doina Paula BALABAN¹, Victoria BADEA¹

Universitatea Ovidius, Constanța

Introducere. Periimplantita este una din cele mai grave complicații care poate apare după inserția implantului dentar. Ea este generată de prezența bacteriilor Gram negative anaerobe în lichidul periimplantar (LPI). Obiectivul acestui studiu a fost de a identifica bacteriile Gram negative anaerobe din LPI, compartiv prin MASTRING™ID și API®20A.

Material și metode. Probele de LPI au fost însămânțate pe mediu Columbia și incubate în condiții de anaerobioză (35-37°C, mai mult de 3 zile). Identificarea bacteriilor anaerobe s-a făcut prin două **Metode:** MAST ID™ MID8 ANAEROBE ID RING (MastDiagnostics, UK) - MR și în sistem API®20A (bioMerieux, Franța) –API, pentru confirmare. Primul sistem face o identificare prezumtivă a bacteriilor anaerobe folosind un inel pe care sunt inserate 6 discuri impregnate cu următoarele antibiotice în concentrații mari, folosite doar pentru identificare: Eritromicină, Rifampicină, Colistin, Penicilina G, Kanamicină, Vancomicină. Inelele au fost aplicate se suprafața mediului Columbia însămânțat în prealabil. După incubarea în aceleași condiții, rezultatele sunt interpretate astfel: sensibil – zonă clară de inhibiție ≥15 mm și rezistent - zonă clară de inhibiție <15 mm. Identificarea se face conform tabelului dat de producător. Limitele testului MR sunt date de necesitatea confirmării identificării și în același timp de faptul că testul nu servește ca antibiogramă.

Rezultate. Au fost evaluate un total de 32 de probe în care s-au identificat 60 de tulpini de bacterii Gram negative anaerobe: *Prevotella melaninogenica/oralis* MR-17, API-18; *Porphyromonas sp.* MR-26, API-24; *Bacteroides fragilis* MR-8, API-9; *Bacteroides urealyticus* MR-7, API-5; *Fusobacterium mortiferum/varium* MR-2, API-4.

Concluzii. Rata mare de confirmare prin metoda API®20A demonstrează că metoda MASTRING™ID poate fi folosită cu succes în identificarea prezumtivă a bacteriilor anaerobe în periimplantită. Testarea ulterioară a sensibilității la antibiotice permite alegerea corectă a tratamentului pacienților cu periimplantită.

Cuvinte cheie: MASTRING™ID, API®20A, bacterii anaerobe

MASTRING™ID VERSUS API®20A FOR IDENTIFYING ANAEROBIC BACTERIA IN PERI-IMPLANTITIS

Introduction. Peri-implantitis is one of the most important complications that can occur after dental implant insertion. It is generated by the presence of Gram-negative anaerobic bacteria in the peri-implant sulcular fluid (PISF). The aim of this study was to identify Gram negative anaerobic bacteria species from PISF, comparative by MASTRING™ID and API®20A.

Material and methods. The PISF samples were inoculated on Columbia media surface and incubated under anaerobic conditions (35-37°C, for more than 3 days). Identification of anaerobic bacteria was done by two methods: MAST ID™ MID8 ANAEROBIC ID RING (MastDiagnostics, UK) – MR and API®20A system (bioMerieux, France) – API, for confirmation. The first system makes a

presumptive identification of anaerobic bacteria species by using a ring on which there are inserted six discs impregnated with high concentrations of the following antibiotics, used only for identification: Erythromycin, Rifampicin, Colistin sulphate, Penicillin G, Kanamycin, Vancomycin. The rings were applied on the Columbia media surface, that was previously inoculated. After incubation under the same conditions, the results are interpreted as follows: sensitive - clear zone of inhibition ≥ 15 mm and resistant - clear zone of inhibition < 15 mm. The identification is done according to the manufacturers' table. MR test limits are given by the need to confirm identification and at the same time by the fact that the test does not serve as an antibiotic sensitivity test.

Results. They were evaluated a total of 32 samples in which were identified 60 strains of Gram-negative anaerobic bacteria: *Prevotella melaninogenica/oralis* MR-17, API-18; *Porphyromonas spp.* MR-26, API 24; *Bacteroides fragilis* MR-8, API-9; *Bacteroides urealyticus* MR-7 API-5; *Fusobacterium mortiferum/varium* MR-2, API-4.

Conclusions. A high rate of confirmation by API[®]20A demonstrated that the MASTRING[™]ID method can be successfully used to presumptive identify anaerobic bacteria in peri-implantitis. Further testing of antibiotic sensibility allows the correct choice of treatment in patients with peri-implantitis.

Keywords: MASTRING[™]ID, API[®]20A, anaerobic bacteria

P48. SPIROCHETE IDENTIFICATE PRIN REACȚIA DE POLIMERIZARE ÎN LANȚ ÎN DIAGNOSTICUL BOLII PARODONTALE

Mircea GRIGORIAN¹, Cristina NUCĂ¹, Lucian Cristian PETCU¹, Alina MARTINESCU¹, Aureliana CARAIANE¹, Doina Paula BALABAN¹, Victoria BADEA¹

Universitatea Ovidius, Constanța

Introducere. Etiologia bolii parodontale este multifactorială, principalele cauze fiind prezența bacteriilor și statusul imun. Reacția de polimerizare în lanț (PCR), ca tehnologie de vârf, are în prezent aplicabilitate și în domeniul medicinei dentare, boala parodontală fiind una din afecțiunile care beneficiază de această metodă. Dat fiind faptul că spirochetele se identifică greu prin metodele clasice, tehnica PCR a venit în întâmpinarea unui diagnostic corect. Scopul acestui studiu este de a pune în evidență prezența *Treponemei denticola* – reprezentant important în cadrul complexului roșu – și de a evalua ponderea acestei specii comparativ cu alte specii parodontopatogene, prin intermediul tehnicii PCR.

Material și metode. În studiu au fost incluși 32 de subiecți, care în urma examenului clinic orodentar au fost împărțiți în 2 loturi: 15 subiecți sănătoși și 17 pacienți cu adâncimea pungii parodontale între 6 și 9 mm. Speciile bacteriene parodontopatogene au fost identificate din probele de lichid gingival și puroi parodontal prin MicroID[®]. Rezultatele obținute au fost analizate statistic folosind programul SPSS 18.

Rezultate. Am obținut diferențe semnificative statistice ($p=0,0001$) privind prezența *Treponemei denticola* între lotul de sănătoși și cel cu boală parodontală. De asemenea, există o corelație înaltă ($p<0,001$) între prezența *Treponemei denticola* și adâncimea pungii parodontale ($r=0,725$).

Concluzii. Rezultatele studiului demonstrează că *Treponema denticola* este un factor important în apariția și evoluția gravă a bolii parodontale. Tehnica PCR pune în evidență prezența acestei specii, permițând un diagnostic corect și în același timp realizând premisele unui tratament eficient.

Cuvinte cheie: PCR, *Treponema denticola*, boală parodontală

SPIROCHETES IDENTIFIED BY POLYMERASE CHAIN REACTION IN THE PERIODONTITIS DIAGNOSIS

Introduction. Periodontitis etiology is multifactorial, the main causes being the presence of bacteria species and the immune status. Polymerase chain reaction (PCR), as a top technology, is currently applicable in the field of dentistry, periodontitis being one of the diseases benefiting by this method. Given that spirochetes are difficult to identify by classical methods, PCR technique came to met a correct diagnosis. The aim of this study is to identify the presence of *Treponema denticola* - important representative in the red complex - and to evaluate the proportion of this species among other periodontopathogen bacteria by using PCR.

Material and methods. The study included 32 subjects, which were divided into 2 groups after the orodental clinical examination: 15 healthy subjects and 17 patients with periodontal pocket depth between 6 and 9 mm. Bacterial species were identified from the samples of gingival liquid and periodontal pus through MicroIDent®. The results were statistically analyzed using SPSS 18.

Results. We obtained significant statistically differences ($p=0.0001$) regarding the presence of *Treponema denticola* between the healthy and the periodontitis patients groups. There is also a high correlation ($p<0.001$) between the presence of *Treponema denticola* and periodontal pocket depth ($r=0.725$).

Conclusions. The study results demonstrates that *Treponema denticola* is an important factor in the onset and severe evolution of periodontitis. PCR technique revealed the presence of this bacteria species allowing an accurate diagnosis and at the same time offering the premises of an effective treatment.

Keywords: PCR, *Treponema denticola*, periodontitis

P49. CANDIDOZA RECIDIVANTĂ ȘI INFECȚIA HIV LA COPIL – PREZENTARE DE CAZ

Cristian SAVA¹, Ladislau RITLI¹, Andreea BALMOȘ¹

¹ Facultatea de Medicină, Universitatea din Oradea

Introducere. În ciuda progreselor considerabile în combaterea virusului imunodeficienței umane (HIV), numărul copiilor infectați a crescut în mod dramatic în special în țările în curs de dezvoltare, reprezentând o provocare pentru lumea medicală.

Prezentare de caz. Băiat de 13 ani, dintr-o familie cu statut socioeconomic ridicat, seinternează prezentând un istoric de 6 luni de diaree persistentă, pierdere în greutate de 7 kg, astenie marcată. În această perioadă a fost tratat pentru infecții candidozice recurente, evidențiate prin coproculturi și culturi nazofaringiene pozitive, rezistente la tratamentul antifungic administrat. Examenul clinic: stare generalăalterată, paloare, cașexie (percentila 5a), fără adenomegalie sau hepatosplenomegalie. Testele de laborator au relevat neutropenie severă, limfocite reactive, reactanți de fază acută în limite normale; testele serologice au exclus alte etiologii virale/bacteriene; coprocultura și coprocitograma - negative; ecografia abdominală a evidențiat anse dilatate cu cantitate mare de lichid și peristaltism accentuat; aspectul caracteristic al frotiului măduvei osoase - reactivitate limfoidă - a fost sugestiv pentru o infecție virală. Suspiciunea de infecție cu HIV a fost confirmată pe baza anticorpilor specifici HIV pozitivi prin tehnica ELISA, urmata de testul de confirmare Western Blot. Pacientul a fost transferat la Clinica de Boli Infecțioase pentru inițierea terapiei antiretrovirale.

Concluzii. Infecția HIV trebuie inclusă în diagnosticul diferențial al unei candidoze persistente, având în vedere faptul că aceasta este printre cele mai frecvente afecțiuni asociate infecției HIV, deseori reprezentând primul semn al progresiei către stadiile avansate de boală (SIDA).

Cuvintele cheie. HIV, copil, candidoza, diaree cronică

RECURRENT CANDIDIASIS AND PEDIATRIC HIV INFECTION –CASE REPORT

Introduction. Despite the considerable progress towards eliminating human immunodeficiency virus, the number of children infected with HIV has risen dramatically especially in developing countries, being a challenge to the medical community.

Case report. A 13-year-old boy, belonging to a family with high socio-economic status, was referred to us with a 6 months history of persistent diarrhea, 7 kg weight loss and wasting. During this period he was treated for recurrent candidiasis infections demonstrated by positive stool and nasopharyngeal cultures, which did not respond to standard antifungal agents. Clinical examination revealed malaise, pallor, cachexia without adeno-hepatosplenomegaly. Laboratory tests showed severe neutropenia, reactive lymphocytes, acute phase reactants in normal range; serology was negative for several viral or bacterial infections; stool tests revealed negative culture and no leukocytes or erythrocytes; abdomen ultrasound scan demonstrated dilated loops with high amount of liquid and accentuated peristaltic waves; the appearance of the bone marrow aspirate smear - lymphoid reactivity - was suggestive for a viral infection. Suspicion of HIV infection was confirmed based on positive HIV specific antibodies using ELISA followed by a confirmatory Western blot test. The patient was transferred to Infectious Disease Clinic to start the antiretroviral therapy.

Conclusions. HIV infection must be considered in the differential diagnosis of a persistent candidiasis, given that this is among the most common disorders associated with HIV infection, often representing the first sign of progression to advanced stages of the disease (AIDS).

Keywords. HIV, child, candidiasis, chronic diarrhea

P50. GERMENI MULTIREZISTENȚI IZOLAȚI ÎNTR-O SECȚIE DE NEONATOLOGIE TERAPIE INTENSIVĂ

Delia MUNTEAN¹, Carmen AXENTE¹, Monica LICKER¹

U.M.F. VICTOR BABEȘ TIMIȘOARA

Scop: Ne-am propus determinarea prevalenței tulpinilor multirezistente la antibiotice (MDR) izolate de la pacienții unei secții de neonatologie și terapie intensivă.

Metode: Timp de un an (August 2014-August 2015) au fost prelevate probe de la pacienții Secției de Neonatologie Terapie Intensivă din cadrul Spitalului Clinic Județean de Urgență Timișoara (România). Pentru identificarea germenilor și testarea sensibilității la antibiotice am utilizat sistemul Vitek 2 (BioMérieux). Au fost considerate tulpini MDR toate tulpinile rezistente la cel puțin trei clase de antibiotice.

Rezultate: Din 319 probe prelevate, am izolat 93 tulpini bacteriene, din care 54 (58.06%) au fost MDR. Microorganismele mai frecvent izolate au fost reprezentate de: *Staphylococcus aureus* (22 tulpini), *Enterobacteriaceae* (13 tulpini), *Pseudomonas aeruginosa* (4 tulpini) and *Enterococcus faecalis* (3 tulpini).

Toate tulpinile MDR studiate au prezentat rezistență la beta-lactamine, 20.37% dintre aceste tulpini fiind enterobacterii producătoare de beta-lactamaze cu spectru extins (BLSE), iar 40.74% *Staphylococcus aureus* metilino-rezistent (MRSA). Dintre tulpinile MDR 70.37% au fost rezistente la aminoglicozide iar 33.33% la fluoroquinolone. Niciuna din tulpinile studiate nu a prezentat rezistență la glicopeptide, oxazolidinone sau colistin.

Concluzii: Am observat o prevalență ridicată a tulpinilor MDR la sugarii din Neonatologie Terapie Intensivă. Nou-născuții cu risc ridicat de infecții cu germeni MDR ar trebui să fie ținta unor măsuri preventive speciale.

MULTIDRUG RESISTANT PATHOGENS ISOLATED IN AN NEONATAL INTENSIVE CARE UNIT

Purpose: The aim of our study was to determine the prevalence of multidrug resistant (MDR) bacterial strains isolated from patients hospitalized in an neonatal intensive care unit (NICU).

Methods: For one year (August 2014-August 2015) samples were collected from NICU patients, at Timisoara Emergency Clinical County Hospital (Romania). Identification of germs and susceptibility tests were performed by the Vitek 2 system (BioMerieux). We considered as MDR, any strain resistant to more than three classes of antimicrobial agents.

Results: From 319 collected samples we isolated 93 bacterial strains, of which 54 (58.06%) were MDR. The most frequently isolated microorganisms were: *Staphylococcus aureus* (22 strains), *Enterobacteriaceae* (13 strains), *Pseudomonas aeruginosa* (4 strains) and *Enterococcus faecalis* (3 strains). All of the studied MDR strains was resistant to beta-lactam antibiotics and of these strains, 20.37% were extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *Enterobacteriaceae* and 40.74% were methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). For MDR strains, the frequency of resistance was 70.37% to aminoglycosides and 33.33% to fluoroquinolones. We have not isolated any resistant strain to glycopeptides, oxazolidinones or colistin.

Conclusions: We noticed a high prevalence of MDR strains at infants from NICU. Neonates with high risk of infection with MDR germs should be the target of special preventive measures.

Keywords: multidrug resistant strains, neonatal intensive care unit, infection

P51. PREVALENȚA ȘI PROFILURILE DE SUSCEPTIBILITATE ALE BACILILOR GRAM NEGATIVI NEFERMENTATIVI ÎNTR-O SECȚIE DE TERAPIE INTENSIVĂ

Carmen AXENTE¹, Luminita BĂDIȚOIU^{1,2}, Delia MUNTEAN¹, Florin HORHAT^{1,3},
Ovidiu BEDREAG^{1,3}, Elena HOGEA¹, Dorina DUGAEȘESCU¹, Roxana MOLDOVAN^{1,2},
Monica LICKER^{1,3}

¹UMF "Victor Babeș", Timișoara, ²Centrul regional de sănătate publică Timișoara

³Spitalul Clinic Județean de Urgență Timișoara

Introducere: Bacilii Gram negativi nonfermentativi (BGN - NF) sunt o cauză importantă a infecțiilor nosocomiale. În plus, aceștia prezintă un real pericol din cauza rezistenței la antibiotice din ce în ce mai crescute, în special în secțiile de Terapie intensivă (TI).

Metode: În perioada 01.01.2012-31.12.2013 am efectuat un studiu de supraveghere a rezistenței BGN –NF în secția de TI a Spitalului Clinic Județean de Urgență “Pius Brânzeu” Timișoara. Identificarea germenilor, testele de sensibilitate, precum și încadrarea în fenotipuri de rezistență s-au efectuat pe sistem automat Vitek 2 Compact (Biomerieux). Tulpinile multirezistente (MDR) au fost definite ca fiind rezistente la cel puțin un preparat din 3 clase de antibiotice. Densitatea incidenței tulpinilor rezistente a fost definită ca numărul de tulpini rezistente la 1000 pacienți-zile.

Rezultate: S-au identificat un număr de 275 de tulpini de BGN -NF. *Pseudomonas aeruginosa* și *Acinetobacter baumannii* au fost cel mai frecvent izolate, cu 137 respectiv 134 tulpini. S-au mai izolat: 2 tulpini de *P. fluorescens*, 1 tulpină de *P. luteola* și 1 tulpină de *P. putida*. Densitatea incidenței tulpinilor rezistente la 1000 pacienți-zile pentru cele două specii mai frecvent izolate a fost de: 4,23 pentru *A. baumannii* și 3,01 pentru *P. aeruginosa*. Pentru tulpinile de *A. baumannii*, 54.47% au fost MDR și pentru *P. aeruginosa* 37.96% au produs beta-lactamaze cu spectru larg (BLSE).

Concluzii: În secția de TI studiată, cei mai frecvent izolați BGN-NF au fost: *P. aeruginosa* și *A. baumannii*.

Cuvinte cheie: nonfermentativi, terapie intensivă

PREVALENCE AND SUSCEPTIBILITY PROFILES OF NONFERMENTATIVE GRAM NEGATIVE BACILLI IN AN INTENSIVE CARE UNIT

Introduction: Nonfermentative gram-negative bacilli (NFGNB) are an important cause of nosocomial infections. In addition, because of the increasingly antibiotic resistance, they represent a real danger especially in the intensive care units (ICU).

Methods: During the period between January the 1st 2012 and December the 31st 2013, a prospective study was conducted for the surveillance of the resistance of NFGNB in the largest ICU of Western Romania: Spitalului Clinic Județean de Urgență “Pius Brânzeu” Timișoara. Sample preparation was conducted in the Clinic Laboratory of the Hospital. Identification of the germs, the susceptibility tests, and the resistance phenotypes were performed on the automated system Vitek 2 Compact (Biomerieux). The multidrug-resistant strains (MDR) were defined as acquired resistance to at least one agent in three or more antimicrobial categories. The incidence density of MDR strains expressed per 1000 patient-days.

Results: We identified a total of 275 strains of NFGNB. *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* were the most frequently isolated with 137 strains and 134, respectively. We isolated also: 2 strains of *Pseudomonas fluorescens*, 1 strain of *Pseudomonas luteola* and 1 strain of *Pseudomonas putida*. The incidence density of MDR strains expressed per 1000 patient-days for the two most frequently isolated species was: 4.23 for *A. baumannii* and 3.01 for *P. aeruginosa*. For *A. baumannii* strains, 54.47% were MDR and for *P. aeruginosa* strains, 37.96% were producer of broad-spectrum beta-lactamases.

Conclusions: In the studied ICU the most frequently isolated NFGNB were: *P. aeruginosa* and *A. baumannii*.

Keywords: Nonfermentative, Intensive care

P52. PREVALENȚA ȘI SUSCEPTIBILITATEA LA ANTIBIOTICE A MICOPLASMEI ȘI UREAPLASEI URO-GENITALE

Dorina DUGĂEȘESCU¹, Carmen AXENTE¹, Delia MUNTEAN¹, Livius ȚÂRNEA¹, Ciprian PILUȚ¹, Denis ȘERBAN¹, Elena HOGEA¹, Roxana MOLDOVAN¹, Monica LICKER¹

Universitatea de Medicină și Farmacie „V. Babeș” Timișoara

Introducere. Infecțiile date de *Mycoplasma hominis* și *Ureaplasma urealyticum* sunt afecțiuni cu transmitere sexuală și au în general o evoluție cronică, datorită tabloului sărac în semne clinice. Asemenea persoane sunt considerate „purtătoare sănătoase” ale infecției, fiind un rezervor de germeni ce vor fi vehiculați pe cale sexuală.

Metode. Studiul a fost efectuat în perioada 01. 2015 – 01. 2016 în Laboratorul de analize al Centrul de Diagnostic Medical din Timișoara în colaborare cu UMF”V. Babeș” Timișoara, Disciplina de Microbiologie. S-a urmărit prevalența și susceptibilitatea la antibiotice a *M. hominis* și *U.urealyticum* în secreții uro-genitale provenite de la femei și bărbați. Pentru identificare și interpretarea rezultatelor s-a folosit kit-ul Mycoplasma IST 2. S-au prelucrat 235 probe: 36,2% secreții endocervicale, 23,8% secreții uretrale, 30,6% și 9,4% sperme.

Rezultate. S-au identificat 56 tulpini de micoplasme și ureaplasme în: 17 secreții endocervicale, 9 secreții uretrale, 28 de urini și 2 spermoculturi. Cele mai multe tulpini au fost sensibile la doxiciclină și pristinamicina (94,7% *M. hominis* și 97% *U. urealyticum*) și josamicina (89,5% *M. hominis* și 97% *U. urealyticum*). La ofloxacin au fost sensibile 68% tulpini de *M. hominis* și 82% *U. urealyticum*, iar la ciprofloxacina au fost sensibile 26% tulpini de *M. hominis* și 51,5% *U. urealyticum*.

Concluzii. Rezistența cea mai mare pentru ambele microorganisme s-a întâlnit la ciprofloxacina (73,7% *M. hominis* și 48,5% *U. urealyticum*) și ofloxacin (31,6% *M. hominis* și 18,2% *U. urealyticum*). Rezistența cea mai scăzută a fost la pristinamicina și doxiciclină (5,3% *M. hominis* și 3% *U. urealyticum*).

Terapie adecvată a afecțiunilor din sfera uro-genitală și sterilizarea purtătorilor se face doar printr-un diagnostic bacteriologic corect și interpretarea atentă a susceptibilității la antibiotice.

Cuvinte cheie: *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, Mycoplasma IST 2

PREVALENCE AND ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY OF UROGENITAL MYCOPLASMA SP. AND UREAPLASMA SP

Introduction. *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* are germs that transmitted by sexual contact and generally have a chronic course, due to poor clinical symptomatology. Such persons are considered „healthy carriers”, being a source infection for sexually transmitted bacteria.

Methods. The study was conducted during 01.2015 – 01.2016 at the Analysis Laboratory of the Medical Diagnostic Center Timisoara in collaboration with UMPT „V. Babes”, Microbiology Department.

The aim of our study was to determine the prevalence, and antibiotic susceptibility of *M. hominis* and *U. urealyticum* in uro-genital secretions collected in both women and men. For the identification and interpretation of results we used the Mycoplasma IST kit. We processed 235 samples of which: 86 endocervical secretions, 56 urethral secretions, 72 urine and 21 sperm samples.

Results. We identified 56 strains of *M. hominis* and *U. urealyticum* in 17 endocervical secretions, 9 urethral secretions, 28 urine and 2 sperm cultures. Most strains were sensitive to doxycycline and pristinamicin (94.7% *M. hominis* and 97% *U. urealyticum*) and josamicin (89.5% *M. hominis* and 97%

U. urealyticum). 68% strains *M. hominis* and 82% *U. urealyticum* were sensitive to ofloxacin, and 68% strains *M. hominis* and 82% *U. urealyticum* were sensitiv to ciprofloxacin.

Conclusions. The highest resistance for both microorganisms was reported for ciprofloxacin (73.7% *M. hominis* and 48.5% *U. urealyticum*) and ofloxacin (31.6% *M. hominis* and 18.2% *U. urealyticum*). Least resistance was manifested in pristinamicina and doxiciclina (5.3% *M. hominis* and 3% *U. urealyticum*).

The correct bacteriological diagnosis and antimicrobial susceptibility interpretation are considered to be the only way for adequate therapy of the uro-genital diseases and carriers sterilisation.

Keywords: *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum*, Mycoplasma IST 2

P53. MICROORGANISME CU TRANSMITERE SEXUALĂ IZOLATE DIN SECREȚII URO-GENITALE

Dorina DUGĂEȘESCU¹, Delia MUNTEAN¹, Elena HOGEA¹, Carmen AXENTE¹, Denis ȘERBAN¹, Ciprian PILUȚ¹, Livius ȚÂRNEA¹, Roxana MOLDOVAN¹, Monica LICKER¹

¹Universitatea de Medicină și Farmacie „V. Babeș” Timișoara

Introducere. În toate țările, bolile cu transmitere sexuală sunt printre cele mai frecvente dintre toate infecțiile. Persoanele asimptomatice sau nediate diagnosticate reprezintă un rezervor de infecție care răspândesc în mod facil o serie de germeni.

Metode. Au fost recoltate 243 produse patologice (111 secreții cervicale, 62 secreții vaginale, 51 secreții uretrale și 19 sperme) care s-au prelucrat în Laboratorul de Bacteriologie al Disciplinei de Microbiologie – Virusologie al UMF”Victor Babeș” din Timișoara. S-a urmărit izolarea și identificarea microorganismelor cu transmitere sexuală în prelevate provenite din sfera uro-genitală, de la 237 pacienți cu afecțiuni sau suspiciune de boală cu transmitere sexuală. S-a folosit kit-ul AF Genital System.

Rezultate. Au fost pozitive: 13,6% secreții uretrale, 3,7% sperme, 16% secreții vaginale și 31,3% secreții cervicale. Patogenii cu transmitere sexuală au avut următoarea pondere: *Trichomonas vaginalis* (31,8%), *Gardnerella vaginalis* (30,8%), *Mycoplasma hominis* (12%), *Ureaplasma urealyticum* (13,2%) și *Neisseria gonorrhoeae* (12%). Cei mai mulți agenți patogeni cu transmitere sexuală au fost izolați în secreții vaginale (40,6%) și secreții uretrale (28,6%).

Concluzii. În urma acestui studiu, microorganismele cu transmitere sexuală izolate de la femei au fost în ordinea frecvenței: *Gardnerella vaginalis* (36%), *Mycoplasma hominis* (17,6%), *Neisseria gonorrhoeae* (9,3%) și *Trichomonas vaginalis* (31,3%). La bărbați s-au identificat *Trichomonas vaginalis* (33.1%) urmat de *Ureaplasma urealyticum* (29.6%), *Gardnerella vaginalis* (18,5%) și *Neisseria gonorrhoeae* (18.5%). Aceste microorganisme nu sunt greu de identificat, însă controlul afecțiunilor cu transmitere sexuală este dificil de realizat, cu atât mai mult cu cât unele dintre aceste infecții evoluează asimptomatic.

Cuvinte cheie: AF Genital System, boli cu transmitere sexuală

SEXUALLY TRANSMITTED MICROORGANISMS IN URO-GENITAL ISOLATES

Introduction. In all countries, STDs are among the most common of all infections. People with asymptomatic or unreported STDs are unlikely to receive treatment thus facilitating further cycles of infection and spread.

Methods. The 234 pathological samples (111 cervical secretions, 62 vaginal secretions, 51 urethral secretions and 19 sperm) have been processed in the Bacteriology Laboratory of the Microbiology Department of UMP "Victor Babeș" Timisoara. The aim was to isolate and identify sexually transmitted microorganisms from 237 patients with suspected or sexually transmitted disease using the AF Genital System kit.

Results. Positive results were obtained as follows: urethral secretions 13.6%, sperm 3.7%, vaginal secretions 16% and cervical secretions 31.3%. The following sexually transmitted pathogens were isolated: *Trichomonas vaginalis* (31.8%), *Gardnerella vaginalis* (30.8%), *Mycoplasma hominis* (17.6%), *Ureaplasma urealyticum* (13.2%) and *Neisseria gonorrhoeae* (12%). Most sexually transmitted pathogenic agents were isolated in vaginal discharge (40.6%) and urethral secretions (28.6%).

Conclusions. In our study the sexually transmitted microorganisms isolated from women was: *Gardnerella vaginalis* (36%), followed by *Mycoplasma hominis* (17.6%), *Neisseria gonorrhoeae* (9.3%) and *Trichomonas vaginalis* (31.3%). In men has been identified in the first *Trichomonas vaginalis* (33.1%) followed by *Ureaplasma urealyticum* (29.6%), *Gardnerella vaginalis* (18.5%) and *Neisseria gonorrhoeae* (18.5%). Identification this microorganisms is not complicated, but control of sexually transmitted infections is difficult, especially due to the fact that many infections are asymptomatic.

Keywords: AF Genital System, sexually transmitted disease

P54. SCREENING FENOTIPIC PENTRU DETECȚIA OXA-48, ESBL ȘI MBL LA TULPINI DE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* CARBAPENEM-REZISTENTE

Luminița MATROȘ¹, Monica Ioana CIONTEA², Lia Monica JUNIE¹, Stanca Lucia PANDREA^{1,2}

¹UMF "Iuliu Hațieganu", Cluj-Napoca

²Institutul Regional de Gastroenterologie și Hepatologie "Prof. Dr. O. Fodor", Cluj-Napoca

Introducere: *Klebsiella pneumoniae* a câștigat în ultimii ani rezistență multiplă la antibiotice, semnalându-se, pe lângă fenotipul producător de β-lactamaze cu spectru extins (ESBL), producția de oxacilinaze (OXA-48) și metalo-β-lactamaze (MBL).

Scopul studiului a constat în identificarea prin metode fenotipice de screening, prezența acestor fenotipuri de rezistență la tulpinile de *K. pneumoniae*.

Material și Metode: Au fost incluse în studiu 22 de tulpini nonrepetitive de *K. pneumoniae* carbapenem-rezistente izolate de la pacienți spitalizați în IRGH Cluj-Napoca, în perioada martie-aprilie 2015. Interpretarea antibiogramelor s-a realizat cu ajutorul sistemului automat Vitek 2 Compact, conform standardului EUCAST în vigoare. S-au folosit ca și metode fenotipice de screening, kit-urile: KPC/Metallo-β-lactamase and OXA-48 (ROSCO Diagnostica, Danemarca), ESBL (ROSCO), E-test MP/MPI și CT/CTL (BioMérieux, Franța).

Rezultate: Tulpinile de *K. pneumoniae* testate au fost izolate din diverse produse patologice: urocultură (8), lichid peritoneal (4), hemocultură (3), secreție traheală (1), puroi (5) și mâini personal secție ATI (1).

Toate tulpinile testate au fost pozitive atât pentru OXA-48 (rezistența la temocilină) cât și pentru ESBL, posibil prin producerea de CTX-M. La 7 tulpini se suspicionează MBL, cu benzile E-test MP/MPI, observându-se o ușoară rarefiere a culturii la MPI.

Concluzii: Aceste teste au dovedit circulația tulpinilor de *K. pneumoniae* producătoare de OXA-48 și CTX-M. Unele tulpini ar putea produce și MBL, fapt care trebuie confirmat prin PCR. Folosirea de rutină a acestor kit-uri este extrem de utilă pentru cunoașterea pattern-ului de rezistență a tulpinilor circulante în mediul spitalicesc și prevenirea răspândirii alarmante a acestora.

Cuvinte cheie: *Klebsiella pneumoniae*, β -lactamaze cu spectru extins, metalo- β -lactamaze

PHENOTYPIC SCREENING FOR DETECTION OXA-48, ESBL AND MBLs TO CARBAPENEM RESISTANT KLEBSIELLA PNEUMONIAE STRAINS

Introduction: In recent years *Klebsiella pneumoniae* won multiple antibiotic resistance mechanisms, signaled by producing extended spectrum β -lactamases phenotype (ESBLs) in addition with, oxacilinase (OXA-48) or metallo- β -lactamases (MBLs) production.

Material and methods: In the study were included 22 strains of non repetitive carbapenem-resistant *K. pneumoniae* strains isolated from hospitalized patients in IRGH Cluj-Napoca, during March-April 2015. The interpretation of antibiotic sensitivity testing was done by the automated system Vitek 2 Compact, according to the EUCAST standards. They were used as phenotypic screening methods the following kits: KPC/Metallo- β -lactamase and OXA-48 (ROSCO Diagnostica, Denmark), ESBL (ROSCO), E-test MP/MPI and CT/CTL (BioMérieux, France).

Results: *K. pneumoniae* tested strains were isolated from different biological specimens: urine (8), peritoneal fluid (4), blood (3), tracheal secretion (1), pus (5) and hands of a nurse from the ICU ward (1). All tested strains were positive both for OXA-48 (temocilline resistance) and for ESBL, possible by producing CTX-M. Seven MBL strains were suspected, with the E-test strips MP/MPI, noticing a slight thinning of culture to MPI.

Conclusions: These tests showed the circulation of *K. pneumoniae* strains producing OXA-48 and CTX-M. Some strains could produce and MBLs, but this fact must be confirmed by PCR. The routine use of these kits is extremely useful for understanding the pattern of resistance of circulating strains in the hospital and preventing the alarming spread of them.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*, extended spectrum β -lactamases, metallo- β -lactamases

P55. INFLUENȚA ETIOLOGIEI INFECȚIILOR URINARE ASUPRA PRODUCȚIEI DE CITOKINE

Lavinia DABA¹, Liliana TUTA¹, Victoria BADEA¹, Ileana ION¹

Universitatea "Ovidius", Constanța

Introducere: Pacienții cu afecțiuni renale prezintă imunodeficiență asociată cu un nivel crescut de citokine. Unele dintre acestea (angiotensina II, eritropoetina, IL-1, IL-1 β , IL-6), dar și endotoxinele, LDL, HDL sau stresul oxidativ stimulează producția de endotelină de la nivelul celulelor endoteliale. Endotelinele au efect proinflamator prin intermediul IL-1 β , IL-6, dar și prin chemotaxia neutrofilelor.

În studiul efectuat am încercat să determinăm asocierea dintre etiologia infecțiilor urinare și nivelul de IL-1 β sau IL-6.

Metode: Am determinat nivelul de IL-1 β , IL-6 și de endotelină la 104 pacienți nedializați cu diferite grade de insuficiență renală și infecție urinară (vârsta 65,57 \pm 9,36 ani).

Determinările de citokine serice sau urinare s-au efectuat prin metoda imunoenzimatică ELISA. Identificarea și testarea sensibilității s-au realizat pe sistemul Vitek 2, cu ajutorul cardurilor GN-ID și AST-GN 27.

Rezultate: Infecțiile urinare din care am izolat speciile de *Klebsiella* au fost asociate cu o concentrație crescută de IL-1 β (2,46 \pm 0,75pg/ml vs 1,5 \pm 0,3pg/ml la lotul martor). În schimb, la pacienții cu infecții determinate de *E. coli* s-a observat un nivel ridicat de IL-6 (4,28 \pm 1,34 pg/ml vs 2,5 \pm 2,7pg/ml la lotul martor) și de endotelină urinară (0,81 \pm 0,08 fM/ml vs 0,27 \pm 0,03fM/ml la lotul martor).

Concluzii: Considerăm că îmbunătățirea cunoștințelor în ceea ce privește relația dintre fiziologia bacteriană și cea renală are contribuții majore la terapia complexă și de lungă durată a afecțiunilor renale. Unul dintre dezideratele majore ale acesteia este conservarea funcției endoteliale, care este afectată precoce, înaintea altor modificări structurale. Evoluția pacienților cu boli renale poate depinde de momentul administrării medicației care are ca țintă endoteliul. Pe de altă parte, reducerea nivelului de IL-1 β , IL-6, IL-8 sau a infiltrației cu neutrofile nu poate preveni evoluția bolii renale.

Cuvinte cheie: *E. coli*, citokine, endoteline

THE ETIOLOGY OF URINARY TRACT INFECTIONS AND CYTOKINES PRODUCTION

Introduction: Patients with renal disease present an immunodeficiency that coexists with a higher level of several cytokines. Some cytokines (angiotensin II, erythropoietin, IL-1, IL-1 beta, IL-6), but also endotoxins, LDL, HDL, oxidative stress stimulate endothelin production by endothelial cells. Endothelin exerts proinflammatory effects via the cytokines interleukin (IL)-1 β , IL-6, and neutrophil recruitment.

Our study wants to determine the association between etiology of the urinary tract infections and production of cytokines like IL-1 and IL-6.

Methods: We determined circulating levels of IL-1 beta, IL-6, and endothelin in a group of undialyzed patients with moderate renal failure and urinary tract infections (104 patients with age: 65.57 \pm 9.36 years). The cytokines level in serum or urine were determined by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA). Samples for microbiological tests were collected and processed using automated instrument Vitek 2 for ID/AST testing Gram-negative bacteria.

Results: In summary, urinary tract infection with *Klebsiella* spp. is associated with increases in the IL-1 β level (2,46 \pm 0,75pg/ml vs 1,5 \pm 0,3pg/ml for control group). *E. coli* was isolated from patients with higher levels of urinary endothelin (0,81 \pm 0,08fM/ml vs 0,27 \pm 0,03fM/ml for control group) and IL-6 (4,28 \pm 1,34pg/ml vs 2,5 \pm 2,7pg/ml for control group).

Conclusions: More knowledges of relationship between bacterial and renal physiology improve the complex therapy of renal diseases. A major goal of therapy in patients with renal diseases should be to improve or preserve endothelial function. Furthermore, since endothelial dysfunction occurs prior to structural changes, therapy should be initiated early in patients at risk. Prevention or correction of endothelial dysfunction with agents targeting the endothelium is likely to improve the clinical outcome in these patients. Otherwise, inhibition of IL-1 β , IL-18, and IL-6 or neutrophil infiltration in the kidney is not sufficient to prevent renal failure.

Keywords: *E. coli*, cytokines, endothelin

P56. GENOTIPAREA TULPINILOR DE *GIARDIA INTESTINALIS* IZOLATE DE LA OM

Carmen COSTACHE¹, Alexandra FEHÉR¹, Laura SIMON¹, Lavinia BERINDE¹,
Ioana COLOSI¹

Universitatea de Medicină și Farmacie « Iuliu Hațieganu » Cluj-Napoca

Introducere: *Giardia intestinalis*, un parazit cosmopolit, care poate infecta toate mamiferele, produce infecții intestinale de intensități variabile, de la cazuri asimptomatice la infecții acute sau cronice.

Din punct de vedere genetic, *Giardia* este împărțită în 7, de la A-G, genotipuri (asamblaje) distincte: asamblajele A și B s-au izolat de la om și majoritatea mamiferelor, C-G au mai puține gazde. Se presupune că severitatea giardiozei ar fi legată de diferitele asamblaje.

În România, până în prezent, nu este disponibilă nici o informație referitoare la asamblajele de *Giardia* izolate de la om. Obiectivele acestui studiu au fost identificarea asamblajelor și determinarea variabilității genetice a izolatelor umane de *Giardia intestinalis*.

Material și Metode: Un număr de 7783 pacienți (adulți și copii) au fost testați pentru prezența *Giardia* între octombrie 2013 – iunie 2015 în Cluj, România. *Giardia* a fost identificată prin microscopie și imunocromatografie din probele de scaun recoltate. Apoi s-a realizat extracția ADN-ului, amplificarea prin PCR și genotiparea.

Rezultate: Din cei 7783 pacienți, 25 pacienți (adulți și copii) au fost diagnosticați cu *Giardia*. Cinci tulpini de *Giardia intestinalis* au fost genotipate. Asamblajele determinate au fost: A-II (1 tulpină), B (2 tulpini) și co-infecție cu A-II plus B (2 izolate).

Din câte știm, acesta este primul studiu de caracterizare moleculară a izolatelor umane de *Giardia intestinalis* din România.

Concluzii: Asamblajele de *Giardia intestinalis* identificate și genotipate au fost: A-II, B și co-infecție cu A-II plus B. Analiza acestor asamblaje umane comparativ cu cele izolate de la animale demonstrează predominanța transmiterii interumane.

Cuvinte cheie: *Giardia intestinalis*, genotipare, asamblaje

GENOTYPING OF *GIARDIA INTESTINALIS* FROM HUMAN CASES

Introduction: *Giardia intestinalis*, a globally occurring parasite in all mammals, cause intestinal infection ranging from asymptomatic to acute or chronic disease. *Giardia* genetically consists of seven, A-G, distinct genotype. Genotype A and B are the only assemblages detected in humans and other mammals, assemblages C-G have a limited host range. The severity of giardiasis is presumably link with the certain assemblages.

In Romania, no data are currently available regarding the prevalence of different *Giardia* genotypes in humans. The aims of our study were to identify the assemblages and to determine the genetic variability of *Giardia intestinalis* isolated from human patients.

Material and Methods: A total of 7783 patients (adults and children) were screened for *Giardia* during October 2013 and June 2015 in Cluj county, Romania. *Giardia* was identified from the stool samples collected by microscopy and immune chromatography. Then the DNA was extracted, followed by PCR amplification and genotyping.

Results: Out of 7783 patients, 25 patients (children and adults) were diagnosed with *Giardia*. Five strains of *Giardia intestinalis* were successfully genotyped. The following assemblages were found: A-II (1 strain), B (2 strains) and co-infections with both A-II plus B (2 isolates).

To the best of our knowledge, this is the first study of molecular genotyping of *Giardia intestinalis* isolated from humans in Romania.

Conclusions: *Giardia intestinalis* assemblages identified and genotyped were: A-II, B and co-infections with both A-II plus B. The analysis of assemblages in humans compared with animals demonstrates the predominance of human-to-human transmission.

Keywords: *Giardia intestinalis*, genotyping, assemblages

P57. ETIOLOGIA INFECȚIILOR TRACTULUI RESPIRATOR INFERIOR

Ana-Maria DRĂGAN^{1,2}, Cristian SAVA^{1,2}

¹Facultatea de Medicină și Farmacie din Oradea, ²Spital Clinic Municipal G. Curteanu Oradea

Introducere. Diagnosticul etiologic al infecțiilor tractului respirator inferior este important datorită varietății microorganismelor și rezistenței la antimicrobienele de elecție.

Metode: S-au luat în studiu 818 pacienți internați în secția de Pneumoftiziologie la care s-a solicitat examen bacteriologic din spută (701) și aspirat bronșic (117). Produsele au fost selectate prin triaj citologic de calitate (grupele 3-5 pentru spută) realizat pe frotiu colorat Gram. S-au însămânțat 434 produse, pentru fungi 368, pe medii uzuale pentru aerobi și fungi. Identificarea microorganismelor s-a efectuat cu teste biochimice și RapID ONE System. Testarea sensibilității la antimicrobiene s-a efectuat prin metoda difuzimetrică.

Rezultate: S-a identificat *Candida* spp. la 144 pacienți și *Aspergillus* spp. la 5 pacienți. Examenul bacteriologic pozitiv la 114 pacienți (26,26%) a evidențiat: 42 pacienți cu *Pseudomonas* spp (36,8%); 30 cu *Klebsiella* spp. (26,31%); 11 cu *Streptococcus pneumoniae* (9,64%); 10 cu *Acinetobacter calcoaceticus* (8,77%); 7 cu *Staphylococcus aureus* (6,14%); 7 cu *E.coli* (6,14%); 4 cu *Serratia marcescens* (3,50%); 2 cu *Providencia* (stuarti și rettgeri) (1,75%); 1 cu *Stenotrophomonas malthophilia* (0,87%); la 21 pacienți (18,42%) a fost găsită asocierea cu *Candida* spp. Rezistența la antimicrobiene a *Pseudomonas* spp a fost: 45% pentru Cefepim și Ticarcilina; 42,8% Gentamicina; 40,47% Ciprofloxacina și Ticarcilina/acid clavulanic; 35,7% Imipenem. Rezistența la antimicrobiene a *Klebsiella* spp. a fost: 90% pentru Ampicilina; 33% Cefotaxim; 30% Ceftriaxon; 23% Cefoperazona/sulbactam; 20% Ceftazidim și Gentamicina.

Concluzii: Majoritatea germenilor izolați din tractul respirator inferior au fost bacili Gram negativi aerobi (84,2%). Tulpinile cu cea mai mare rezistență la antimicrobiene sunt de *Pseudomonas* spp.

Cuvinte cheie: triaj citologic, sputa, aspirat

ETIOLOGY OF LOWER RESPIRATORY TRACT INFECTIONS

Introduction. Etiologic diagnosis of lower respiratory tract infections is important due to the variety of microorganisms and their resistance to antimicrobials of choice.

Methods: We studied a sample of 818 patients hospitalized in the Pneumology Department who underwent a bacteriological examination of sputum (for 701 patients) and bronchial aspirate (for the

remaining 117 patients). The products were selected via quality cytological triage (groups 3-5 for sputum) made on Gram stained smear. A total of 434 products were seeded, 368 for fungi on usual media for aerobic microbial count and fungi. The identification of microorganisms was performed by biochemical tests and the RapID ONE System. Antimicrobial susceptibility testing was performed by disc diffusion susceptibility test.

Results: We identified *Candida* spp. in 144 patients, and *Aspergillus* spp in 5 patients. The bacteriological test was positive in the case of 114 patients (26.26%) and revealed the presence of: *Pseudomonas* spp in the case of 42 patients (36.8%); *Klebsiella* spp. in 30 patients (26.31%); *Streptococcus pneumoniae* in 11 patients (9.64%); *Acinetobacter calcoaceticus* in 10 patients (8.77%); *Staphylococcus aureus* in 7 patients (6.14%); *E. coli* in 7 patients (6.14%); *Serratia marcescens* in 4 patients (3.50%); *Providencia* (*Providencia stuartii* and *Providencia rettgeri*) in 2 patients (1.75%); *Stenotrophomonas maltophilia* in 1 patient (0.87%); in the case of 21 patients (18.42%) association with *Candida* spp. was found. Antimicrobial resistance of *Pseudomonas* spp was as follows: 45% for Cefepime and Ticarcillin; 42.8% for Gentamicin; 40.47% for Ciprofloxacin and Ticarcillin/clavulanic acid; 35.7% for Imipenem. Antimicrobial resistance of *Klebsiella* spp was as follows: 90% for Ampicillin; 33% for Cefotaxime; 30% for Ceftriaxone; 23% for Cefoperazone/Sulbactam; 20% for Ceftazidime and Gentamicin.

Conclusions: Most isolated germs from lower respiratory tract were aerobic Gram-negative bacilli (i.e. 84.2%). Strains with the highest resistance to antimicrobials are *Pseudomonas* spp.

Keywords: cytology triage, sputum, aspirate

Friday 20th of May 2016

R12. BIOFILMELE MICROBIENE – O PROVOCARE PENTRU MEDICINA MODERNĂ

Monica LICKER^{1,2}, Csilla ZAMBORI¹

¹UMF “Victor Babeș”, Timișoara, ²Spitalul Clinic Județean de Urgență “Pius Brânzeu”, Timișoara

Biofilmele sunt comunități mono sau polimicrobiene responsabile de producerea a numeroase infecții. Sunt considerate a fi agregate microbiene în care celulele sunt fixate între ele și /sau pe diferite suprafețe. Aceste celule aderente sunt înglobate într-un polimer extracelular, denumit „slime”, care este un amestec de ADN, proteine și polizaharide.

Centrul pentru Controlul și Prevenția Bolilor (CDC), a citat infecțiile asociate biofilmelor ca reprezentând unele din provocările majore cu care se confruntă comunitatea medicală în termeni de siguranță a serviciilor medicale.

Prezența biofilmelor bacteriene a fost demonstrată pe numeroase dispozitive medicale: catetere intravenoase, valve cardiace, proteze articulare, catetere urinare, lentile de contact, precum și în plăgi, plăci dentare, la pacienții cu fibroză chistică, etc. Cele mai importante microorganisme din aceste biofilme sunt: stafilococii coagulazo-negativi, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus* spp, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter* spp, *Proteus mirabilis*, *P. aeruginosa*, precum și *Candida* spp.

CDC estimează peste 65% infecții nosocomiale cauzate de biofilme. Bacteriile din biofilm sunt de peste 1000 de ori mai rezistente la antibiotice, comparativ cu cele care nu cresc în interiorul unui biofilm. Antibioterapia standard este deseori inutilă și singura soluție este reprezentată de îndepărtarea dispozitivului contaminat.

Progresele tehnologice înregistrate în microscopie, genetică moleculară sau analiza genomului, au dus la o mai bună înțelegere a aspectelor structurale și moleculare ale biofilmelor, fiind necesară o continuare a studiilor privind mecanismele de rezistență la antibiotice din cadrul biofilmelor, în vederea dezvoltării strategiilor preventive.

Cuvinte cheie: biofilm, rezistența la antibiotice, dispozitive medicale

MICROBIAL BIOFILMS - A CHALLENGE FOR THE MODERN MEDICINE

Biofilms are mono or multispecies microbial communities that are responsible for many diseases. They are considered aggregate of microorganisms in which cells are stuck to each other and/or to a surface. These adherent cells are embedded within an extracellular polymeric substance (EPS). Biofilm EPS, also referred to as “slime,” is a polymeric mixture of DNA, proteins and polysaccharides.

The Centers for Disease Control and Prevention (CDC) cited biofilm-associated diseases as major healthcare safety challenges facing the medical community.

The presence of bacterial biofilms has been demonstrated on many medical devices including intravenous catheters, cardiac valves, prosthetic joints, urinary catheters, contact lenses, as well as chronic wounds, dental plaques, in cystic fibrosis patients, etc.

Predominant microorganisms responsible for biofilm formation on devices include coagulase-negative staphylococci, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Streptococcus* spp., *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter* spp., *Proteus mirabilis*, *P. aeruginosa*, and *Candida* spp.

The CDC estimate that over 65% of hospital-acquired infections are caused by biofilms. Bacteria growing in a biofilm are up to 1,000 times more resistant to antibiotics, than the same bacteria not growing in a biofilm. Standard antibiotic therapy is often useless and the only recourse may be to remove the contaminated implant.

Technological progress in microscopy, molecular genetics and genome analysis has significantly advanced our understanding of the structural and molecular aspects of biofilms. Further study on the mechanisms of antibiotic resistance by biofilms will expedite the development of preventive strategies for biofilm control.

Keywords: biofilm, antimicrobial resistance, devices

R13. INVESTIGAȚIA MICROBIOLOGICĂ ÎN COLITA HEMORAGICĂ CU E. COLI PRODUCĂTOR DE TOXINĂ SHIGA ȘI SINDROMUL HEMOLITIC UREMIC

Irina CODITA^{1,2}, Simona CIONTEA, Codruța USEIN^{1,2}

¹*Institutul Național de Cercetare "Cantacuzino", București, România*

²*Facultatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București*

Mai multe laboratoare publice și/sau private din România au fost recent confruntate cu cerințe neașteptate de a detecta și identifica *Escherichia coli* producător de toxină Shiga sau Verotoxină (STEC/VTEC) în colite hemoragice și sindroame hemolitice uremice.

Laboratoarele de referință din Institutul Național de Cercetare Cantacuzino au fost solicitate să detecteze/confirmă STEC/VTEC în materii fecale și/sau în culturi bacteriene primite de la diferite laboratoare.

Folosim această ocazie pentru recapitularea informației disponibile din surse naționale și internaționale: metodologia națională de supraveghere a bolii diareice, Manualul European de Microbiologie Clinică al Societății Europene de Microbiologie Clinică și Boli Infecțioase, procedura standard pentru investigarea patogenilor enterici în materiile fecale a laboratoarelor de sănătate publică din Anglia etc. și pentru actualizarea investigațiilor disponibile în laboratoarele naționale de referință din Institutul Național de Cercetare Cantacuzino.

În același timp, împărtășim experiența câștigată în timpul episodului STEC/VTEC în ceea ce privește factorii preanalitici și analitici care pot influența rezultatele investigației microbiologice, cum sunt întârzierea prelevării față de debutul bolii, numărul și frecvența prelevărilor/pacient, conservarea probelor, numărul de colonii investigate și calitatea materialului trimis spre examinare, terapia cu antibiotice etc.

Cuvinte cheie: STEC/VTEC, sindrom hemolitic uremic, diagnostic de laborator

MICROBIOLOGICAL INVESTIGATION IN SHIGA TOXIN E. COLI POSITIVE HAEMORRHAGIC COLITIS AND HAEMOLYTIC URAEMIC SYNDROME

Several public and/or private Romanian laboratories have been recently confronted with unexpected requirements in relation with detection and identification of Shiga Toxin or Verotoxin positive *Escherichia coli* (STEC/VTEC) in haemorrhagic colitis and haemolytic uraemic syndromes.

Reference Laboratories in Cantacuzino Institute have been asked to detect/confirm STEC/VTEC in faeces and/or bacterial cultures received from different laboratories.

We use this occasion for resuming available information on STEC/VTEC microbiological diagnostic from national and international sources: national methodology for diarrhoeal disease surveillance, European Society Clinical Microbiology and Infectious Diseases - European Manual of Clinical Microbiology, Public Health England standard procedure for investigation of faeces for enteric pathogens etc. and for presenting an up-date regarding available investigations in the national reference laboratories, Cantacuzino Institute of Research.

Meanwhile, we are sharing the experience acquired during the STEC/VTEC episode in respect of preanalytical and analytical factors that may influence microbiological investigation results, like delay of sampling in relation with the disease onset, number and frequency of samples/patient, sample preservation, number of inspected colonies and quality of material sent for examination, antibiotic therapy etc.

Keywords: STEC/VTEC, Haemolytic Uraemic Syndrome, laboratory diagnostic

C17. PHENOTYPIC AND MOLECULAR DETECTION OF METHICILLIN RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Lia Monica JUNIE

University of Medicine And Pharmacy, Cluj Napoca

Introducere: Tulpinile metilino rezistente de *Staphylococcus aureus* (MRSA) au fost identificate la scurt timp după introducerea metilicilinei în terapia infecțiilor. Rezistența la metilicină este datorată achiziției genei *mecA*, care codifică proteina 2a de legare a penicilinei (PBP2a), cu o afinitate mai scăzută sau fără afinitate pentru β lactamine. Este de dorit detectarea rapidă a tulpinilor MRSA.

Scopul acestui studiu a fost evaluarea și compararea metodelor genotipice (prezența genei *mecA*) și fenotipice (PBP2a latex aglutinare, oxacilin MIC, testul Cefoxitin disc difuzie) utilizate pentru identificarea tulpinilor MRSA.

Metoda: tulpinile de *S. aureus* au fost izolate de la pacienți spitalizați în secțiile de terapie intensivă sau în alte secții, din diferite produse patologice: sânge, puroi, spută, secreții nazale, otite și conjunctivale. Identificarea tulpinilor de *S. aureus* s-a realizat prin metode fenotipice și prin Vitek2Compact BioMérieux. Tulpinile au fost testate prin latex aglutinare (bioMérieux) pentru evidențierea proteinei PBP2a. Gena *MecA* a fost identificată prin metoda PCR, conform metodei standard, la Spitalul Universitar din Patras, Grecia, în perioada martie-decembrie 2008.

Rezultate: Gena *mecA* a fost depistată în 27 (57,5%) dintre tulpinile de *S.aureus*, ceea ce a permis identificarea a 57,5% tulpini ca fiind MRSA. Comparând rezultatele obținute prin PCR cu testul de latex aglutinare PBP2a, s-au înregistrat rezultate concordante pentru 96.3% dintre tulpinile de MRSA (46/47)

și rezultate discordante pentru 1 tulpină. Testele oxacilin MIC și Cefoxitin disc difuzia au o concordanță mai scăzută, de 89.4%, respectiv 82.6%. Dintre tulpinile de MRSA izolate, 66,6% au fost multi-rezistente la antibiotice (la b-lactamine, aminoglicozide, macrolide, ciprofloxacina).

Concluzii: Metodele moleculare de detectare a genei *mecA* încep să înlocuiască metoda Oxacilin MIC ca metodă de referință. Compararea metodelor fenotipice cu metoda PCR relevă faptul că metoda latex PBP2a are o sensibilitate ridicată (97,9%) și poate fi utilizată ca metodă alternativă pentru detectarea tulpinilor MRSA, în laboratoarele cu resurse financiare mai limitate.

Cuvinte cheie: detectarea MRSA, gena *mecA*, PBP2a

PHENOTYPIC AND MOLECULAR DETECTION OF METHICILLIN RESISTANT STAPHYLOCOCCUS AUREUS

Background: Methicillin resistant strains of *Staphylococcus aureus* (MRSA) were identified shortly upon the introduction of methicillin into the clinical practice and is due to the acquisition of the *mecA* gene, which encodes a penicillin-binding protein 2a (PBP2a), with lower or no affinity for β lactam antibiotics. Rapid detection of MRSA is desirable.

The purpose of the study was the evaluation and comparison of genotypic (presence of *mecA* gene) and phenotypic methods (PBP2a latex, oxacillin MICs, Cefoxitin disk diffusion test) used for MRSA strains identification.

Methods: The study included 47 *S. aureus* strains. The strains were isolated from hospitalized patients, including intensive care wards and other units, from blood, pus, ear discharge, nasal secretions, and conjunctival secretions. The identification and the antibiotic resistance profiles of the strains were performed by standard and automated methods (Vitek2Compact). All isolates were tested by the latex agglutination method (bioMérieux) for the production of the PBP2a protein. Molecular detection of *mecA* gene by PCR was done using the standard procedures, at the University Hospital of Patras, Greece between March-December 2008.

Results: The *mecA* gene was found in 27 (57.5 %) of *S. aureus* strains, which allowed defining 57,5% of the strains as MRSA. Comparing the results obtained by PCR with PBP2a latex agglutination test, concordant results were obtained for 96.3% strains (46/47) and discordant results were obtained for 1 strain.

The oxacillin mics and the Cefoxitin disk diffusion test have a lower concordance with the PCR for *mecA* gene detection of 89.4% respectively 82.61%. From all MRSA strains 66,6% of the isolates were multi-resistant to antibiotics, being resistant to b-lactamins, aminoglycosides, macrolides, ciprofloxacina.

Conclusions: Molecular methods which detect the *mecA* gene are replacing Oxacillin MIC as the reference method. The comparison of the phenotypic methods with the genotypic method, reveals that PBP2a latex agglutination method has a high sensitivity (97.9%), and can be used as an alternative method to PCR for the MRSA detection, in resource constraint settings.

Keywords: MRSA, *mecA* gene, PBP2a.

C18. REZISTENȚA LA ANTIBIOTICE A TULPINILOR BACTERIENE IZOLATE DIN INFECȚII URINARE 2009-2015

Olga Mihaela DOROBĂȚ, Daniela TĂLĂPAN, Alexandru MIHAI, Ioana BĂDICUȚ,
Alina BORCAN, Alexandru RAFILA

Institutul Național de Boli Infecțioase Prof. Dr. Matei Balș, București

Introducere: Infecțiile tractului urinar sunt cele mai frecvente infecții la om. Scopul acestui studiu este de a estima proporția tulpinilor rezistente izolate din infecțiile tractului urinar din Institutul Național de Boli Infecțioase Prof. Dr. Matei Balș între 2009-2015.

Metode: 7832 tulpini (5483 *E.coli*, 1195 *K.pneumoniae*, 364 *P.aeruginosa*, 622 *E.faecalis*, 168 *E.faecium*) au fost testate cu sistemele automate Vitek 2C și MicroscanWalkAway; în plus în 2015 cu Thermo Scientific Sensititre MIC plate. Testul Hodge modificat s-a efectuat pentru toate tulpinile carbapenem rezistente.

Rezultate: Pentru *E.coli* 56.8%-61.0% au fost rezistente la ampicilină, 9.7%-26.2% la amoxicilină-ac.clavulanic, 8.4%-18.6% la cefotaxim, 25.1%-27.70% la ciprofloxacina și 31.1%-38.7% la trimetoprim/sulfametazol. Au fost câțiva *E.coli* rezistenți la carbapeneme, fosfomicină, nitrofurantoin și colistin (0-1.1%). Rezistența *K.pneumoniae* a crescut pentru majoritatea antibioticelor: amoxicilină-ac.clavulanic(31.3%-58.4%), ceftazidim (35.6%-54.5%), ciprofloxacina (41.6%-61.8%), trimetoprim/sulfametoxazol (40.9%-56.5%), colistin (0-12.2). *K.pneumoniae* producătoare de carbapenemază a fost 2.0% în 2011 și 16.2% în 2015. Prevalența tulpinilor producătoare de ESBL a fost 10.3%-15.5% pentru *E.coli* și 33.8%-50.8% pentru *K.pneumoniae*. Exceptând rezistența scăzută la colistin (0-4.7%), pentru celelalte antimicrobiene testate (cefalosporine, carbapeneme, aminoglicozide și quinolone) *P.aeruginosa* a prezentat o rezistență crescută (44.8%-77.9%). *E.faecium* este mai rezistent decât *E.faecalis*: la quinolone 90.0-100% versus 31.5%-54.3%, la gentamicină 45.8%-78.8% versus 34.9%-62.6%. Prima tulpina *E.faecium* rezistentă la vancomicina a apărut în 2012 iar în 2015 rezistența a ajuns la 32.3%.

Concluzii: Rezistența la unele antimicrobiene este în creștere, mai ales la *K.pneumoniae* pentru beta-lactamine cu inhibitori de beta-lactamază, cefalosporine, trimetoprim/sulfametoxazol. *K.pneumoniae* producătoare de carbapenemază a crescut la 16.2%. Nivele mari de rezistență s-au observat la *P.aeruginosa*.

Cuvinte cheie: rezistență, infecții urinare

ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF BACTERIAL STRAINS ISOLATED FROM URINARY TRACT INFECTIONS 2009-2015

Introduction: Urinary tract infections are considered the most prevalent infections in humans. The aim of this study is to estimate the resistance rates of bacteria isolated from urinary tract infections in National Institute for Infectious Diseases Prof. Dr. Matei Balș between 2009-2015.

Methods: 7832 non-duplicated strains (5483 *E.coli*, 1195 *K.pneumoniae*, 364 *P.aeruginosa*, 622 *E.faecalis*, 168 *E.faecium*) were tested in Vitek 2C and MicroscanWalkAway automated systems; in 2015 in addition with Thermo Scientific Sensititre MIC plate. Modified Hodge test was performed for all carbapenem resistant strain.

Results: For *E.coli* 56.8%-61.0% were resistant to ampicillin, 9.7%-26.2% to amoxicillin-clavulanic acid, 8.4%-18.6% to cefotaxime, 25.1%-27.70% to ciprofloxacin and 31.1%-38.7% to trimetoprim/

sulfamethazole. There were few *E.coli* resistant to carbapenems, fosfomycin, nitrofurantoin and colistin (0-1.1%). Resistance of *K.pneumoniae* increase for the majority of antimicrobials: amoxicillin-clavulanic acid (31.3%-58.4%), ceftazidime (35.6%-54.5%), ciprofloxacin (41.6%-61.8%), trimethoprim/sulfamethoxazole (40.9%-56.5%), colistin (0-12.2). Carbapenemase producing *K.pneumoniae* was 2.0% in 2011 and 16.2% in 2015. Prevalence of ESBL producing strains was 10.3%-15.5% for *E.coli* and 33.8%-50.8% for *K.pneumoniae*. Except colistin with low resistance (0-4.7%) *P.aeruginosa* was high resistant (44.8%-77.9%) to all antimicrobial tested (cephalosporins, carbapenems, aminoglycosides and quinolones). *E.faecium* is more resistant than *E.faecalis*: to quinolones 90.0-100% versus 31.5%-54.3%, to gentamicin 45.8%-78.8% versus 34.9%-62.6%. The first strain *E.faecium* resistant to vancomycin was in 2012 and in 2015 resistance is 32.3%.

Conclusions: Resistance to some antimicrobials is increasing, most notable for *K.pneumoniae* to beta-lactams with beta-lactamase inhibitor, cephalosporins, trimethoprim/sulfamethoxazole. Carbapenemase producing *K.pneumoniae* increase to 16.2%. High level of resistance was observed to *Paeruginosa*.

Keywords: resistance, urinary tract infections

C19. PREZENȚA ÎN MEDIUL ÎNCONJURĂTOR A CARBAPENEMAZELOR – UN INDICATOR AL POLUĂRII INDUSTRIALE?

Mihaela Ileana IONESCU¹, Liana Monica DEAC², Rodica Elena CORNEAN¹

¹UMF Cluj Napoca, ²Institutul Național pentru Sanatatea Publică, Cluj Napoca

Infecțiile nosocomiale determinate de bacterii Gram-negative rezistente la carbapenemi, în majoritate multiplu rezistente, reprezintă o provocare datorită opțiunilor limitate de tratament. Poluarea mediului de deșeuri provenite din industria farmaceutică contribuie substanțial la menținerea în mediu a genelor de rezistență la antibiotice.

Materiale și metode. Au fost extrase din bazele de date disponibile 34 secvențe de beta-lactamaze – 28 Bacteria, 4 Archaea și 2 Euryarchaeota. Carbapenemazele din mediul înconjurător au fost comparate cu carbapenemazele din izolate clinice. Pentru alinierea secvențelor două câte două s-a utilizat programul EMBOSS Needle. Alinierea mai multor secvențe s-a realizat cu programul Clustal Omega.

Rezultate. S-a observat că majoritatea carbapenemazelor produse de archaea aparțin clasei B de enzime metalo-beta-lactamaze. *Sulfolobus acidocaldarius*, o Crenarchaeota, produce o beta-lactamază care aparține clasei B de metalo-beta-lactamază, cu 44% identitate cu o proteină ipotetică ce aparține *Archaeoglobus fulgidus*, o Euryarchaeota. *Enterobacter asburidae*, o enterobacterie izolată din proba de apă, produce o carbapenemază clasa A care prezintă 44,9% identitate cu o enzimă clasa A din *Serratia fonticola* și 56,2% identitate cu o carbapenemază clasa A din *Serratia marcescens* – ambele tulpini fiind din izolate clinice. Carbapenemazele clasa B din izolate din mediul înconjurător, prezintă între 83,8-100% identitate cu enzimele clasa B elaborate de speciile nefermentative din izolate clinice.

Concluzii. Deșeurile industriale pot persista timp îndelungat în mediul înconjurător mai ales în ape de suprafață sau pânza freatică. Putem astfel concluziona, că în afara beta-lactamazelor din mediul spitalicesc, carbapenemazele produse de procarote sau archaea – uneori din specii necultivabile – din mediul înconjurător, au o influență majoră în selecționarea unor noi mutații.

Cuvinte cheie: carbapenemaze

THE PRESENCE OF ENVIRONMENTAL CARBAPENEMASES – AN INDICATOR FOR INDUSTRIAL POLLUTION?

Introduction: Nosocomial infections caused by Gram-negative bacteria resistant to carbapenems, mostly multiple-resistant, represents a challenge due to limited treatment options. Environmental pollution with waste from pharmaceutical industry substantially contributes in maintaining of antibiotic resistance genes.

Methods. Thirty-four beta-lactamase sequences were retrieved from available databases – 28 are of Bacteria, 4 Archaea, and 2 Euryarchaeota. The carbapenemases from environmental samples were compared with carbapenemases from clinical sources. For the pairwise sequence alignment, the EMBOSS Needle Program was used. Then a multiple sequence alignment was performed using Clustal Omega tool.

Results. Carbapenemases from Archaea mostly belonged to class B metallo-beta-lactamase. The Crenarchaeota *Sulfolobus acidocaldarius* produces a beta-lactamase belong to metallo-beta-lactamase superfamily, with 44% identity to a hypothetical protein of *Archaeoglobus fulgidus*, an Euryarchaeota. *Enterobacter asburidae*, an enterobacteria isolated from a water sample, produces a class A carbapenemase with 44.9% and 56.2% identity to a class A enzyme from *Serratia fonticola*, and *Serratia marcescens* respectively, both strains isolated from clinical samples. The class B carbapenemases from environmental samples share 83.8-100% identity with class class B enzymes elaborate by non-fermenters from clinical samples.

Conclusions. Industrial waste can remain for a long period of time in the environment, notably in water and phreatic aquifer zone. Thus, we could conclude that apart from beta-lactamases from hospital sources, the carbapenemases produced by prokaryotes or archaea species – sometimes from uncultured strains – from environmental source greatly influence the selection of new mutations.

Keywords: carbapenemases

C20. REZISTENȚA LA BETA LACTAMINE ȘI CHINOLONE A TULPINILOR DE *ESCHERICHIA COLI* DIN INFECTII URINARE

Roxana FILIP^{1, 2}, Monica TERTELIU³

¹Laboratorul Hipocrat, Suceava, ²Universitatea Stefan cel Mare, Suceava, ³Spitalul Județean de Urgență Sfântul Ioan cel Nou, Suceava

Introducere: Tractusul urinar este un situs comun de infecție, în special la femeie și o cauză de tratament antimicrobian, de cele mai multe ori autoadministrat. Am urmărit evaluarea pattern-ului local de sensibilitate – zona Suceava- pentru tulpinile de *Escherichia coli* (*E.coli*) izolate din infecții urinare în regim ambulatoriu.

Material si metodă: Urocultura a fost prelevată conform instrucțiunilor furnizate de laborator și prelucrată după metoda standard. Perioada studiată a fost între 1.01.2013-31.12.2015. Dintr-un total de 1116 uroculturi, 366 au fost pozitive cu etiologie predominant *E.coli* (79,78%) 292 cazuri. Identificarea s-a realizat pe medii multitest, iar antibiograma prin metoda difuzimetrică Bauer-Kirby. Antibioticele testate au fost: Ampicilina (AMP), Amoxicilina/Acid clavulanic (AMC), Cefoxitina (FOX), Cefepima (CPM), Cefixima (CXM), Cefotaxima (CTX), Ceftriaxona (CRO), Ceftazidima (CAZ), Acid nalidixic (NA), Ciprofloxacina (CIP), Ofloxacina (OFX), Norfloxacina (NOR).

Rezultate: Majoritatea tulpinilor, 91,4% , sunt AMP rezistente (R) urmat de 36.3% AMC R. La cefalosporine rezistența variază între 1,36% CPM și 9,58% CRO. La chinolone, la NA rezistența este de 28% iar la CIP, OFX și NOR 20,5% și 18,4% respectiv.

Concluzii: Studiul arată situația actuală a rezistenței tulpinilor de *E. coli* pentru zona Suceava , precum și importanța administrării tratamentului țintit în funcție de rezultatele antibiogrammei.

Cuvinte cheie: *Escherichia coli*, sensibilitate, rezistență

BETA-LACTAM AND QUINOLONE RESISTANCE FOR *ESCHERICHIA COLI* URINARY ISOLATES

Introduction: Urinary tract is a common infection site, especially in women and a cause of self administration of antibiotic treatment. We followed –up local resistance pattern for *Escherichia coli* (*E.coli*) urinary isolates – community strains- in Suceava region.

Material and methods: Urine samples for uroculture were prelevated according to instructions supplied by the laboratory and processed by standard method. Studied period was between 1.01 2013 and 31.12.2015. Out of 1116 urine culture, 366 were positive, with *E.coli* as dominant etiological agent (79.78%) 292 cases. Identification was done with multitest media , sensitivity testing by disk diffusion method- Bauer Kirby, and result reading according to CLSI 2013. Tested antibiotics were: Ampicillin (AMP), Amoxicillin/Clavulanic Acid (AMC), Cefoxitin (FOX), Cefepime (CPM), Cefixime (CXM), Cefotaxime (CTX), Ceftriaxone (CRO), Ceftazidime (CAZ), Nalidixic Acid(NA), Ciprofloxacin (CIP), Ofloxacin (OFX), Norfloxacin (NOR).

Results: Majority of strains, 91.4% were AMP resistant followed by 36.3% AMC resistance. Cephalosporin resistance varies between 1.36% for CPM and 9.58% CRO. For quionolones, NA resistance was 28% while for CIP, OFX and NOR 20.5% and 18.4% respectively.

Conclusion: This study shows the actual epidemiology of resistance for *E. coli* community urinary isolates in Suceava region and the importance of therapy according to sensitivity testing results.

Keywords: *Escherichia coli*, Sensitivity, resistance

C21. SUNT MODIFICĂRILE RESPIRAȚIEI OXDAȚIVE ALE CELULELOR MONONUCLEATE DIN SÂNGELE PERIFERIC O CAUZĂ A SUCEPTIBILITĂȚII CRESCUTE FAȚĂ DE INFECȚII A NOU-NĂSCUȚILOR?

Floredana-Laura ȘULAR, Elena MOLDOVAN, Manuela CUCEREA, Minodora DOBREANU

Universitatea de Medicina si Farmacie Tîrgu-Mureș

Introducere: Imaturitatea de dezvoltare a celulelor responsabile de apărarea înăscută a nou-născuților este considerată a fi un factor de risc semnificativ pentru infecțiile perinatale. Depistarea precoce a infecției are o importanță clinică crucială, în mod special în cazul nou-născuților. Abilitatea neutrofilelor de a genera specii reactive ale oxigenului este absolut necesară în vederea distrugerii eficiente a bacteriilor și fungilor patogeni. În consecință, modificări ale capacității de generare a speciilor reactive ale oxigelui, pot fi o reflecție a sensibilității crescute a nou-născuților față de infecții, iar detecția lor ar putea fi un instrument de diagnosticare precoce a infecției.

Material și metodă: Am realizat un studiu prospectiv care s-a întins pe o perioadă de 11 luni (Noiembrie 2014-Septembrie 2015), cu scopul de a evalua producția de specii reactive ale oxigenului de către celulele mononucleare din sângele periferic al nou-născuților fără semne de infecție prematuri (n=28) și al celor născuți la termen (n=19), folosind adulți sănătoși ca lot de control (n=31). Înainte de a fi incluși în studiu, nou-născuților le-au fost testate nivelele de proteina C reactivă și numărul de leucocite. Producția de specii reactive ale oxigenului a fost cuantificată utilizând o metodă de citometrie în flux care folosește dihidrorhodamina 123 (DHR) ca substrat oxidativ, după ce fagocite din sângele integral au fost incubate cu un tampon, o soluție opsonizată nemarcată de *E.coli*, N-formil-metionil-leucil-fenilalanină (fMLP), forbol 12-miristat 13-acetat (PMA) și o suspensie de *C. albicans* neopsonizată.

Rezultate: Procentul granulocitelor activate spontan (doar în prezeța tamponului) a fost semnificativ mai crescut în rândul nou-născuților la termen ($7.56\pm 1.46\%$ vs. $3.33\pm 0.7\%$, $p<0.05$) și ai celor prematuri ($7.56\pm 1.46\%$ vs. $3.33\pm 0.7\%$, $p<0.05$) comparativ cu adulții, deși valoarea proteinei C reactive și numărul corectat al leucocitelor nu au indicat prezența infecției la momentul recoltării. Granulocitele prematurilor stimulate cu *E. coli* au prezentat un grad mult mai scăzut de activare comparativ cu granulocitele de control ale adulților ($49.04\pm 4.08\%$ vs. $85.58\pm 4.18\%$, $p<0.001$). În cazul utilizării suspensiei de *C. albicans* neopsonizată, gradul de activare al granulocitelor la nou-născuții prematuri a fost similar celor al adulților ($3.4\pm 1.23\%$ vs $3.34\pm 1.76\%$, $p>0.05$). Suspensia de *C. albicans* a generat o activare slabă a gralocitelor în rândul tuturor celor trei grupuri studiate indiferent de gradul lor de maturare (prematuți $3.4\pm 1.23\%$, maturi $6.23\pm 3.02\%$, adulți $3.34\pm 1.76\%$). Monocitele au avut un comportament similar în cazul tuturor populațiilor granulocitare studiate, indiferent de stimulul utilizat.

Concluzii: Studiul de față a arătat existența unui deficit marcat de generare a speciilor reactive ale oxigenului de către granulocitele nou-născuților prematuri atunci când acestea sunt expuse unei suspensii de *E. coli* opsonizată. Imaturitatea granulocitelor și a monocitelor prematurilor, precum și lipsa opsoninelor la nou-născut, nu au părut a influența răspunsul lor aproape absent la stimuli fungici comparativ cu adulții control. Cuantificarea speciilor reactive ale oxigenului generate la nivelul celulelor mononucleare periferice, ar putea fi un instrument util în diagnosticul infecțiilor neonatale, atunci când aceasta este coroborată cu alți markeri de sepsis.

Conflict de interes: Această lucrare a fost finanțată de un grant câștigat în cadrul Competiției Interne pentru Granturi de Cercetare Științifică (CIGCS) a Universității de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș, Proiect Individual nr.15.23.12.2014.

Cuvinte cheie: citometrie în flux, specii reactive ale oxigenului, *C. albicans*

ARE RESPIRATORY BURST ALTERATIONS IN PERIPHERAL BLOOD MONONUCLEAR CELLS (PBMCS) A CAUSE FOR INCREASED SUSCEPTIBILITY TO INFECTIONS IN NEONATES?

Background: The developmental immaturities of the cells responsible for the innate defense in neonates have often been considered a significant risk factor for perinatal infections. Early recognition of infection is of crucial clinical importance, especially in neonates. The ability of the neutrophils to generate oxygen reactive species is mandatory for efficient killing of infectious bacteria and fungi. Consequently, respiratory burst alterations may be a reflection of the neonates' increased susceptibility to infections and their detection could be an early diagnostic tool of infection.

Material and method: We performed an 11 month prospective study (November 2014-September 2015) in order to assess the production of oxygen reactive species in non-infectious preterm (n=28) and term neonates (n=19), using healthy adults as controls (n=31). Before admission for the study, neonates were screened for infection by assessment of C reactive protein (CRP) levels and white blood cell (WBC) count. The production of oxygen reactive species was quantified by a flow cytometry method that used dihydrorhodamine 123 (DHR) as an oxidative substrate, after peripheral whole blood phagocytes were exposed to a buffer, an opsonized (non-labeled) *E. coli* suspension, N-formyl-methionyl-leucyl-phenyl-alanine (fMLP), phorbol 12-myristate 13-acetate (PMA) and a suspension of non-opsonized *C. albicans*.

Results: The percentage of spontaneous activated granulocytes was significantly higher in term ($7.56 \pm 1.46\%$ vs. $3.33 \pm 0.7\%$, $p < 0.05$) and preterm ($7.56 \pm 1.46\%$ vs. $3.33 \pm 0.7\%$, $p < 0.05$) neonates when compared to adults, although CRP and the corrected white blood cell count showed no signs of infection at the sampling moment. Premature granulocytes showed a statistically significant lower degree of activation compared to the control adult granulocytes ($49.04 \pm 4.08\%$ vs. $85.58 \pm 4.18\%$, $p < 0.001$) when stimulated with *E. coli*, but when unopsonised *C. albicans* was used, the activation degree was similar in premature neonates and adults ($3.4 \pm 1.23\%$ vs $3.34 \pm 1.76\%$, $p > 0.05$). The *C. albicans* stimulus caused a low activation in all the three groups of tested granulocytes regardless of their degree of maturation (premature $3.4 \pm 1.23\%$, mature $6.23 \pm 3.02\%$, adults $3.34 \pm 1.76\%$). The monocytes had a similar behavior in all granulocyte populations, regardless of the stimulus that was used.

Conclusions: The present study showed a clear deficit in oxygen reactive species production of the premature neonate granulocyte when exposed to opsonized *E. coli*. The immaturity of the preterm granulocytes and monocytes, as well as the lack of opsonins of the newborn, did not seem to influence their almost absent response to fungal stimuli when compared to adult controls. Quantification of oxygen reactive species generated by burst oxidation in peripheral mononuclear cells could be a useful tool in diagnosing neonatal infections when corroborated with other sepsis markers.

Acknowledgement: This paper was supported by Internal Research Grants of the University of Medicine and Pharmacy Tîrgu Mureş, Romania, Project number 15/23.12.2014.

Keywords: flow cytometry, oxygen reactive species, *C. albicans*

R14. ROLUL SEROLOGIEI ÎN DIAGNOSTICUL TOXOPLASMOZEI

Tudor Rareş OLARIU

*Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș", Timișoara, Romania
Spitalul Clinic Municipal de Urgență, Timișoara, Romania*

Toxoplasma gondii este un parazit obligatoriu intracelular care în general determină o infecție asimptomatică în gazda imunocompetentă dar poate avea consecințe devastatoare la copii infectați congenital și la pacienții imunocompromiși. Toxoplasmoza congenitală se produce doar la copii născuți din mame care au dobândit infecția primară în timpul sarcinii și poate determina o varietate de manifestări clinice cuprinzând corioretinita, calcificările cerebrale, hidrocefalia și pneumonia. La pacienții imunocompromiși, toxoplasmoza poate pune în pericol viața și se produce de cele mai multe ori ca urmare a reactivării unei infecții cronice. Cunoașterea seroprevalenței infecției cu *T. gondii* în populația umană este importantă pentru a prognoza riscul de infecție la femeile gravide și pacienții imunocompromiși.

Studiile noastre au demonstrat anterior că prevalența anticorpilor anti-*T. gondii* la femeile aflate la vârsta procreerii și în populația generală din Vestul României a fost de 57.6% respectiv 64.8%, aceasta sugerând o prevalență ridicată a anticorpilor anti- *T. gondii* în populația umană.

Utilizarea testelor serologice pentru detectarea anticorpilor anti-*T. gondii* reprezintă metoda inițială și principală de diagnostic. Testele serologice pot determina diferiți anticorpi a căror titru crește și descrește în raport cu momentul producerii infecției. Un panel de teste serologice, pentru determinarea anticorpilor anti-*T. gondii* IgM, IgG, IgA, IgE, și testul avidității IgG, este în general necesar pentru a stabili dacă infecția este cronică sau acută. Principalele teste de laborator și rolul acestora în diagnosticul serologic al toxoplasmozei vor fi prezentate.

Cuvinte cheie: toxoplasmoză, parazit, serologie

ROLE OF SEROLOGY IN THE DIAGNOSIS OF TOXOPLASMOSIS

Toxoplasma gondii is an obligate intracellular parasite that most commonly causes asymptomatic infection in immunocompetent host, but can have devastating consequences in congenitally infected infants and immunocompromised patients. Congenital toxoplasmosis essentially occurs only in infants born to women who acquired their primary infection during pregnancy, and may cause a wide spectrum of clinical manifestations including chorioretinitis, cerebral calcifications, hydrocephalus, pneumonia. In immunocompromised patients, toxoplasmosis can be life-threatening and almost always occurs as a result of reactivation of chronic infection. Knowledge of *T. gondii* seroprevalence in the human population is important to predict the risk of infection in pregnant women and immunocompromised patients.

We have previously shown that the prevalence of *T. gondii* antibodies in Romanian women of reproductive age and in the general population from Western Romania was 57.6% and 64.8%, respectively, suggesting a high prevalence of *T. gondii* antibodies in the human population.

The use of serologic tests for demonstration of specific antibody to *T. gondii* is the initial and primary method of diagnosis. Different serologic tests often measure different antibodies that possess unique patterns of rise and fall with time after infection. A combination of serologic tests, *T. gondii* IgM, IgG, IgA, IgE, and IgG avidity, is usually required to establish whether an individual has been most likely infected in the distant past or has been recently infected. A summary of the laboratory tests and their role for the serodiagnosis of infection caused by the parasite is presented.

Keywords: toxoplasmosis, parasite, serology

R15. ACCREDITATION OF LABS ISO 15189 - IMPROVEMENTS, FOR BETTER SERVICES AND PATIENTS SAFETY

Tomas ZIMA

*Institute of Medical Biochemistry and Laboratory Diagnostics, 1st Faculty of Medicine,
Charles University and General University Hospital, Prague, Czech Republic*

At the beginning of the 21st century the improvement of quality management system for patient safety, including accreditation, is one of the priorities in laboratory medicine.

People are asking why do we need accredited labs ? Accreditation is a good way to demonstrate the competence of the laboratory, is a tool to recognize laboratories world-wide, is linked to periodical audits

stimulating to keep and improve the quality, leads to high standard of services for clients (e.g. patients, health care providers).

The strategic documents of EFLM and IFCC support accreditation of labs based on ISO standard and cooperation with European Accreditation and national accreditation bodies. IFCC recognised that ISO 15189:2013 - Medical laboratories –Requirements for quality and competence, encompasses all the assessment criteria specified in the policy of quality. The first version was issued in 2003 and the last version in 2012 is oriented on process approach with detailed division with clearly defined requirements.

The quality management system provides integration of all processes required in quality policy with needs and requirements of the users.

The processes for selecting, evaluating and transfer of samples and results between the labs and referral laboratories are precisely described with responsibilities of both sides. Evaluation and audits (4.14.) contain new chapters leading to better interactions with clients (user feedback) and laboratory staff (4.14.4.). Risk management (4.14.6.) is an important part in identifying the potential risk for patients safety and laboratory processes, aiming to eliminate them. The labs shall describe the quality quantitative indicators with regular reviewing for all laboratory processes.

For the personnel is important to have a precise job description, with competencies and responsibilities, and with evaluation of effectiveness of continual professional development. Laboratory equipment newly adopts the reporting of adverse incident. We need opened mind description of excessively detailed requirements for consumables. Precise determination of biological reference intervals and critical values are important for correct communication connected to patient safety.

Now, laboratory information management (5.10.) and ethical conduct (4.1.13.) are normative, and they are showing the impact of these topics for patients.

Czech Republic has 255 accredited labs in all areas of laboratory medicine, and reassessment according to new ISO which started in winter 2013 is now, finishing – with 228 reaccredited labs.

The accreditation of labs improves facilitation of accurate and rapid diagnostics, efficiency of treatment and reduction of errors in the laboratory proces. Accreditation is the way to apply the system of standard procedures with aim to improve the quality of laboratory activity and patient safety.

R16. IMPROVING THE EFFICIENCY OF CLINICAL LABORATORY SERVICES

Janet SMITH, IFCC

Automation of laboratory analyses over the past 50 years has greatly increased efficiency in terms of the speed with which analytical results become available but speed is not the only factor contributing to efficiency. It is also important to maintain quality. More recently, the extension of automation to both the pre- and post-analytical phases has not only improved turnaround time but reduced opportunities for human error.

However, analysis is not the only process to be considered. By examining overall workflow, using management techniques such as LEAN principles, wasteful steps can be eliminated and processes streamlined. Efficiency is improved by standardised practice, developed to ensure quality and hence reduce errors. Using such management techniques is dependent on teamwork and a committed, highly trained workforce.

Improvement of efficiency should not be considered in isolation. It is essential that service users are involved in defining the level of service expected and what is required for appropriate patient care. Also, collaboration with other laboratories, for example in terms of sharing instrumentation or in decisions on which tests to offer on site, may provide further opportunities for more effective and efficient provision of service.

R17.PROVOCĂRI ÎN ÎMBUNĂTĂȚIREA TURN AROUND TIME

Ioana BRUDAȘCĂ

Universitatea de Medicină și Farmacie Iuliu Hațieganu Cluj Napoca

Turn around time TAT reprezintă unul din indicatorii de performanță pentru laboratoarele medicale. În sens extins, TAT cuprinde intervalul dintre solicitarea testelor și luarea unei decizii clinice, fiind cunoscut sub denumirea de ciclu total de testare.

În această accepțiune, TAT include mai multe etape: solicitarea testului, recoltarea, identificarea, transportul, pregătirea, analiza, raportarea rezultatelor, interpretarea, acțiunea. Cu toate acestea, majoritatea laboratoarelor restrâng definiția TAT la activitățile din cadrul laboratorului, considerând că etapele preanalitice și luarea deciziilor clinice sunt în afara posibilităților de control ale laboratorului. Cu toate că întârzierile non-analitice sunt cauza principală de prelungire a TAT, un TAT nesatisfăcător este una din cauzele de nemulțumire legate de laborator. Acțiunile pentru îmbunătățirea TAT trebuie să se adreseze atât activității din laborator (personal suplimentar pentru recepția/procesarea probelor, instruire a personalului pentru manevrarea probelor urgente, folosirea de etichete distincte pentru probele urgente, centrifugare rapidă) cât și etapelor non-analitice: solicitare electronică, revizuirea programului de recoltare, transportul probelor în tranșe, transportul prin sistem de tuburi pneumatice.

Cuvinte cheie: turnaround time, fază preanalitică, fază analitică

CHALLENGES IN IMPROVING TURNAROUND TIME

Turnaround time (TAT) is one of the performance indicators of medical laboratories. In an extended sense, TAT encompasses the interval between the test request and the moment a clinical decision is made, being known as total testing cycle.

Considering this definition, TAT includes several steps: ordering, collection, identification, transportation, preparation, analysis, reporting, interpretation and action. However, many laboratories restrict their definition of TAT to intra-laboratory activities, on account that the pre-analytical steps and the action taken by the clinicians cannot be controlled by the laboratory staff. Even if non-analytical delays are the main cause of TAT prolongation, unsatisfactory TAT is one of the major complaints about laboratory service. The actions taken to improve TAT must address both intra-laboratory steps (addition of personnel to process specimens, training of laboratory staff to handle urgent samples, use of distinct labels for urgent specimens, use of three minute urgent centrifuge), and clinical ward activity (electronic test order, revision of phlebotomy schedules, transportation of specimens to the laboratory in batches, transportation of specimens to the laboratory by pneumatic tube).

Keywords: turnaround time, pre-analytical phase, analytical phase

R18. DOES THE MANAGEMENT OF CRITICAL-RISK RESULTS IN EUROPEAN LABORATORIES CONFORM TO THE CLSI GUIDELINE?

Éva AJZNER on behalf of the Task and Finish Group on Critical Results of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine and the Australasian Association of Clinical Biochemistry

Department of Laboratory Medicine and Clinical Microbiology, Jóna University Hospital, Nyíregyháza, Hungary

The management of critical-risk results (CRR) -laboratory results that require immediate medical attention and action because they indicate a high risk of imminent death or major patient harm- is considered as a significant patient safety factor.

The Task and Finish Group on Critical Results of the European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine collected information on the practice of eight hundred and seventy one European laboratories in CRR management and analysed the alert lists (ALs) of almost 400 laboratories in 2012. This presentation will discuss the observed CRR management practices in the light of the recommendations of the recently published standard CLSI-GP47.

The fundamental requirement of CLSI-GP47 on the necessity of organisational-specific ALs and CRR reporting policy was found fulfilled. However, wide variations were seen between laboratories in those aspects how they developed their ALs as well as in terms of which tests laboratories selected for inclusion in ALs. The most important unconformities in designing of ALs were that thresholds were often not set on broad consensus in institutions and timeframes in reporting linked to certain values were seldom indicated. Wide variations were also observed in the reporting process of CRRs among laboratories. Their policies were not always based on the patient clinical condition. Only a third of the respondents established practices for proper documentation or monitoring of the performance of their CRR notifications.

There is a definitive need for training courses on CLSI-GP47, when laboratory professionals can acquire patient-risk based approach in AL development and CRR management.

R19. INDICATORII CALITĂȚII, DE LA FORMALISM LA VALOARE ADĂUGATĂ

Gabriel IONESCU¹, Crezante LAZAR², Ioana CULEA³

¹ I.N.C. „Cantacuzino”, București, ²RoEQALM, București, ³INHT, București

Îmbunătățirea continuă a calității diagnosticului de laborator este nu numai o așteptare firească a pacienților și medicilor clinicieni, dar a devenit o necesitate derivată din competiția între laboratoare pe piața serviciilor de profil. Clauza referitoare la acest aspect din ISO 15189:2013 capătă o importanță deosebită, pentru monitorizarea implementării sale reale un instrument de măsurare efectivă fiind „indicatorii calității” (IC).

Pentru a nu fi doar o operațiune de culegere de date, multe și greu de analizat, care rămân în final nevalorificate, procesul de stabilire și implementare a IC cu adevărat utili trebuie să se facă după o metodologie clară, de personal instruit, care să țină cont de:

- nu există o listă de indicatori universal valabili;
- stabilirea și implementarea, eventual modificarea IC este un proces continuu, în echilibru între resursele disponibile și beneficiile scontate;
- IC selectați vor ține cont de nevoile reale ale utilizatorilor serviciilor;
- IC vor monitoriza etapele critice ale diagnosticului, dar și aspecte de management și procese suport, stabilite în urma analizei de risc.

Scopul final nu este de a avea „un tablou de bord” cu zeci de indicatoare, greu de supravegheat simultan și deci formal, ci de a urmări realmente acei indicatori utili pentru identificarea și evaluarea oportunităților de îmbunătățire, inclusiv prin prisma „valorii adăugate” în procesul de îngrijire a pacientului.

Cuvinte cheie: indicatorii calității, îmbunătățire continuă, management

QUALITY INDICATORS FROM FORMALISM TO ADDED VALUE

Continuous quality improvement of laboratory diagnosis is not only a normal expectation of patients and clinicians, it became a necessity derived from competition among laboratories.

The clause of ISO 15189:2013 standard regarding this issue has gained particular importance, for monitoring its real implementation, an effective measuring tool being the “quality indicators” (QI).

To avoid that the process of setting and implementing QI remains a mere operation of collecting huge amounts of data difficult to analyze and use, reliable QI should be established according to a clear methodology, by well trained personnel and take into account the following:

- there are no universally accepted/valid indicators;
- the establishment, implementation and possible modification of QI is a continuous process involving the available resources versus the expected benefits;
- the selected QI shall take into account the real needs of service users;
- QI shall monitor the critical stages of diagnosis as well as management aspects and support processes established following a risk analysis

The final aim is not to have a dashboard with hundreds of indicators hard to monitor simultaneously, but to follow those indicators that are useful for identifying and evaluating the improvement opportunities, including from the „added value” viewpoint all along the patient’s health care process.

Keywords: quality indicators, continuous improvement, management

C22. DEZVOLTAREA ȘI FOLOSIREA INDICATORILOR DE CALITATE ÎNTR-O SUCURSALĂ A UNUI LABORATOR CLINIC NATIONAL

Remona Eliza DAVID^{1,2}, Minodora DOBREANU²

¹Clinica Sante Tîrgu Mureș, ²Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș

Introducere: Pentru a reduce erorile pre-analitice în laborator, am dezvoltat o serie de indicatori de calitate – „măsura gradului în care o serie de caracteristici inerente îndeplinesc cerințele particulare” (definiția 3.9; ISO 15489:2013). Scopul studiului nostru a fost atât analiza evoluției indicatorilor pentru a identifica etapele în care eșecul se produce cât și luarea de măsuri pentru reducerea riscului.

Material și metodă: Lotul de studiu a fost constituit din toate cererile de analiză primite de laborator (59.654), în perioada 01.01.2015 – 31.12.2015, pentru Departamentele de Biochimie, Hematologie și Coagulare. În prima etapă a studiului am selectat indicatorii de calitate (QI) folosind FMEA – Failure Modes and Effects Analysis – tehnică a managementului riscului (specimene hemolizate, coagulate și eşantioane cu volum insuficient recoltat). În a doua etapă a studiului, laboratorul a dezvoltat QI pentru îmbunătățirea și monitorizarea calității urmărind pașii: prezentarea definițiilor operaționale pentru fiecare indicator, dezvoltarea strategiei de colectare și analiză a datelor, respectiv stabilirea țintelor. Lunar, pentru fiecare QI s-a calculat Six Sigma, folosind calculatorul Westgard (<https://westgard.com/six-sigma-calculators.htm>). Pentru a evalua tendința schimbărilor și gradul de control asupra procesului a fost folosită harta de control pentru date atribuite: u-chart.

Rezultate și concluzii: Folosind informațiile organizațiilor de acreditare și datele obținute de laborator am întocmit „Fișa de lucru a QI”. Procentul specimenelor neconforme a fost de 2,46%. Cele mai mari procente au fost găsite pentru indicatorii: „specimene hemolizate” pentru Departamentele de Biochimie și Coagulare (0,99%; respectiv 0,90%) și „specimene coagulate” pentru Departamentul Hematologie (0,24%). Rezultatele demonstrează că dezvoltarea QI poate servi ca instrument de monitorizare și control pentru activitățile pre-analitice.

Cuvinte cheie: indicatori de calitate, Six Sigma, managementul riscului

DEVELOPMENT AND USE OF QUALITY INDICATORS IN A BRANCH OF A NATIONAL CLINICAL LABORATORY

Introduction: To reduce the preanalytical errors in the laboratory, we evolved several quality indicators – “quantification measurement of a set of inherent characteristics accomplish the specific requirements” (definition 3.9; ISO 15489:2013). The aim of our study was both the analysis of the indicators’ development in order to identify the stages in which the failure occurs and to take the required measures for risk reducing.

Materials and methods: The study group included all the analysis requests received by the laboratory (59,654) during 01.01.2015-31.12.2015, for the Biochemistry, Hematology and Coagulation Departments. The first stage of the study was to select the quality indicators (QI) using FMEA – Failure Modes and Effects Analysis – risk management technique (hemolyzed, coagulated specimens and insufficient sample volume). In the second phase of the study, the laboratory evolved QI so as to improve and monitor the quality, paying attention to the followings: to develop the operational definitions for each indicator, to develop the strategy concerning the collection and data analysis, respectively, to set the targets. Monthly for each QI it has been calculated the Six Sigma using the Westgard Calculator (<https://westgard.com/six-sigma-calculators.htm>). In order to assess the tendency of change and the control level over the process there was used a control chart for attribute data: u-chart.

Results and conclusions: Using the accreditation organizations’ information and the data obtained by the laboratory we drew up the “worksheets for QI”. The percentage for nonconforming specimens was 2.46%. The highest percentages were found for the following indicators: “hemolyzed specimens” for Biochemistry and Coagulation Departments (0.99%, respectively 0.90%) and “coagulated specimens” for Hematology Department (0.24%). The results show that the QI evolvement can serve as a tool for monitoring and controlling the preanalytical activities.

Keywords: quality indicators, Six Sigma, risk management

C23. ROLUL CONTROLULUI EXTERN AL CALITĂȚII ÎN ÎMBUNĂȚIREA CALITĂȚII ACTIVITĂȚII LABORATOARELOR DE ANALIZE MEDICALE

Georgeta SORESCU, Constanța POPA

Asociația pentru Calitate în Laboratoare (CALILAB)

Introducere. Există diferite denumiri pentru controlul extern al calității în diferite documente aplicabile laboratoarelor medicale (standarde – ISO 15189, ISO 17043, legi – OMS 1301, OMS 2071, Norme Co-Ca): control extern al calității, scheme de încercări de competență, scheme de testare a competenței, program de evaluare externă a calității (EQA), Proficiency Testing (PT).

Rolul controlului extern al calității în îmbunătățirea calității activității laboratoarelor de analize medicale din România este evidențiat prin:

- instruirea laboratoarelor participante pe baza rezultatelor comparărilor interlaboratoare;
- apelul participanților;
- consilierea participanților post-participare la controlul extern al calității.

Material și metodă. Am studiat comparativ pentru perioada 2013 - 2015 numărul și cauzele apelurilor participanților la controlul extern al calității furnizat de CALILAB.

Rezultate. Am observat pentru perioada 2013-2015 creșterea numărului apelurilor participanților la controlul extern al calității furnizat de CALILAB, evidențiind astfel rolul important al controlului extern al calității în îmbunătățirea calității activității laboratoarelor de analize medicale din România.

Concluzii. Creșterea numărului apelurilor în perioada 2013-2015 are drept cauze posibile:

- preocuparea pentru o calitate mai bună a serviciului furnizat de laboratoare;
- încurajarea participanților de către CALILAB să-și monitorizeze și analizeze rezultatele evaluate în cel mult 2 zile de la primirea rapoartelor de evaluare;
- respectarea Politicii RENAR P-04 - Privind utilizarea în acreditare a încercărilor de competență și a comparărilor interlaboratoare.

Cuvinte cheie: apel, participanți, control

THE ROLE OF EXTERNAL QUALITY CONTROL IN IMPROVING QUALITY OF THE ACTIVITIES IN MEDICAL ANALYSIS LABORATORIES

There are different names for external quality control in different documents applicable to the medical laboratories (standards – ISO 15189, ISO 17043, laws – OMS 1301, OMS 2071, Framework Norms): External quality control, scheme of attempts of competence, proficiency testing schemes, External quality assurance (EQA), Proficiency Testing (PT).

The role of external quality control in improving quality of the activities in medical analysis laboratories from Romania is highlighted through:

- Training of participating laboratories on the basis of results of interlaboratory comparisons;
- The appeal of participants;
- Counseling of the participants post participation to external quality control.

Material and method. We have studied the appeals between 2013-2015, the number and the causes made by participants to the external quality control schemes organized by CALILAB.

The **results.** We have observed for the period in study (2013-2015) an increased number of appeals from participants to external quality control organized CALILAB, highlighting thereby the important role of external quality control in the improvement of quality of medical analysis laboratories from Romania and the attention to improving overall quality.

Conclusions. The increased number of appeals during the period 2013-2015 has as possible causes:

- desire for better quality of service provided by laboratories;
- encouraging the participants labs by CALILAB to monitor and analyze results evaluated within 2 days of receipt of evaluation reports;
- respecting RENAR policy P-04 - On use in accreditation of proficiency testing and interlaboratory comparisons.

Keywords: Call, participants, control

R20. TUMOR MARKERS AND THEIR USING IN DAILY PRACTICE

Tomás ZIMA, Drahomíra SPRINGER

Institute of Medical Biochemistry and Laboratory Diagnostics, 1st Faculty of Medicine, Charles University and General University Hospital, Prague, Czech Republic

Tumor markers (TM) are a variety of different molecules – compounds associated with malignant processes. These compounds are produced by malignant cells or their level increases as a reaction to the tumor growth process.

The markers are enzymes (LD, NSE, PSA, thymidinkinase), immunoglobulins (paraproteins), hormones (hCG, PTH, ACTH, calcitonin, prolactin), fragments of glycoproteins (CA19-9, CA15-3, CA125), fragments of cytokeratin (TPA, CYFRA21-1), oncofoetal antigens (AFP, CEA), receptors (oestrogen-progesterone receptor, receptor for IL-2, HER2/neu) and circulating cell elements.

The markers and their elevation or finding should be the earliest marker of the malignant process. For screening we use the markers in groups of population with high risk of malignant diseases- e.g. calcitonin in families with high incidence of medullar carcinoma of thyroid gland or CA 15-3 in families with mutations in BRCA1 and BRCA2 genes. The measurement for screening purpose of PSA in men between age 50-65 years, or of CA-125 and HE4 in women is still a matter of debate. AFP and hCG are diagnostic markers for germinal tumours. Only the positivity of a marker has a diagnostic value.

Increased levels of TM are also associated with non-malignant diseases such as chronic inflammation and changes based on decreased removal (impaired liver or kidney function). Negative results or results within the reference ranges do not exclude the presence of a tumor in the organism.

Preanalytical phase plays a key role in laboratory medicine as well as in TM analysis. Contamination with saliva or sweat affects the measurement of SCC and CA 19-9, haemolysis artificially increases NSE. PSA level is falsely increased after per rectum examination or other manipulation of prostate (cycling, sexual activity) – the blood sampling should be provided after 3-5 days.

The main role of markers is the monitoring of disease; their elevation is mostly the first marker of relapse. Significant changes of markers consist of: three times increasing levels also under the cut off

levels; their increase higher than 25% during the therapy means progression and their decrease lower than 50% shows remission.

The guidelines of EGTM and ISOBM recommend using 1-2 more specific TM. The measurement should be done before therapy, at the end of therapy, during the first year every 1-2 months and after then every 3-6 months.

New markers as DNA mutations, protein products of oncogenes (e.g. c-myc, c-fos, k-ras, src) post translation modification, „new“ genetic changes in malignant cells, markers of angiogenesis, circulating tumor cells or nucleic acids are potential more effective markers for the diagnostic and therapeutic process.

The ideal tumor marker does not exist yet, but tumor markers have a sufficient role for patient safety if we have a sufficient knowledge of them.

Our studies were supported by RVO MZ CR VFN64165 and PRVOUK P25/LF1/2.

R21. NEW LABORATORY ASSAYS THAT CAN BE USED TO PREDICT RISK AND PROGNOSIS FOR BREAST AND ESOPHAGEAL CANCERS

William W. AU

Shantou University Medical College, Shantou, China; University of Texas Medical Branch, Texas, USA.

Chromosome aberrations and gene mutations are hallmark biomarkers for the majority of human cancers and are frequently used as cancer prognostic indicators. Therefore, DNA repair capacity is involved with determination of cancer induction and prognosis. Professor Au has developed an assay that can be used to determine functional DNA repair capacity. Using this assay, he and his team has been working on breast and esophageal squamous cell carcinomas in China. They found that cancer patients had reduced DNA repair capacity compared with matched controls. Among the breast cancer patients, none of them had the BRCA gene mutation. Therefore, their reduced repair capacity was due to other repair gene mutations (polymorphisms) as well as environmental factors. Having reduced DNA repair capacity was an important and significant risk factor for cancer. Increased risk was associated with age and smoking status. In addition, patients with lower repair capacity had more aggressive cancer and had poorer prognosis such as metastasis. Such poor prognosis was significantly enhanced by having other abnormalities, such as altered oncogene expression. Details of these data will be presented.

C 24. ANALIZA METILĂRII UNUI PANEL DE GENE ÎN URINĂ ÎN DIAGNOSTICUL NEINVAZIV AL CANCERULUI DE PROSTATĂ

Raluca DUMACHE^{1,2}, Anca TUDOR¹, Radu MINCIU¹

1.UMF "Victor Babeș" Timișoara; 2. Institutul de Medicină Legală Timișoara

Introducere: Cancerul de prostată (CaP) este unul din cele mai frecvente cancere în rândul bărbaților și unul dintre cele mai agresive tipuri de cancer genitourinar. Scopul acestui studiu a fost evaluarea eficacității unui panel format din 3 gene: glutation S-transferaza P1 (GSTP1); multidrug rezistentă 1 (MDR1); polipoza adenomatoasă coli (APC), pentru diagnosticarea incipientă a CaP din probe de urină.

Materialle și metode: Probele de urină au fost colectate de la 89 bărbați cu diagnosticul de CaP și 69 subiecți de control. Pentru a evalua nivelul de metilare a celor 3 gene GSTP1, APC și MDR1 s-a folosit metoda cantitativă a metilării-specifice PCR(qMSP).

Rezultate: Metilarea genei GSTP1 în probele de urină a fost prezentă la 87 din 89 (97.8%) pacienți cu CaP, respectiv 13 din 62 (21%) subiecți de control. Metilarea genei APC a fost prezentă la 61 din 89 (68.5%) pacienți cu CaP, respectiv 8 din 62 (12.9%) subiecți de control. Metilarea genei MDR1 a fost prezentă la 60 din 89 (67.4%) pacienți cu CaP, respectiv 4 din 62(6.5%) subiecți de control. Sensibilitatea și specificitatea obținute pentru panelul de gene au fost de 88.99%, respectiv 85.5%. Aria de sub curbă (AUC) a fost de 0.927.

Concluzii: Analiza unui panel de 3 gene metilate prin tehnici moleculare poate folosi în diagnosticul neinvaziv și incipient al CaP.

Cuvinte cheie: cancer de prostată (CaP); gena glutation S-transferaza P1 (GSTP1); gena multidrug rezistentă 1 (MDR1); gena polipozei adenomatoase coli (APC);

MULTIGENE METHYLATION ANALYSIS FROM URINE AS A NONINVASIVE DIAGNOSTIC METHOD IN PROSTATE CANCER

Introduction: Prostate cancer (PCa) represents one of the frequent tumors in men and one of the most aggressive type of genitourinary cancer. The aim of our study was to evaluate the efficacy of a panel of three genes: glutathione S-transferase P1 (GSTP1); multidrug resistance 1 (MDR1) gene; adenomatous polyposis coli (APC) gene for early PCa detection from urine specimens.

Material and method: Voided urine specimens were collected from 89 patients with PCa and 69 controls. In order to evaluate the methylation status of genomic DNA of three genes GSTP1, APC and MDR1 we used the qMSP method.

Results: Methylation of GSTP1 gene in urine samples was found in 87 of 89 (97.8%) PCa patients and in 13 of 62 (21 %) controls. Methylation of APC gene was found in 61 of 89 (68.5%) PCa patients and 8 of 62 (12.9%) controls. Methylation of MDR1 gene was found in 60 of 89 (67.4%) PCa patients and in 4 of 62(6.5%) controls. The sensitivity and specificity for the multigene panel was 88.99% and 85.5%, respectively. The AUC in this case was 0.927.

Conclusion: The analysis of a panel of three methylated genes in PCa by qMSP, can be used for early detection of this disease by noninvasive methods.

Keywords: prostate cancer (PCa); glutathione S-transferase P1 (GSTP1); multidrug resistance 1 (MDR1) gene; adenomatous polyposis coli (APC) gene

C25. CARACTERISTICI CITOLOGICE ȘI MOLECULARE ALE CARCINOMULUI PAPILAR TIROIDIAN

Oana POPA¹, Sorina SCHIPOR¹, Dumitru IOACHIM¹, Dana MANDA¹, Susana VLADOIU¹,
Adriana PADURE¹, Corin BADIU^{1,2}, Andra CARAGHEORGHEOPOL¹

¹Institutul Național de Endocrinologie "C.I.Parhon", București

²Universitatea de medicină și farmacie "Carol Davila", București

Introducere. Mutațiile BRAF și rearanjamentele genei RET sunt cele mai comune evenimente moleculare în cancerul tiroidian papilar (PTC). Importanța acestor markeri în PTC constituie încă un subiect controversat.

Scop. Analiza prevalenței rearanjamentelor RET/PTC corelate cu caracteristicile histopatologice și statusul BRAF în tumori tiroidiene provenite de la pacienți cu PTC, operați.

Pacienți și metodă. Au fost selecționate probe de țesut tumoral inclus în parafină provenite de la 26 pacienți, după examenul și clasificarea histopatologică: 5 PTC-clasic (cPTC), 17 PTC-varianta foliculară (FV), 4 PTC-forme agresive (AF). Statusul BRAF a fost testat prin metoda PCR-RFLP și confirmat prin secvențiere Sanger. Pentru tehnica FISH a fost folosită o sondă ZytoLight SPEC RET Dual Color break-apart probe (ZytoVision GmbH, Germany). Pentru analiza rearanjamentelor RET/PTC au fost analizați 100 de nuclei individuali/probă (microscop LEICA2500). Studiul a fost aprobat de Comisia de etica a institutului.

Rezultate. În cazul cPTC semnalul de splitare a fost obținut în peste 20% dintre nuclei, exceptând un caz- cPTC multifocal (5%). Probele de FV au evidențiat splitare în 10-15% dintre nuclei, cu o excepție (5%). În formele agresive s-a identificat rearanjarea RET în 15-20% dintre nuclei în 3 cazuri și 5% într-un caz. Mutația BRAF a fost prezentă în 2 cazuri AF, ceea ce confirmă ipoteza coexistenței celor două oncogene în celule diferite ale aceleași tumori.

Concluzii. Subtipurile PTC analizate prezintă diferențe în prevalența rearanjamentelor RET/PTC și heterogenitate tumorală. Studiile aflate în desfășurare pe un număr semnificativ de cazuri pot confirma utilitatea testelor moleculare în prognosticul, tratamentul și monitorizarea PTC.

Cuvintecheie: RET/PTC, FISH, BRAF

Studiul a fost finanțat prin programul UEFISCDI grant PN-II- PT-PCCA-2011-3.2 no.135/2012

CYTOLOGIC AND MOLECULAR CHARACTERISTICS OF PAPILLARY THYROID CARCINOMA

Background. BRAF point mutations and RET gene rearrangements represent the two most common molecular events in papillary thyroid carcinoma (PTC). The clinical significance of these markers in PTC is still under debate.

Aim. To investigate the prevalence of RET/PTC rearrangements correlated with PTC features and BRAF status in thyroid tumors from patients referred for thyroidectomy.

Patients and methods. We selected parafin-embedded tumour tissues samples from 26 PTC patients: 5 classic (cPTC), 17 follicular variant (FV), 4 with aggressive forms (AF). Informed consent was obtained from all patients. BRAF status was tested by PCR-RFLP and confirmed by Sanger sequencing. FISH was performed using the ZytoLight SPEC RET Dual Color break-apart probe (ZytoVision GmbH,

Germany). 100 non-overlapping cell nuclei were registered for the presence of a split signal (microscope LEICA2500). The study was approved by the Ethics Committee of the Institute.

Results. We scored a broken signal in more than 20% of nuclei from cPTC samples, except one case-multifocal cPTC (5%). In FV the broken signal was present in 10-15% of nuclei, with two exceptions (5% of nuclei). In AF the split signal was identified in 15-20% of nuclei, except one case (5%). We found BRAF mutation in 2 AF samples, which supports the hypothesis of coexistence of these two oncogenes in different cells of the same tumor.

Conclusions. RET/PTC rearrangements prevalence reflects differences in PTC subtypes and tumoral heterogeneity. Ongoing studies on a large sample size may confirm the clinical usefulness of molecular tests in PTC prognosis, treatment and follow-up.

Keywords: RET/PTC, BRAF, FISH

C26. VERIFICAREA ȘI VALIDAREA UNEI METODE DE CITOMETRIE IN FLUX DESTINATĂ CUANTIFICĂRII SPECILOR REACTIVE ALE OXIGENULUI GENERATE DE STIMULAREA FAGOCITELOR SÂNGELUI PERIFERIC CU *C.ALBICANS*

Floredana-Laura ȘULAR,^{1,2} Minodora DOBREANU^{1,2}

¹ Universitatea de Medicina si Farmacie Tîrgu-Mureș, 2Spitalul Clinic Județean de Urgență, Tîrgu Mureș

Introducere: Celulele mononucleare din sangele periferic au fost recunoscute de multă vreme ca fiind efectorii cheie în infecțiile bacteriene și fungice. Ca primă linie a apărării, ele fagocitează și omoară microorganismele printr-o combinație de mecanisme care include producerea de specii reactive ale oxigenului. Pe piață se găsesc câteva kituri comerciale care utilizează o suspensie opsonizată de *Escherichia coli* ca stimul pentru activarea celulelor mononucleare periferice, însă nici unul dintre ele nu a fost validat în vederea folosirii fungilor ca stimul de activare. Scopul studiului a fost acela de a crea *in vitro* condițiile necesare evaluării răspunsului imun celular nespecific care apare *in vivo* în cazul fungemiilor.

Material and metodă: Criteriile de performanță ale unui kit comercial (Phagoburst™, Glycotope Biotechnology) au fost verificate în laboratorul nostru conform recomandărilor producătorului. Pe lângă aceasta, am introdus în vederea testării a o suspensie neopsonizată de *C. albicans* ca stimul, în locul suspensiei bacteriene opsonizate de *Escherichia coli* furnizat de producător. Sângele periferic a 6 adulți a fost testat în triplicat în vederea verificării repetabilității și a gradului de activare al celulelor mononucleare.

Rezultate: În condițiile de testare ale laboratorului nostru, procentul populației de granulocite activate a fost similar celui descris de producător atunci când *Escherichia coli* opsonizată a fost utilizată ca stimul (91.78-99.44% față de 99.6-99.95%), având un coeficient mediu de variație de 1.29% față de 0.1%. Monocitele au prezentat un interval mai larg de activare față de cel descris de producător (61.18-92.34% față de 81.80-96.67), având un coeficient mediu de variație de 7.9% față de 1.1%. Atunci când s-a realizat stimularea cu suspensia non-opsonizată de *C. albicans* a fagocitelor, gradul de activare a populației granulocitare a variat între 2.52-7.18%, cu un CV mediu de 5.73%, în timp ce în dreptul monocitelor a atins un coeficient mai ridicat de variație de (16.15%) în populația adultă studiată, gradul

de activare variind între 1.04-10.63%. Valorile obținute sunt comparabile cu cele **Rezultate** în urma activării generate de stimulul fiziologic fMLP (N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine) furnizat în kit.

Concluzie: Repetabilitatea obținută în laboratorul nostru, precum și intervalul de activare a celulelor mononucleare periferice, atunci când s-a folosit stimularea cu *Escherichia coli*, sunt comparabile celor descrise de producător. Studiul de față indică faptul că introducerea spre testare a unei suspensii fungice în vederea cuantificării speciilor reactive produse de fagocite în prezența celulelor levurice poate furniza informații suplimentare cu privire la răspunsul imun celular nespecific, în mod special în cazul pacienților aflați la risc de a dezvolta o infecție fungică invazivă.

Conflict de interese: Această lucrare a fost finanțată de un grant câștigat în cadrul Competiției Interne pentru Granturi de Cercetare Științifică (CIGCS) a Universității de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș, Proiect Individual nr.15/23.12.2014.

Cuvinte cheie: citometrie în flux, repetabilitate, specii reactive ale oxigenului, infecție fungică invazivă

METHOD VERIFICATION AND VALIDATION OF AN IVD FLOW CYTOMETRY METHOD FOR OXIDATIVE BURST QUANTIFICATION GENERATED BY *C. ALBICANS* IN MONONUCLEAR CELLS

Background: The mononuclear cells of the peripheral blood have long been acknowledged as key factors in bacterial and fungal infections. As first line of defense, they phagocyte and kill microorganisms through a combination of mechanisms that include the production of oxygen reactive species. Several commercial kits that use unlabeled opsonized *Escherichia coli* as stimulus for the activation of peripheral blood mononuclear cells have been developed, but none of them have used fungi as stimulus. The aim of the present study was to create the *in vitro* the conditions required for the assessment of the *in vivo* cellular immune response in fungal bloodstream infections.

Material and method: The performance criteria of a commercial kit (Phagoburst™, Glycotope Biotechnology) have been verified in our laboratory as described by the producers. In addition, we have partially altered the use of the available kit by introducing a non-opsonized *C. albicans* suspension for testing as stimulus, instead of the opsonized *Escherichia coli* stimulus provided by the manufacturer. The peripheral blood samples of 6 adults were tested in triplicate. The intra-assay variation as well as the degree of mononuclear cell activation were assessed.

Results: The activated granulocyte population, when exposed to the testing conditions of our laboratory, was similar to the one described by the producer when the non-opsonized *E.coli* was used as a stimulus (91.78-99.44% versus 99.6-99.95%, with an average coefficient of variation of 1.29% versus 0.1%). The monocytes had a broader range of activation in our laboratory when compared to the producer (61.18-92.34% versus 81.80-96.67, average coefficient of variance of 7.9% versus 1.1%). When stimulated with a non-opsonized *C. albicans* suspension, the activation of the granulocyte population ranged between 2.52-7.18%, with a 5.73% average CV, while for monocytes it reached a higher coefficient of variance (16.15%) in the studied adult population, with an activation degree ranging from 1.04-10.63%. This range is comparable to the activation generated by the physiological fMLP (N-formyl-methionyl-leucyl-phenylalanine) stimulus provided in the kit.

Keywords: Flow cytometry, repeatability, oxygen reactive species, invasive fungal infection

P57. REZISTENȚA LA ANTIBIOTICE A TULPINILOR DE ESCHERICHIA COLI IZOLATE ÎN INFECȚII URINARE COMUNITARE

Otilia MICLE¹, Adriana GALIS², Mariana MUREȘAN¹, Elisa Todisoa AMANA¹, Ioana MOȘ¹

¹Universitatea Oradea – Facultatea de Medicină și Farmacie, ²Bioclinica Oradea

Obiective: Studiul urmărește analizarea rezistenței la antibiotice a tulpinilor de *Escherichia coli* izolate în infecții urinare comunitare.

Material și metoda: Au fost izolate tulpini de *E.coli* în urina pacienților care s-au prezentat la laborator pentru suspiciunea de infecție urinară comunitară în perioada ianuarie-iunie 2015. Probele au fost insamantate pe mediul cromogen UTi (Oxoid). Identificarea și testarea sensibilității la antibiotic s-a efectuat pe sistemul Vitek 2 (Biomerieux). **Rezultate:** Din cele 1507 uroculturi, 356 au fost pozitive (24 %). Au fost izolate 218 tulpini de *E.coli* (61%), din care 32 de tulpini au fost BLSE (betalactamaze cu spectru extins) pozitive. Cea mai mare rezistență s-a înregistrat la ampicilină 54 %, trimethoprim/sulfamethoxazol 32 % și quinolone 24 %. 97 % din tulpinile de *E. coli* au fost sensibile la fosfomicină. Toate tulpinile au fost sensibile la carbapeneme și amikacină.

Concluzii: Tulpinile de *E.coli* izolate în ambulator prezintă o rezistență multiplă la antibiotice, mai ales la aminopeniciline quinolone și trimethoprim/sulfamethoxazol, antibiotice utilizate în tratamentul empiric al infecțiilor urinare comunitare. Prevalența tulpinilor BLSE pozitive este mare, se impun măsuri de prevenire a apariției și răspândirii rezistenței multiple.

Cuvinte cheie: *Escherichia coli*, BLSE, rezistență la antibiotice, infecție urinară

ANTIBIOTIC RESISTANCE OF ESCHERICHIA COLI ISOLATES FROM COMMUNITY ACQUIRED URINARY TRACT INFECTIONS

Objective: In this study, we analyzed the antibiotic resistance of community-acquired urinary tract infection caused by *Escherichia coli*.

Material and methods: *E. coli* strains were isolated from urine of outpatient for a suspicion of community urinary tract infection from January 2015 until June 2015. Samples were plated onto Chromogenic UTI medium (Oxoid). Identification and antibiotic sensitivity test were performed on Vitek 2 system (Bio Merieux).

Results: Of 1507 urine culture samples, 356 were positive (24 %). 218 strains of *E.coli* were isolated (61 %) and 32 strains were ESBL (Extended Betalactamase Strains) positive (15 %). The antimicrobials with higher resistance rates were ampicillin 54%, trimethoprim/sulfamethoxazole 32 %, and quinolone 24 %. 97% of *E.coli* strains were sensitive to fosfomycin. All strains were sensitive to carbapenemes and amikacin.

Conclusions: *E. coli* isolates studied presented multiple resistances to antibiotics, especially to aminopeniciline, quinolones and trimethomprim/sulfamethoxazole, antibiotics used for the empiric treatment in community urinary infections. The prevalence of ESBL is increasing and measures to prevent the spread and emergence of resistance need to be taken.

Keywords: *Escherichia coli*, ESBL, resistance to antibiotics, urinary tract infection

P58. INCIDENȚA STREPTOCOCILOR BETA HEMOLITICI IZOLAȚI DIN EXSUDATUL FARINGIAN LA PACIENȚII DIN AMBULATOR

Otilia MICLE¹, Ioana MOȘ¹, Patricia MARUȘCA¹, Helga ROSMANN², Mariana MUREȘAN¹

¹Universitatea Oradea – Facultatea de Medicină și Farmacie – Departamentul Discipline preclinice

² Bioclinica Oradea

Introducere. Streptococul beta hemolitic de grup A (SBHGA) este cauza cea mai frecventă a faringitelor bacteriene în populația pediatrică, dar și adulții pot achiziționa infecția.

Obiective: Scopul studiului este stabilirea incidenței streptococilor beta hemolitici (SBH) izolați din exsudatul faringian la pacienții din ambulator, pe grupe de vârstă.

Material și metodă: S-au luat în studiu un număr de 2.698 de exsudate faringiene de la pacienții cu vârsta între 3 luni și 82 de ani, care s-au prezentat la laboratorul de analize medicale Bioclinica Oradea în anul 2015. Probele au fost însămânțate pe mediul Columbia Agar + 5% sange de berbec (Biomerieux), iar identificarea s-a efectuat prin testul la bacitracină și tipizarea grupelor antigenice prin teste de latex-aglutinare (Oxoid).

Rezultate: Incidența streptococilor beta hemolitici izolați din exsudatul faringian a fost de 5,45%. S-au izolat 147 de tulpini de streptococi beta hemolitici, respectiv 115 tulpini de streptococi beta hemolitici de grup A (78%), 19 streptococi beta hemolitici de grup C (SBHGC) (13%) și 19 streptococi beta hemolitic grup G (SBHGG) (9%). 51 % din tulpinile de SBHGA au fost izolate la copiii de vârstă preșcolară, cea mai mare incidență s-a înregistrat la copiii cu vârsta de 5 ani (16,33% din totalul cazurilor pozitive). La copiii sub 3 ani s-au izolat 3 tulpini de SBHGA (2.04%) și 2 tulpini de SBHGC. Din totalul celor 472 de persoane cu vârsta peste 40 de ani, într-un singur caz s-a izolat SBHGA, 1 caz cu SBHGC și 3 cazuri cu SBHGG.

Concluzii: Cea mai mare incidență a SBHGA s-a înregistrat la copiii de vârstă prescolară. Faringita streptococică este puțin frecventă la copiii sub 3 ani.

Cuvinte cheie: Streptococ beta hemolitic de grup A, exsudat faringian, faringita streptococică

INCIDENCE OF BETA HEMOLYTIC STREPTOCOCCI ISOLATED IN THROAT CULTURE IN OUTPATIENTS

Introduction. Group A beta hemolytic streptococci (GABHS) is the most frequent cause of bacterial pharyngitis in pediatric population, but adults can acquire the infection also. Objectives:

The **aim** of the study is to determine the incidence of beta hemolytic streptococci (BHS) isolated from throat swab of outpatients, on age groups.

Materials and methods: The study was performed by enrolling 2,698 throat swabs collected from patients with age between 3 months and 82 years old, who were present to medical analysis laboratory Bioclinica Oradea in 2015. Samples were plated onto Columbia Agar + 5% sheep blood (Biomerieux) and identification was performed by bacitracin test and antigenic typing by latex agglutination tests (Oxoid).

Results: The incidence of beta hemolytic streptococci isolated from a throat swabs was 5.45%. 147 strains of beta hemolytic streptococci (BHS) were isolated: 115 strains of Group A beta hemolytic streptococci (GABHS) (78%), 19 Group C beta hemolytic streptococci (GCBHS) (13%) and 19 Group G beta

hemolytic streptococci (GGBHS) (9%), respectively. 51% of SBHGA strains were isolated from preschool children and the largest incidence was recorded in children 5 years old (16.33% of the total positive cases). In children under 3 years old, 3 strains GCBHS (2.04%) and 2 strains GGBHS were isolated. Out of 472 patients over 40 years, in one case e was isolated GABHS, one case GCBHS and in 3 cases GGBHS.

Conclusions: The highest incidence of GABHS was in children of preschool age. Streptococcal pharyngitis is very uncommon in children younger than 3 years.

Keywords: Group A Streptococcus (GAS), throat swab, streptococcal pharyngitis

P59. IDENTIFICAREA ETIOLOGICĂ A FUNGILOR IMPLICAȚI ÎN ONICOMICOZE – UN STUDIU AUTOHTON

Violeta Corina CRISTEA^{1,2}, Blănaru GABRIELA¹, Smădu ANGELICA¹,
Denisa Mădălina PASCU¹, Gabriela SANDU¹, Roxana PRICOP¹, Alin Laurențiu TATU³

¹Laboratorul Central de Referință Synevo, București, ²Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București, ³Universitatea de Medicină și Farmacie "Dunărea de Jos", Galați

Onicomicozele sunt afecțiuni cronice ale stratului cornos al unghiilor, determinate de fungi. Studiul își propune să obțină informații cu privire la distribuția etiologică a fungilor implicați în etiologia onicomicozelor în regiunea noastră.

Material și metode. Studiul s-a desfășurat în cadrul Laboratorului Synevo București, în perioada Martie-August 2015. Probele au fost recoltate în recipiente sterile și transportate în maxim 24 de ore de la recoltare. Examinarea microscopică s-a efectuat prin dilacerare cu KOH 10% și culturile au fost însă-mânțate pe mediile Sabouraud cu cloramfenicol și Mycosel (OXOID, UK) cu incubare la 30°C. Pentru identificarea genului și a speciilor izolate s-a folosit metoda spectrometriei de masă (MALDI-TOF MS), folosind sistemul MALDI Biotyper (Bruker, Germania).

Rezultate. Din cele 281 de prelevate examinate, 115 au fost pozitive reprezentând un procent de 41%. În lotul studiat etiologia levurică a fost întâlnită în 61% din cazuri în timp ce fungii dermatofiți au fost implicați în 39% din cazuri.

Cea mai frecventă specie de levuri izolată a fost *Candida albicans* 52%, urmată de *Rhodotorula mucilaginosa* 28%, alte specii de *Candida*, ex. *C. guilliermondi*, *C. lipolytica*, *C. famata*, *C. tropicalis*, *C. zeylanoides*, *C. glabrata* au fost izolate cu o frecvență mult mai mică, cuprinsă între 2 și 4%. În cazul fungilor dermatofiți, *Trichophyton rubrum* a fost identificat în 34.92% din cazuri, urmat de *T. interdigitale* 22.23%, *T. tonsurans* 20,63%, *T. mentagrophytes* 17.46% și *T. equinum* 4,76%.

Concluzii. Examenul clinic este insuficient pentru diagnosticul onicomicozelor, laboratorul având un rol decisiv în stabilirea etiologiei fungice.

Cuvinte cheie: onicomicoze, levuri, dermatofiți, spectrometrie de masă

IDENTIFICATION OF THE FUNGAL ETIOLOGY OF ONYCHOMYCOSIS - A ROMANIAN STUDY

Background & Aims. Onychomycosis is a chronic disease of the horny layer of the nail caused by fungi. The purpose of the present study was to establish the fungal etiology of nail infections in a Romanian population.

Patients and Methods. The study was conducted in Synevo Laboratory from Bucharest, over a period of six months (March-August 2015). The samples were collected in sterile recipients and transported in maximum 24 hours to the laboratory. The microscopic examination was performed by dilaceration with 10% KOH and cultures were grown in Sabouraud medium with chloramphenicol and Mycosel (Becton Dickinson), incubated at 30°C. All positive isolates were identified by mass spectrometry using MALDI Biotyper (Bruker).

Results. Out of the 281 samples tested, 115 samples (41%) were positive. The positive samples revealed the presence of yeasts in 61% of the analyzed cases, while dermatophytes were involved in the rest of 39% of the cases.

The most frequent yeasts species identified during this study was *Candida albicans* 52%, followed by *Rhodotorula mucilaginosa* 28%, while other *Candida* species, i.e. *C. guilliermondi*, *C. lipolytica*, *C. famata*, *C. tropicalis*, *C. zeylanoides*, *C. glabrata* were isolated with a much lower frequency, ranging from 2 to 4%.

Among dermatophytes, *Trichophyton rubrum* was identified in 34.92% of the cases, followed by *T. interdigitale* 22.23%, *T. tonsurans* 20.63%, *T. mentagrophytes* 17.46% and *T. equinum* 4.76%.

Conclusions. The clinical examination is insufficient for the diagnosis of onychomycosis, the laboratory having a decisive role in establishing the fungal etiology.

Keywords: onychomycosis, yeasts, dermatophytes, mass spectrometry

P60. SPECII DE *CANDIDA* IZOLATE DIN ASPIRATELE BRONȘICE

Ioana MOȘ^{1,2}, Carmen LEPA², Dana TUDUSCIUC², Florin NICORICIU²,
Mihaela ZDRÎNCĂ¹, Otilia MICLE¹

¹Universitatea Oradea – Facultatea de Medicină și Farmacie, ²Spitalul Clinic Municipal “Dr. Gavril Curteanu”, Oradea

Introducere: Speciile de *Candida* sunt microorganisme condiționat patogene care pot produce infecții doar la pacienții cu factori de risc.

Obiective: Scopul acestui studiu este de a stabili frecvența izolării acestor specii din aspiratele bronșice, care sunt cele mai frecvente specii și spectrul de sensibilitate al acestora la antifungice.

Material și metodă: S-au luat în studiu 313 aspirate bronșice recoltate de la pacienții internați în Spitalul Clinic Municipal “Dr. Gavril Curteanu” Oradea în perioada 01.12.2014 – 31.12.2015. Pentru izolarea și identificarea speciilor de *Candida* produsele biologice au fost însămânțate pe mediile de cultură: Sabouraud cu cloramfenicol și Brilliance Chromogenic *Candida* Agar. Controlul de calitate al acestor medii s-a făcut cu *Candida albicans* ATCC 60193. În unele cazuri identificarea s-a realizat și cu analizorul automat Viteck®2 Compact de la bioMérieux, carduri YST. Sensibilitatea la antifungice s-a testat cu sistemul automat VITEK®2 Compact (carduri AST-YS06, AST-YS07).

Rezultate: Specii de *Candida* au fost izolate în 55 din aspiratele bronșice prelevate (12% din cazuri), în 87% (52 cazuri) din acestea s-au izolat și specii bacteriene. Speciile izolate au fost *Candida albicans* (33 tulpini), *Candida glabrata* (10 tulpini), *Candida krusei* (7 tulpini), *Candida famata* (2 tulpini), *Candida lusitaniae* (2 tulpini), *Candida tropicalis* (1 tulpină), alte specii (3 tulpini). 38 tulpini au fost testate la antifungice. Sensibilitatea micafungin a fost 100%, la voriconazol de 97,22% și flucytosin 94,44%. Există variații ale gradului de sensibilitate în funcție de specie. *Candida lusitaniae* cu sensibilitate la 5 din cele 6 antimicotice (flucytozin, fluconazol, voriconazol, caspofungin și micafungin). Tulpinile de *Candida albicans* sunt sensibile în procent de 100% doar la voriconazol și micafungin. Cel mai mic grad de sensibilitate s-a obținut la Fluconazol 69,44%.

Concluzii: Cea mai frecventă specie izolată este *Candida albicans* 57% din cazuri. Cel mai eficace antifungic este micafunginul. Apariția de tulpini rezistente subliniază necesitatea unui tratament ghidat de rezultatele antifungigramei.

Cuvinte cheie: *Candida spp.*, sensibilitate, antifungice

CANDIDA SPECIES ISOLATED FROM BRONCHIAL ASPIRATES

Introduction: *Candida* species are microorganisms that cause infections only in patients with risk factors.

Objectives: The aim of this study was to determine the frequency of *Candida* species isolated from bronchial aspirates, to evaluate the most frequent species isolated and to determine their sensitivity to antifungal agents.

Material and Methods: We have studied 313 bronchial aspirates collected from hospitalized patients in the County Hospital "Dr. Gavril Curteanu" Oradea from 12.01.2014 to 31.12.2015. For the isolation and identification of *Candida* species, biological samples were cultivated on the following culture mediums: Sabouraud with chloramphenicol and Brilliance *Candida* Agar. Quality control of these mediums was made with *Candida albicans* ATCC 60193. In some cases identification was made with automatic analyzer Viteck®2 Compact from bioMérieux, YST cards. Antifungal susceptibility was tested with automatic VITEK®2 Compact (AST- YS06 cards, AST- YS07).

Results: *Candida* species were isolated in 55 of bronchial aspirates taken (12% of cases), in 87% (52 of cases) bacterial strains were also isolated. The species isolated were: *Candida albicans* (33 strains), *Candida glabrata* (10 strains), *Candida krusei* (7 strains), *Candida famata* (2 strains), *Candida lusitaniae* (2 strains), *Candida tropicalis* (1 strain) and other species (3 strains). Sensitivity of 38 strains were tested with antifungal agents. Micafungin sensitivity was 100%, voriconazol sensitivity was 97.22% and flucytosin sensitivity was 94.44%. There are variations in the degree of sensitivity depending on the species. *Candida lusitaniae* was sensible to 5 of the 6 antifungal agents used in this study (flucytozin, fluconazole, voriconazole, caspofungin and micafungin). *Candida albicans* strains are sensitive 100% just to voriconazole and micafungin. The lowest degree of sensitivity was obtained with fluconazole (only 64.44 %).

Conclusions: The most frequently isolated species was *Candida albicans* (in 57% of cases). The most effective antifungal agent was micafungin. The emergence of resistant strains emphasizes the need for treatment guided by the results of antifungal sensitivity test.

Keywords: *Candida spp.*, sensitivity, antifungal

P61. CORELAREA VALORILOR ADENOSIN DEAMINAZEI CU ALTE INVESTIGAȚII ÎN DIAGNOSTICUL PNEUMOPATIILOR

Ana-Maria DRĂGAN^{1,2}, Natalia ZAPOROJAN², Iulia Andrada NEMEȘ-DRĂGAN³

¹Facultatea de Medicină și Farmacie din Oradea, ²Spital Clinic Municipal dr. G Curteanu, Oradea, ³Spital Clinic Județean de Urgență, Oradea

Introducere. Concentrația ADA (adenosin deaminaza) este ridicată în lichidul pleural la pacienții cu tuberculoză și este utilă la diferențierea congestiilor pleurale produse de tuberculoză.

Scopul acestui studiu a fost corelarea valorilor ADA peste valoarea de referință a producătorului cu alte investigații, în diagnosticul pneumopatiilor.

Material și metode. S-au luat în studiu 163 de pacienți internați în secția de Pneumoftiziologie, cu vârsta între 2 luni-80 ani; 84 de sex masculin și 79 feminin. ADA s-a determinat din: lichid pleural (LPL) la 84 pacienți, sânge 77 pacienți și LCR (lichid cefalorahidian) 2 pacienți; din LPL s-au determinat și LDH, proteine totale și examen citologic (frotiuri colorate Giemsa). La toți pacienții s-a efectuat examen microscopic pe frotiu colorat Ziehl-Neelsen și cultură din spută sau LPL, aspirat gastic și LCR în vederea diagnosticului tuberculozei.

Rezultate. La toți pacienții valorile LDH au fost >200U/l, iar la 37 >1000U/l; valoarea proteinelor a fost mai mare de 3g/dl (exudat) la 82 pacienți din 86. La 15 pacienți (9,20%) cultura pentru Mycobacterium tuberculosis a fost pozitivă astfel: 9 din LPL; 4 spută; 1 aspirat gastric; 1 LCR; la 8 pacienți (4,90%) citologia a sugerat celule maligne iar la 2 empiem. Valoarea ADA în LPL la pacienții cu tuberculoză a fost cuprinsă între 51-121U/l (valoare referință 0-33U/l) iar în sânge între 32-107U/l (valoare referință 0-18U/l).

Concluzii. Determinarea ADA este relevantă pentru diagnosticul tuberculozei la valoare cel puțin dublă față de referință. Nivelul ridicat al ADA trebuie interpretat în contextul simptomatologiei și al altor investigații.

Cuvinte cheie: adenosin deaminaza, lichid pleural

CORRELATIONS OF ADENOSINE DEAMINASE LEVELS IN BODY FLUIDS WITH OTHER INVESTIGATIONS IN THE DIAGNOSIS OF ACUTE RESPIRATORY DISEASE

Introduction. Concentration of *Adenosine Deaminase* (also known as adenosine aminohydrolase, or *ADA*) is elevated in pleural fluid in patients with tuberculosis and is useful in distinguishing pleural congestion caused by tuberculosis.

The **aim** of this study is to correlate ADA values which are higher than the upper limit of the reference range with other investigations in the diagnosis of acute respiratory disease.

Material and methods. A sample of 163 patients admitted in the TB ward, aged 2 months to 80 years were included in our research of which: 84 male and 79 female. ADA was determined from: pleural effusion (LPL) in 84 patients, blood in the case of 77 patients and CSF (cerebrospinal fluid) in the case of 2 patients; Out of LPL there were determined LDH, total protein and cytology (Giemsa stained smears). In all patients, a microscopic examination was conducted on Ziehl-Neelsen stained smear and sputum sputum or LPL, gastric aspirate and CSF in order to diagnosis tuberculosis.

Results. In all patients, LDH values were $> 200\text{U/l}$, and in the case of 37 patients the values aforementioned were $> 1000\text{U/l}$; the protein amount was more than 3 g/dl (exudate) in 82 from the total 86 patients. In the case of 15 patients (9.20%) the Mycobacterium tuberculosis culture was positive as follows: 9 patients of LPL; 4 of sputum; 1 of gastric aspirate; 1 of CSF; cytology showed malignant cells in the case of 8 patients (4.90%) and empyema in the case of 2 patients. LPL value of ADA in patients with tuberculosis ranged between $51\text{-}121\text{U/l}$ (against a reference values of 3U/l) and in blood between $32\text{-}107\text{U/l}$ (against a reference value of $0\text{-}18\text{U/l}$).

Conclusions. ADA determination is relevant for the diagnosis of tuberculosis in values at least double when compared to reference values. The high level of ADA should be interpreted in the context of symptoms and other investigations.

Key-words: adenosine deaminase, pleural effusion

P62. PREVALENȚA TULPINILOR SECRETOARE DE BETA-LACTAMAZE CU SPECTRU EXTINS IZOLATE DIN UROCULTURI ÎN MEDIUL COMUNITAR

Elena HOGEA¹, Monica LICKER¹, Delia MUNTEAN¹, Carmen TODOR², Florin HORHAT¹,
Ciprian PILUȚ¹, Roxana MOLDOVAN¹

¹Universitatea de Medicină și Farmacie Victor Babeș, Timișoara, ²Bioclinica, Timișoara

Introducere. Infecția tractului urinar este una din cele mai frecvente condiții patologice întâlnite în practica medicală. Prezența în mediul comunitar a unui număr tot mai mare de tulpini producătoare de beta-lactamaze cu spectru extins (BLSE), trage un semnal de alarmă în ceea ce privește utilizarea nerațională a antibioticelor.

Material și metodă. Studiul s-a desfășurat în perioada 01.02-31.12.2015, pe un număr de 12893 pacienți care s-au adresat unui laborator privat din Timișoara. În acest studiu au fost incluși exclusiv pacienți cu diagnostic prezumtiv de infecție urinară comunitară, urocultura fiind necesară pentru confirmarea diagnosticului.

Urina a fost însămânțată prin metoda anselor calibrate, identificarea și testarea sensibilității la chimioterapice antiinfecțioase s-a efectuat cu ajutorul sistemului automat Vitek 2 Compact. Interpretarea datelor s-a făcut conform CLSI.

Rezultate. Deși numărul probelor (12893 probe de urină) a fost mare, doar 15,32% uroculturi (reprezentând 1976) au fost pozitive. Enterobacteriile au fost germeii cei mai frecvent izolați: *Escherichia coli* (1556 tulpini-76,03%), *Klebsiella pneumoniae* (215 tulpini-10,50%), *Proteus mirabilis* (69 tulpini-3,37%). Au fost identificate 87 tulpini BLSE. Majoritatea tulpinilor BLSE izolate au prezentat rezistență asociată la alte clase de chimioterapice antiinfecțioase.

Concluzii. Supravegherea rezistenței la antibiotice este un proces de colectare sistemică de date, analiză și raportare, care monitorizează cantitativ și calitativ tendințele în distribuția sensibilității și rezistenței la agenții antimicrobieni și furnizează dovezile care să permită realizarea prioritizării intervențiilor necesare reducerii emergenței rezistenței bacteriene la antibiotice în mediul comunitar.

Cuvinte cheie: infecții urinare, BLSE, mediul comunitar

PREVALENCE OF EXTENDED SPECTRUM BETA-LACTAMASE PRODUCING STRAINS ISOLATED IN COMMUNITY ACQUIRED URINARY TRACT INFECTIONS

Introduction. Urinary tract infection is one of the most frequently encountered pathological conditions in medical practice. The presence in the community of an increasing number of extended spectrum beta-lactamase producing strains (ESBL) raises the alarm regarding the irrational use of antibiotics.

Material and method. The study was conducted during the period between 01.02-31.12.2015, and included only 12893 patients who addressed a private laboratory in Timisoara. The study included patients with presumptive diagnosis of community acquired urinary tract infection, confirmed by urine culture.

Inoculation of urine samples was performed by the calibrated loops method, while the identification and antimicrobial sensitivity testing of bacterial strains was done using the Vitek 2 Compact system. Results were interpreted according to CLSI standards.

Results. Despite the high number of samples (12893 urine specimens), only 15.32% of urine cultures (1976) were positive. Enterobacteria were the most frequently isolated germs: *Escherichia coli* (1556 strains-76.03%), *Klebsiella pneumoniae* (215 strains-10.50%), *Proteus mirabilis* (69 strains-3.37%). We identified 87 ESBL producing strains. Most of the isolated ESBL producing strains also exhibited associated resistance to other antimicrobial chemotherapeutic drugs.

Conclusions. Antimicrobial resistance surveillance is a systematic data collection, analysis and reporting process, quantitatively and qualitatively monitoring trends in the distribution of antimicrobial sensitivity and resistance and providing evidence which allow prioritization of interventions required for the reduction of antibiotic resistance of community acquired bacteria

Keywords: urinary infections, ESBL, community

P63. CORELAREA TESTELOR GENETICE CU CELE FENOTIPICE ÎN IDENTIFICAREA TUBERCULOZEI ȘI DETECTAREA REZISTENȚEI LA TUBERCULOSTATICE

Natalia ZAPOROJAN¹, Ana-Maria DRAGAN¹

Spitalul Clinic G. Curteanu, Oradea

Introducere: Tuberculoza este o boala infectioasa contagioasa la care tratamentul are o mare importanta pentru a limita raspandirea infectiei si a tulpinilor cu rezistenta la antituberculostatice. Diagnosticul rapid si identificarea sensibilitatii la antituberculostatice este o conditie esentiala pentru tratamentul corespunzator.

Scop: In acest studiu ne-am propus corelarea rezultatelor metodelor fenotipice si genetice de identificare si sensibilitate in diagnosticul tuberculozei.

Metode: Studiul s-a realizat pe un numar de 88 de pacienti cu diagnostic bacteriologic de tuberculoza, internati in sectia de Pneumofiziologie a Spitalului Clinic Municipal din Oradea, in perioada mai 2015-februarie 2016. Pacientii au fost investigati prin metoda fenotipica pentru diagnosticul tuberculozei si prin metoda genetica, Genotype MTBDR plus, pentru identificarea complexului *Mycobacterium tuberculosis* si identificarea rezistentei la rifampicina (RMP) si izoniazida (INH).

Rezultate: Folosind metoda genetică, toți pacienții au fost identificați cu complexul *M. tuberculosis*. Această metodă a detectat 8 cazuri de MDR-TB, de asemenea alți 6 pacienți au fost detectați cu rezistență la INH. Metoda fenotipică a identificat la toți pacienții complexul *M. tuberculosis*, dintre aceștia 10 pacienți au prezentat rezistență la RMP și INH, 8 pacienți au prezentat rezistență la INH. Prin metoda genetică la 8 pacienți s-a detectat mutația katG care indică rezistența la INH, iar la 6 pacienți s-a detectat mutația rpoB care indică rezistența la RMP.

Concluzii: Metoda Genotype MTBDR plus cu sonde specifice nu detectează toate mutațiile pentru sensibilitatea la rifampicină și izoniazidă. Este nevoie să se efectueze în paralel cele două metode în vederea confirmării rezistenței la rifampicină și izoniazidă

Cuvinte cheie: tuberculoză, metoda fenotipică și genetică

CORRELATION BETWEEN GENETIC AND PHENOTYPE TESTS IN TUBERCULOSIS IDENTIFICATION AND IN THE DETECTION OF RESISTANCE TO TUBERCULOSTATIC DRUGS

Introduction: Tuberculosis is an infectious contagious disease in which treatment has a great importance in limiting the spreading of the antituberculostatic resistant strain. A prompt diagnosis and identification of its sensitivity to antituberculostatics is an essential condition in administering the right treatment.

Aim: The purpose of this study is to correlate the results from phenotype and genetic methods of identification and drug sensitivity in tuberculosis diagnosis.

Method: The study was realized on 88 patients diagnosed with tuberculosis hospitalized in the Phthiology Section of the Municipal Hospital in Oradea between May 2015 and February 2016. Patients were investigated using the phenotype method for tuberculosis diagnosis and the genetic method, Genotype MTBDR plus, for identifying the *Mycobacterium tuberculosis* and its resistance to rifampicin (RMP) and izoniazid (INH).

Results: Using the genetic method the *Mycobacterium tuberculosis* complex was identified in all patients. This method identified 8 cases of multidrug resistance for tuberculosis (MDR-TB) and 6 patients were detected with INH resistance. The phenotype method also identified all patients with the *Mycobacterium tuberculosis* complex. 10 of these patients were detected with MDR-TB and 8 patients with INH resistance. Genetic analysis revealed the presence of katG mutation indicating INH resistance in 8 patients and rpoB mutation indicating resistance to RMP in 6 patients.

Conclusion: As the genotype method does not detect all of the possible mutations regarding the resistance to rifampicin and izoniazid, the use of both genotype and phenotype tests is mandatory.

Keywords: tuberculosis, phenotype and genetic method

P64. SPECII DE *CANDIDA* IZOLATE DE PE SUPRAFAȚA DORSALĂ A LIMBII, DE LA ADULȚI TINERI SĂNĂTOȘI

Gabriela BĂNCESCU¹, Adrian BĂNCESCU¹

¹Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București

Introducere: *Candida albicans* predomină printre levurile rezidente ale cavității orale și este specia implicată cel mai frecvent în producerea candidozelor. Fața dorsală a limbii oferă condiții favorabile pentru colonizarea microbiană, iar scopul studiului a fost acela de a identifica speciile de *Candida* izolate de pe mucoasa linguală, în cazul adulților tineri, sănătoși.

Material și metodă: Probele, recoltate prin ștergerea cu tamponul a suprafeței dorsale a limbii, au provenit de la 285 de studenți sănătoși (de la U.M.F. "Carol Davila", București), cu vârste între 20-32 ani, care au negat consumul recent de antifungice sau antibiotice. Cele 285 de probe (recoltate în perioada ianuarie - iulie 2013) au fost însămânțate pe Sabouraud Gentamicin Chloramphenicol 2 agar și chromID Candida agar (BioMérieux, France). Identificarea tulpinilor s-a bazat pe interpretarea culorii coloniilor crescute pe mediul cromogen și pe rezultatele testului de filamentare și ale testelor sistemului ID 32 C (BioMérieux, France).

Rezultate: *Candida* a fost izolată din 67 de probe. Dintre cele 67 de izolate, 3 tulpini au fost *C. glabrata*, 1 tulpină - *C. famata*, iar restul au produs colonii albastre pe mediul cromogen și testul filamentării pozitiv, fiind identificate drept *C. albicans*, inclusiv prin sistemul ID 32 C.

Concluzii: Frecvența izolării candidelor de pe suprafața limbii la subiecții investigați a fost 23,5%. Tulpinile au aparținut unui număr restrâns de specii: *C. albicans*, *C. glabrata* și *C. famata*, prima predominând detașat.

Studiul aparține planului intern de cercetare al Disciplinei de Microbiologie - MD, în colaborare cu Disciplina de Epidemiologie, U.M.F. "Carol Davila", București.

Cuvinte cheie: *Candida* spp., raclat lingual

CANDIDA SPECIES ISOLATED FROM THE DORSAL SURFACE OF THE TONGUE, IN HEALTHY YOUNG ADULTS

Introduction: *Candida albicans* prevails among resident yeasts of the oral cavity and is the species most frequently involved in producing candidosis. The dorsal surface of the tongue provides favorable conditions for microbial colonization and the purpose of this study was to identify the species of *Candida* isolated from the lingual mucosa in healthy young adults.

Material and method: Samples, collected by rubbing a swab against the dorsal surface of the tongue, were obtained from 285 healthy students (from UMF "Carol Davila", Bucharest), ranging from 20 to 32 years, who denied recent use of antifungals or antibiotics. All the 285 samples (collected during January - July 2013) were seeded on Sabouraud Gentamicin Chloramphenicol 2 agar and chromID Candida agar (BioMérieux, France). Identification of the strains was based on interpretation of the color of colonies grown on chromogenic medium and the results of germ tube test and of the tests included in the ID 32 C system (BioMérieux, France).

Results: *Candida* was isolated from 67 samples. Of the 67 isolates, 3 strains were *C. glabrata*, one strain - *C. famata*, while the rest produced blue colonies on chromogenic medium and positive germ tube test, being identified as *C. albicans*, which was confirmed by ID 32 C system too.

Conclusions: The frequency of *Candida* isolation from the tongue of the subjects investigated was 23.5%. The strains belonged to a small number of species: *C. albicans*, *C. glabrata* and *C. famata*, and the first species highly predominated.

The study belongs to internal research plan of the Microbiology Department - MD, in collaboration with Epidemiology Department, U.M.F. "Carol Davila", Bucharest.

Keywords: *Candida* spp., tongue scrape sample

P65. MARKERI DE PATOGENITATE LA TULPINI DE *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* IZOLATE DIN INFECȚII DE PIELE ȘI ȚESUTURI MOI.

Brîndușa-Elena LIXANDRU^{1,2}, Irina CODIȚĂ^{1,2}

¹INC "Cantacuzino", București, România, ²Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București

Introducere. Infecțiile de piele și țesuturi moi constituie un rezervor de tulpini de *Staphylococcus* (*S.*) *aureus* cu virulență înaltă, determinată de: leucocidina Panton-Valentine (PVL), toxina sindromului de șoc toxic (TSST), toxinele exfoliative, proteina A etc. Detectarea markerilor de patogenitate la tulpinile circulante poate fundamenta intervenții pentru limitarea diseminării acestora în mediul comunitar și spitale.

Material și metode. 42 tulpini de *S. aureus* izolate de la pacienți cu infecții de piele și țesuturi moi, recidivante, în Laboratorul de Analize Medicale - Institutul Cantacuzino, în perioada Ianuarie – Noiembrie 2014. Identificarea tulpinilor: prin teste clasice și detectarea prin PCR a genei *nuc*, după un protocol optimizat în laborator (Drăgulescu și colab., 2007). Detectarea genelor pentru: leucocidina Panton-Valentine (PVL/ *lukS/F*), toxinele exfoliative (ETA, ETB/ *eta, etb*), toxina sindromului de șoc toxic (TSST/ *tst*), proteina A (*spa*) prin PCR; tipizarea *spa* prin secvențiere.

Rezultate. 20 tulpini pozitive pentru genele *lukS/F*, 2 pozitive pentru *tst*. Distribuția tulpinilor în tipuri *spa*: t127 (13), t044 (5), t008 (3), t284 (3), t019 (2), t2881(2) și alte 14 tipuri *spa* cu câte 1 tulpină. Au fost introduse pentru prima dată în baza internațională de date Ridom StaphType două tipuri noi: t14512 și t14513.

Concluzii. Tulpinile izolate din infecții recidivante au prezentat o paletă largă de markeri de patogenitate. Profagul responsabil pentru producerea PVL, detectat la tulpini t008 și t044, dar și la alte tipuri: t019, t284, t355, t435, t437, t1211, t1889, t5841, t14513. Cel mai frecvent tip *spa* a fost t127, implicat etiologic în focare de infecții nosocomiale în România.

Cuvinte cheie: *S. aureus*, PVL, TSST, tipizarea *spa*

PATHOGENICITY MARKERS IN *STAPHYLOCOCCUS AUREUS* STRAINS ISOLATED FROM SKIN AND SOFT TISSUES INFECTIONS

Introduction. Skin and soft tissues infections are a reservoir of highly virulent *Staphylococcus* (*S.*) *aureus* strains, presenting: Pantone-Valentine Leukocidine (PVL), toxic shock syndrome toxin (TSST), exfoliative toxins, protein A etc. Detection of pathogenicity markers in circulating strains may fundament interventions for limiting their spreading in community and hospitals.

Material and methods. 42 *S. aureus* strains isolated from patients with recurrent skin and soft tissues infections, in the Cantacuzino Institute Medical Analysis Laboratory, in 2014 January – November interval. Strains identification by classical tests and detection of *nuc* by PCR, by using an *in house* optimised protocol (Drăgulescu și colab., 2007). Detection of genes coding for: Pantone-Valentine Leukocidin (PVL/ *lukS/F*), exfoliative toxins (ETA, ETB/ *eta, etb*), Toxic Shock Syndrome Toxin (TSST/ *tst*), protein A (*spa*) by PCR; *spa* typing by sequencing.

Results. 20 strains positive for *lukS/F* genes, 2 positive for *tst*. Strains distribution by *spa* types: t127 (13), t044 (5), t008 (3), t284 (3), t019 (2), t2881(2) and other 14 *spa* types with 1 strain each. Two new types have been introduced in the Ridom StaphType international data base: t14512 and t14513.

Conclusions. Strains isolated from recurrent infections presented a wide range of pathogenicity markers. The prophage responsible for PVL production, detected in t008 and t044 strains, but also in other types: t019, t284, t355, t435, t437, t1211, t1889, t5841, t14513. The most frequent *spa* type was t127, etiologically involved in health-care associated infections outbreaks in Romania.

Keywords: *S. aureus*, PVL, TSST, *spa*-typing

P66. CARACTERIZAREA TULPINILOR DE ENTEROBACTERIACEAE PRODUCĂTOARE DE CARBAPENEMAZE IZOLATE ÎN SUU ELIAS ÎN 2015

Mariana BUZEA¹, Marilena FILIPOV¹, Rodica ROTARU¹, Bill BRASSO²

¹SUU Elias, București, România, ²Research & Development Laboratory/BD Diagnostic System, Baltimore, SUA

Scop: evaluarea tulpinilor de Enterobacteriaceae producătoare de carbapenemaze izolate în SUU Elias în 2015.

Material și metodă: 113 tulpini potențial producătoare de carbapenemaze au fost izolate, investigate și confirmate într-un studiu realizat în colaborare cu Laboratorul pentru cercetare și dezvoltare Becton Dickinson Diagnostic System-Baltimore, Maryland, SUA. Pentru toate tulpinile au fost efectuate identificări în sistem automat (Phoenix, MALDI-TOFF) și antibiograme (Phoenix, E-teste); stabilirea tipului de carbapenemază s-a efectuat fenotipic (Rosco) și s-a confirmat prin PCR.

Rezultate: Bacilii Gram negativi identificați ca producători de carbapenemaze au fost: *K. pneumoniae* (94%), *E.coli* (2,5%), *Serratia marcescens* (2,5%), *Citrobacter freundii* (1%), sursele de izolare fiind reprezentate în principal de: uroculturi (37%), secreții traheale (22%), tamponare rectale (21%), hemoculturi (7%), plăgi (3,5%). Tipul predominant de carbapenemază identificată a fost OXA48 (67,25%), urmat de KPC (23%) și metallo-beta lactamaze-NDM (8%). Antibiogramele au evidențiat o rată înaltă de rezistență la antibioticele testate; pentru carbapeneme este de remarcat că la imipenem

rezistența a fost mai mică (35,39%), prin comparație cu cea înregistrată pentru meropenem (66,3%). Nivele semnificative de rezistență s-au evidențiat pentru ciprofloxacina (97%), colistin (55,7%), gentamicina (39%) și cotrimoxazol (30,08%); pe de altă parte, tulpinile testate și-au prezervat sensibilitatea pentru tigecilina (2,66% rezistență) și amikacin (4,45% rezistență).

Concluzii: Incidența crescută a izolării bacililor Gram negativi producători de carbapenemaze, prezentând nivele înalte de rezistență la antibiotice este îngrijorătoare. Identificarea și caracterizarea completă și corectă a acestor izolate se impune ca o condiție necesară și obligatorie pentru un tratament eficient al infecțiilor cauzate de aceste tulpini.

INVESTIGATION OF CARBAPENEMASE- PRODUCING ISOLATES OF ENTEROBACTERIACEAE IN ELIAS HOSPITAL IN 2015

Purpose: to evaluate the source, type and resistance of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae strains, isolated in 2015 in Elias Hospital.

Methods: A total of 113 carbapenemase-producing of Enterobacteriaceae isolated in 2015 have been investigated in a study performed in collaboration with Research & Development Laboratory/BD Diagnostic System, Baltimore- Maryland, USA. All the strains were identified/ tested for antimicrobial susceptibility by automatic systems (Malditoff/PhoenixBD), E-test and PCR.

Results: Gram negative bacilli carbapenemase-producing identified : *K. pneumoniae* (94%), *E. coli* (2.5%), *Serratia marcescens* (2.5%), *Citrobacter freundii* (1%) were isolated mainly from urine culture (37%), broncho-alveolar lavage (22%), rectal swabs (21%), blood culture (7%), wounds (3.5%). The predominant types of carbapenemase was OXA48 (67.25%), followed by KPC (23%) and metallo-beta lactamase-NDM (8%). There is a significantly high resistance to all antibiotics tested; we have noticed that for imipenem the resistance was lower (35.39%), comparative with that showed to meropenem (66.37%). Resistance at high level was recorded for ciprofloxacina (97%), colistin (55.7%), gentamicin (39%) and cotrimoxazol (30.08%); on the other hand, most of strains were sensitive to tygecilina: (2.66% resistance) and amikacin (4.45% resistance).

Conclusions: We noticed a high prevalence of carbapenemase-producing isolates of Enterobacteriaceae among hospital-strains with a significant high resistance to all antibiotics tested and used in clinics for treatment the patients. The correct detection and a full characterisation of all isolated strains must be well known and understood, in order to avoid clinical failure because of inadequate antibiotherapy.

AUTHORS INDEX**Index de autori****A**

AJZNER, Éva 126
 AMANA, Elisa Todisoa 136
 ANGELICA, Smădu 138
 ANTOHE, I. 52
 ANTOHE, Ion 51, 90
 ARSENE, Cosmin 71
 ASTILEAN, S. 48, 54
 AU, William W. 13, 131
 AVRAM, Paula 73
 AXENTE, Carmen 102, 103, 105, 106

B

BACALBASA, Nicolae 67, 68
 BADEA, Aurelian 46
 BADEA, Ciprian Florin 97, 99
 BADEA, Daniela 46
 BADEA, Mihail 46
 BADEA, Victoria 15, 97, 99, 100, 108
 BĂDICUȚ, Ioana 117
 BĂDIȚOIU, Luminita 103
 BADIU, Corin 133
 BAICUS, Cristian 35
 BALABAN, Doina Paula 15, 97, 99, 100
 BĂLAȘA, Rodica 61
 BALMOȘ, Andreea 87, 101
 BALOGH-SAMARGHIȚAN, Victor 40
 BĂNCESCU, Adrian 145
 BĂNCESCU, Gabriela 145
 BĂNESCU, Claudia 57, 61, 69, 70
 BARBU, Ștefan 32
 BÂRSAN, Monica 17
 BEDREAG, Ovidiu 103
 BERCEANU, Costin 23, 66, 75
 BERCEANU, Iulia 93
 BERCE, C. 48, 50, 54, 55, 59
 BERINDAN-NEAGOE, Ioana 48, 54
 BERINDE, Lavinia 110
 BLĂNARU, Gabriela 138
 BLÉNESI, Bernadette 41
 BOCA-FARCAU, Sanda 54
 BOCA, Oana Elena 89

BOCA, Oana-Elena 52
 BOCA, Sanda 48
 BODEAN, Oana 75
 BOGLIȘ, Alina 57, 69, 70
 BOHÎLȚEA, Roxana 67, 68, 71
 BOJAN, Anca 47, 48, 50, 54, 55, 59
 BOLOȘIU, H.D. 63
 BORCAN, Alina 117
 BRASSO, Bill 147
 BRĂTILĂ, Elvira 22, 23, 66, 75
 BRUDAȘCĂ, Ioana 125
 BRZEZINSKI, Piotr 78
 BUIGA, R. 50
 BUJORAN, C. 52
 BURCOVEANU, Cristina 52, 89
 BUTURĂ, Georgiana 51, 52, 90
 BUZEA, Mariana 147
 BUZOIANU, Anca 48, 59

C

CALENIC, Bogdan 19, 25, 26, 27, 35, 85
 CARAGHEORGHEOPOL, Andra 133
 CARAIANE, Aureliana 15, 97, 99, 100
 CARASEVICI, E. 52
 CARASEVICI, Eugen 89
 CARDOS, Georgeta 71
 CERNEA, Simona 31
 CHELU, Gratiela 71
 CHEREGI, Simona 43
 CHEȘARU, Bianca Ioana 28
 CHIRIAC, Anca 76, 78
 CIOLOCA, Daniel 76, 79
 CIONTEA, Monica Ioana 107
 CIONTEA, Simona 114
 CÎRSTEA, Mihaela 45
 CÎRSTOIU, Monica 66, 67, 68, 75
 CODIȚĂ, Irina 114, 146
 COLIȚĂ, Adriana 45
 COLIȚĂ, Dan 45
 COLOSI, Horațiu Alexandru 21
 COLOSI, Ioana 110
 COMANDAȘU, Diana-Elena 22, 23, 34, 39, 66
 CONSTANTINESCU, Elisabeta 17

CONSTANTINESCU, Maria 22, 23
 CONSTANTINESCU, Maria Zinaida 34, 39
 CORIU, Daniel 45
 CORNEAN, Rodica Elena 118
 CORNIANU, Mărioara 65
 COSTACHE, Carmen 18, 110
 COSTULEANU, Marcel 79
 COZMEI, Carmen 52, 89
 CRĂCIUN, A.M. 63
 CRĂCIUN, Elena Cristina 21
 CRAUCIUC, Andrei 57, 70
 CRISTEA, Violeta Corina 138
 CROITORU, Mircea 83
 CSEP, Andrei 43, 96
 CUCEREA, Manuela 120
 CUCUIANU, A. 48, 50, 54, 55, 59
 CUCUIANU, Andrei 93
 CULEA, Ioana 126

D

DABA, Lavinia 108
 DAINA, Lucia Georgeta 95
 DANAILA, C. 52
 DĂNĂILĂ, Cătălin-Doru 51, 89, 90
 DĂSCĂLESCU, Angela 51, 52, 89, 90
 DAVID, Remona Eliza 127
 DEAC, Liana Monica 118
 DELEANU, C. 81
 DELEANU, Călin 73
 DIMA, Alina 35
 DIMA, Delia 48, 50, 54, 55, 56, 59, 93
 DINU, Ciprian Adrian 28
 DOBREA, Camelia 45
 DOBREANU, Minodora 13, 32, 57, 61, 70, 120, 127,
 134
 DOBRE, Michaela 28
 DOROBĂȚ, Olga Mihaela 117
 DOROHOI, Gabriela 52, 89
 DRĂGAN, Ana-Maria 111, 141, 143
 DRAGOȘ, Mihaiela Loredana 52, 89
 DRONCA, Eleonora 14
 DUGĂEȘESCU, Dorina 103, 105, 106
 DUICU, Carmen 57, 70
 DUMACHE, Raluca 131
 DUMITRAȘ, Silvia 89

F

FARCAS, Anca D. 88
 FAUR, Alexandra 65
 FAUR, Andreea 18
 FAZAKAS, Zita 40, 83, 86
 FEHÉR, Alexandra 110
 FETICA, B. 56
 FILIPOV, Marilena 147
 FILIP, Roxana 119
 FINC, Ioana 54
 FLOREA, A. 48
 FODOR, Márta Andrea 41
 FOGARASI, Erzsébet 83
 FOIA, Liliana 36, 76, 78, 79
 FRAEFEL, Cornel 74
 FRÎNC, Ioana 48, 50, 55, 59, 93
 FUNDUC, Ileana 80

G

GAFENCU, G. 54, 55
 GAFENCU, GA 48, 50, 59
 GALIS, Adriana 136
 GAMAN, Laura 30
 GENUNCHE-DUMITRESCU, Amelia 46
 GHEORGHE, Anca 45
 GHERASIM, Petru 17
 GHIORGHIU, Doramina 52, 89
 GLUVACOV, Alexandru 52, 89
 GORIUC, Ancuța 79
 GREABU, Maria 19, 25, 26, 27, 35, 85
 GRIGORE, Camelia 42
 GRIGORE, Nicolae 42
 GRIGORE, Sandra 71
 GRIGORIAN, Mircea 15, 97, 99, 100
 GUINÉ, Raquel 86
 GURBAN, Camelia Vidița 65

H

HNIDEI, Rodica 17
 HOGEA, Elena 103, 105, 106, 142
 HORHAT, Florin 103, 142
 HORHOIANU, Irina 75
 HUȚANU, Adina 31, 32

I

IOACHIM, Dumitru 133
 IONESCU, Gabriel 126
 IONESCU, Mihaela Ileana 118
 IONESCU, Oana 66
 IONESCU, Sorin 66
 ION, Ileana 108
 IOSUB, Rodica 37
 IRIMIE, A. 48
 IVANOV, Anca 89
 IVANOV, Anca Viorica 52
 IVANOV, Iuliu Cristian 52, 89

J

JABOOBI, Afef AL 97, 99
 JITARU, Daniela 51, 52, 89, 90
 JUGURICĂ, Ileana 17
 JUNIE, Lia Monica 107, 115
 JURESCU, Aura 65

K

KACSO, Ina Maria 64
 KOMLÓDI, Kinga 83
 KOPÁCSY, Orsolya 83
 KOVÁCS, Adél 83
 KOVÁCS, Zsolt 86

L

LAZAR, Crezante 126
 LELE, Laura 43
 LEPA, Carmen 139
 LICKER, Monica 102, 103, 105, 106, 113, 142
 LIONTE, Cătălina 36
 LIXANDRU, Brîndușa-Elena 146
 LIXANDRU, Daniela 22, 23, 34, 39
 LUP, Anca Daniela 93
 LUPEANU, Elena 17

M

MACOVEI, Amelia Surdu 76
 MAIER, Smaranda 61
 MALAGEANU, Marinela 71
 MAN, Adrian 13, 74
 MANDA, Dana 133

MANEA, Ștefan 30
 MANTESCU, Oana 71
 MĂRGINEAN, Alina 61
 MĂRGINEAN, Mihai 61
 MARTINESCU, Alina 100
 MARUȘCA, Patricia 137
 MATEI, Iulia 37
 MATROȘ, Luminița 107
 MEHEDINȚU, Claudia 22, 66
 MICLE, Otilia 136, 137, 139
 MICU, Dragoș Tudor 82
 MIHAI, Alexandru 117
 MIHĂILESCU, Carmen-Marinela 37
 MINCIU, Radu 131
 MIRICESCU, Daniela 19, 22, 23, 25, 26, 27, 34, 35, 39, 85
 MIRON, Ingrith-Crenguța 89
 MOHORA, Maria 19, 22, 23, 34, 39, 85
 MOLDOVAN, Carmen 37
 MOLDOVAN, Elena 120
 MOLDOVAN, Roxana 103, 105, 106, 142
 MOLDOVAN, Valeriu 61
 MOLDOVAN, Valeriu G 57, 70
 MOLDOVAN, Valeriu George 69
 MORARU, Oana 15
 MOROȘANU, Bogdan 17
 MOȘ, Ioana 136, 137, 139
 MOȚA, Maria 81
 MUNTEAN, Delia 102, 103, 105, 106, 142
 MUNTEANU, Octavian 75
 MUREȘAN, Mariana 136, 137
 MUSCALU, George 37
 MUSCUREL, Corina 30
 MUSZBEK, László 60

N

NEAGOE, Cristina Elena 11
 NECULOIU, Carmen Daniela 82
 NEMEȘ, Bogdan 14
 NEMEȘ-DRĂGAN, Iulia Andrada 141
 NEMES-NAGY, Enikő 40, 41, 83
 NICOLESCU, Alina 73, 81
 NICORICIU, Florin 139
 NUCĂ, Cristina 100
 NYÁRÁDI, Annamária 83

O

OLARIU, Tudor Rareș 122
OPREA, Oana 32

P

PADURE, Adriana 133
PÁL, Sándor 83
PANDREA, Stanca Lucia 107
PÂRVU, Andrada 92
PASCU, Denisa Mădălina 138
PAȚIU, Mariana 48, 50, 54, 55, 56, 59, 62, 93
PAVĂL, Denis 14
PETCU, Lucian Cristian 15, 100
PETERKA, Mariana 65
PETRICĂ, Cristina 46
PETRUSHEV, B. 48, 50, 54, 55, 59
PILECZKI, Valentina 48, 55
PILUȚ, Ciprian 105, 106, 142
PINTILIE, Oana-Maria 51, 52, 89, 90
POPA, Constanța 11, 129
POPA, Dorina 11, 82
POPA, Iona-Doina 51, 90
POPA, Oana 133
POPESCU, Cristina Maria 30
POPESCU, Laura 34, 39
POPESCU, Monica 45
PRICOP, Roxana 138
PUHA, Gabriela 36, 76

R

RADOI, Viorica 71
RĂDUCANU, Ileana 17
RADU, Gabriel 75
RĂDULESCU, Andra 30
RĂDULESCU, Radu 19, 25, 26, 27, 35, 85
RAFILA, Alexandru 117
RESIT, Ayla 97
RITLI, Ladislau 87, 101
ROMAN, Ioana 88
ROSMANN, Helga 137
ROTARU, Ana Maria 66
ROTARU, Rodica 147
RUSU, Răzvan 14

S

SABĂU, A. 63
SANDU, Gabriela 138
SANDU, Magda 81
SAVA, Cristian 43, 87, 101, 111
SAVIN, Mihaela 37
SCHIPOR, Sorina 133
SCRIDON, Alina 61
SCURTU-DEAC, Florina 88
SELICEAN, Cristina 93
SELICEAN, Elena-Cristina 56, 62, 93
SELICEAN, Sonia 48, 50, 54, 59
ȘERBAN, Denis 105, 106
SFICHI, Manuela 56
SILAGHI-DUMITRESCU, Radu 88
SIMION, George 67, 68
SIMON, Laura 110
SIMON-SZABÓ, Zsuzsánna 40, 83
SIMON, Timea 48, 54
SIRETEANU, Adriana 52, 89
SLEVIN, Mark 74
ȘLINCUI, Costel 51, 90
Smith, Janet 124
SMITH Janet 11
SOLOMON, Maria 75
SORESCU, Georgeta 11, 129
ȘORODOC, Laurențiu 36
SPINEANU, Radu 43
SPRINGER, Drahomíra 130
STANCIU, Coralia-Luciana 30
STAN, Dana 37
STĂNESCU, Iulia 26, 27, 35
STAN, Nicoleta Mihaela 11
STEFAN, Lorena Ivona 81
SUARASAN, Sorina 54
ȘULAR, Floredana-Laura 13, 120, 134
SURDU, Amelia 36, 79
SZABO, Csilla 95
SZŰCS, Viktória 86

T

TĂLĂPAN, Daniela 117
TARCEA, Monica 86
ȚĂRNEA, Livius 105, 106
ȚĂRUȘI, Mariana 61
TATU, Alin Laurențiu 138

TERTELIU, Monica 119
Terzea, Dana Cristina 68
TILINCA, Mariana 83, 86
TIMNEA, Olivia 34
TÎRZIU, Razvan 65
TODOR, Carmen 142
TOMA, Vasilica 78, 79
TOMA, Vlad Al. 88
TOMULEASA, C. 48, 54, 55, 59
TOMULEASA, Ciprian 50, 93
TOTAN, Alexandra 19, 25, 26, 27, 35, 85
TOTAN, Maria 42
TRIFA, P. Adrian 93
TRIPON, Florin 57, 70
TRIPON, Robert 83
TUDOR, Anca 131
TUDUSCIUC, Dana 139
ȚURCAN, Natalia 67, 68
TUTA, Liliana 108

U

URMĂ, Alina 78
URSU, Radu 71
USEIN, Codruța 114
UZUN, Cosmina 83, 86

V

VĂGU, Codruța 30
VĂLEANU, M. 63
VASILACHE, Didona 45
VÎRGOLICI, Bogdana 22, 23, 34, 39
VIRGOLICI, Horia 39
VIRLAN, Iustina 85
VIȚA, Octavia 65
VLADOIU, Susana 133
VOICU, Diana 75
VULTURAR, Romana 73

Z

ZAHA, Dana Carmen 95
ZAHARIA, Georgiana 52
ZAMBORI, Csilla 113
ZAPOROJAN, Natalia 141, 143
ZDRENGHEA, M. 54, 55
ZDRENGHEA, Mihnea Tudor 93
ZDRÎNCĂ, Mihaela 139
ZIMA, Tomás 123, 130
ZLEI, Mihaela 51, 52, 89, 90
ZSOLDOS, Iulia Andrea 92
ZSOLT, Kovács 83

Information and guidelines for authors

Manuscript submission

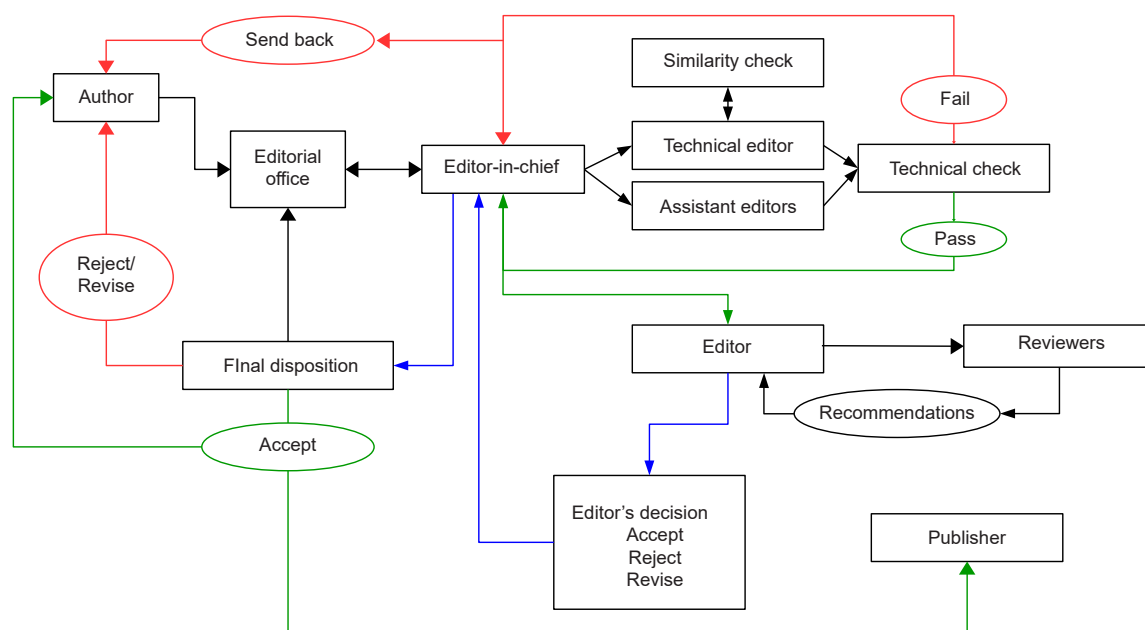
Manuscripts and all attached files (tables and illustrations) should be submitted in electronic form, using the on-line manuscript submission system Editorial Manager available for Romanian Journal of Laboratory Medicine at <http://www.editorialmanager.com/rrlm>.

Please note that general reviews and course notes are invited by the editor. Questions may be directed to Editor of this Journal at minodora.dobreanu@rrml.ro.

Submission documents

At the time of submission, the *Romanian Journal of Laboratory Medicine* requires an explicit statement (**License to publish**) by the

corresponding author warranting that the manuscript, as submitted, has been reviewed by and approved by all named authors; that the corresponding author is empowered by all of the authors to act on their behalf with respect to the submission of the manuscript; that the article does not infringe upon any copyright or other proprietary right of any third party; that neither the text nor the data have been published previously (abstracts excepted); and that the article or a substantially similar article is not under consideration by another journal at that time. Upon submission of the manuscript, the corresponding author must provide the Editorial Board with documents proving that all those quoted for personal communications or listed in the *Acknowledgement* section have agreed to their inclusion.



Workflow of the editorial process

Authors are responsible for obtaining permission to reproduce copyrighted material from other sources and send an authenticated copy of the permission to the Editorial Board.

Each author must provide a clear **statement on potential conflicts of interest** in which he or she may be involved. The statement should include sources of funding, including internal support or grants from non-commercial institutions. The absence of funding should also be declared. The statement on conflicts of interest will be published at the end of the paper. Scanned copies sent electronically and fax submissions are not acceptable.

Authorship

All named authors should meet the criteria for authorship as stated in the „Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication” issued by the International Committee of Medical Journal Editors (www.icmje.org):

„Authorship credit should be based on 1) substantial contributions to conception and design, acquisition of data, or analysis and interpretation of data; 2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content; and 3) final approval of the version to be published. Authors should meet conditions 1, 2, and 3. [...]

All persons designated as authors should qualify for authorship, and all those who qualify should be listed.”

The *Romanian Journal of Laboratory Medicine* considers all authors to be responsible for the content of the entire paper.

Authors are requested to describe their individual contributions to a study paper in a “**Cover letter**” (page 288) that will be signed, attached to and sent by e-mail (office@rrml.ro) together

with the “**License to publish**” form, as soon as possible.

Individuals who supplied reagents, strains or facilities should not be listed as authors, but may be recognized in the *Acknowledgements* section. Individuals who gave advice on the manuscript should be acknowledged, but are not considered authors.

Research involving human subjects or experimental animals

If the scientific project involves human subjects or experimental animals, authors must state in the manuscript that the protocol has been approved by the Ethics Committee of the institution within which the research work was undertaken. Experiments on live vertebrates or higher invertebrates must be demonstrated to be ethically acceptable and in accordance with institutional and national guidelines or regulations for laboratory animals. If the manuscript reports medical research involving human subjects, authors must include a statement confirming that informed consent was obtained from all subjects, according to the World Medical Association Declaration of Helsinki, revised in 2000, Edinburgh.

Manuscript preparation

Before submitting a paper, please assure that the manuscript fit in one of the journal category described by the Journal’s Editorial Policy.

The following article types are accepted: Review, Original research article, Original professional paper, Short Communication, Case study / Series case studies, Course Notes, and Letter to the Editor. Advertisements, news, and special issues are also acceptable as non-indexed publications.

The following article types are accepted, with their formatting limitations:

Article type	Manuscript word limit	Maximum number of references	Maximum number of figures and tables	Abstract (max 250 words)	Supplemental data (online only)
Review	5000	70	6	Yes	Yes
Original research article	3500	40	6	Yes	Yes
Original professional paper	3000	30	5	Yes	Yes
Short Communication	2500	25	4	Yes	No
Case study / case series	2000	25	3	Yes	No
Course Notes	2000	15	3	No	No
Letter to the Editor	1500	10	1	No	No
Editorial	2000	10	1	No	No

Manuscripts must be written in English and prepared in conformity to the “Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication” issued by the International Committee of Medical Journal Editors (www.icmje.org). Romanian authors will also provide a copy of the title, affiliation, abstract and keywords translated into Romanian.

Authors should consult someone proficient in the English language, if they feel it is necessary. If the manuscript is not conform to accepted standards of English usage, the manuscript will be rejected.

Articles must be written in Microsoft Word, Style: Normal + Justified, Font: Times New Roman, font size 12. All manuscripts must be typed double-spaced. Original source files, not PDF files, are required. In text editing, authors should not use spacing with spacebar, tab or paragraph mark, but use the indentation and spacing options in Format → Paragraph. Automatic paging is preferred.

Please do not import tables or figures into the text document, but only specify their insertion in text (e.g. *Table No 3 insertion*). They have to be sent in separate files. Files should be labeled with appropriate and descriptive file names, **without diacritics** (e.g. *Imunofluorescenta.doc*, *Imunofluorescenta Fig1.tiff*, *Imunofluorescenta*

Table2.doc). **The file names must not contain any self-revealing information** (e.g. authors' name).

Charts and tables should be designed in black and white or in greyscale, unless color reproduction is essential for the understanding of the message.

The preferred format for all digital image files is TIFF (Tagged Image File Format). PNG format is also acceptable. Resolution of images must be at least 300 dpi at the size they will appear in the print. Any special instructions regarding sizing should be clearly noted. Scanned images should be free of technical faults (e.g. shadows, wrong orientation). Authors should state the coloration technique and the magnification factor of all images of microscopic samples. Test your figures by sizing them to their intended dimensions and then printing them on your personal printer. The result should not look fuzzy, jagged, pixelated, or grainy.

Manuscript organization

The text of original papers will be organized in one document, in a so-called “IMRAD” structure: introduction (no more than 25% of the text), material and methods, results, comments or discussions and acknowledgements. **The manuscript should not include any self-re-**

vealing information. All information about the author(s), affiliation, contact, as well as the abstract and keywords, will be provided only within the online submission process.

Material and methods have to be described in enough detail to permit reproduction by other teams. The same product names should be used throughout the text (with the brand name in parentheses at the first use). **Results** should be presented concisely. Tables and figures should not duplicate text. The **discussion** should set the results in context and set forth the major conclusions of the authors. Information from the Introduction or Results should not be repeated unless necessary for clarity. The discussion should also include a comparison among the obtained results and other studies from the literature, with explanations or hypothesis on the observed differences, comments on the importance of the study and the actual status of the investigated subject, unsolved problems, and questions to be answered in the future. In addition to the customary recognition of non-authors who have been helpful to the work described, the **acknowledgements** section must disclose any substantive conflicts of interest.

Abbreviations shall be preceded by the full term at their first apparition in text. A list of all abbreviations used shall be made at the end of the article.

Separate documents: tables, graphics, pictures and schemes will appear on separate documents. Tables will have a reasonable number of rows and columns. The tables, charts, schemes etc. should be sent in their original file format (for example, XLS files if they were created in Microsoft Excel), together with the main manuscript, via on line system (<http://www.editorial-manager.com/rrlm>).

References should be numbered consecutively in the order in which they are first mentioned in the text. Identify references in text, tables, and legends by Arabic numerals in paren-

theses. References cited only in tables or figure legends should be numbered in accordance with the sequence established by the first identification in the text of the particular table or figure. The titles of journals should be abbreviated according to the style used in *Index Medicus*. Consult the list of Journals Indexed for MEDLINE, published annually as a separate publication by the National Library of Medicine. Authors are responsible for the accuracy and completeness of all references and are also responsible for ensuring that references are not used out of context.

For journal articles use the following form: authors' surnames and first names initials, article's title, the journal abbreviation according to the *Index Medicus*, year, volume, starting and ending pages of the article. If there are more than six authors, list the first six and add et al. We recommend to automatically insert the references using dedicated reference management solutions (e.g. Zotero, Microsoft word bibliography, Endnote web), according to **Vancouver citation style**.

e.g. "Zimmermann MB, de Benoist B, Corigliano S, Jooste PL, Molinari L, Moosa K, et al. Assessment of iodine status using dried blood spot thyroglobulin: development of reference material and establishment of an international reference range in iodine-sufficient children. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006 Dec;91(12):4881-7"

For books or monographs: the names of the cited chapter's authors, chapter's title, the editors, the title of the book or monograph, the name and location of the publisher, the year of the appearance and pages.

Editorial process and peer review

The whole peer-review workflow is performed in the Editorial Manager online system. Manuscript submitted should contain original work, focused on the aims of this journal, should

be clearly and correctly written in English, and should contain all essential features of a scientific publication. Submitted manuscripts are screened for completeness and quality of files and will not enter the review process until all files are satisfactory. In order to evaluate similarities with scientific literature, specialized text-matching software is used to screen all manuscripts accepted for scientific evaluation. The Secretariat will announce the corresponding author about the receipt and the status of the manuscript.

Authors may suggest reviewers for their manuscript, whether invited to do so by the Editor or not. The Editor may choose to use one or more of these reviewers, but is under no obligation to do so. Authors may ask that certain people not be asked to review their manuscript, but Editors are not held to accept these requests either. The articles are sent to reviewers with expertise in the laboratory medicine area, without revealing the authors' names and positions. Also, the reviewers' identities are not known by the authors. Following the reviewers' recommendations, the Editors decide if a paper is published or not. Submissions may be declined without external review as deemed appropriate by the Editor-in-Chief and the members of the Editorial Board. The authors of the manuscripts that have been rejected or need revision will be announced. Revised manuscripts should be re-submitted as soon as possible, but not later than 6 weeks. Although unusual, a resubmission may be rejected after revision if the response to suggestions and requests is considered inadequate.

Authors will receive a PDF file with the edited version of their manuscript for final proof-reading. This is the last opportunity to view an article before its publication. The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness and accuracy of the text, tables and figures. Substantial changes in content are not allowed without the approval of the Editor. The authors are requested to return

the corrected proofs within 7 days after their delivery or notify the Editors that no corrections are required. After online publication, further changes can only be made in the form of an Erratum, which will be hyperlinked to the article. The corresponding author will receive a printed issue of the Journal free of charge.

Scientific misconduct / Corrections / Retraction Policy

Scientific fraud are rare events; however, they have a very serious impact on the integrity of the scientific community. Scientific misconduct is defined by the Office of Research Integrity as "fabrication, falsification, plagiarism, or other practices that seriously deviate from those that are commonly accepted within the academic community for proposing, conducting, or reporting research". In cases where there is a suspicion or allegation of scientific misconduct or fraudulent research in manuscripts submitted or published, the Editors reserve the right to impose sanctions on the authors, such as: immediate rejection of the manuscript, banning author(s) from submitting manuscripts to the journal for a certain period of time, retracting the manuscript, bringing the concerns to the authors' sponsoring or funding institution or other appropriate authority for investigation

If the Editorial Board uncovers possible evidence of such problems it will first contact the corresponding author in complete confidence, to allow adequate clarification of the situation. If the results of such interactions are not satisfactory, the Board will contact the appropriate official(s) in the institution(s) from which the manuscript originated. It is then left to the institution(s) in question to pursue the matter appropriately. Depending on the circumstances, the *Romanian Journal of Laboratory Medicine* may also opt to publish errata, corrigenda, or retractions.

Serious errors in a published manuscript and infringements of professional ethical codes will result in an article being retracted. This will occur where the article is clearly defamatory, or infringes others' legal rights, or where the article is, or there is good reason to expect it will be, the subject of a court order, or where the article, if acted upon, might pose a serious health risk. In any of these cases all coauthors will be informed about a retraction. A Retraction Note detailing the reason for retraction will be linked to the original article.

Publication fee

A publication fee of 100 EUR will have to be paid for articles accepted for evaluation by editorial board of *Romanian Journal of Laboratory Medicine* (invited contributions excepted). The fee will be paid when the manuscript acceptance for scientific evaluation is prompted by the Editorial Office. The author will bear the

cost of publication for color illustrations, if their number exceeds two color figures (invited contributions excepted). The charge is 25 EUR (or equivalent in RON) for each color figure, starting with the third color illustration). The authors will also bear the cost of English supervision (if the manuscript needs assistance). If reasonable corrections are necessary the charge is 10 EUR (or equivalent in RON)/ supervised page.

The total charge for color figures and English supervision will be communicated by the Editorial Secretariat upon acceptance of the manuscript for publication.

All payments will be operated in RO56BRDE270SV16682302700 bank account open for Romanian Association of Medical Laboratories – CF 17383407 – at BRD-Groupe Société Générale SA, Agenția Petru Maior, Str. Mihai Viteazu 31, Tîrgu Mureș, Romania. Please e-mail (office@rrml.ro) or fax a copy of the bank draft at the Editorial Secretariat (+40 265 217 425).

Cover letter and authors' contribution

According to the ICMJE, the *Romanian Journal of Laboratory Medicine* recommends that authorship be based on the following criteria:

1. Substantial contributions to the conception or design of the work; or the acquisition, analysis, or interpretation of data for the work;
2. Drafting the work or revising it critically for important intellectual content;
3. Final approval of the version to be published;
4. Agreement to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Those who meet all four criteria can be identified as authors; otherwise they should only be acknowledged.

Title

--

The authors attest that

- This paper has not been published previously;
- The manuscript is an original work without fabrication, fraud, or plagiarism;
- Have read the complete manuscript and takes responsibility for the content of the manuscript;
- There is no potential conflict of interest (employment, consultancies, stock ownership, equity interests, and patent-licensing arrangements);

Authors' contribution

Authors	Contributions	Signatures

Acknowledgements

--

