

**REVISTA ROMÂNĂ DE  
MEDICINĂ DE LABORATOR**

**Supliment la Vol. 11, Nr. 2, Iunie 2008**

## ***Referenți științifici***

- Professor Vladimir Palicka, MD, PhD  
(*Univ. Hradek Kralove, Praga, Czech Republic*)
- Professor Elizabeta Topic, MD, PhD  
(*Univ. Zagreb, Croatia*)
- Professor Gabor Kovacs, MD, PhD  
(*Univ. Pecs, Hungary*)
- Professor László Muszbek, MD, PhD  
(*Univ. Debrecen, Hungary*)
- Dr. Viliam Lustig, PhD, FCACB  
(*Univ. of Toronto, Canada*)
- Ass. Professor Connie Prosser, PhD  
(*Univ. of Alberta Hospital, Edmonton, Canada*)
- Trefor Higgins, MSc, FCACB  
(*Dynacare Kasper Medical Laboratories, Edmonton, Canada*)
- Ass. Prof. Manuela G. Neuman  
(*Institute of Drug Research, Univ. of Toronto, Canada*)
- Alexandru Șchiopu, M.D., PhD  
(*Lund University, Malmö, Sweden*)
- Prof. Univ. Dr. Mircea Cucuiu  
(*UMF "Iuliu Hațieganu" Cluj*)
- Prof. Univ. Dr. Dan Coliță  
(*UMF „Carol Davila” București*)
- Prof. Univ. Dr. Marian Neguț  
(*UMF „Carol Davila” București*)
- Prof. Univ. Dr. Eugen Carasevici  
(*UMF „Gr. T. Popa” Iași*)
- Prof. Univ. Dr. Margit Șerban  
(*UMF „Victor Babeș” Timișoara*)
- Prof. Univ. Dr. Hortensia Ioniță  
(*UMF „Victor Babeș” Timișoara*)
- Prof. Univ. Dr. Roxana Moldovan  
(*UMF „Victor Babeș” Timișoara*)
- Prof. Univ. Dr. Gheorghe Gluhovschi  
(*UMF „Victor Babeș” Timișoara*)
- Prof. Univ. Dr. Ștefan Hobai  
(*UMF Tg. Mureș*)
- Prof. Univ. Dr. Rodica Pascu  
(*UMF Tg. Mureș*)
- Prof. Univ. Dr. Marius Sabău  
(*UMF Tg. Mureș*)
- Prof. Univ. Dr. Monica Sabău  
(*UMF Tg. Mureș*)
- Prof. Univ. Dr. Alexandru Șchiopu  
(*UMF Tg. Mureș*)
- Prof. Univ. Dr. Angela Borda  
(*UMF Tg. Mureș*)
- Prof. Univ. Dr. Galafteon Oltean  
(*UMF Tg. Mureș*)
- Prof. Univ. Dr. Minodora Dobreanu  
(*UMF Tg. Mureș*)
- Prof. Univ. Dr. Dan Dobreanu  
(*UMF Tg. Mureș*)
- Prof. Univ. Dr. Anca Cristea  
(*UMF "Iuliu Hațieganu" Cluj*)
- Conf. Univ. Dr. Adriana Coliță  
(*UMF „Carol Davila” București*)
- Conf. Univ. Dr. Didona Ungureanu  
(*UMF „Gr. T. Popa” Iași*)
- Conf. Univ. Dr. Ileana Constantinescu  
(*Institutul Clinic Fundeni*)
- Conf. Univ. Dr. Irina Codita  
(*UMF „Carol Davila” București*)
- Conf. Univ. Dr. Maria Dronca  
(*UMF "Iuliu Hațieganu" Cluj*)
- Conf. Univ. Augustin Curticăpean  
(*UMF Tg. Mureș*)
- Conf. Univ. Marius Mărușteri  
(*UMF Tg. Mureș*)
- Conf. Univ. Silvia Imre  
(*UMF Tg. Mureș*)
- Şef Lucrări Dr. Andreea Moicean  
(*UMF „Carol Davila” București*)
- Şef Lucrări Dr. Camil Vari  
(*UMF Tg. Mureș*)
- Asist. Univ. Dr. Gabriel Ionescu  
(*UMF „Carol Davila” București*)
- Asist. Univ. Dr. Edit Székely  
(*UMF Tg. Mureș*)
- Asist. Univ. Dr. Vladimir Bacârea  
(*UMF Tg. Mureș*)
- Dr. Dan Oțelea  
(*Institutul Național de Boli Infecțioase „Matei Balș”*)
- Dr. Cornel Ursaciuc  
(*Institutul Național „Victor Babeș”*)

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

---

A L M R



# REVISTA ROMÂNĂ DE MEDICINĂ DE LABORATOR

*Publicație oficială a ASOCIAȚIEI LABORATOARELOR MEDICALE DIN ROMÂNIA*

Supliment la Vol. 11, Nr. 2, Iunie 2008

## *Comitetul de redacție*

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

*Redactor adjunct*  
Dr. Liviu Sorin Enache

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

## *Creditări RRML*

### **CNCSIS**

În urma evaluării CNCSIS a revistelor din februarie 2008, RRML figurează în evidență CNCSIS (categoria C) cu codul CNCSIS 739.

### **CMR**

Prin adresa Departamentului Profesional - Științific al CMR Nr. 5635/12.02.2006, RRML a fost introdusă în Nomenclatorul Publicațiilor Medicale al CMR. Medicii abonați la această publicație sunt creditați cu 5 credite CMR.

### **OBBCSSR**

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





# 4<sup>th</sup> RAML Conference

## with International Participation

Under the auspices of IFCC

18 – 21 June 2008, Cluj-Napoca, Romania

**Abstract Book**

## **ORGANIZERS**

**Romanian Association of Medical Laboratories**

**Romanian Society of Microbiology**

**University of Medicine and Pharmacy ‘Iuliu Hațieganu’, Cluj-Napoca**

**Romanian Society of Hematology**

## **Organizing Committee**

### **Tîrgu Mureș**

Minodora Dobreanu (*RAML President*)

Elena Luminița Enache

Anca Bacârea

Monica Badiu

Annamaria Földes

Andreea Pop

Nadina Vișan

Liviu Sorin Enache

### **Cluj-Napoca**

Maria Dronca

Lucia Dican

### **Bucharest**

Ileana Funduc (*RAML Vice-president*)

Ariadna Rădulescu

Ileana Constantinescu (*RAML Vice-president*)

Mariana Buzea (*RAML Treasurer*)

### **Timișoara**

Sorin Gîju (*RAML Vice-president*)

## Cuprins

### Table of Contents

<b>Cuprins.....</b>	<b>7</b>
Table of Contents	
<b>REZUMATELE LUCRĂRILOR.....</b>	<b>9</b>
Abstracts	
Biochimie – Biologie moleculară/ Biochemistry – Molecular biology.....	9
Hematologie/ Hematology.....	15
Virusologie/ Virology.....	21
Imunologie/ Immunology.....	26
Microbiologie/ Microbiology.....	31
Biochimie/ Biochemistry.....	37
Educație în Medicina de Laborator/ Education in laboratory medicine.....	41
Masă Rotundă - Control de Calitate în Laboratoarele Medicale.....	45
Postere biochimie – imunologie – hematologie/	
Posters: Biochemistry – Immunology - Hematology .....	45
Postere - microbiologie/ Posters - Microbiology.....	61
<b>Index de autori.....</b>	<b>77</b>
Authors index	
<b>Recomandări pentru autori.....</b>	<b>81</b>
Instructions for authors.....	84
<b>Declarație din partea autorilor.....</b>	<b>88</b>
Authorship responsibilities.....	89



## **REZUMATELE LUCRĂRILOR\***

### **ABSTRACTS**

**BIOCHIMIE – BIOLOGIE MOLECULARĂ/  
BIOCHEMISTRY – MOLECULAR BIOLOGY  
“Diagnostic molecular”/ “Molecular diagnosis”**

#### **R1. Contribuții ale școlii de medicină clujene la patogeneza sindromului metabolic**

**M. Cucuijanu, Ioana Brudașcă**

*UMF “Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca*

Asocierea obezității cu dislipidemia, hipertensiunea și cu o stare protrombotică a fost descrisă în mod independent în urmă cu 50 de ani în mai multe centre medicale, inclusiv un colectiv din Cluj, care sub conducerea profesorului Moga a adus dovezi pentru rolul patogen al unor factori sociali. De fapt, în acei ani o serie de tineri din mediul rural care presta să muncă fizică și avu se că o dietă relativ săracă au dezvoltat sindrom metabolic după 10-15 ani de la promovarea lor într-o poziție bine remunerată din administrație implicând însă sarcini care adesea le depășeau competența.

Observând că pusele de endocardită reumatică agravează sindromul coronarian s-au extins cercetările privind rolul inflamației, demonstrându-se activitatea complementului în placa ateromatoasă și detectându-se creșteri ale factorului von Willebrand eliberat din endotelii în cazuri de sindroame coronariene acute. Constatând o creștere a nivelelor plasmaticelor de proteine secretate de ficat, inclusiv factorii ai coagulației și inhibitorii ai fibrinolizei în cazuri de hipertrigliceridemie și coroborând rezultatele cu date din literatură, semnalând o creștere a sintezei de proteine sub acțiunea acizilor grași adăugați unor culturi de hepatocite, se furnizează o explicație rezonabilă a relației dintre factorii de risc metabolic și dezvoltarea unei stări protrombotice.

#### **Contribution of the medical school in Cluj to the pathogenesis of metabolic syndrome**

**M. Cucuijanu, Ioana Brudașcă**

*UMF “Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca*

Association of obesity with dyslipidemia, hypertension and a prothrombotic state had been independently described 50 years ago in several medical centers, including a team in Cluj who led by

\*Responsabilitatea pentru formularea rezumatelor revine în exclusivitate autorilor

professor Moga provided evidence for the pathogenic role of social factors. Actually in those years many young rural men who had performed hard labor and had a thrifty diet, developed the metabolic syndrome 10-15 years after having been promoted to an affluent sedentary position in the administration, requiring responsibility and skills which often exceeded their competence.

The same team in Cluj reported in 1959 the deterioration of a coronary syndrome during bouts of rheumatic endocarditis, and the atherogenic role of inflammation was further documented by studies emphasizing complement activation in atherosclerotic plaques and the increased plasma levels of endothelia released von Willebrand factor in patients with acute coronary syndrome. Detecting increased plasma levels of several liver-secreted proteins including clotting factors and inhibitors of fibrinolysis in hypertriglyceridemic patients in Cluj, and corroborating the results with data in the literature reporting enhanced hepatic protein secretion in cultured hepatocytes added fatty acids, a reasonable explanation for the relationship between metabolic risk factors and the development of a prothrombotic state is provided.

## R2. Iron metabolism genes: from molecular bases to diagnostic applications

**Ferrari M.<sup>1,2,3</sup>, Stenirri S.<sup>2,3</sup>, Bonalumi S.<sup>2,3</sup>, Brisci A.<sup>2,3</sup>, Castiglioni E.<sup>2,3</sup>, Ferrari F.<sup>2,3</sup>, Cremonesi L.<sup>2</sup>**

*1. Università Vita-Salute San Raffaele; 2. Genomic Unit for the Diagnosis of Human Pathologies, San Raffaele Scientific Institute, Milan, Italy; 3. Diagnostica e Ricerca S. Raffaele SpA, Milan, Italy*

Recently, several genetic diseases have given new insights into the function and regulation of genes of iron metabolism.

Ferritin, composed of H-subunits and L-subunits, plays important roles in iron storage and in the control of intracellular iron distribution. Synthesis of both subunits is controlled by iron regulatory proteins (IRP-1 and 2) that bind to the iron-responsive element (IRE) in the 5'-untranslated region of ferritin mRNA. Hereditary Hyperferritinemia-cataract syndrome is associated with point mutations or deletions in the IRE of L-subunit mRNA.

Moreover, iron misregulation in the brain plays a part in various neurodegenerative diseases, such as the newly discovered neuroferritinopathy, a dominantly inherited movement disorder associated with two nucleotide insertions that modify the C-terminus of ferritin L-chain.

Hereditary hemocromatosis is a common autosomal recessive disorder depending from defects in multiple genes.

Molecular studies have contributed to identify the systemic loop which controls iron homeostasis in humans and is centered on hepcidin-ferroportin interaction.

Hemochromatosis is an heterogeneous genetic disease, that may result from mutations in at least 4 genes: the HFE gene, the TFR2 gene, the HAMP gene (hepcidin), the HJV (hemojuvelin); the SLC40A1 (ferroportin) is related to a hemochromatosis-related dual face disorder.

In order to screen for mutations in these genes we developed a fast DNA scanning method based on Denaturing High Performance Liquid Chromatography (DHPLC) and the microelectronic microchip approach (Nanogen).

### **R3. Point-of-care molecular diagnosis: a near future?**

**Ana-Maria Simundic**

*Clinical Institute of Chemistry, Department of Molecular Diagnostics, University Hospital  
"Sestre milsrdnice", Zagreb, Croatia*

Not more than some ten years ago, the idea of molecular diagnosis in emergency states seemed inconceivable and unfeasible. Today it is not so anymore. Since lately, POC systems for molecular diagnosis have been released to the market. These systems are intended for various fields, e.g., infectious diseases, pharmacogenetics and genetic testing. Such systems allow for the process of isolation, purification and concentration, followed by DNA amplification and detection to be performed in a fully integrated and automated manner. While the current DNA technology involves several completely separate steps, and requires specific equipment and properly trained personnel for considerable manual manipulation over 1-3 days, POCT molecular diagnostics system enables the desired sequence to be identified within 30 minutes. Such a short TAT is enabled by the rapid DNA isolation process based on the principle of ultrasonographic destruction of cell membrane or bacterial spore wall and an ultra rapid real time PCR analysis. Although these instruments have not yet been widely used in everyday routine laboratory work, there are numerous ongoing clinical studies the results of which will make the basis to decide on the potential justifiability of introducing these tests in routine practice.

### **R4. Construcția 3D a domeniului ligand-asociator al GLP1-R, țintă terapeutică modernă în tratamentul antidiabetic**

**Şt. Hobai**

*UMF Târgu Mureş*

Scop: structura 3D a domeniului ligand-asociator al receptorului pentru glucagon-like peptide 1 (nGLP1-R), folosit ca țintă moleculară în tratamentul antidiabetic de paradigmă incretin. Ligandul este hormonul incretin GLP1, stimulator al secreției insulinei și inhibitor al secreției HCl și al evacuării gastrice.

Metodă: segmentul 27-130 al GLP1-R a fost configurat printr-o metodă originală bazată pe următorii pași: 1. Alegerea lui a ținut cont de rolurile unor segmente cum este domeniul semnal (1-23) și pattern-ul conservat al punților disulfurice. 2. Aliniamentul secvențial (ClustalW) al nGLP1-R, partea rezolvată cristalografic a receptorului pentru polipeptidul inhibitor gastric (o "rudă" a GLP1-R) cu codul PDB 2QKH și partea rezolvată a polipeptidului activator al adenilatciclazei hipofizare (2JOD). 3. Transferul radicalilor aminoacizilor aliniați ai nGLP1-R pe scheletul 2QKH. 4. Umplerea golurilor din secvența 2QKH cu segmentele aliniate și ajustate conformational ale GLP1-R: dipeptidul Leu32Trp având structură alfa-elicoidală; Thr59 având unghiuile diedrice ale Ser50 aliniate care aparține 2JOD; heptapeptidul care începe cu Gln112 având unghiuile diedrice fi-psi-trans ale segmentului aliniat din 2JOD. Această "chirurgie moleculară virtuală" am efectuat-o cu ajutorul unor aplicații ale bibliotecii Schrödinger.

Rezultate: la 19.02.2008 a fost postată pe RCSB structura 3D a segmentului 28-131 al GLP1-R(3C5T) rezolvată cristalografic de S. Runge, H. Thogersen, K. Madsen, J. Lau și R. Rudolph (articol in press). Similarități între 3C5T și modelul meu sunt: lungimile și pozițiile celor două secvențe sunt

foarte asemănătoare; segmentele alfa-elicoidale sunt 32-52 respectiv 35-52; cele cinci segmente de tip beta ale fiecărei din cele două structuri sunt foarte asemănătoare.

Concluzie: există similarități semnificative între modelul meu și structura lansată recent pe PDB.

### **3D construction of ligand-binding domain of GLP1-R, modern therapeutic target of antidiabetic treatment**

**Şt. Hobai**

*UMF Târgu Mureş*

Aim: 3D structure of the ligand-binding domain of glucagon-like peptide 1 receptor (nGLP1-R), used as molecular target in antidiabetic treatment of incretin paradigm. The ligand is incretin hormone GLP1, insulin secretagogue which inhibits HCl secretion and gastric emptying.

Method: the 27-130 sequence segment of GLP1-R was configured by an original method based on some steps: 1.The choice of this segment kept account of the roles of some segments as signal domain (1-23) and the conserved disulphide pattern. 2.Sequence alignment (ClustalW) of nGLP1-R, crystallographic solved part of gastric inhibitory polypeptide receptor (a "relative" of GLP1-R), PDB code 2QKH, and solved part of pituitary adenylate cyclase-activating polypeptide (2JOD). 3.Transfer of nGLP1-R aligned radicals to 2QKH backbone. 4.Filling of 2QKH gaps with aligned and conformational adjusted segments of GLP1-R: dipeptide Leu32Trp having alpha-helix structure; Thr59 having the dihedral of aligned Ser50 from 2JOD; heptapeptide starting with Gln112 having phi-psi-trans dihedrals of aligned segment from 2JOD. This "virtual molecular surgery" was made using some Schrödinger library applications.

Results: on February 19, 2008 it was released on RCSB the 3D structure of 28-131 segment of GLP1-R(3C5T) X-ray solved by S.Runge, H.Thogersen, K.Madsen, J.Lau and R.Rudolph (primary citation to be published). Similarities between 3C5T and my model are: the lengths and positions of the two sequences are very similar; the alpha-helix segments are 32-52 and 35-52, respectively; the five beta-sheet segments of each from the two structures are very similar.

Conclusion: there are significant similarities between my model and the structure released recently on PDB.

### **R5. Activitatea paraoxonazei serice 1 și homocisteinemia la pacienți hemodializați**

**Maria Dronca<sup>1</sup>, Sergiu P. Pașca<sup>1,2</sup>, Bogdan Nemeș<sup>1</sup>, Laurian Vlase<sup>3</sup>, Dan Vladutiu<sup>4</sup>**

*1. Disciplina de Biochimie Medicală, Facultatea de Medicină, UMF „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca, România; 2. Centrul de Cercetări Cognitive și Neuronale (Coneural), Cluj-Napoca, Romania; 3.Catedra de Tehnologie Farmaceutică și Biofarmacie, Facultatea de Farmacie, UMF „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca, România; 4. Catedra de Nefrologie, Facultatea de Medicină, UMF „Iuliu Hațieganu”, Cluj-Napoca, România*

Paraoxonaza 1 (PON1) asociată HDL, este o enzimă capabilă să hidrolizeze variate substrate; ea este o esterază eficientă pentru mulți organofosfați (ex. paraoxon), esteri carboxilici aromatici (ex. acetat de fenil) și unele xenobiotice, fiind totodată capabilă să degradeze lipidele oxidate și homocistein-tiolactona. Alterarea statusului PON1 a fost semnalată în numeroase boli, inclusiv în

insuficiență renală cronică.

Homocisteina este un aminoacid nonstandard situat la intersecția căilor de transmetilare și transsulfurare. Hiperhomocisteinemia severă este comună în rândul pacienților cu insuficiență renală cronică.

Scopul acestui studiu a fost de a investiga relația dintre Hcy totală (tHcy) și activitățile PON1 în insuficiență renală cronică. Au fost analizate probe, recoltate pre-dializă, de la 25 pacienți și 25 de indivizi sănătoși, potrivită ca vîrstă și sex. Activitățile, paraoxonazică (PO-aza) și arilesterazică (ARE-aza), ale paraoxonazei din ser s-au determinat la 25 °C prin metode spectrofotometrice. tHcy din ser s-a măsurat utilizând tehnica RP-HPLC și kitul Chromsystems.

S-au observat diferențe semnificative statistic ( $P < 0,001$ ) între cele 2 grupuri, atât în ceea ce privește tHcy cât și în ceea ce privește activitățile paraoxonazei. Deși, în rândul pacienților s-au observat valori crescute ale Hcy totale (~ 3 ori), respectiv scăzute ale activităților PON1 (~ 0,5 fiecare), nu s-a observat nici o corelație între tHcy și activitățile PON1, nici în grupul cu insuficiență renală ( $r_{tHcy-PO.aza} = 0.128$ ,  $P > 0.05$ ;  $r_{tHcy-ARE.aza} = 0.159$ ,  $P > 0.05$ , nici în grupul de control ( $r_{tHcy-PO.aza} = 0.024$ ,  $P > 0.05$ ;  $r_{tHcy-ARE.aza} = 0.0.082$ ,  $P > 0.05$ ).

## **Serum paraoxonase 1 activities and homocysteinemia in hemodialysis patients**

**Maria Dronca<sup>1</sup>, Sergiu P. Pașca<sup>1,2</sup>, Bogdan Nemeș<sup>1</sup>, Laurian Vlase<sup>3</sup>, Dan Vladutiu<sup>4</sup>**

*1. Medical Biochemistry Department, Faculty of Medicine, "Iuliu Hatieganu" UMF, Cluj-Napoca, Romania; 2. Center for Cognitive and Neural Studies (Coneural), Cluj-Napoca, Romania; 3. Department of Pharmaceutical Technology and Biopharmaceutics, Faculty of Pharmacy, "Iuliu Hatieganu" UMF, Cluj-Napoca, Romania; 4. Nephrology Department, Faculty of Medicine, "Iuliu Hatieganu" UMF, Cluj-Napoca, Romania*

Paraoxonase 1 (PON1) is an HDL-associated enzyme capable of hydrolyzing various substrates; it is an efficient esterase for many organophosphates (e.g., paraoxon), aromatic carboxyl esters (e.g., phenylacetate) and some xenobiotics, while it is also able to degrade biologically active oxidized lipids and to detoxify homocysteine-thiolactone. Altered PON1 status has been documented in several human diseases, including chronic renal failure. Homocysteine is a nonstandard aminoacid at the intersection of the transmethylation and transsulfuration pathways. Severe hyperhomocysteinemia is common among patients with chronic renal failure.

The purpose of our study was to investigate the relationship between total Hcy (tHcy) and PON1 activities in chronic renal failure. We have analyzed pre-dialysis samples from 25 patients and 25 samples from age and sex matched healthy volunteers. Serum paraoxonase (PO.ase) and arylesterase (ARE.ase) activities were determined at 25°C by using spectrophotometric methods. Serum total Hcy was measured by RP-HPLC by using the Chromsystems kit.

We found statistically significant differences ( $P < 0.001$ ) in tHcy and both PON1 activities between the patient and control groups. Although, higher total Hcy values (~ 3 fold) and lower values for both PON1 activities (~ half each) were detected in patients compared to the control group, we did not observe any correlation between tHcy and PON1 activities, neither within the renal failure group ( $r_{tHcy-PO.ase} = 0.128$ ,  $P > 0.05$ ;  $r_{tHcy-ARE.ase} = 0.159$ ,  $P > 0.05$ ), nor the control group ( $r_{tHcy-PO.ase} = 0.024$ ,  $P > 0.05$ ;  $r_{tHcy-ARE.ase} = 0.0.082$ ,  $P > 0.05$ ).

## C6. Diagnosticul molecular în sindroamele talasemice

**Tălmaci Rodica, Coriu D., Dogaru Monica, Coliță D.**

*Clinica de Hematologie, Institutul Clinic Fundeni, București*

Talasemia reprezintă o deficiență de sinteză a lanțurilor globinice din hemoglobină. Talasemia majoră, având statutul de boală genetică, nu poate fi tratată definitiv, poate fi, însă, prevenită prin identificarea purtătorilor și diagnosticare prenatală. În România există aproximativ 300 de pacienți cu talasemie majoră, aflați în evidență instituțiilor specializate. Odată cu dezvoltarea metodelor moleculare de diagnostic, talasemia minoră s-a constatat a fi din ce în ce mai frecventă. Prin diagnosticul prenatal al β-talasemiei, în România se deschide o nouă posibilitate de prevenire a formelor homozigote de boală, iar pentru a fi implementat, este esențial să se cunoască spectrul mutațiilor β-talasemice din țara noastră și frecvența lor.

Analiza moleculară aplicată pe probe de ADN utilizează metode de biologie moleculară: scanare genică prin DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis), detecție directă de mutații prin ARMS-PCR (Amplification Refractory Mutation System-PCR) și PCR-RFLP (PCR-Restriction Fragments Length Polymorphisms) și o metodă nouă Genotipare prin Real Time PCR.

Testarea moleculară a 134 alele talasemice a indicat prezența a 13 tipuri de mutații: IVS I-110 (33,58%), CD 39 (12,68%), IVS I-6 (12,68%), IVS II-745 (11,2%), IVS I-1 (8,2%), CD 8 (3,73%), CD 5 (2,98%), -87 (2,23%), Hb Knossos (2,23%), CD 6 (2,23%), -30 (0,74%), CD 8/9 (0,74%), CD 51 (0,74%), +22 (0,74%) și mutații necunoscute (4,47%).

Aplicând această metodologie de diagnostic am reușit implementarea unui protocol practic și eficient de diagnostic molecular prenatal pentru talasemie. Împreună cu implementarea unor măsuri coerente de screening și educarea părinților despre statutul de purtător, sperăm ca această abordare să fie utilizată ca o metodă eficientă de prevenire a talasemiei majore.

## Molecular diagnosis of thalassaemia syndromes

**Tălmaci Rodica, Coriu D., Dogaru Monica, Colita D.**

*Hematology Department, Fundeni Clinical Institute, Bucharest*

Thalassaemia is a deficiency of globin chains synthesis from haemoglobin. Thalassaemia major as a genetic disorder can not be treated definitively, but this disease can be prevented by prenatal diagnosis. In Romania there are currently 300 patients with thalassaemia major under the management of specialized institutions. So far, the prenatal diagnosis of thalassaemia was not available in Romania, for various reasons. Prenatal diagnosis of thalassemias has given a new dimension to the prevention of these, but in order to implement this, a knowledge of the mutation spectrum and the incidence of these, is essential.

Molecular analysis on DNA samples uses DGGE (Denaturing Gradient Gel Electrophoresis) scanning and direct mutation detection by ARMS-PCR (Amplification Refractory Mutation System-PCR) and PCR-RFLP (PCR-Restriction Fragments Length Polymorphisms) and new method Genotyping by Real Time PCR.

Molecular testing of 134 thalassemia alleles revealed 13 different mutations: IVS I-110 (33,58%), CD 39 (12,68%), IVS I-6 (12,68%), IVS II-745 (11,2%), IVS I-1 (8,2%), CD 8 (3,73%), CD 5 (2,98%), -87 (2,23%), Hb Knossos (2,23%), CD 6 (2,23%), -30 (0,74%), CD 8/9 (0,74%), CD 51 (0,74%), +22 (0,74%), poly A (0,74%) and unknown mutations (4,47%).

The results of this study point to a successful future prenatal diagnosis of beta-thalassaemia in Romania, using rapid and accurate molecular methods. Together with the implementation of proper preventive health measures and the education of the parents regarding their carrier status, we are hoping that this method will be used as the common application approach to prevent the thalassaemia major.

## HEMATOLOGIE/ HEMATOLOGY

### **R7. Anomalii moștenite ale hemostazei**

**M. Cucuijanu, Ioana Brudașcă, D. Colhon, Lucia Dican**

*UMF "Iuliu Hațieganu", Cluj-Napoca*

Caracterul moștenit al anomalilor s-a stabilit prin excluderea bolilor dobândite afectând hemostaza și prin prezența aceleiași anomalii la rudele de gradul I. Un deficit heterozigot de antitrombină III (antigen și activitate 50% din normal) a fost depistat la 4 din cei 9 membrii ai unei familii, trombozele survenind însă doar la cel obez. Tromboze venoase afectând doi frați dintr-o altă familie s-au datorat unui deficit sever de antitrombină III tip II HBS (activități heparin-cofactor de 13% și respectiv 16%). Valori de 50% s-au detectat la părinți și la alți doi frați care nu suferiseră tromboze, iar antigenul și activitatea totală progresivă au fost normale la toți cei 6 membri ai familiei. Tromboze recurente și necroză cutanată hemoragică indușă de cumarinice survenite la o femeie obeză de 47 de ani erau consecutive unui deficit heterozigot de proteină C. Examinând un băiat care suferise o hemoragie severă și prelungită după o extracție dentară s-a constatat că atât el cât și tatăl său supraponderal și asimptomatic prezintau un deficit heterozigot de  $\alpha_2$  antiplasmină. S-au mai depistat două familii cu boala von Willebrand tip I (scădere antigenului și agregării plachetare induse de ristocetină), o altă familie cu tip IIB (răspuns exagerat al plachetelor la ristocetină și deficit sever de cofactor al ristocetinei în plasmă), precum și doi frați cu trombastenie Glanzmann (lipsă agregării induse de ADP). Rezistența la proteină C activată s-a constatat la 30% dintr-un lot de pacienți cu tromboze venoase profunde, dar și la 7% din subiecții de control.

### **Inherited disorders of hemostasis**

**M. Cucuijanu, Ioana Brudașcă, D. Colhon, Lucia Dican**

*"Iuliu Hațieganu" UMF ,Cluj-Napoca*

The inherited character was established by excluding any acquired disease possibly affecting hemostasis, and by detecting the same anomaly in the patients' first degree relatives. A heterozygous antithrombin III deficiency type I was found in 4 of the 9 members of a family, the thrombotic episodes occurring only in the obese one. Venous thromboses afflicting two brothers in another family were explained by a severe antithrombin III deficiency (heparin-cofactor activities 13% and 16%). Values about 50% of this test were detected in their parents and in another two brothers, yet antigen level and the total progressive activity were normal in all the 6 members of this family. Recurrent thrombosis

and coumarin-induced haemorrhagic skin necrosis occurring in an obese woman aged 47 was subsequent to a heterozygous protein C deficiency. While investigating a boy who had experienced a severe and protracted haemorrhage after a dental extraction, it was found that he and his overweight asymptomatic father were presenting a heterozygous α2 antiplasmin deficiency. The von Willebrand disease type I (low antigen and ristocetin – induced platelet aggregation) was detected in two families, while in another family this disease was of type IIB (exaggerate ristocetin-induced aggregation and very low ristocetin cofactor in plasma). Two brothers with absent ADP-induced platelet aggregation were diagnosed as Glanzmann's thrombasthenia, and the resistance to activated protein C was detected in 30% of the patients with deep vein thrombosis, but also in 7% of the control subjects.

## **R8. Leucemia granulocitară cronică în 2008, de la investigare moleculară la tratament**

**D. Coliță, Adriana Coliță**

*Institutul Clinic Fundeni, București*

Rezumatul nu a fost trimis.

Abstract not submitted.

## **R9. Sarcom mieloid. Prezentare de caz și revizuirea datelor din literatură**

**Mariana Pațiu<sup>1</sup>, Anca Bacârea<sup>2</sup>, A. Dascălu<sup>1</sup>, Claudia Nicorici<sup>4</sup>, A. Cucuiu<sup>3</sup>**

*1. Institutul Oncologic "Prof. Dr. I. Chiricuță", Laborator-Hematologie; 2. UMF Târgu Mureș, Laborator Biochimie Clinică; 3. UMF "Iuliu Hațieganu" Disciplina de Hematologie; 4. Spitalul Clinic Municipal Cluj-Napoca*

Sarcomul mieloid (SM) este o tumoră extramedulară cu celule mieloide imature, care apare concomitent sau ulterior debutului unei leucemii acute mieloide. Extrem de rar SM precede leucemia acută.

Prezentăm trei cazuri de sarcom mieloid.

Pacientul C.C. 19 ani, prezintă dispnee și febră. La examenul obiectiv, radiologic și ecografic se descoperă colecție pleurală și pericardică. Examenul citologic al exudatelor relevă celularitate blastică, mieloperoxidazo (MPO) pozitivă. Imunofenotipizarea relevă leucemie acută bifenotipică (CD33 +, CD10+).

Pacienta G.M., 47 ani, prezintă nodul mamar drept. Biopsia ridică suspiciunea de limfom non-Hodgkin (deși imunohistochimia nu susține această suspiciune: CD45+, CD20-, CD3-, CD30-). Pacienta prezintă icter mecanic, datorat unei tumorii peritoneale. Examenul histopatologic relevă același aspect ca și al formațiunii mamare. După alte 2 săptămâni, pacienta prezintă leucocitoză cu 60% blaști MPO+. Se reface examenul imunohistochimic al formațiunilor mamare și peritoneale dovedindu-se pozitivitatea pentru CD33, CD13, mieloperoxidază. Același aspect imunohistochimic se observă și la biopsia osteo-medulară.

Pacienta PM, 49 ani, prezintă parestezii, dureri la nivelul membrelor inferioare, parapareză. Examenul RMN relevă o formătire tumorală paravertebrală (D8-L2). Se biopsiază chirurgical, aspectul fiind de proliferare monomorfă de tip blastic, MPO+, CD33 +, CD20-, CD3-. Asociat prezintă pleurezie stângă, citologia relevând celularitate blastică, cu CD33 +.

Toate cazurile au fost eronat încadrate la debut.

Diagnosticul inițial corect al SM și instituirea precoce a unei terapii sunt foarte importante pentru managementul acestor pacienți.

### **Myeloid sarcoma. Report of three cases and review of the literature**

**Mariana Patiu<sup>1</sup>, Anca Bacarea<sup>2</sup>, A. Dascalu<sup>1</sup>, Claudia Nicorici<sup>4</sup>, A. Cucuiaru<sup>3</sup>**

*1. "Prof. Dr. I. Chiricuta" Cancer Institute, Laboratory of Hematology; 2. UMF Targu Mures Laboratory of Clinical Biochemistry; 3. UMF "Iuliu Hatieganu" Hematology Department; 4. City Clinical Hospital, Cluj-Napoca*

Myeloid sarcoma (MS) is an extramedullary tumor of immature granulocytic cells that is concomitant with or subsequent to the onset of acute myeloid leukemia. Rarely, MS occurs before the emergence of leukemia.

We report three cases of MS with the involvement of different sites.

Patient C.C., 19, presented with dyspnoea and fever. Physical examination, chest X-ray and ultrasonography revealed pericardial and pleural effusion. Cytological examination showed blastic cellularity, myeloperoxidase (MPO) positive. Immunophenotypic examination showed acute byphenotypical leukemia (CD33+, CD10+).

Patient G.M., 47, observed a left breast lump. The biopsy raised the suspicion of non-Hodgkin's lymphoma, even if immunohistochemistry was not suggestive, (CD45+, CD20-, CD3-, CD30-). The patient developed obstructive jaundice due to a pericholecystic tumor. The histopathological examination showed the same features as the breast lump. Two weeks later the patient developed leucocytosis, with 60% MPO + blasts on the peripheral smear. Immunohistochemistry workup of the breast and pericholecystic tumors revealed positivity for CD33, CD13 and MPO. The same immunophenotypical aspect was observed in the bone marrow biopsy.

Patient P.M., 49, presented lower limb paresthesia, pain and subsequently, paraparesis. The Magnetic Resonance Imaging (MRI) revealed a paravertebral tumor (D8-L2). Surgical biopsy was performed, revealing a uniform, blastic, MPO and CD33 positive, CD20 and CD3 negative proliferation. The patient also had massive left pleural effusion, with a purely blastic, MPO and CD33 positive cellularity.

All cases were misdiagnosed at the beginning.

The initial correct diagnosis of MS and the early start of therapy are very important for the management of these patients.

### **R10. Algoritmul de diagnostic complet al leucemii acute: de la identificarea celulei leucemice la caracterizarea moleculară**

**Andreea Delia Moicean, Daniela Ostroveianu, Adriana Dumitrescu, Veronica Teleanu,  
Daniela Ușurelu**

*Institutul Clinic Fundeni, București*

Leucemii acute (LA) reprezintă un grup de boli clonale ale celulelor stem hematopoietice (CSH) neangajate sau parțial angajate. Diagnosticul complet al LA presupune parcurgerea obligatorie a 4 etape:

Examenul citomorfologic al săngelui periferic și al măduvei osoase este punctul de pornire și absolut indispensabil.

Examenul citochimic.

Examenul imunofenotipic al suspensiei de celule din săngele periferic sau din măduva osoasă hematogenă. Examenul imunohistochimic pe țesut medular recoltat prin biopsie osteomedulară nu înlocuiește examenul imunofenotipic în suspensie, oferind informații incomplete.

Examenul genetic (citogenetic, genetica moleculară și expresia genelor), a cărui importanță este covârșitoare pentru prognostic, urmărirea bolii reziduale și conducederea terapiei cu intenție curativă.

Procedură complexă și laborioasă, examenul imunofenotipic în suspensie celulară a suscitat numeroase dezbatere. Recomandările actuale în contextul consensului european pot fi accesate pe [www.leukemia-net.org](http://www.leukemia-net.org). Pentru examenul imunohistochimic următorul panel de anticorpi este considerat în general adecvat: CD4, MPO, CD68, glycophorin A, factor VIII, CD42, lizozim, TdT, CD3, CD10, CD79A, CD20. Investigația însă nu oferă informații despre subtipurile de LA iar panelul incomplet determină concluzii eronate. Examenul citogenetic la diagnostic permite stratificarea pacienților cu leucemie acută mieloblastică (LAM) în trei grupe: cu prognostic favorabil: t(8;21), inv16, t(16;16), t(15;17); cu prognostic intermediar: cariotip normal sau modificări citogenetice care nu sunt încadrate în grupele de prognostic favorabil sau nefavorabil; și cu prognostic nefavorabil: modificări complexe de cariotip. La pacienții cu prognostic intermediar cu cariotip normal, identificarea unor markeri moleculari (mutațiile genei FLT3 și NPM1) au importanță prognostică semnificativă și implicit importantă în decizia terapeutică. Determinarea leziunilor genetice și epigenetice asociate permit caracterizarea completă a clonei în LAM. În leucemia acută limfoblastică (LAL) examenul citogenetic permite încadrarea în grupe de risc: cu risc standard, cu risc înalt t(4;11) sau cu risc foarte înalt t(9;22). Pentru studiul bolii minime reziduale în LAL la diagnostic se impune identificarea modelului rearanjamentelor regiunilor jonctionale ale genelor Ig sau TCR, considerate "DNA fingerprints" ale clonei leucemice.

Diagnosticul complet al LA implică o atitudine terapeutică adaptată riscului, ceea ce înseamnă reducerea semnificativă a cheltuielilor cu îngrijirile medicale și reducerea costurilor sociale.

### **Complete diagnostic algorithm for acute leukemias: from leukemic cell identification to molecular characterization**

**Andreea Delia Moicean, Daniela Ostroveau, Adriana Dumitrescu, Veronica Teleanu,  
Daniela Ușurelu**

*Fundeni Clinical Institute, Bucuresti*

Acute leukemias (AL) are a heterogenous group of clonal disorders of the hematopoietic progenitor cells that disturb the normal mechanisms of cell growth, proliferation and differentiation.

Complete diagnosis is based on the following investigations:

Morphologic examination of the peripheral blood and bone marrow aspirate is the first and most important examination.

Cytochemistry.

Immunophenotyping of the peripheral blood and/or marrow samples. The immunohistochemistry of the bone marrow is not a substitute for the immunophenotyping and it often offers only incomplete data.

Genetic examination (cytogenetic, molecular genetics), that offers very important tools for

establishing a complete risk profile and further monitoring the minimal residual disease aiming an intent to treat therapy.

Immunophenotyping of blood and marrow has been a mater of debate. The current recommendation of the european council are available on [www.leukemia-net.org](http://www.leukemia-net.org).

Immunohistochemistry requires the following antibody pannel: CD4, MPO, CD68, glycophorin A, factor VIII, CD42, lyzozim, TdT, CD3, CD10, CD79A, CD20. Unfortunately this investigation doesn't offer complet information on the acute leukemia phenotype and can lead to misdiagnosis in case of an incomplete pannel.

Cytogenetic examination at diagnosis stratifies the patients with acute myeloblastic leukemias into three prognostic groups: favourable: t(8;21), inv16, t(16;16), t(15;17); intermediare: normal karyotype or abnormalities that can't be considerd in the favourable or adverse risk groups, and adverse prognostic groups including complex karyotype. For the patients with normal karyotype, molecular markers such as NPM1 or FLT3 are of prognostic value and also guide the therapeutic decisions.

For acute lymphoblastic leukemias, there are also three risk groups based on the karyotype abnormalities, e.g.- standard risk with no adverse factor, high risk - cases with t(4;11) or very high risk t(9;22). For monitoring the minimal residual disease the most sensitive tool is clone specific polymerase chain reaction amplification of immunoglobulin (Ig) and T-cell receptor (TCR) gene rearrangements which are molecular targets that can be identified in more than 90% of ALL patiens when using various primer sets.

Such, a comprehensive characterisation of the risk profile of acute leukemias is a prerequisite for a prognostic driven therapy which means a better management of the financial resources and reducing the social costs.

## C11. Izolarea și caracterizarea celulelor stem umane placentare

**Eva Fischer Fodor<sup>1</sup>, Piroska Virág<sup>1</sup>, Dan Rus Ciuca<sup>2</sup>, Sergiu Susman<sup>3</sup>, Maria Perde Schrepler<sup>1</sup>, Ioana Brie<sup>1</sup>, Corina Tatormir<sup>1</sup>, Gabriela Chereches<sup>1</sup>, Ion Dan Postescu<sup>1</sup>, Olga Soritau<sup>1</sup>**

*1. Institutul Oncologic „Prof. Dr. I. Chiricuță” Cluj-Napoca, România; 2. Spitalul Clinic de Urgență Cluj, România; 3. UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca, România*

**Scop:** Această lucrare abordează o tematică foarte actuală, intens cercetată în încercarea de a găsi cele mai potrivite surse de celule stem cu potențial ridicat de aplicație clinică în terapia celulară.

**Material și metodă:** S-au prelevat de la paciente fragmente de placenta, o sursă importantă care conține un număr mare de celule stem mezenchimale (CSM). Acestea au capacitate proliferativă ridicată, se recoltează și se cultivă relativ ușor, transplantarea lor este lipsită de reacții imunologice de rejet și de riscul apariției unor tumorii.

S-au realizat culturi celulare placentare, precum și coculturi ale acestora cu elemente sanguine separate din sângele periferic. Concentrația citokinelor s-a măsurat cu ajutorul metodei spectrofotometrice, prezența markerilor de suprafață utilizând citometria în flux, iar procesul de apoptoză s-a evaluat prin metoda de colorație cu anexină V/iodură de propidiu.

**Rezultate și discuții:** Imunogenicitatea CSM se evaluatează prin determinarea intensității markerilor implicați în recunoașterea imună: molecule MHC, costimulatori și activatori (CD80, CD86, CD40, CD40L) și FasL. Evaluarea efectelor CSM asupra celulelor imune se face prin studiul influenței

asupra celulelor dendritice diferențiate prin măsurarea concentrației de IL-12 din supernatant și prin evaluarea fosforilării moleculei de semnalizare p38. De asemenea, CSM pot determina un răspuns proliferativ din partea limfocitelor (LT) alogenice, fenomen studiat utilizând markerii CD25 și CD134 și a procentajului de LT apoptotice după stimulare cu și fără CSM. Efectele citotoxice ale NK asupra CSM precum și expresia markerilor de suprafață și producția de citokine au fost evaluați prin expresia lui CD16, a lectinelor de tip CD94 și CD161, precum și a receptorilor inhibitori, detectați cu anticorpii anti-CD158a și anti-CD158b.

Concluzii: Determinarea markerilor de suprafață, a profilului genetic și a posibilității de diferențiere a celulelor provenite din structuri multiple ale placentei deschide perspectiva alegeriei tipului celui mai potrivit tip de celule pentru o anumită situație terapeutică.

### **Human placental stem cells isolation and characterization**

**Eva Fischer Fodor<sup>1</sup>, Piroska Virág<sup>1</sup>, Dan Rus Ciucă<sup>2</sup>, Sergiu Susman<sup>3</sup>, Maria Perde Schrepler<sup>1</sup>, Ioana Brie<sup>1</sup>, Corina Tatomir<sup>1</sup>, Gabriela Chereches<sup>1</sup>, Ion Dan Postescu<sup>1</sup>, Olga Soritau<sup>1</sup>**

*1. „Prof. Dr. I. Chiricuta” Cancer Institute Cluj-Napoca, Romania; 2. Clinical Emergency Hospital Cluj, Romania; 3. „Iuliu Hatieganu” UMF Cluj-Napoca, Romania*

Aims and scope: The present paper approaches a theme with a great interest and intensively studied, with the aim to obtain appropriate stem cell sources with high potential of clinical applicability in the cellular therapy.

Material and methods: Placenta pieces were obtained from patients, an important source which contains high number of mesenchimal stem cells (CSM), which have a high proliferative capacity. Sampling and harvesting of these cells is relatively simple, transplantation lacks the immunological reactions, without the risk of tumor rise.

Placentar cell cultures were initiated, as well as cocultures of these cells with blood cells separated from peripheral blood. The concentration of the cytokines was detected spectrophotometrically, the cellular markers with flow cytometry and apoptosis using annexin V/propidium iodide staining.

Results and discussion: The immunogenicity of CSM was obtained by evaluation of the intensity of the markers implied in immune recognition: MHC molecules, costimulators and activators (CD80, CD86, CD40, CD40L) and FasL. The effect of CSM on immune cells was evaluated by their influence on differentiated dendritic cells measuring IL-12 concentration in supernatant and by evaluation of the phosphorilation of the signaling molecule p-38. CSM can determine proliferation of allogene T lymphocytes (LT), confirmed by higher expression of CD25 and CD134 markers and by the apoptotic LT percentage after stimulation with and without CSM. The cytotoxic effects of NK cells upon CSM and the expression of cellular markers and cytokine production were evaluated by CD16, CD 94 and CD 161 lectins expression. The inhibitory receptors were evaluated by detection with anti-CD158a and anti-CD158b antibodies.

Conclusions: Detection of cellular markers, genetic profiles and differentiation of the cells provided from multiple structures of the placenta opens new perspectives in options for the adequate type of cells for a certain therapeutical request.

## **VIRUSOLOGIE/ VIROLOGY**

### **“Actualități în infectia cu virusul hepatitei C”**

#### **R12. Hepatitis C circulating forms of viral particles associated with lipoproteins**

**Patrice Andre**

*Virology Laboratory of the Hospices Civils de Lyon at the Croix Rousse Hospital, INSERM unit U851 “Immunity, Infection and Vaccination”*

The density of the circulating hepatitis C viral particles (HCV) in the blood of chronically infected patients is very heterogeneous. The very low density of some particles has been attributed to an association of the virus with apolipoprotein B positive and triglyceride rich lipoproteins (TRL) likely resulting in hybrid lipoproteins known as lipo-viro-particles (LVP) containing the viral envelope glycoproteins E1 and E2, capsid and RNA. The specific infectivity of these particles has been shown to be higher than the infectivity of particles of higher density. The nature of the viral association with lipoprotein remains elusive and the role of apolipoproteins in the synthesis and assembly of the viral particles remains unknown. We describe here a model of expression of the HV envelope glycoproteins in several cell lines secreting lipoproteins. Expression of HCV glycoproteins modifies the secretion of apolipoprotein B and the secretion of the envelope glycoproteins was strictly dependent on the synthesis and secretion of apoB. Both apolipoprotein B and HCV envelope glycoproteins secreted by all cell lines but one were born on the same low density particles. Interestingly one cell line secreted apolipoprotein B and the envelope glycoproteins on separate particles suggesting that this cell line is deficient for correct assembly of lipoprotein. These data indicate that HCV envelope glycoproteins use apoB synthesis and lipoprotein assembly process to be secreted and that this pathway is independent of the capsid formation. In conclusion a model of LVP assembly and structure is proposed.

#### **R13. Markers for steatosis and fibrosis in hepatitis C virus infection**

**Manuela G. Neuman**

*In Vitro Drug Safety and Biotechnology, Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, University of Toronto, Toronto, Ontario, Canada*

Hepatitis C virus (HCV) is quietly colonizing the humans. For those infected, the immediate effects are mild and attract little attention. The evidence of infection is obtained only later, either in the form of virus-specific immunity or liver disease. About 20% of infected individuals clear the virus. For the rest of the individuals, now numbering~170 million persons worldwide the infection and its accompanying immune reactions persist for decades and can lead to cirrhosis, liver cancer or liver failure.

There is no vaccine for HCV, but for those on the chase, it helps to know what factors distinguish a successful immune response to the virus and a successful response to therapy. One such factor is a forceful cytotoxic T cell responses, the regulation of a type of immune cell called a natural killer (NK) cell that may also influence the fate of HCV infection. NK cells are the lymphocytes that secrete cytokines and kill infected cells at early stages of a primary viral infection.

On entering infected tissue, NK cells are activated by antigen-presenting cells called dendritic cells through surface receptors that sense microbial products or cellular stress. In contrast, in healthy tissue the activation pathways are kept in check by signals coming from inhibitory receptors. This variability of the reactions and the functional interactions of cytokines and chemokines synthesized and secreted by these cells give considerable potential as biomarkers of disease progression to hepatitis C viral infection as well as diagnosing the complication of the disease liver steatosis and fibrogenesis.

#### **R14. The prognostic value of FibroTest for the diagnosis of fibrosis in chronic hepatitis : preliminary study**

**Anca Cristea<sup>1</sup>, Rodica Rahaian<sup>2</sup>, Doina Crisan<sup>1</sup>, Georgiana Nagy<sup>1</sup>, A.P. Mircea<sup>1</sup>**

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

**Background:** FibroTest is one of the noninvasive blood test that combines the quantitative results of serum biochemical markers ( $\alpha$ -2MG, ApoAI, haptoglobin,  $\gamma$ GT, total bilirubin and ALAT) with some clinical and imagistic data, to result a measure of fibrosis and necroinflammatory activity in the liver. The test provide a numerical quantitative estimate of liver fibrosis ranging from 0,00 to 1,00, corresponding to METAVIR score system F0 to F4.

**Material and Methods:** 64 patients with chronic hepatitis C and B virus were investigated with FibroTest and also with liver biopsy.  $\alpha$ -2MG, ApoAI and haptoglobin were measured with Dade Behring Nephelometer, GGT, total bilirubin and ASAT with standard methods and hepatic fibrosis by METAVIR system. The FibroTest algoritm may classify patients into minimal fibrosis (FT 0,0-0,31), moderate fibrosis (FT 0,31-0,58) and severe fibrosis (FT 0,58 – 1,00).

**Results:** 22 (34,4%) of the 64 patients had FibroTest score >0,6 that means a significant fibrosis, 26 (40,6 %) had middle fibrosis with the score 0,3-0,6 and 16 (25 %) had a score <0,3, unlikely to have fibrosis. Compared with METASCORE which revealed 32 (50%) F3-F4 score, 21 (32,8%) F2 and 11 (17,2%) with F0/F1 score, FibroTest is much in accordance with clinical course of disease.

**Conclusions:** FibroTest is a better prediction than biopsy for HCV complication and support the clinical utility of serum markers in detecting fibrosis and it should be a promising tool to assess antifibrotic therapy.

#### **R15. Aportul investigațiilor imunologice în stabilirea diagnosticului de hepatită virală tip C**

**Georgiana Sireteanu<sup>1</sup>, Sorina Cone<sup>1</sup>, F. Petrescu<sup>2</sup>, F. Răcănel<sup>1</sup>, Mădălina Stănculescu<sup>1</sup>, O. Zlatian<sup>3</sup>, Lucica Roșu<sup>3</sup>, Andrea Ilie<sup>1</sup>**

*1. Spitalul Clinic de Urgență Craiova, Laborator de analize medicale; 2. Spitalul Clinic de Urgență Craiova, secția Medicină Internă; 3. UMF Craiova, Disciplina de Microbiologie*

**Introducere:** Datorită evoluției către hepatită cronică sau ciroză hepatică, infecția cu VHC reprezintă o importantă problemă de sănătate publică.

**Material și metodă:** A fost realizat un studiu retrospectiv în perioada 1.07.2006-31.12.2007, pe 162 pacienți internați în secția de Medicină Internă din cadrul Spitalului Clinic Județean de Urgență Craiova cu diagnosticul de hepatită cronică și ciroză hepatică. Etiologia infecțioasă virală tip C a fost

confirmată prin evidențierea anticorpilor specifici anti-VHC prin metode ELISA, generația a doua. Concomitent s-a investigat funcția hepatică.

Rezultatele obținute au fost coroborate cu vârsta, sexul, mediul de proveniență al pacienților și stadiul evolutiv al bolii și manifestările clinice induse prin agresiunea virală hepatică în asociere cu manifestările extrahepatice. Morbiditatea prin infecție virală hepatică tip C a fost de 50,32 % din bolnavii investigați, cu o incidență crescută la femei (78,2%), la pacienți proveniți din mediul urban (67,95%), la persoane cu vârstă cuprinsă între 51 – 60 ani (34,62%, dintre care 85,19% femei) și 41-50 ani (24,36%, dintre care 84,22% femei). S-a constatat o alterare a funcției hepatice (trombocitopenie, creșterea aminotransferzelor serice, creșterea nivelului bilirubinei conjugate serice, a fosfatazei alcaline, prezența crioglobulinemiei). Manifestările extrahepatice asociate infecției cu VHC au fost: vasculita sistemică, diabet zaharat tip II, artrite, HTA, colecistită, insuficiență renală cronică. De menționat prezența hepatitei cronice tip C (71,05%), a cirozei hepatice tip C (25%), a hepatitei cronice B și C (3,95%) și a cirozei hepatice tip B și C (1,32%).

**Concluzii:** Investigațiile imunologice permit susținerea diagnosticului clinic și orientarea spre terapia antivirală asociată cu cea imunomodulatoare.

## Contribution of immunological investigations in diagnosing type C viral hepatitis

**Georgiana Sirețeanu<sup>1</sup>, Sorina Cone<sup>1</sup>, F. Petrescu<sup>2</sup>, F. Răcănel<sup>1</sup>, Mădălină Stănculescu<sup>1</sup>, O. Zlatian<sup>3</sup>, Lucica Roșu<sup>3</sup>, Andrea Ilie<sup>1</sup>**

*1. Clinical Emergency Hospital of Craiova, Medical analysis laboratory; 2. Clinical Emergency Hospital of Craiova, Department of Internal Medicine; 3. UMF Craiova, Department of Microbiology*

**Introduction:** Due to evolution towards chronic hepatitis or hepatic cirrhosis, HCV infection is an important public health issue.

**Material and method:** We performed a retrospective study in the period 1.07.2006-31.12.2007, on 162 patients hospitalized in the Internal Medicine department of Clinical Emergency Hospital from Craiova, Romania, diagnosed with chronic hepatitis and hepatic cirrhosis. The type C viral etiology was confirmed by depicting the specific anti-HCV antibodies by second generation ELISA methods. In the same time was assessed the function of the liver.

Results were associated with age, sex, geographic area and evolution stage of the disease and clinical manifestations induced by viral aggression on the liver associated with extra-hepatic manifestations. The morbidity by type C viral hepatitis infection was 50,32% from patients investigated, with an increased incidence in women (78,2%), in patients from urban areas (67,95%), in persons with age between 51-60 years (34,62%, from which 85,19% women) and 41-50 years (24,36% from which 84,22% women). We demonstrated an alteration of liver function (trombocitopenies, increasing of seric aminotransferases, increasing of seric conjugated bilirubin, of alcalin phosphatase and the presence of crioglobulinem). The extrahepatic manifestations associated with HCV infection were: systemic vasculitis, diabetes type II, arthritis, arterial hypertension, colecistitis, chronic renal insufficiency. We mention the presence of type C chronic hepatitis (71,05%), of hepatic cirrhosis (25%), of B and C chronic hepatitis (3,95%) and B and C hepatic cirrhosis (1,32%).

**Conclusions:** The immunological investigations can sustain the clinical diagnosis and can guide the therapy towards antiviral and immunomodulation.

## **C16. Prevalența infecției cu citomegalovirus la copii cu hepatită cronică B**

**G. Samașca<sup>1</sup>, Lucia Burac<sup>2</sup>, N. Miu<sup>2</sup>**

*1. Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii Cluj-Napoca, România, 2. UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca, România*

**Scop:** Scopul lucrării a fost de a analiza prevalența infecției cu CMV la copiii cu hepatită cronică B, pentru a vedea dacă CMV reprezintă un factor semnificativ de care trebuie ținut cont în evaluarea prognosticului acestor pacienți.

**Material și metodă:** S-a efectuat un studiu pe un număr de 311 de copii, decelați în perioada 1991 – 2007 cu Ag HBs pozitiv mai mult de 6 luni. Aceștia au fost împărțiți în două loturi: lotul I - 201 pacienți care prezintau Ag HBe pozitiv și Ac HBe negativi și lotul II – 110 pacienți care prezintau Ag HBe negativ și Ac HBe pozitivi. Determinarea markerilor virali pentru infecția cu HBV și a titrului anticorpilor tip Ig M și Ig G pentru infectia cu CMV s-a făcut prin tehnici ELISA.

**Rezultate:** Din totalul de 311 pacienți, 98 de pacienți (31,51%) au fost identificați cu Ac CMV - Ig G pozitivi astfel: lotul I – 31 cazuri (15,42%), lotul II – 67 de cazuri (60,90%); la 10 cazuri s-a constatat, într-o anumită etapă a evoluției și apariția Ac CMV-Ig M. Urmărire în dinamică a titrului Ac CMV-Ig G a relevat menținerea la valori apropiate ale titrului, la 58,16% din pacienți, scăderea titrului la 33,67% și creșterea la 8,16% din pacienții decelați cu infecție cu CMV.

**Concluzii:** asocierea infecției cu CMV la pacienții cu hepatită cronică B este într-un procent semnificativ (31,51%), iar reactivarea ei, apariția Ac CMV-Ig M sau creșterea titrului Ac CMV-Ig G este într-un procent de 18,36%, astfel încât căutarea CMV la toți pacienții cu hepatită cronică B ar trebui efectuată de rutină, având în vedere posibilitățile de evoluție.

## **Prevalence of cytomegalovirus infection in children with chronic hepatitis B**

**Gabriel Samașca<sup>1</sup>, Lucia Burac<sup>2</sup>, Nicolae Miu<sup>2</sup>**

*1. Clinical Children Emergency Hospital Cluj-Napoca, Romania*

*2. “Iuliu Hatieganu” UMF Cluj-Napoca, Romania*

**Aims:** Intention of this study was to analyze prevalence of CMV infection at children with chronic hepatitis B, to see if CMV represents an important factor in prognostics.

**Material and methods:** We performed a retrospective study in the period 1991-2007 on 311 children with positive HBsAg more than 6 month. These were distributed in two groups: group I - 201 patients with positive HBeAg and negative HBeAb and group II – 110 patients with negative HBeAg and positive HBeAb. Determination of viral markers have been performed by ELISA technique. For the same patients we analyzed IgM and IgG CMV antibody levels (ELISA).

**Results:** 31,51% of patients had positive IgG CMV Ab: group I – 15,42%, group II – 60,90% and 10 patients had IgM CMV Ab, who appears in evolutions of HBV infection. Following dynamic titer of IgG CMV Ab we concluded: constant values at 58,16% patients, decreasing values at 33,67% patients and increasing values at 8,16% patients with CMV infection.

**Conclusions:** association of CMV infection in patients with chronic hepatitis B has been found in an important percent (31,51%) and reactivation of the disease (reappearance of IgM CMV Ab or high value of IgG CMV Ab) in 18,36%, so investigation for CMV coinfection in patients with chronic hepatitis B should be a routine test.

## **C17. Detectia și genotiparea ADN-HPV în celule cervicale recoltate în mediu lichid**

**Florentina Ivan, Cristina Mambet**

*Laborator Synevo, București*

Introducere: Infecția persistentă cu un genotip oncogen de papiloma virus uman (HPV) este asociată cu un risc crescut de leziuni intraepiteliale scuamoase de grad înalt sau cancer de col uterin.

Scopul: Studiul prevalenței genotipurilor cu risc înalt la pacientele testate.

Material si metodă: S-a studiat un lot de 376 de paciente care s-au prezentat pentru testarea ADN-HPV la laboratoarele Synevo in perioada: 01.10.2007 – 15.02.2008, fiind folosite probe de celule cervicale recoltate în cabinete de ginecologie cu ajutorul periuței cervicale CervexBrush care au fost resuspendate în mediu lichid (PreservCyt). S-a utilizat o reacție de polimerizare în lanț urmată de genotiparea ADN-HPV cu ajutorul unor sonde specifice dispuse linear în stripuri. După obținerea rezultatelor a fost studiată prevalența genotipurilor cu risc înalt, iar la 160 dintre paciente s-a efectuat o corelație cu examenul citologic Papanicolau.

Rezultate: 165 paciente (43,8%) au prezentat un rezultat nedetectabil pentru cele 37 tipuri anogenitale de ADN-HPV testate. La 131 paciente (34,8%) au fost detectate unul sau mai multe genotipuri cu risc înalt, cel mai frecvent fiind tipul 16 (27,4%), urmat de tipul 31 (19,8%), 45 (13,7%) si 18 (9,2%). Un procent de 9% din pacientele la care s-a identificat un genotip oncogen a prezentat la examenul citologic leziuni scuamoase intraepiteliale de grad înalt (inclusiv 3 cazuri de cancer cervical) care au fost confirmate ulterior prin colposcopie si biopsie.

Concluzii: Testarea ADN-HPV combinată cu examenul citologic reprezintă un mijloc eficient de depistare precoce a displaziilor uterine.

## **HPV-DNA detection and genotyping in cervical cells collected in liquid medium**

**Florentina Ivan, Cristina Mambet**

*Laborator Synevo, Bucharest*

Introduction: Persistent infection with an oncogenic type of Human Papilloma Virus (HPV) is associated with an increased risk of high-grade squamous intraepithelial lesions or cervical cancer.

Purpose: To study the prevalence of high-risk types in tested patients

Material and method: The study included 376 patients who were referred to Synevo laboratories for HPV-DNA testing between 01.10.2007 and 15.02.2008 using samples of cervical cells collected on cervical brush CervexBrush in gynecology units and introduced in liquid medium (PresevCyt). We performed the method of Polimerase Chain Reaction followed by HPV-DNA genotyping by means of specific probes bound on strips. After the results were obtained we study the prevalence of high-risk genotypes and in 160 patients we performed a correlation with cytological examinations (Pap smears).

Results: In 165 patients (43,8%) HPV-DNA (for 37 anogenital types tested) was not detected. In 131 patients (34,8%) there were detected one or more high-risk genotypes, the most frequently identified being type 16 (27,4%), followed by type 31 (19,8%), 45 (13,7%) and 18 (9,2%). 9% of patients that were tested positive for an oncogenic type presented high-grade squamous intraepithelial lesions (including also 3 cases of cervical cancer) at cytology that were confirmed in a next step by

colposcopy and biopsy.

Conclusions: DNA-HPV test combined with Pap smear is an efficient tool for early detection of cervical dysplasias.

## **IMUNOLOGIE/ IMMUNOLOGY**

### **R18. Laboratory strategy in detection of systemic lupus erythematosus**

**Anca Cristea<sup>1</sup>, Liliana Bene<sup>2</sup>**

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

Systemic lupus erythematosus (SLE) is an autoimmune disease of partially understood etiology but with a very complex pathophysiology which includes production of numerous types of autoantibodies, deposition of immune complexes in tissue, activation of the complement and autoreactive T and B lymphocytes. The diagnosis of SLE depends first upon recognition of specific clinical signs and symptoms which very often are overlooked or missed because each individual displays a particular set of markers. The identification of the antinuclear antibodies by laboratory represents an additional, but a very important tool for SLE diagnosis. ANA are found in nearly all SLE patients, but there are numerous autoantibodies that may target antigens present in cytoplasma as well as antigen associated with phospholipids, cell of the endothelium, blood and nervous system, in a small number of patients. The evidence of these antibodies, and the deposition of immune complexes in the kidney by performing a renal biopsy, investigation of the complement system, correlate with disease activity, allowing the physician to decide an effective treatment.

### **C19. Sindromul de activare macrofagică secundar la adult**

**Ariela Olteanu<sup>1</sup>, Alina Cătană<sup>2</sup>, Romeo Mihailă<sup>3</sup>, Ioan Zaharie<sup>4</sup>, Marius Oprea<sup>1</sup>**

*1. Spitalul Clinic Județean de Urgență Sibiu, Laborator Clinic; 2. Spitalul Clinic Județean de Urgență Sibiu, Clinica Medicală II; 3. Universitatea „Lucian Blaga”, Facultatea de Medicină, Clinica Medicală II; 4. Spitalul Clinic Județean de Urgență Sibiu, Anatomie Patologică*

Introducere: Sindromul de activare macrofagică (SAM) sau sindromul hemofagocitic (HS), este o entitate clinico-biologică rezultată în urma activării nespecifice a sistemului monocito-macrofagic, caracterizat prin infiltrarea tisulară cu macrofage activate și secreție necontrolată de citokine.

Au fost descrise două forme: SAM primar sau limfohistiocitoza familială hemofagocitică și SAM secundar unui proces infecțios, malign sau autoimun.

Este o entitate rară, cu prognostic nefavorabil și mortalitate crescută.

Metodă: Prezentăm cazul unui pacient în vîrstă de 82 ani, internat în secția de Boli Infectioase, pentru: febră persistentă >7 zile, manifestări respiratorii (tuse productivă, dispnee), icter, hepatosplenomegalie, bicitopenie severă (leucopenie, trombocitopenie), citoliză, colestază, toate în progresie accentuată pe parcursul internării.

Examenul citologic al măduvei osoase a evidențiat hiperplazia seriei monocito-macrofagice cu

frecvente fenomene de hemofagocitoză (fagocitoză de hematii, eritroblaști, leucocite, trombocite). S-a stabilit diagnosticul de sindrom de activare macrofagică secundar unui proces infecțios pe baza criteriilor clinice, biologice și histologice. Evoluția a fost nefavorabilă, spre exitus.

Concluzii: Acest caz prezintă interes pentru sublinirea rolului major pe care îl are laboratorul în stabilirea cât mai rapidă a diagnosticului. Avizarea specialistului morfolog cu privire la existența acestui sindrom poate constitui cheia diagnosticului.

### **Secondary macrophage activation syndrome in adults**

**Ariela Olteanu<sup>1</sup>, Alina Cătană<sup>2</sup>, Romeo Mihăilă<sup>3</sup>, Ioan Zaharie<sup>4</sup>, Marius Oprea<sup>1</sup>**

*1. County Clinical Emergency Hospital Sibiu, Clinical Laboratory; 2. County Clinical Emergency Hospital Sibiu, Medical Clinic II; 3. „Lucian Blaga” Univ., Faculty of Medicine, Medical Clinic II; 4. County Clinical Emergency Hospital Sibiu, Morphopathology Department*

Introduction: Macrophage activation syndrome (MAS) or hemophagocytic syndrome (HS) is an uncommon clinicopathological entity characterized by systemic proliferation of benign monocyte-macrophage cells with increased macrophagic activity and an uncontrolled secretion of cytokines.

Two forms have been described: familial hemophagocytic lymphohistiocytosis (primary HS) and a reactive, secondary HS related to infections, malignant or immunodeficiency diseases.

It is a rare entity with a poor prognostic and high rate of mortality.

Method: We report the case of a 82 year-old patient who was admitted in hospital for: persistent fever over 10 days, respiratory symptoms (dyspnoea, productive cough), jaundice, hepatosplenomegaly, deep bacytopenia (leucopenia, thrombocytopenia), elevated serum transaminases activity and cholestasis, with severe evolution.

Bone marrow evaluation revealed a monocytic-macrophagic cells hyperplasia with active hemophagocytosis.

The diagnosis was secondary macrophage activation syndrome associated with infection and is based on clinical, biological and histological criterias. His condition worsened and he died.

Conclusions: This case is interesting in remarking the major role of laboratory in the early diagnosis assessment. Being aware about this syndrome may be the key of diagnosis.

### **C20. Efecte citoprotectoare și radioprotectoare in vitro ale unui concentrat proteic din zer**

**Corina Tatomir<sup>1</sup>, I.D.Postescu<sup>1</sup>, Virag Piroska<sup>1</sup>, T.Dicu<sup>2</sup>, Eva Fischer-Fodor<sup>1</sup>, Ioana Brie<sup>1</sup>, Maria Perde-Schrepler<sup>1</sup>, Gabriela Chereches<sup>1</sup>**

*1. Institutul Oncologic “Prof. Dr. I.Chiricuță”, Cluj-Napoca; 2. Universitatea “Babeș-Bolyai”, Facultatea de Știință a Mediului, Cluj-Napoca*

Concentratul proteic din zer (CPZ) este un preparat obținut din lapte cu un conținut îmbogățit în cisteină obținut din lapte prin precipitarea proteinelor.

Scop: punerea în evidență a efectelor citoprotectoare al CPZ în tratamente asociate cu doxorubicină (Dox) și a efectelor radioprotectoare pe limfocite separate din sânge periferic.

Materiale și metode: S-au utilizat două linii celulare: fibroblaști de plămân uman (Hfl-1) și

celule de carcinom ovarian (Mls). Viabilitatea celulară s-a evaluat prin testul MTT, la 3 intervale de expunere, 24, 48 și 72 de ore. Efectul radioprotector al CPZ s-a studiat prin testul cometei.

**Rezultate:** Pe gama de concentrații (180 mg-9 µg cisteină/ml), CPZ nu produce toxicitate la nici una din liniile celulare, mai mult, pentru celulele normale se constată o stimulare a creșterii celulare atât la 24 cât și la 48 de ore la concentrații ridicate de cisteină (180-9 mg/ml). În asociere cu Dox, CPZ exercită un efect chemoprotector dependent de doză pe celulele normale. În cazul iradierii limfocitelor (2 Gy), nivelul mai scăzut al leziunilor cât și stimularea reparării la 2 ore, efecte proporționale cu doza de CPZ, atestă efectul radioprotector al preparatului.

**Concluzii:** Concentratul proteic din zer (CPZ), practic lipsit de toxicitate, a demonstrat un efect citoprotector în tratamentul asociat cu doxorubicină și oferă radioprotecție la iradierea limfocitelor, în relație doză-efect.

### **In vitro cytoprotective and radioprotective effects of whey protein isolate**

**Corina Tatomir<sup>1</sup>, I.D.Postescu<sup>1</sup>, Virag Piroska<sup>1</sup>, T.Dicu<sup>2</sup>, Eva Fischer-Fodor<sup>1</sup>, Ioana Brie<sup>1</sup>, Maria Perde-Schrepler<sup>1</sup>, Gabriela Chereches<sup>1</sup>**

*1. Oncological Institute "Prof. Dr. I. Chiricuta", Cluj-Napoca; 2. „Babes-Bolyai” University, Faculty of Environment Science, Cluj-Napoca*

The Whey Protein Isolate (WPI) is a cysteine enriched product obtained from milk following casein precipitation.

**Aim:** to evidence in vitro cytoprotective effects of WPI in associated treatments with doxorubicin (Dox) and the radioprotective effects on irradiated human lymphocytes .

**Materials and methods:** cellular lines used were, human liver fibroblasts (Hfl-1) and ovarian carcinoma (Mls). Cellular viability was measured by MTT test ( Mosmann) at 24, 48 and 72 hours. The WPI radioprotective effect was estimated by comet assay.

**Results:** Within the concentrations range (180 mg-9 µg cysteine/ml) WPI had no toxicity on both cell lines, moreover at high contents of cysteine (180-9 mg cysteine/ml), both at 24 and 48 hours a stimulation of growth was found. In associated treatments with Dox, WPI produced a dose dependent chemoprotective effect in Hfl-1 cells. When irradiated (2Gy) lymphocytes displayed a decreased level of DNA breaks as well as stimulated reparation at 2 hours both effects in relationship with WPI concentration, thus assessing the radioprotective effect of the product.

**Conclusions:** Whey Protein Isolate, a practically nontoxic product demonstrated a cytoprotective effect in associated treatments with Dox and radioprotective properties for irradiated human lymphocytes, both effects in a manner related to dose.

### **C21. Diagnosticul citologic în afecțiunile bronho-pulmonare**

**Ariadna Rădulescu**

*Institutul Clinic Fundeni, București*

Examenul citologic reprezintă o etapă importantă în stabilirea diagnosticului la bolnavii care sunt suspecți de neoplazie sau prezintă modificări radiologice.

Produsele biologice care se recoltează pentru a fi analizate sunt: sputa, aspiratul bronșic, lavajul bronșic, raclatul (broșajul) sau punctia bioptică. În aceste produse biologice sunt antrenate atât elemente celulare proprii organelor cât și alte elemente celulare. Aparatul respirator este tapetăt de o

mucoasă a cărei aspect histologic variază de la un segment la altul și care se modifică în funcție de condițiile patologice, ceea ce determină o mare varietate de celule epiteliale la care se adaugă macrofage și histiocite, precum și elemente sanguine ca: hematii, leucocite, limfocite, plasmocite, eozinofile.

Exfolierea celulelor epiteliale cu mobilizare leucocitară și histiocitară se produce în procesele catarale acute sau cronice, în bronho-pneumopatii cronice, scleroză pulmonară, silicoză, etc., adesea aceste afecțiuni pot însobi cancerul bronho-pulmonar. Procesele inflamatorii cronice sau sclerozele deseori sunt însobi de hiperplazii și metaplazii.

Leziunile mucoasei arborelui bronșic: hiperplazia celulelor bazale, metaplasia, displazia și neoplazia.

Tumorile maligne ale aparatului bronho-pulmonar sunt tumorii primitive (carcinomul epidermoid, nediferențiat, cilindro-cubic, adenocarcinomul bronhiolo-alveolar, sarcomul) și tumorii maligne secundare (metastaze carcinomatoase și sarcomatoase).

În elaborarea citodiagnosticului de malignitate se ține cont de structura celulară și de relația intercelulară, utilizând criterii directe cum ar fi: prezența celulelor atipice, a placardelor sau grupurilor de celule atipice, a celulelor "îmbrățișate", polimorfismul celular, atipiile structurale, și criterii indirecte: prezența hematilor, ciliocitoftoria etc.

Metoda citologică de investigare are și limite, care nu trebuie ignorate.

Citodiagnosticul este o metodă valoroasă atât în diagnosticarea tumorilor maligne cât și a celor benigne, care ridică de multe ori probleme.

## The cytological diagnosis in broncho-pulmonary diseases

Ariadna Rădulescu

*Clinical Institute Fundeni, Bucuresti*

The cytological examination represents an important step in establishing a diagnosis in the case of those who are thought to have neoplasia or show radiological changes.

The samples that are taken from the patients for investigation are: sputum, bronchial suction, bronchial irrigation, wedge biopsy or fine needle biopsy. In these biological samples are usually drawn in, both elements characteristic to the organs as well as other cellular particles. The respiratory system is cushioned by a mucous membrane whose histological aspect varies from one segment to the other and modifies according to the pathological conditions which determines a great variety of epithelial cells plus macrophages and histiocytes, as well as blood elements like: erythrocytes, leucocytes, lymphocytes, plasmocytes, eosinophiles.

The exfoliation of the epithelial cells with leucocytic and histiocytic mobilization is produced in the acute or chronic catarrhal processes, chronic obstructive pulmonary diseases, pulmonary sclerosis, silicosis, etc.; often, these affections may accompany bronchopulmonary cancer. Chronic inflammatory processes or scleroses are often accompanied by hyperplasia and metaplasia.

The lesions of the bronchial tree are: basal cell hyperplasia, metaplasia, dysplasia and neoplasia.

The malignant tumors of the bronchopulmonary system are primitive tumors (epidermoid carcinoma; undifferentiated, cylindrical-cubical, bronchoalveolar adenocarcinoma, sarcoma) and secondary malignant tumors (carcinomatous and sarcomatous metastases).

In the process of diagnosing malignity one must take into account the cellular structure and the intercellular relation by using direct criteria like: the presence of atypical cells, placard or atypical cell groups, "back to back" cells, cellular polymorphism, structural abnormalities, and indirect criteria: the

presence of erythrocytes.

The cytological method of investigation has its limits that must not be ignored.

The cytodiagnosis is a valuable method in the diagnosis of both malignant and benign tumors, that raises a lot of issues.

## C22. Elemente de sediment – markeri ai inflamației tractului urinar

**S.Gîju<sup>1</sup>, Corina Flangea<sup>4</sup>, Ligia Petrica<sup>2</sup>, V. Dumitrașcu<sup>3</sup>, Daliborca Vlad<sup>1</sup>, A. Chiriac<sup>5</sup>**

*1. Laboratorul Central de Analize al Spitalului Clinic Județean Nr.1 Timișoara; 2. Disciplina de Nefrologie, UMF "Victor Babeș" Timișoara; 3. Disciplina de Farmacologie, UMF "Victor Babeș" Timișoara; 4. Disciplina de Biochimie, UMF "Victor Babeș" Timișoara; 5. Universitatea de Vest, Facultatea de Chimie-Biologie, Timișoara*

**Introducere:** Scopul acestui studiu este de a evidenția aspecte ale sedimentului în diferitele tipuri de inflamații ale tractului urinar. Acest studiu scoate în evidență avantajele utilizării tehnicielor microscopice paralele în observarea elementelor de sediment pe preparate native și pe preparate colorate.

**Material și metodă:** Sedimentul urinar a fost mai întâi observat cu un obiectiv de putere redusă iar apoi cele care au trezit suspiciuni au fost examinate cu un obiectiv de putere mare. Inițial am lucrat cu un microscop cu lumină obișnuită dar cu reducerea luminozității prin plasarea condensorului într-o poziție joasă pentru a crește contrastul. Examinarea ulterioară s-a făcut utilizând diferite tehnici microscopice.

**Rezultate și discuții:** Examinarea sedimentului urinar este o metodă foarte utilă în diagnosticul diferitelor tipuri de inflamații ale tractului urinar. Examinarea microscopică a relevat prezența leucocitelor polimorfonucleare, monocitelor, macrofagelor, corpilor grăsoși ovali, celulelor scuamoase, celulelor tranziționale, celulelor tubulare renale, cilindrilor leucocitari și a cilindrilor cu macrofage. Pentru microscopia cu imunofluorescență s-au utilizat anticorpi anti-Tamm-Horsfall, anti-IgG, anti-CD3, anti-CD19 și anti-CD5.

Materialul fotografic l-am selectat în aşa fel încât să punem în evidență cele mai interesante cazuri. Aceste cazuri au fost diagnosticate cu diferite tipuri de inflamații ale tractului urinar și tratate în Clinica de Nefrologie și Departamentul de Dializă al spitalului.

**Concluzii:** Un număr mare de leucocite polimorfonucleare este asociat cu un proces inflamator. Dacă celulele Sternheimer-Malbin reprezintă peste 10% din totalul leucocitelor, putem suspecta o pielonefrită. Macrofagele sunt frecvente în inflamațiile acute. Macrofagele încărcate cu picături lipidice sunt frecvent asociate cu un proces inflamator cronic.

## **The formed elements of the urinary sediment - markers of the urinary tract inflammation**

**S.Gîju<sup>1</sup>, Corina Flangea<sup>4</sup>, Ligia Petrica<sup>2</sup>, V.Dumitrașcu<sup>3</sup>, Daliborca Vlad<sup>1</sup>, A.Chiriac<sup>5</sup>**

*1. County Emergency Hospital Timișoara, Central Laboratory; 2. „Victor Babeș” UMF Timișoara, Department of Nephrology; 3. „Victor Babeș” UMF Timișoara, Department of Pharmacology; 4. „Victor Babeș” UMF Timișoara, Department of Biochemistry; 5. West University of Timișoara, Faculty of Chemistry–Biology*

**Introduction:** The purpose of this work is to describe urinary sediment findings in different types of inflammation of the urinary tract. The agreement with regard to differences in microscopic techniques in the observation of the sediment elements in both unstained and stained samples is described.

**Material and method:** The urinary sediment was first screened at a low power and thereafter modified structures were examined at a higher power. Initially, we worked on a normal microscope but with reduced light with the condenser placed at a lower position to increase the contrast. The investigation was performed by using different microscopic techniques.

**Results and discussions:** The examination of the urinary sediment is a useful method in the diagnosis of different types of urinary tract inflammation. The microscopic examination revealed the presence of white blood cells, monocytes, macrophages, eosinophiles, oval fat bodies, squamous cells, transitional cells, renal tubular cells, white blood cells casts and macrophage casts.

Immunofluorescence microscopy was performed with anti-Tamm-Horsfall, anti-human globulin IgG, anti-CD3, anti-CD19 and anti-CD5 antibodies.

We selected the photos, representing the most interesting cases. The patients were diagnosed with various types of urinary tract inflammations and were hospitalized in either the Nephrology or Dialysis Departments.

**Conclusions:** A large number of polymorphonuclear leukocytes are associated with an inflammatory process. If the Sternheimer-Malbin cells represent over 10% from white blood cells population, then we can suspect pyelonephritis. Macrophages are frequent in acute inflammation. The macrophage that is loaded with fat droplets is frequently connected to a chronic inflammatory process.

## **MICROBIOLOGIE/ MICROBIOLOGY**

### **R23. Investigația microbiologică a infecțiilor tractului urinar**

**Gabriel Ionescu, Codruța Romanița Usein**

*INCDMI “Cantacuzino”*

Rezumatul nu este disponibil.

Abstract not submitted.

## **R24. Investigația microbiologică a infecțiilor cu transmitere sexuală**

**Dan Ionescu**

*Laborator Infecții cu transmitere sexuală, INCMDI "Cantacuzino"*

Rezumatul nu este disponibil.  
Abstract not submitted.

## **R25. Identificarea și testarea rezistenței la substanțele antimicrobiene a tulpinilor izolate din infecții urinare**

**Țenea Cristina, Dorobăț Olga Mihaela**

*Institutul Național de Boli Infectioase "Prof. Dr. Matei Balș"*

Obiective: Studiul incidenței și a rezistenței la antibiotice a tulpinilor izolate din infecții urinare

Metode: Au fost luate în considerare uroculturile efectuate între 1.01 – 12.03.2008. Identificarea și determinarea rezistenței la antibiotice s-a făcut în sistemul automat MicroScan. Un număr de 80 probe au fost testate în paralel în sistemul Vitek2.

Rezultate: Din totalul de 3847 uroculturi, 329 au fost pozitive. Dintre acestea la 60,4% (199) s-a evidențiat *E. coli* din care 6% (12 tulpini) ESBL pozitive și 94% (187 tulpini) ESBL negative, 8,4% (26) *Klebsiella pneumoniae*, 12,3% (38) *Enterococcus faecalis* și 4,5% (14) *Enterococcus faecium*. La restul de uroculturi pozitive s-au izolat alte specii microbiene, inclusiv levuri. Pentru *E. coli* ESBL pozitiv rezistența la chinolone și aminoglicozide a fost 80%-91% și 66% la trimethoprim/sulfamethoxazol. La *E. coli* ESBL negativ rezistența la ampicilină a fost de 52,4% și 44,9% la tetraciclină, pentru restul antibioticelor rezistența s-a situat între 10 și 30,5% cu excepția carbapenemelor (rezistență 0%). *E. faecium* este 100% rezistent la betalactamine, între 78,6-92,9% la chinolone, gentamicină, rifampicină și 57% la tetraciclină comparativ cu *E. faecalis* care prezintă rezistență crescută doar la tetraciclină (78,9%). Testările efectuate în sistemul Vitek2 și în sistemul MicroScan au dat rezultate identice cu deosebirea că a fost obținut mult mai repede rezultatul pentru Vitek2 cu 84,6% identificări în 5 ore și 66,2% antibiograme în 7 ore.

Concluzii: Mai mult de 60% din infecțiile urinare sunt produse de *E. coli*. Tulpinile ESBL pozitive sunt mai rezistente la majoritatea antibioticelor comparativ cu tulpinile ESBL negative. Prin folosirea sistemului Vitek2 se poate obține un rezultat mai rapid.

## **Identification and antimicrobial resistance of the strains isolated from urinary tract infections**

**Țenea Cristina, Dorobăț Olga Mihaela**

*National Institute of Infectious Diseases "Prof. Dr. Matei Balș"*

Objectives: To evaluate the incidence and resistance of the bacterial strains from urinary tract infections.

Methods: The strains isolated from urine between 1.01- 12.03.2008 were identified and tested for resistance to antimicrobial agents with automated system MicroScan. For 80 strains system Vitek2 was also utilized.

**Results:** From 3847 specimens 329 were positive. There were 60,4% *E. coli* (199 strains) with 6% (12 strains) ESBL positive and 94% (187 strains) ESBL negative, 8,4% (26 strains) *Klebsiella pneumoniae*, 12,3% (38 strains) *Enterococcus faecalis* and 4,5% (14 strains) *Enterococcus faecium*. For 36 patients were isolated another microbial species, including yeasts. For *E. coli* ESBL positive quinolones and aminoglycosides resistance was 80%-91% and 66% to trimethoprim/sulfamethoxazole. Resistance to ampicillin for *E. coli* ESBL negative was 52,4% and to tetracycline 44,9%; for another antimicrobials resistance was 10%-30,5% and there was no resistance to carbapenems. *E. faecium* was 100% resistant to betalactams, between 78,6% and 92,9% to quinolones, gentamicin, rifampin and 57% to tetracycline comparatively with *E. faecalis* with highly resistance only to tetracycline (78,9%). The Vitek2 system showed a reduction of the time till to the results: 84,6% strains were identified in 5 h and 66,2% there were tested for antimicrobial resistance in 7 h.

**Conclusion:** More than 60% of urinary tract infections were produced by *E. coli*. ESBL positive strains were more resistant to the most of antibacterial agents comparatively with ESBL negative strains. A rapid result for identification and antimicrobial resistance in urinary tract infection could be obtained by using automated system Vitek2.

## C26. Vaginoza bacteriană în patologia genitală feminină

**Buzea Mariana, Frunzoi Marilena, Soangher Lavinia, Talapan Daniela**

*Centrul de Diagnostic și Tratament “MEDCENTER”*

**Introducere:** Vaginoza bacteriană (BV) este un sindrom clinic recunoscut ca infecție vaginală polimicrobiană ce implică o pierdere a florei normale lactobacilare și o exacerbare a creșterii germenilor anaerobi. În stabilirea diagnosticului laboratorul are un rol foarte important prin examinarea microscopică (examen direct pe preparat umed și frotiu colorat Gram) a secreției vaginale.

**Scopul lucrării:** Incidența cazurilor de BV diagnosticate în cadrul Centrului de Diagnostic și Tratament “MEDCENTER” în perioada 1 februarie 2007 – 1 februarie 2008.

**Material și metodă:** Au fost luate în studiu 4034 cazuri al căror diagnostic a fost stabilit pe baza examenului microscopic (frotiu colorat Gram) cu ajutorul criteriilor Hay/Ison.

**Rezultate:** S-au identificat 2437 (60,4%) cazuri cu floră normală, 342 (8,4 %) cazuri cu floră mixtă (flora lactobacilară concomitent cu morfotipuri *Gardnerella* sau *Mobiluncus*) și 1255 (31,1%) cazuri cu BV (predominant morfotipuri *Gardnerella* și/sau *Mobiluncus*). În 358 (28,5%) cazuri BV a fost asociată cu infecție fungică (*Candida albicans*, *Candida glabrata* și *Candida famata*), iar în 16 (1,27%) cazuri cu *Trichomonas vaginalis*.

**Concluzii:** Instituirea tratamentului adecvat este condiționat de stabilirea unui diagnostic de laborator corect. Frecvența cazurilor de vaginoză bacteriană este crescută la pacientele aflate la vîrstă fertilă. În absența tratamentului, această afecțiune poate conduce la o morbiditate genitală crescută și nu numai.

## Bacterial vaginosis as pathology of the woman genital system

**Buzea Mariana, Frunzoi Marilena, Soangher Lavinia, Talapan Daniela**

*“MEDCENTER” Clinic*

**Introduction:** Bacterial vaginosis (BV) is a clinical syndrome recognized as a polymicrobial vaginal infection involving a loss of the normal lactobacilli and an overgrowth of anaerobes.

Laboratory has an important role in diagnosis by microscopic examination (wet mount and Gram stain of vaginal smears).

Aim: To study the incidence of BV diagnosed in patients admitted in "MEDCENTER" Clinic between 1<sup>st</sup> of february 2007 and 1<sup>st</sup> of february 2008.

Material and methods: We studied 4034 cases in which the diagnosis of BV was established based on the microscopic study of stained smears, using the Hay/Ison criteria.

Results: We identified 2437 (60,4%) cases with normal flora, 342 (8,4%) with mixed flora (some lactobacilli present, but Gardnerella or Mobiluncus morphotypes also present) and 1255 (31,1%) cases with BV (predominantly Gardnerella and/or Mobiluncus morphotypes). In 358 (28,5%) cases BV was associated with vaginal yeast infection (*Candida albicans*, *Candida glabrata* and *Candida famata*) and in 16 (1,27%) cases with *Trichomonas vaginalis*.

Conclusions: Accurate diagnosis is necessary for successful treatment and resolution of BV. We have noticed an increased frequency of this infection among the women of reproductive age, infection that can lead to an increased rate of genital morbidity and not only.

## **C27. Clonarea și supraexprimarea unor gene esențiale în diviziunea bacteriilor patogene cu implicații în terapia antibacteriană**

**Doina Ramona Chis**

*Spitalul Clinic de Recuperare Cluj-Napoca*

Creșterea alarmantă a rezistenței bacteriilor patogene față de antibioticele utilizate curent necesită descoperirea a noi clase de agenți antibacterieni având noi mecanisme de acțiune față de ținte noi. O țintă atractivă ar fi proteinele implicate în diviziunea celulelor bacteriene, găsirea unor inhibitori față de proteinele citoscheletului bacterian, constituie subiectul unor intense cercetări.

FtsZ este o GTP-ază ancestrală similară tubulinei eucariotelor, polimerizarea sa sub forma inelului Z, cuplată cu activitatea GTP-azică, urmată de interacțiunea cu ftsA fiind evenimente esențiale ale fisiunii binare.

Alterarea structurii și/sau funcției ftsZ blochează diviziunea celulei bacteriene la toate tulpinile patogene, ftsZ fiind înalt conservată în evoluție.

Obiectivul studiului a fost izolarea genei ftsZ din genomul *E. coli* K12, clonarea genei în sistem Pet28b și supraexprimarea proteinei, urmată de electroforeză pe gel de poliacrilamidă-SDS. FtsZ este o proteină solubilă și, după purificare, a fost utilizată pentru obținerea de seruri polyclonale anti-ftsZ *E. coli* la șobolanii.

Anticorpii din serul de șobolan au fost utilizați pentru Western-blot față de antogenele ftsZ *E. coli* și ftsZ *Pseudomonas aeruginosa*, după care complexele au fost marcate cu IgG cuplată cu peroxidază, iar benzile imunoreactive au fost evidențiate în prezența peroxidului de hydrogen și a 4-cloro-1-naftol.

Rezultatele au demonstrat omologia de structură a ftsZ *E. coli* și ftsZ *P. aeruginosa*, bacterie patogenă care a dezvoltat rezistență la toate clasele de antibiotice.

Cunoașterea structurii proteinei ftsZ la diferite tulpini bacteriene și a omologiei de structură facilitează studiile asupra alterării funcției prin blocarea unor situri active ale ftsZ.

## **Cloning and overexpression of genes involved in pathogenic bacteria division with implications in antibacterial therapy**

**Doina Ramona Chis**

*Rehabilitation Hospital Cluj-Napoca*

The alarming increase of resistance among bacterial pathogens to all clinically useful antibiotics necessitates discovery of novel classes of antibacterial agents having new mechanism of action against new targets.

Attractive target would be the proteins involved in prokaryotic cell division and the discovery of some new inhibitors against this component of the bacterial cytoskeleton, which are the subjects for intensive researches.

FtsZ is an ancestral GTP-ase, a structural homolog of eukaryotic tubulin and polymerizes in a GTP-regulated manner into dynamic structures, so GTP-dependent ftsZ assembly is coupled to GTP hydrolysis. This polymerization into Z ring and ftsZ interaction with ftsA are the essential events of binary fission in all bacteria, because ftsZ is a highly conserved protein.

The purpose of this study was to isolate ftsZ gene from *E. coli* K12 genome, cloning the gene and overexpression of protein, followed by polyacrylamide-SDS electrophoresis. FtsZ is a soluble protein and after its purification, ftsZ was used to obtain rabbit polyclonal antisera raised against purified ftsZ *E. coli*.

Anti-ftsZ *E. coli* antibodies were used in Western-blot analysis against ftsZ *E. coli* and ftsZ *Pseudomonas aeruginosa* and these antigens were identified by staining immunoreactive bands with antirabbit immunoglobulin G coupled to peroxidase in presence of hydrogen peroxide and 4-chloro 1-naphthol.

The results proved the structural homology of ftsZ *E. coli* and ftsZ *P. aeruginosa*, a pathogen resistant to all classes of antibiotics.

Knowing the structure and bacterial homology of ftsZ protein, highly conserved in bacterial evolution, but absent in human and animal facilitates studies of altered structure and function by blocking some active sites of ftsZ.

## **C28. Portaj de *Staphylococcus aureus* meticilino-rezistent în comunitate: frecvență, particularități fenotipice și moleculare**

**Székely Edit<sup>1,2</sup>, Bucur Gabriela<sup>2</sup>, Bilca Doina<sup>2</sup>, Földes Annamaria<sup>2</sup>, Jákó Zsuzsanna<sup>3</sup>, Sabău Monica<sup>4</sup>, Lőrinczi Lilla<sup>1,2</sup>**

*1. UMF Tg. Mureș, Disciplina de Microbiologie; 2. Spitalul Clinic Județean de Urgență Tg. Mureș; 3. UMF Tg. Mureș, studentă; 4. UMF Tg. Mureș, Disciplina de Epidemiologie și Medicină Preventivă*

Apariția în comunitate a tulpinilor de *Staphylococcus aureus* meticilino-rezistente (MRSA), considerate până nu demult patogeni nosocomiali, ridică necesitatea cunoașterii originii și a răspândirii lor. Am evaluat frecvența portajului nazal de MRSA în colectivitățile de copii ale grădinițelor cu program prelungit din Tg. Mureș și am studiat tulpinile izolate în vederea stabilirii unor caracteristici fenotipice, respectiv genotipice.

Material și metode: Studiul s-a efectuat în perioada octombrie-noiembrie 2007. Meticilino-

rezistența tulpinilor de *S. aureus*, izolate din secreții nazale după îmbogățire, s-a testat difuzimetric cu discuri de cefoxitină și s-a confirmat prin detectarea PBP2a (penicillin-binding protein 2a) prin latexaglutinare. S-a determinat concentrația minimă inhibitorie (CMI) a oxacilinelor utilizând E-teste. S-a studiat fenotipul de rezistență a tulpinilor. Clonalitatea tulpinilor MRSA s-a analizat prin tehnica PFGE (pulsed-field gel electrophoresis).

Rezultate: După obținerea consimțământului informat al părinților s-au inclus în studiu aleator 185 de copii din totalul de 2900 de copii înscriși la 19 grădinițe (minimum 7 copii din fiecare grădiniță). S-au depistat 94 de purtători de *S. aureus* dintre care 4 purtători de MRSA. Tulpinile MRSA au prezentat CMI ale oxacilinelor cu valori cuprinse între 4 - 16 µg/ml și fenotipuri de rezistență identice (fenotip MLS<sub>B</sub> inductibil, fără alte rezistențe asociate). Analiza PFGE a demonstrat că cele 4 tulpini au aparținut aceluiaș tip clonal, dar au fost diferite de tulpinile MRSA cunoscute anterior, izolate de la pacienți spitalizați.

Concluzii: Frecvența portajului de MRSA este redusă în colectivitățile de copii. Caracterele fenotipice și genotipice ale tulpinilor MRSA descrise sunt diferite de cele ale tulpinilor intraspitalicești, astfel originea spitalicească a tulpinilor MRSA întâlnite în colectivități de copii este puțin probabilă.

## Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* colonization in the community: incidence, phenotypic and molecular characteristics

Székely Edit<sup>1,2</sup>, Bucur Gabriela<sup>2</sup>, Bilca Doina<sup>2</sup>, Földes Annamaria<sup>2</sup>, Jákó Zsuzsanna<sup>3</sup>, Sabău Monica<sup>4</sup>, Lőrinczi Lilla<sup>1,2</sup>

1. UMF Tg. Mureș, Department of Microbiology; 2. Mureș County Clinical Emergency Hospital; 3. UMF Tg. Mureș, student; 4. UMF Tg. Mureș, Department of Epidemiology and Preventive Medicine

The emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains in the community raised the need for establishing their origin and spread. We evaluated the frequency of MRSA colonization of children attending kindergartens in Tg. Mureș and we analysed the isolated strains in order to determine their phenotypic and genotypic traits.

The study was performed between October-November 2007. Methicillin-resistance of *S. aureus* strains isolated from nasal swabs after enrichment was detected by disk diffusion test using cefoxitin and confirmed by detecting PBP2a using latex agglutination. Minimal inhibitory concentration (MIC) of oxacillin was determined using E-test. Antibiotic resistance patterns were detected. The clonality of MRSA strains was studied by PFGE (pulsed-field gel electrophoresis).

After getting the parents informed consent we randomly chose 185 children from a total of 2900 children attending the 19 kindergartens (a minimum of 7 children from each kindergarten). Ninetyfour children were identified as nasal carriers of *S. aureus*, but only 4 of them were colonized with MRSA. The minimal inhibitory concentration of oxacillin of the MRSA strains was between 4-16 µg/ml and all strains had the same antibiotic resistance profile (inducible MLS<sub>B</sub> phenotype without any additional resistance). According to the PFGE all 4 strains belonged to the same clonal group and were different from previously typed MRSA strains isolated from hospitalized patients.

The incidence of MRSA colonization among children attending kindergartens is low. Their phenotypic and genotypic traits are different from those of hospital acquired MRSA strains; therefore the hospital origin of the colonizing strains occurring in the community is unlikely.

## **C29. Hospital acquired infections: are they preventable?**

**Olivier Carteret**

*Austria*

Abstract not available.

## **BIOCHIMIE/ BIOCHEMISTRY**

### **R30. Proteine urinare**

**Ileana Funduc**

Măsurarea proteinelor urinare se folosește în principal pentru diagnosticul și monitorizarea bolilor nefro-urologice. Tabloul excreției proteinelor urinare poate fi utilizat pentru identificarea cauzei bolii și pentru a clasifica proteinuria.

Testarea proteinelor urinare implică în mod obișnuit un screening test pentru a detecta excesul de proteine (dipstick, metode colorimetrice sau turbidimetrice), o determinare calitativă (electroforeză cu toate variantele sale incluzând imunofixarea) și în final, o evaluare cantitativă (immunoassay).

O importanță specială o are studiul proteinelor Bence Jones -lanțuri ușoare libere monoclonale-care constituie un marker semnificativ al gammopatiei monoclonale maligne.

### **Urinary proteins**

**Ileana Funduc**

Urinary proteins measurements have been basically used for the diagnosis and monitoring of nephro-urological diseases. The pattern of urinary protein excretion can be used to identify the cause of the disease and to classify proteinuria.

Urine proteins testing usually involves a screening test to detect excess protein (dipstick, colorimetric or turbidimetric methods) at the beginning, a qualitative determination (electrophoresis with all its variants including immunofixation) and finally, a quantitative evaluation (immunoassay).

An especially important issue is the study of Bence Jones proteins -free monoclonal light chains-which are a significant marker of the malignant monoclonal gammopathy.

### **C31. Trei metode de dozare a hemoglobinei glicate – comparație, capcane diagnostice, hemoglobinopatii**

**Nemes-Nagy Enikő<sup>1</sup>, Al-Aissa Zahra<sup>2</sup>, Jákó Zsuzsanna<sup>2</sup>, Kósá Beáta<sup>2</sup>, Minodora Dobreanu<sup>3</sup>, Deborah Reid<sup>4</sup>, Trefor Higgins<sup>4</sup>**

**1. UMF Târgu Mureș, Disciplina de Biochimie Medicală; 2. UMF Târgu Mureș, studentă; 3. UMF Târgu Mureș, Disciplina de Biochimie Clinică și Laborator; 4. Dynacare-Kasper Medical Laboratories, Edmonton, Canada**

**Introducere:** Metoda cromatografiei lichide de înaltă presiune (HPLC) poate fi utilă nu numai în urmărirea valorii hemoglobinei glicate (HbA1c), dar și în diagnosticarea hemoglobinopatiilor.

**Scopul lucrării** este prezentarea comparativă a trei metode de dozare a HbA1c, punând accent pe problemele care pot apărea, mai ales la metodele mai puțin performante.

**Material și metodă:** La Laboratorul Central al Spitalului Clinic Județean Mureș s-a efectuat dozarea HbA1c la 1650 de pacienți cu aparatul Variant Hemoglobin Testing System (Bio-Rad) de primă generație. Dintre acestea s-au ales 45 de probe care a fost prelucrat la Disciplina de Biochimie a UMF Târgu Mureș cu setul de reactivi BIOMIDI, cu o metodă cromatografică manuală. A treia metodă este un sistem HPLC computerizat (Variant II), cu care am prelucrat 150 de probe în Edmonton.

**Rezultate:** Valorile obținute prin metoda automată și cea manuală au arătat corelație bună ( $r = 0,9582$ ), doar la probele cu HbF crescută (normal sub 1%) am obținut prin metoda manuală valori false ridicate ale HbA1c. Cu aparatul Variant se pot identifica pe baza timpilor de retenție, diverse hemoglobinopatii (HbS, HbE, HbC, HbD, etc.), dar se recomandă confirmarea acestora prin electroforeză.

**Concluzii:** Dozarea hemoglobinei glicate prin metoda HPLC are multe avantaje față de cea manuală, dar rezultatele de regulă nu prezintă diferențe importante. La metoda manuală HbF și HbA1b se suprapun peste fracțiunea HbA1c, ceea ce poate cauza confuzii în urmărirea diabeticiilor și în diagnosticarea bolii. Datorită diversității populației și a sistemului sănătar centralizat, hemoglobinopatiile apar cu frecvență destul de mare în cazuistica din Canada.

### **Three methods measuring glycated hemoglobin – comparing study, diagnostic traps, hemoglobin variants**

**Nemes-Nagy Enikő<sup>1</sup>, Al-Aissa Zahra<sup>2</sup>, Jákó Zsuzsanna<sup>2</sup>, Kósá Beáta<sup>2</sup>, Minodora Dobreanu<sup>3</sup>, Deborah Reid<sup>4</sup>, Trefor Higgins<sup>4</sup>**

**1. UMF Târgu Mureș, Medical Biochemistry Department; 2. UMF Târgu Mureș, medical student; 3. UMF Târgu Mureș, Clinical Biochemistry and Laboratory Department; 4. Dynacare-Kasper Medical Laboratories, Edmonton, Canada**

**Introduction:** The high pressure liquid chromatography (HPLC) method can be useful not only in measuring glycated hemoglobin (HbA1c), but also in revealing hemoglobin variants.

The aim of this work is to compare three methods used to determine HbA1c, revealing the problems that could occur with assays with less resolution.

**Materials and methods:** At the Central Laboratory of the County Emergency Hospital in Târgu Mureș we performed HbA1c analysis in 1650 patients using the first generation Variant Hemoglobin Testing System (Bio-Rad). From these samples, 45 were chosen and processed at the Medical

Biochemistry Department with a manual chromatographic method using a BIOMIDI reagent kit. The third method is a computerized HPLC system (Variant II) used to process 150 samples in Edmonton.

**Results:** Values obtained with the automatic and the manual method revealed good correlation ( $r = 0,9582$ ), only in samples presenting high HbF (normal is under 1%) we obtained with the manual method higher HbA1c values. Working on Variants several pathological hemoglobins can be identified based on retention times (HbS, HbE, HbC, HbD, etc.), but an electrophoretic confirmation is recommended.

**Conclusions:** Measuring glycated hemoglobin by HPLC has several advantages compared to the manual method, but the results are usually very similar. In the manual method HbF and HbA1b coelute with HbA1c fraction, which can cause confusion in following some diabetic patients and in diagnosis of the disease. Due to population diversity and centralized health-care system, we had several hemoglobin variants amongst canadian samples.

### C32. Modificările biochimice la pacienții dializați cu infecții cronice hepatice B și C

**A. Tănase, P. Cepoida, Vera Sali, Liana Kalinina**

*Centrul de Dializă și Transplant Renal, Spitalul Clinic Republican, Chișinău, Moldova*

**Obiectiv:** Evaluarea modificărilor biochimice la pacienții cu infecție cronică cu virusuri hepatice B și C.

**Material și metode:** Este efectuat un studiu retrospectiv, care cuprinde 87 de pacienți din Centrul de Dializă și Transplant Renal, aflați la hemodializă programată pe parcursul anului 2007. Severitatea atingerii hepatice a fost evaluată cu ajutorul markerilor sindromului citolitic, colestatic și hepatoppriv, fiind studiate valorile lor maximale în perioada analizată.

**Rezultate:** Infecțiile cronice virale hepatice au fost depistate la 50 (57,5%) pacienți: la 43 (49,4%) – infecție cronică virală hepatică C, la 3 (3,4%) – infecție cronică virală hepatică B și la 4 (4,6%) pacienți a fost constatătă coinfecția B și C. Pentru pacienții infectați a fost caracteristică o incidentă sporită a hipertransaminazemiei (40% vs 10,8%; ALT  $55,8 \pm 34,1$  vs  $37,5 \pm 27,2$  U/L) și a nivelului sporit al  $\gamma$ -glutamiltranspeptidazei (17,9% vs 7,1%;  $27,7 \pm 54,4$  vs  $10,6 \pm 10,5$  U/L) ( $p < 0,05$ ). Valorile bilirubinei plasmaticice, trigliceridelor, colesterolului, fosfatazei alcaline, numărului de trombocite, concentrației serice de creatinină și de uree nu au demonstrat diferențe statistic veridice între grupele studiate. Titrul anticorpilor față de infecția cronică hepatică virală C a corelat direct cu durata aflării la dializa programată ( $p < 0,05$ ).

**Concluzie:** Infecțiile hepatice cronice cu virusul hepatitei B și C sunt frecvente la pacienții dializați, fiind facilitate de transfuzii multiple și manoperele chirurgicale în antecedente. Cu toate că la majoritatea pacienților dializați manifestările lor clinice și de laborator sunt limitate, o astfel de asociere deteriorează evident prognosticul pacienților infectați.

## **Biochemical modifications in dialysed patients with chronic hepatic viral infections B and C**

**A. Tănase, P. Cepoida, Vera Sali, Liana Kalinina**

*Dialysis and Kidney Transplantation Center, Clinical Republican Hospital, Chisinau, Moldova*

**Objective:** Biochemical modifications evaluation in patients with chronic hepatic viral infections B and C.

**Material and methods:** We have performed a retrospective study of 87 patients admitted to the Dialysis and Kidney Transplantation Center for programmed hemodialysis during 2007. Hepatic lesion severity was determined on basis of cytolitic, cholestatic and hepatargic syndrome markers modifications, maximum values during the studied period being taken into account.

**Results:** Chronic hepatic viral infections were determined in 50 (57,5%) patients: in 43 (49,4%) cases – chronic hepatic viral infection C, in 3 (3,4%) – chronic hepatic viral infection B and in 4 (4,6%) patients – both B and C coinfection. The higher incidence and mean values of transaminases (40% vs 10,8%; ALT  $55,8 \pm 34,1$  vs  $37,5 \pm 27,2$  U/L) and of  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase (17,9% vs 7,1%;  $27,7 \pm 54,4$  vs  $10,6 \pm 10,5$  U/L) ( $p < 0,05$ ) were characteristic for infected patients. Serum bilirubin, triglycerides, cholesterol, alcaline phosphatase, thrombocyte number, creatinine and urea serum concentration were not different in studied groups. Anti-HCV antibodies titre correlated directly with the programmed dialysis duration ( $p < 0,05$ ).

**Conclusions:** Chronic hepatic viral infections B and C are frequent in dialysed patients due to the higher number of blood transfusions and surgical interventions. While their clinical and laboratory manifestations are limited, this association evidently harms the infected patients' prognosis.

## **C33. Evaluarea posibilelor surse de eroare în dozările hormonale**

**Gheorghe Dragotoiu, Georgeta Hazi**

*Clinica de Endocrinologie, Cluj-Napoca*

In patologia medicală, concentrația hormonilor variază de la valori foarte mici, câteodată nedetectabile, la valori foarte mari. O dozare de mare acuratețe a concentrației hormonale este foarte importantă în bolile endocrine. Standardele din kitul de dozare nu acoperă întotdeauna intervalul de măsurare, fiind dificil a obține o concentrație exactă a hormonilor sub concentrațiile standardelor cu valori mici.

Dozarea TSH este cea mai frecventă analiză hormonală, valoarea normală variind între 0,5 și 4,0  $\mu$ U/ml. Valori mai mici ca 0,5  $\mu$ U/ml definesc hipotiroidismul, concentrația exactă a TSH-ului este foarte importantă în diagnosticul bolilor și în dozarea medicamentelor necesare pentru tratament.

Dozarea FSH și LH este importantă în diagnosticul pubertății premature la fete (valori sub 0,2 U/l) și în hipogonadism la copii (valori sub 0,4 U/L).

In dozările hormonale trebuie avut în vedere o serie de factori care pot influența concentrația hormonilor și care pot fi posibile surse de eroare în interpretarea acestor rezultate.

## **The evaluation of possible source of errors in the hormone assay**

**Gheorghe Dragotoiu, Georgeta Hazi**

*Endocrinology Clinic, Cluj-Napoca*

In pathological conditions, the concentrations of hormones range from very low values, sometimes undetectable, to very high. A very accurate dosing of hormone concentration is very important in diagnosis of endocrine diseases. The standards from the dosing kit do not cover always the range of values, being difficult to obtain an exact concentration of hormone below the standard concentration with the lowest value.

The dosage of TSH is the most frequently hormone assay, the normal range being between 0.5 to 4.0 µU/ml. The values lower than 0.5 µU/ml define hyperthyroidism, the exactly concentration of TSH is very important in diagnosis of disease and in the dosage of medication needed for the treatment.

The dosage of FSH and LH are important in diagnosis of premature puberty for young girls (values below 0.2 U/l) or of hypogonadism for young boys (values below 0.4 U/L).

In hormone assay, a series of factors must be taken into account, which can influence the concentration of hormones and can be possible sources of errors in interpretation of these results, these facts being presents in this report.

## **EDUCAȚIE ÎN MEDICINA DE LABORATOR/ EDUCATION IN LABORATORY MEDICINE**

### **„Armonizarea procesului educațional în medicina de laborator cu standardele UE”**

#### **R34. The Bologna process in laboratory training**

**Gabor L. Kovacs**

*Institute of Laboratory Medicine, Faculty of Medicine and Institute of Diagnostics and Management, Faculty of Health Sciences, University of Pecs, Hungary*

The future of mankind depends largely on cultural, scientific and technical development and this is built up in centers of culture, knowledge and research as represented by true universities (Magna Carta Universitatum). The aim of the Bologna process is to create greater consistency and compatibility within European higher education and enhance its international transparency and attractiveness. Building on the intellectual, cultural, social and technological strengths of Europe, the Bologna Process is entirely consistent with and contributes to the achievement of the Lisbon strategy. This strategy was recently refocused on creating jobs and growth, where higher education clearly has a central role to play. Universities should therefore also consider what should be their contribution to this broader strategy.

In modern medicine the value of scientific investigations are now universally recognized both

for diagnostic purposes and monitoring of disease and in basic epidemiology. The direct treatment of patients is an undeniable task of doctors in medicine. Progress in laboratory science is largely the result of contributions by scientists with an adequate education and specialization in the field, i.e. by specialists in clinical chemistry and laboratory medicine. Clinical laboratory science has developed on a broad front throughout the European Community, resulting in significant differences in what constitutes a national clinical chemistry service in each state. Clinical chemistry is the medical discipline devoted to obtain, explore and employ chemical knowledge and chemical methods of investigation, in order to procure knowledge about normal and abnormal chemical processes in man. These processes are studied on a general level, in order to get insight into human health and disease and on a patient-specific level for diagnostic or monitoring purposes. The delimitation of clinical chemistry varies from country to country, since there is no sharp boundary to hematology, immunology, molecular biology and microbiology.

Teaching in clinical chemistry and laboratory medicine has undergone a dramatic change in recent years, mainly because of the introduction of evidence-based medicine, problem-based learning and new technology into the curricula. Accordingly, the aim of the master's programs in clinical biochemistry is to provide an academic program in the theoretical, technological, professional, and scientific aspects of clinical laboratory sciences, in order to train a group of clinical biochemists with advanced qualifications to carry out such activities as laboratory management, and research and development activities, in accordance with the modern concept of a laboratory healthcare professional. The lecture will review certain aspects of undergraduate and graduate training on clinical biochemistry, related to the Bologna process.

### **R35. Aspecte educaționale ale medicinei de laborator românești în 2008 – comparație cu UE**

**Minodora Dobrea**

*UMF Târgu Mureș*

În România există mai mult de 2200 laboratoare medicale în care se efectuează peste 500 milioane de teste/an. Personalul de laborator medical din România este reprezentat de 3300 cadre superioare (din care medici – 40%) și peste 20.000 asistenți și laboranți. Specialiștii în disciplinele laboratorului clinic au baze educaționale diferite: 60% sunt absolvenți de facultăți non-medicale (cea mai mare parte - biologi și chimici, 7% biochimiști și sub 1% farmaciști). Situația este destul de diferită în țările membre UE, Cehia având situația cea mai apropiată de aceea din România. Ca și în cazul altor specialități medicale, educația în specialitatea Medicină de Laborator se desfășoară în trei faze: educația de bază, specializarea și educația continuă. Se vor discuta separat etapele educaționale ale specialiștilor medici, non-medici și asistenților / tehnicienilor de laborator medical, precum și aspecte ale curriculei de pregătire în specialitate. Procesul de extindere al UE a generat necesitatea armonizării în spațiul european a pregăririi în multe specialități, inclusiv în Medicina de Laborator. Diplomele naționale nu sunt recunoscute automat, fiind elaborate standarde comune de competență (descrise în "EC4 syllabus for postgraduate training") acceptate de societățile profesionale naționale. După studiile comisiei IFCC and Laboratory Medicine pe probleme educaționale și de management (Sanders et al., Clin Chem Lab Med 2002; 40:196–204), în Uniunea Europeană durata medie a pregăririi de bază este 5,6 ani, iar durata medie a pregăririi postuniversitare în Medicina de laborator este de 5,1 ani. Declarația de la Bologna pentru educația în spațiul european (semnată de 29 de state

europeene, inclusiv de România), este un mare pas înainte în armonizarea pregătirii și în profesia noastră.

Considerăm că într-o Europă în care dorim să ne integrăm cât mai repede, condiția de calitate a muncii este una esențială, iar pentru asigurarea acesteia, calitatea procesului educațional este fundamentală. Educația continuă în medicina de laborator este obligatorie, scopul fiind acela de a crește competența personalului în condiții de permanentă schimbare în domeniul.

## **Romanian Education in Laboratory Medicine of 2008 - comparison with European situation**

**Minodora Dobrea**

*UMF Targu Mureș*

There are more than 2200 medical laboratories, which perform around 500 million tests/year. The Laboratory staff consists in 3300 graduated persons and more than 20.000 technicians. Romanian experts in clinical laboratory sciences have different backgrounds: 60% of graduated specialists are non-MD (biologists and chemists the most part of them, 7% biochemists and less than 1% pharmacist). Distribution is quite similar with that in Czech Republic.

The education of medical laboratory specialist, like other medical education, includes three phases: basic education, postgraduate and continuing education. Steps in medical laboratory education for MD, scientist and technicians, contents of graduate program and training curricula, will be discussed.

The enlargement process of the European Union has in addition contributed to the rapidly changing profile of laboratory medicine. To ensure freedom of movement in the European Union for employment, there is a need for harmonization of training. National diplomas are not automatically recognised, therefore common standards of competence were developed and accepted by the national societies of clinical chemistry and laboratory medicine and described in the EC4 syllabus for postgraduate training. According to the study of Sanders et al. (Clin Chem Lab Med 2002; 40:196–204), in the European Union the mean duration of the pregraduate education is 5.6 years, and the mean duration of the postgraduate education in clinical chemistry or in clinical laboratory sciences is 5.1 years. Bologna Declaration on the European space for higher education signed by 29 European estates, is a large step forward towards harmonization of the profession.

Quality of work in laboratory medicine is essential and to ensure this purpose - the quality of education is fundamental. Continuing education in laboratory medicine is mandatory. The goals are to make laboratory professional more competent in their existing employment, to assist laboratory professionals to adapt to and to take part in changes.

## **R36. Programul Syllabus - standard european de pregătire pentru specialiștii în medicina de laborator. Registrul european al specialiștilor în medicina de laborator EC4**

**Camelia Grigore, N. Grigore**

*Spitalul Clinic Universitar Sibiu*

Medicina de laborator nu este o specialitate omogenă, specialiștii având pregătiri diferite

(medici, chimici, biologi, farmaciști). Pentru a armoniza pregătirea specialiștilor Comisia Europeană a elaborat programul Syllabus care cuprinde cunoștințele postuniversitare științifice, clinice și manageriale pe care specialistul în medicina de laborator trebuie să le dobândească pentru a fi acceptat ca specialist în medicina de laborator în UE.

Programul prevede un standard de pregătire de minim 9 ani cu un minim de 4 ani de pregătire în specialitate - multi sau monodisciplinară într-un laborator recunoscut, cu o evaluare finală a unei comisii de specialitate acreditate. Programul acoperă toate domeniile laboratorului clinic - biochimie hematologie, microbiologie, genetică și IVF. Programul Syllabus este doar un ghid, Societățile naționale de medicină de laborator fiind cele care stabilesc programele de pregătire în specialitate, adecvate cerințelor din țările lor și le înaintează Comisiei europene pentru a obține o echivalare a standardelor de pregătire în specialitate. După această etapă obligatorie specialiștii țării respective pot aplica pentru înscrierea în Registrul European al Specialiștilor de laborator - EC4. Registrul operează din 1999 și în anul 2007 avea înscrise peste 2000 specialiști. Existenta Registrului EC4 oferă o punte de legatură în calitatea pregătirii profesioniștilor din laborator, susține proiecte comune în interesul profesiei, contribuie la dialogul societăților profesionale cu industria de diagnostic, iar specialiștii beneficiază de o recunoaștere a nivelului de pregătire profesională și au posibilitatea exercitării libere a profesiei în țările UE ca EurClinChem.

## **European Syllabus-post graduating training programme in laboratory medicine - EC4 Register of european specialists in clinical chemistry and laboratory medicine**

**Camelia Grigore, N. Grigore**

*Universitary Hospital Sibiu*

Laboratory Medicine is not an omogenous speciality, the specialists having different training (medical doctors, chemists, biologists, pharmacists). The European Committee elaborated the Syllabus programme for post graduate training in order to harmonize laboratory specialists training. It includes the scientific, clinical and managerial aspects in which the specialist should demonstrate knowledge and experience in order to be accepted as an European Laboratory Medicine Specialist. The Syllabus involves university education of 9 years with at least 4 years of dedicated studies in a recognised laboratory with a final examination of an accredited Committee. The Programme affords an overview of all laboratory fields biochemistry, haematology, microbiology, genetics and reproductive medicine serving only as a guide for the National Laboratory Medicine Societies, who actually elaborate the national training programmes accorded to their national needs.

The National Laboratory Medicine Society sends to the European Committee the equivalence of standards and after the standards are accepted the specialists can apply for the European Register of Laboratory Medicine specialists-EC4. The Register opened in 1999 and by may 2007 it comprised more than 2000 practitioners from 16 countries.

The EC4 Register provides an important benchmark of quality across the profession within the UE, sustains agreed projects of common interest to the profession, strengthens the influence of professional societies in dealing with diagnostic industry and provides a pool of experts in UE who are recognised as EurClinChem.

## **MASĂ ROTUNDĂ - CONTROL DE CALITATE ÎN LABORATOARELE MEDICALE**

### **R37. Rezultatele controalelor externe ale calității organizate de RoEQALM la nivel național în 2007-2008 în chimia clinică**

**Crezante Lazăr**

*Spitalul Clinic de Urologie "Prof. Th. Burgheli" București; RoEQALM*

Rezumatul nu a fost trimis.

Abstract not submitted.

### **R38. Erori admise în controlul intern și extern al calității în chimia clinică**

**Crezante Lazăr**

*Spitalul Clinic de Urologie "Prof. Th. Burgheli" București; RoEQALM*

Rezumatul nu a fost trimis.

Abstract not submitted.

### **R39. Calitatea rezultatelor analizelor medicale. Controlul extern al calității organizat în România de CALILAB**

**Constanța Popa**

*președinte OBBCSSR*

Rezumatul nu a fost trimis.

Abstract not submitted.

## **POSTERE BIOCHIMIE – IMUNOLOGIE – HEMATOLOGIE/ POSTERS: BIOCHEMISTRY – IMMUNOLOGY - HEMATOLOGY**

### **P1. Buna practică de laborator clinic – ghid al laboratoarelor participante în studii clinice**

**Cristina Florescu<sup>1</sup>, Cristina Ganciu<sup>1</sup>, Mihaela Neacșu<sup>1</sup>, Cristina Mambet<sup>2</sup>**

*1. Synevo Clinical Trials Romania; 2. Synevo Laboratory Bucharest*

Studiile clinice sunt studii realizate pe subiecți umani pentru a testa noi medicamente sau combinații ale acestora, noi tehnici operatorii sau proceduri imagistice necesare îmbunătățirii metodelor de diagnostic și calității vieții pacientului.

Posterul prezintă ce este GCLP și care este importanța înțelegерii și corecției aplicării acestui

ghid în cadrul laboratoarelor participante în studii clinice.

Buna practică de laborator clinic se aplică acelor principii stabilite prin GLP (buna practică de laborator) în generarea datelor de laborator folosite în submiterea către autorități și care sunt relevante în analizarea probelor pacienților înrolați în studii clinice, asigurând în același timp faptul că scopul și obiectivele principiilor GCP (bunei practici medicale) sunt satisfăcute.

## **Good Clinical Laboratory Practice – guide for clinical laboratories participating in clinical trials**

**Cristina Florescu<sup>1</sup>, Cristina Ganciu<sup>1</sup>, Mihaela Neacșu<sup>1</sup>, Cristina Mambet<sup>2</sup>**

*1. Synevo Clinical Trials Romania; 2. Synevo Laboratory Bucharest*

**Abstract:** Clinical Trials are studies performed with human subjects to test new drugs or combinations, new approaches to surgery or radiotherapy or procedures to improve the diagnosis of disease and the quality of life of the patient.

The poster shows what is GCLP and what is the importance of understanding and correct applying of this guide within clinical laboratories participating in clinical trials.

Good clinical laboratory practice (GCLP) is applying those principles established under GLP (good laboratory practice) for data generation used in regulatory submissions which are relevant to the analysis of samples from a clinical trial while at the same time ensuring the purpose and objectives of the GCP (good clinical practice) principles are satisfied.

## **P2. Control de calitate inter - laboratoare**

**K. E. Racz<sup>1</sup>, I.G. Bodisz<sup>2</sup>**

*1. Centrul de Diagnostic și Tratament Cluj; 2. Spitalul Clinic de Recuperare Cluj*

Lucrarea prezintă experiența noastră privind organizarea controlului de calitate inter-laboratoare, în perioada 2006 - 2008. Au fost analizați 15 parametrii biochimici. Controlul s-a efectuat lunar folosindu-se două pool-uri de seruri cu valori normale și patologice. La control s-au înscris un număr de 42 de laboratoare, înregistrându-se participarea a 20 de laboratoare/lună. Rezultatele au fost prelucrate statistic, calculându-se valoarea medie, deviația standard, coeficientul de deviație standard și indicele de deviație standard pentru fiecare parametru și laborator. Aceste rezultate, împreună cu reprezentările grafice au fost comunicate confidențial participanților.

## **P3. Studiul unor markeri biochimici în evaluarea nefropatiei diabetice**

**Didona Ungureanu<sup>1</sup>, B. Mihai<sup>2</sup>, Ecaterina Anisie<sup>3</sup>, Liliana Foia<sup>1</sup>, Cristina Lăcătușu<sup>2</sup>, Daniela Jitaru<sup>3</sup>**

*1. UMF “Gr.T.Popă” Iași, Disciplina de Biochimie; 2. UMF “Gr. T. Popa” Iași, Disciplina de Diabet, Nutriție și Boli Metabolice; 3. Spitalul Universitar “Sf. Spiridon” Iași, Laboratorul de imunologie și genetică*

**Introducere:** S-au urmărit doi noi parametrii biochimici - adiponectina și cistatinul C în evaluarea apariției și progresiei nefropatiei diabetice.

**Material și metodă:** Studiul s-a realizat pe un lot de 159 de pacienți cu diabet zaharat insulino-

necesitând cu vârsta cuprinsă între 18 și 84 de ani. Subiecților li s-au prelevat probe de sânge și urină pentru dozarea următorilor parametrii: hemoglobina glicozilată (HbA1c), proteinele urinare, clearance-ul de creatinină ( $\text{Cl}_{\text{cr}}$ ), raportul albumină/creatinină (RAC). În funcție de valorile ultimilor trei parametrii, lotul studiat a fost subîmpărțit în 3 subgrupe: cu normoalbuminurie (gr.A), microalbuminurie (gr.B) și macroalbuminurie (gr.C).

Rezultate și discuții: Statusul glicemic al pacienților diabetici luați în studiu a fost precar, 70,3% dintre subiecți având  $\text{HbA1c} > 8\%$ . Valorile mari ale glicemiei lotului studiat explică prevalența crescută a nefropatiei. Valoarea adiponectinei a fost mai mare la subiecții grupei C ( $1.99 \pm 184\text{mg/dl}$ ) comparativ cu ai grupei B ( $1.55 \pm 2.15\text{mg/dl}$ ) sau grupei A ( $1.46 \pm 2.50\text{mg/dl}$ ), ceea ce ar putea indica o alterare a reglării acestei adipocitokine la diabetici sau că această proteină ar avea un rol în apariția angiopatiei diabetice.

CysC se corelează pozitiv cu creșterea nivelului albuminuriei și negativ cu valoarea  $\text{Cl}_{\text{cr}}$ . Un număr de 37 (40%) dintre subiecții grupei A (cu  $\text{Cl}_{\text{cr}}$  normal), au prezentat valori crescute ale CysC, astfel acest parametru ar fi un marker mai precoce de evaluare a atingerii renale la subiecții diabetici decât dozarea albuminuriei.

Concluzii: Adiponectina este un marker prețios de evaluare a riscului de atingere renală, iar CysC reprezintă un parametru de detecție precoce a atingerii renale.

## **Study of some biochemical markers for diabetic nephropathy evaluation**

**Didona Ungureanu<sup>1</sup>, B. Mihai<sup>1</sup>, Ecaterina Anisie<sup>2</sup>, Liliana Foia<sup>1</sup>, Cristina Lăcătușu<sup>1</sup>, Daniela Jitaru<sup>2</sup>**

*1. UMF "Gr. T. Popa" Iași; 2. University Hospital "Sf. Spiridon" Iași, Immunology - Genetics Laboratory*

**Introduction:** In order to evaluate the appearance and progression of the diabetic nephropathy, we used two new markers - adiponectin and cystatin C.

**Material and methods:** The study was performed on 159 patients with diabetes mellitus treated with insulin, with age between 18 and 84 years. Blood and urine were used for the dosage of the following parameters: glycated haemoglobin (HbA1c), urine proteins, creatinine clearance ( $\text{Cl}_{\text{cr}}$ ), and albumin/creatinine ratio (RAC). Based on the last three parameters, the patients were divided in 3 subgroups: group A with normal albuminuria, group B with microalbuminuria, and group C with high albuminuria (macroscopic albuminuria).

**Results and discussion:** The patients glycaemia was poorly controlled, 70.3% of them had HbA1c higher than 8%. The high values of blood glucose could explain the high prevalence of nephropathy. Adiponectin value was higher in group C of patients ( $1.99 \pm 184\text{mg/dl}$ ) compared with group B ( $1.55 \pm 2.15\text{mg/dl}$ ) and A ( $1.46 \pm 2.50\text{mg/dl}$ ) therefore in diabetes we could face a misregulation of this protein or it could probably have a role in the diabetic angiopathy occurrence.

There is a positive correlation between CysC and urinary albumin level and a negative correlation with  $\text{Cl}_{\text{cr}}$ . 37 subjects (40%) from group A, with normal  $\text{Cl}_{\text{cr}}$  presented high CysC, and this is why this parameter could be a better marker than microalbuminuria for the detection of nephropathy in early stages.

**Conclusions:** Adiponectin is a sensitive marker for the nephropathy risk evaluation, while CysC is a better parameter for the detection of diabetic nephropathy early stages.

## **P4. Stratificarea echilibrului metabolic glucidic la pacienții cu diabet zaharat**

**Nemes-Nagy Enikő<sup>1</sup>, Al-Aissa Zahra<sup>2</sup>, Kósa Beáta<sup>2</sup>, Jákó Zsuzsanna<sup>2</sup>, Mareș-Ferencz Gizella<sup>1</sup>, Minodora Dobreanu<sup>3</sup>, Victor Balogh-Sămărghițan<sup>1</sup>**

**1. UMF Tg. Mureș, Disciplina de Biochimie Medicală; 2. UMF Tg. Mureș, studentă; 3. UMF Tg. Mureș, Disciplina de Biochimie Clinică și Laborator**

**Introducere:** Dozarea hemoglobinei glicate (HbA1c) este un parametru deosebit de important în urmărirea pacienților diabetici, valoarea sa poate fi decisivă în alegerea terapiei.

**Scopul lucrării** este urmărirea echilibrului metabolic glucidic la diverse categorii de pacienți cu diabet zaharat de tip 1 și 2.

**Material și metodă:** Dozările de HbA1c s-au efectuat în cadrul Laboratorului Central al Spitalului Județean Mureș cu aparatul Variant Hemoglobin Testing System (Bio-Rad). Pacienții (n = 1650) au fost repartizați în grupe de vârstă, sex, mediu de viață și pe baza tipului bolii.

**Rezultate:** La diabeticii de tip 1 (mai ales la cei de vîrstă pubertății) echilibrul metabolic glucidic se menține mai greu la valori optime comparativ cu adulții diabetici de tip 2. Pacienții din mediul urban au un control metabolic mai bun comparativ cu cei din mediul rural, iar repartizarea pe grupe de vîrstă a pacienților cu diabet zaharat de tip 2 nu au arătat diferențe notabile în echilibrul metabolic. Majoritatea pacienților diabetici de tip 2 prezintă obezitate de diferite grade.

**Concluzii:** Cu ajutorul dozării de HbA1c se poate contura un segment din populația diabetică care necesită atenție sporită pentru evitarea complicațiilor bolii (adolescenții cu diabet de tip 1, diabeticii de tip 2 din zonele rurale și cei cu obezitate). Educația sanitară, modificări în stilul de viață, urmărirea zilnică a profilului glicemic cu adaptarea corespunzătoare a dozelor de insulină și controlul la intervale recomandate (de 3-4 ori / an) a HbA1c ar putea îmbunătăți această situație.

### **Stratification of carbohydrate metabolic balance in diabetic patients**

**Nemes-Nagy Enikő<sup>1</sup>, Al-Aissa Zahra<sup>2</sup>, Kósa Beáta<sup>2</sup>, Jákó Zsuzsanna<sup>2</sup>, Mareș-Ferencz Gizella<sup>1</sup>, Minodora Dobreanu<sup>3</sup>, Victor Balogh-Sămărghițan<sup>1</sup>**

**1. UMF Tg. Mureș, Medical Biochemistry Department; 2. UMF Tg. Mureș, medical student;  
3. UMF Tg. Mureș, Clinical Biochemistry and Laboratory Department;**

**Introduction:** Glycated hemoglobin (HbA1c) is a very important parameter in following of diabetic patients, its value can influence therapeutic decisions.

The aim of this paper is the evaluation of carbohydrate metabolic balance in different categories of type 1 and 2 diabetic patients.

**Material and method:** We determined HbA1c at the Central Laboratory of the County Hospital in Târgu Mureș using the analyzer called Variant Hemoglobin Testing System (Bio-Rad). Patients (n = 1650) were included in groups by age, gender, environment and diabetes type.

**Results:** In type 1 diabetic patients (especially those at puberty) it is more difficult to maintain optimal carbohydrate metabolic balance compared to type 2 diabetic adults. Patients from urban environment have better metabolic control compared to those from rural areas, and we couldn't find notable differences in type 2 diabetic patients of different age groups. Most of type 2 diabetic patients present different degrees of obesity.

**Conclusions:** Performing HbA1c analysis we can reveal a segment in diabetic population which needs special attention to prevent complications of the disease (type 1 adolescents, type 2 diabetics from rural areas and those with obesity). Health education, improved lifestyle habits, daily check-up of glycemic profile with appropriate adaptation of insulin doses and HbA1c control as recommended (3-4 times/year) could improve this situation.

## P5. Interleukina-12 (IL-12) – biomarker al instabilității plăcii aterosclerotice

**Felicia Sfrijan<sup>1</sup>, Mădălina Golieanu<sup>2</sup>, Camelia Gurban<sup>1</sup>, Denis Șerban<sup>3</sup>, Doina Drugarin<sup>4</sup>**

*1. UMF "Victor Babeș" Timișoara, Disciplina de Biochimie; 2. Cabinet medical individual, Galați; 3. UMF "Victor Babeș" Timișoara, Disciplina de Microbiologie; 4. UMF "Victor Babeș" Timișoara, Disciplina de Imunologie*

**Introducere:** Inflamația reglată pe calea citokinelor joacă un rol important în aterogeneza coronariană, respectiv în destabilizarea plăcii aterosclerotice. IL-12 este o citokină cu rol cheie în diferențierea celulară Th0-Th1, crescând activitatea celulară Th1 și înducând producția de IFN-γ.

**Scop:** Acest studiu a avut ca scop evaluarea concentrației serice a interleukinei IL-12 la bolnavii cu atheroscleroză coronariană, estimarea răspunsului inflamator și prevalența Th1 în boala coronariană.

**Material și metode:** Probele de ser au fost recoltate de la pacienți cu infarct miocardic acut - IMA (70), angină instabilă - AIS (40), angină stabilă - AS (50) și de la martori (40). Pentru determinarea concentrației serice a IL-12 s-a folosit metoda imunoenzimatică (ELISA) directă, tip sandwich cantitativă.

**Rezultate:** Comparativ cu lotul control ( $0.67 \pm 0.35$  pg/ml), concentrația serică a IL-12 este semnificativ crescută la toate loturile de pacienți (IMA =  $5.52 \pm 1.87$  pg/ml,  $p < 0.05$ ; AIS =  $2.72 \pm 0.80$  pg/ml,  $p < 0.05$ ; AS =  $2.18 \pm 0.63$  pg/ml,  $p < 0.05$ ). Comparativ cu loturile angină, concentrația serică a IL-12 este semnificativ crescută la lotul IMA ( $p < 0.05$  respectiv  $p < 0.01$ ). Nu există diferențe semnificative statistic ale concentrației serice a IL-12 între loturile cu angină ( $p > 0.05$ ).

**Concluzii:** Concentrația serică a IL-12 este semnificativ crescută la loturile de pacienți cu boală coronariană. Acest rezultat este sugestiv pentru răspunsul inflamator de tip Th1 din atheroscleroză și sugerează implicarea IL-12 atât în stadiile inițiale ale aterogenezei cât și în condițiile destabilizării plăcii. IL-12 poate fi utilizat ca un indicator al predicției riscului cardiac și o țintă terapeutică în atheroscleroza coronariană.

## Interleukin -12 (IL-12) – biomarker of atherosclerotic plaque instability

**Felicia Sfrijan<sup>1</sup>, Mădălina Golieanu<sup>2</sup>, Camelia Gurban<sup>1</sup>, Denis Șerban<sup>3</sup>, Doina Drugarin<sup>4</sup>**

*1. UMF "Victor Babeș" Timișoara, Biochemistry Department; 2. Individual Medical Center, Galați; 3. UMF "Victor Babeș" Timișoara, Microbiology Department; 4. UMF "Victor Babeș" Timișoara, Immunology Department*

**Introduction:** Inflammation regulated by the cytokine pathway plays an important role in coronary atherosclerosis, in the development of angina pectoris, respectively in plaque destabilization. IL-12 is a key cytokine in differentiating Th0 into Th1 cells, increasing Th1 cells activity, inducing IFN-γ production

**Objective:** This study was conducted to analyse the circulating level of interleukin-12 in patients with coronary artery disease, acute myocardial infarction (AMI), unstable angina (UA), stable angina (SA), and to estimate the proportion of immune-inflammatory answer and Th1 prevalent feature in coronary artery disease.

**Material and methods:** Samples were obtained from patients with acute myocardial infarction (70), unstable angina (40), stable angina (50) and from control subjects (40). ELISA assay was used for quantification of serum levels of IL-12.

**Results:** Compared with the control group ( $0.67 \pm 0.35$  pg/ml), the levels of IL12 were significantly higher in the all groups of patients (AMI =  $5.52 \pm 1.87$  pg/ml,  $p < 0.05$ ; IA =  $2.72 \pm 0.80$  pg/ml,  $p < 0.05$ ; SA =  $2.18 \pm 0.63$  pg/ml,  $p < 0.05$ ). Compared with the angina groups, the levels of IL12 were significantly higher in the AMI group ( $p < 0.05$  respectively  $p < 0.01$ ). There were no statistically significant differences in the concentration of IL-12 among the angina groups ( $p > 0.05$ ).

**Conclusions:** The concentrations of IL12 were significantly higher in the coronary artery disease groups. This result was related to the Th1 inflammatory responses in atherosclerosis and suggest that IL-12 is involved both, in initial stages of development of coronary atherosclerosis and in circumstance of plaque destabilization. IL-12 may be an indicator for the prediction of the cardiac risk and a therapeutic target for pharmacological modulation in coronary atherosclerosis.

## P6. Autoanticorpii anti LDL-oxidat, IL-1 $\alpha$ , TNF $\alpha$ -markerii ai riscului cardiac

**Felicia Sfrijan<sup>1</sup>, Mădălina Golieeanu<sup>2</sup>, Camelia Gurban<sup>1</sup>, Doina Drugarin<sup>3</sup>**

**1. UMF "Victor Babeș" Timișoara, Disciplina de Biochimie; 2. Cabinet medical individual, Galați; 3. UMF "Victor Babeș" Timișoara, Disciplina de Imunologie**

**Scop:** Acest studiu a avut ca scop analiza corelațiilor între concentrația serică a citokinelor proinflamatorii (IL-1 $\alpha$ , TNF $\alpha$ ) și concentrația serică a autoanticorpilor anti LDL-oxidat (oLAB) la bolnavii cu ateroscleroză coronariană și demonstrarea implicării mecanismelor imun-inflamatorii în progresia leziunilor aterosclerotice.

**Material și metode:** Probele de ser au fost recoltate de la pacienți cu infarct miocardic acut – IMA (70), angină instabilă – AIS (40), angină stabilă – AS (50) și de la martori (40). Pentru determinarea concentrațiilor serice ale IL-1 $\alpha$ , TNF $\alpha$  și oLAB s-a folosit metoda imunoenzimatică (ELISA) directă, tip sandwich cantitativă.

**Rezultate:** Pacienții cu IMA și AIS prezintă concentrații serice semnificativ crescute ale IL-1 $\alpha$  ( $p < 0.05$ ) și TNF- $\alpha$  ( $p < 0.05$ ) față de lotul martor. Lotul AS se diferențiază de lotul martor numai prin concentrațiile serice crescute ale TNF $\alpha$  ( $p < 0.001$ ). Valori semnificativ crescute ale oLAB apar la loturile IMA și AIS.

Există o corelație puternică ( $r > 0.6$ ) între citokinele proinflamatorii și oLAB la loturile de pacienți cu IMA și corelații variabile între acești parametrii la loturile AIS și AS.

**Concluzii:** Concentrațiile serice crescute ale citokinelor proinflamatorii la pacienții cu ateroscleroză coronariană confirmă faptul că reacția inflamatorie apare precoce în leziunea aterosclerotica și influențează major progresia și stabilitatea plăcilor de aterom, iar corelația cu markerii circulańti ai oxidării LDL (oLAB) poate fi un indicator pentru predicția riscului cardiac.

## **Anti oxidized low-density lipoprotein autoantibody, IL-1 $\alpha$ , TNF $\alpha$ - cardiac risk markers**

**Felicia Sfrijan<sup>1</sup>, Mădălina Golieeanu<sup>2</sup>, Camelia Gurban<sup>1</sup>, Doina Drugarin<sup>3</sup>**

*1. UMF "Victor Babeș" Timișoara, Biochemistry Department; 2. Individual Medical Center, Galați; 3. UMF "Victor Babeș" Timișoara, Immunology Department*

**Background:** The intersection between inflammation and oxidized low-density lipoprotein-oxLDL in the artery wall are numerous, thus, the lipid hypothesis and the response to injury hypothesis are considered different aspects of a single pathogenic pathway.

**Objective:** This study was conducted to analyse the correlation between serum level of proinflammatory cytokines IL-1 $\alpha$  and TNF $\alpha$  and anti-oxidized low-density lipoprotein autoantibody (oLAB) in patients with coronary atherosclerosis, and to demonstrate implication of immune-inflammatory mechanisms in progression of atherosclerotic lesion.

**Material and methods:** Samples were obtained from patients with acute myocardial infarction-AMI (70), unstable angina-UA (40), stable angina-SA (50) and from healthy subjects (40). ELISA assay was used for quantification of serum levels of IL-1 $\alpha$ , TNF  $\alpha$  and oLAB.

**Results:** Patients with AMI and UA had significantly grown serum levels of IL-1 $\alpha$  ( $p<0.05$ ) and TNF  $\alpha$  ( $p<0.05$ ) compared with the healthy group. The SA group differentiates from the healthy group only through grown serum levels of TNF  $\alpha$  ( $p<0.001$ ). Significantly grown levels of oLAB appear to the AMI and UA group ( $p<0.05$ ). There is a strong correlation ( $r>0.6$ ) between serum levels of proinflammatory cytokines and oLAB in the AMI group and a variable correlation of these parameters in UA and SA groups.

**Conclusions:** Grown levels of proinflammatory cytokines confirm the fact that the inflammatory reaction appear precocious in atherosclerotic lesion and influence the progress and the stability of plaque, and the correlation with immune markers of oxLDL may be an indicator for the prediction of the cardiac risk.

## **P7. Tehnologia Luminex folosită în evaluarea imunizării la pacienți în aşteptarea unei grefe de organe**

**Duțescu Irina Monica<sup>1</sup>, Căisan Ruxandra Elena<sup>1</sup>, Ulea Lorena Liliana<sup>1</sup>, Bardan Alina<sup>1</sup>, Tranulis Raluca<sup>1</sup>, Tacu Dorina<sup>2</sup>, Ilinca Doina Silvia Cornelia<sup>1</sup>**

*1. Institutul Național de Hematologie Transfuzională "Prof. Dr. C. T. Nicolau"; 2. Institutul Clinic Fundeni*

**Introducere:** Tehnologia Luminex se bazează pe utilizarea unei populații de microsfere colorate învelite cu antigene HLA specifice purificate. Fluorescența fiecărei sfere este măsurată în analizorul Luminex și interpretarea se face cu ajutorul unui soft.

**Obiectiv:** Acest studiu a fost efectuat pentru a defini valoarea de predicție a anticorpilor detectați în serul pacienților în aşteptarea unui transplant de organe prin tehnica Luminex.

**Metodă:** Am analizat retrospectiv 200 seruri de la pacienți cu cross-match CDC-AHG pre-transplant negativ. Imunizarea a fost evaluată prin trei metode: CDC-AHG, ELISA (One Lambda, Biostest) și Luminex (One Lambda). Am analizat concordanțele și discordanțele între rezultatele obținute prin aceste metode și corelația între aceste rezultate și antecedentele imunizante și/sau evoluția

post-transplant.

Discuții: CDC-AHG este un test simplu și ieftin prin care se pot determina gradul de imunizare PRA anti-HLA cls.I și unele specificități, în seruri cu PRA scăzut. Introducerea testelor ELISA a permis creșterea specificității și sensibilității în screening-ul de anticorpi și a oferit posibilitatea determinării anticorpilor anti-HLA de cls.II. Tehnica Luminex permite determinarea unui număr și mai mare de anticorpi anti-HLA de cls.I și II. În plus, testul permite determinarea și a altor anticorpi ca anti-MICA. Există și kituri pentru identificarea specificităților (single antigen) pentru pacienți intens imunizați (PRA>80%).

Concluzii: Experiența noastră a arătat că noua tehnică Luminex este un bun instrument în investigațiile de transplant, cu o mare sensibilitate, uneori chiar prea mare. Tehnica este ușor de realizat, rapidă (1,5 ore), procentul de repetări este mic. CDC-AHG rămâne încă metoda de bază pentru caracterizarea de rutină a status-ului imun pre-transplant dar se justifică și folosirea unei a două metode, mai sensibilă. Rezultatele acestor teste adiționale pot fi predictori buni pentru riscul post-transplant. Diferitele teste trebuie analizate împreună și în context clinic, ceea ce va oferi în viitor mai multe indicații asupra importanței clinice a anticorpilor identificați.

### **Luminex technology used for evaluation of immun status in patients awaiting for organ transplantation**

**Duțescu Irina Monica<sup>1</sup>, Căisan Ruxandra Elena<sup>1</sup>, Ulea Lorena Liliana<sup>1</sup>, Bardan Alina<sup>1</sup>,  
Tranulis Raluca<sup>1</sup>, Tacu Dorina<sup>2</sup>, Ilinca Doina Silvia Cornelia<sup>1</sup>**

*1. National Institute of Hematology and Blood Transfusion “Prof. Dr. C. T. Nicolau”;*

*2. Clinical Institute Fundeni*

**Introduction:** The Luminex technology is based on a color microbeads population coated with specific purified HLA antigens. The fluorescence of each bead is measured in the Luminex analyser and the interpretation is performed using a software.

**Objectiv:** This study was performed to define the predictive value of antibodies detected by the new Luminex beads assay, in sera of patients waiting for an organ transplantation.

**Methods:** We analysed 200 sera from patients with negative AHG-CDC pre-transplant cross-match. The immunisation was evaluated by three methods: CDC-AHG, ELISA (One Lambda, Biostest) and Luminex (One Lambda). We studied the concordances and discordances in the results obtained by different methods and the correlation between these results and previous immunising events and/or post-transplant graft outcome.

**Discussions:** The CDC-AHG is a simple and low cost test which allows to determine the anti-HLA cls. I PRA and some specificities, in sera with low PRA. The introduction of ELISA tests increased the sensitivity and specificity of antibody's screening, and offered the possibility of anti-HLA cls. II antibody's determination. The Luminex assay allowed to determine even a higher number of anti-HLA cls.I and II antibodies. In addition, the test permitted to identify other antibodies, like anti-MICA. Identification kits (single antigen) for high immunised patients (PRA > 80%) are available.

**Conclusions:** Our experience showed that new Luminex assay is a useful tool in transplant techniques, with very high sensitivity, sometimes too high. The technique is easy to handle, rapid (1,5 hours), the failure's percentage is low. For routinely pre-transplant immune status characterisation, the CDC-AHG still remains the basic method, but the use of a second method, more sensitive, is justified. The results of these additional assays could be good predictors of risk after organ transplantation.

The different assays must be analysed together and in correlation with clinical dates, and that will offer in the future more indications about which antibodies are clinically relevant.

## P8. Rolul testelor de laborator în aprecierea calității grefonului din transplantul medular autolog

**C. Călugăroiu, T. Pușcariu, A. Dumitrescu, A. Moicean, V. Mirea, D. Ostroveanu, D. Vasilache, V. Moraru, D. Coliță, C. Arion**

*Departamentul de Transplant Medular, Clinica de Hematologie, Institutul Clinic Fundeni - București*

**Introducere.** În autotransplantul de celule stem hematopoietice, colectarea celulelor din sângele periferic constituie modalitatea preferată de obținere a grefonului; refacerea hematologică este mai rapidă, bineînțeles atunci când nu ridică probleme calitatea grefonului.

**Pacienți și criterii de studiu.** Au fost studiați 100 de pacienți, obținându-se, în total, 165 grefoane. Indicatorii de calitate analizați au fost: numărul celulelor mononucleare și al celulelor CD34+, procentul celulelor viabile, obținut prin metoda excluderii cu albastru de tripan și numărul CFC-GM, în funcție de categoriile de boală diagnosticate, curele aplicate în vederea mobilizării și tipul de probe (înainte sau după crioconservare).

**Rezultate.** Aplicând metoda de mobilizare a celulelor prin chimioterapie în asociere cu FSC-G, s-a constatat un număr mai mare de celule CD34+ și CFC-GM comparativ cu valorile înregistrate prin administrarea FSC-G singur. Valori satisfăcătoare pentru acești doi parametri s-au obținut, de asemenea, în Boala Hodgkin și în limfomul malign non Hodgkin, când s-a efectuat mobilizare cu DHAP. Evaluarea probelor, după stocarea în azot lichid, a arătat o scădere semnificativă a parametrilor amintiți. Nu s-a observat o corelație între numărul leucocitelor, procentul de mononucleare, numărul celulelor viabile și numărul CFC-GM înainte și după criostocare.

**Concluzii.** Calitatea grefonului, obținut prin afereză, poate fi apreciată prin numărul de celule CD34+, numărul celulelor mononucleare (dedus din formula sanguină), procentul celulelor viabile (obținut cu albastru de tripan) și numărul celulelor capabile să genereze *in vitro* colonii granulo-monocitare. La pacienții inclusi în programul de mobilizare prin chimioterapie în asociere cu FSC-G s-au obținut cele mai bune rezultate privind numărul CD34+ și al CFC-GM.

## Useful laboratory investigations for graft quality control in autologous bone marrow transplantation

**C. Călugăroiu, T. Pușcariu, A. Dumitrescu, A. Moicean, V. Mirea, D. Ostroveanu, D. Vasilache, V. Moraru, D. Coliță, C. Arion**

*BMT Department, Clinic of Haematology, Clinical Institute Fundeni – Bucharest*

**Introduction.** Peripheral blood as source of stem cells is the main method in autologous stem cell transplantation (Auto-SCT) graft obtaining; a better hematopoietic reconstitution is recorded in this case, when the graft quality is obviously in good order.

**Patients and analysis criteria.** One hundred of patients were studied, summarizing 165 grafts finally. The number of mononuclear cells, and CD34+ cells, the percentage of viable cells obtained by trypan blue exclusion method, and CFU-GM number represented the graft quality indicators related to

existing disease, the chemotherapy administrated for CD34+ mobilization and the type of samples (before /after cryopreservation).

**Results.** Mobilising polychemotherapy method associated with growth factors (G-CSF) results in a better harvest of CD34+ cells and CFU-GM, comparatively with G-CSF values obtained by growth factor mobilisation alone. Good values for these two parameters were obtained in Hodgkin Disease and non- Hodgkin Malignant Lymphoma when DHAP protocol mobilization was performed. Cryopreservation scored an important decrease for all these parameters. It was not observed a correlation between number of leukocytes, mononuclear cells, viable cells, and CFU-GM number before/after cryopreservation.

**Conclusions.** The quality of graft obtained by leukapheresis may be estimated by counting CD34+, and mononuclear cells (deducted from blood smear), viable cells (by trypan blue staining method), and the CFU-GM colonies number. Best results of CD34+ cells and CFU-GM harvest were found in patients with a G-CSF associated chemotherapy mobilization.

## P9. Modificări hematologice în hiposplenism - implicații diagnostice

**Roxana Pop<sup>1</sup>, Violeta Nastase<sup>1</sup>, Mirela Ailenei<sup>1</sup>, Claudia Nicorici<sup>2</sup>, Mariana Pațiu<sup>1</sup>**

*Institutul oncologic "Prof. I. Chiricuță", Laborator - Hematologie, 2. Spitalul Clinic Municipal Cluj-Napoca*

Condițiile medicale asociate cu hiposplenism sunt foarte numeroase: congenitale și dobîndite, boli gastrointestinale, boli hepatic, boli autoimune, boli hematologice, boli vasculare și boli infiltrative. În practica clinică cele mai frecvente cauze de deficit funcțional al splinei sunt bolile hepatic și boala celiacă. Examenul morfolologic al frotiului sanguin prezintă modificări tipice în hiposplenism: prezența corpilor Howell-Jolly, codocite, acantocite, rare sferocite. Pe lângă aceste modificări, examinarea frotiului sanguin poate evidenția anomalii caracteristice bolii cauzatoare de hiposplenism.

Decelarea semnelor citologice de hiposplenism poate fi uneori o descoperire întâmplătoare, dar extrem de utilă pentru orientarea diagnosticului. Există câteva configurații hematologice cu înaltă putere sugestivă pentru diagnostic, cum ar fi asocierea semnelor de hipo/asplenism cu semne de deficit de fier în boala celiacă. Semne de hipo/asplenism în amiloidoză pot fi uneori prima modificare care permite suspicionarea diagnosticului corect.

Pentru aceste motive, decelarea semnelor de hipo/asplenism prin microscopia frotiului sanguin are o importanță diagnostică considerabilă.

## **Haematological modifications in hypsplenism. Diagnostic significance**

**Roxana Pop<sup>1</sup>, Violeta Nastase<sup>1</sup>, Mirela Ailenei<sup>1</sup>, Claudia Nicorici<sup>2</sup>, Mariana Patiu<sup>1</sup>**

1. "Prof.Dr.I Chiricuta" Cancer Institute, Laboratory of Hematology, 2. City Clinical Hospital, Cluj Napoca

The medical conditions associated with hypsplenism are very numerous: congenital and acquired, gastrointestinal diseases, hepatic diseases, autoimmune diseases, haematological diseases, vascular diseases and infiltrative diseases. In the clinical practice the most frequent causes of functional deficit of the spleen are hepatic diseases and the celiac disease. The morphological examination of the blood smear presents typical modifications in hypsplenism: the presence of Howell-Jolly bodies,

target cells, acantocytes, rare spherocytes. Besides these modifications, the examination of the blood smear may reveal anomalies characteristic for the diseases causing hyposplenism.

Cytological signs of hyposplenism may sometimes be an accidental discovery, but extremely useful for the orientation of the diagnosis. There are a few haematological configurations with a high suggestive power for diagnosis, such as the association of the signs of hypo/asplenia with signs of iron deficit in the celiac disease. Signs of hypo/asplenism in amyloidosis may sometimes be the first modification allowing the suspicion of the correct diagnosis.

For these reasons, detection of signs of hypo/asplenism by microscopy of the blood smear has a considerable diagnostic importance.

## **P10. Poichilocite mai puțin cunoscute; semnificație diagnostică**

**Violeta Năstase<sup>1</sup>, Roxana Pop<sup>1</sup>, Raluca Hotea<sup>1</sup>, Claudia Nicorici<sup>2</sup>, Mariana Pațiu<sup>1</sup>**

*1. Institutul oncologic "Prof. I. Chiricuță", Laborator - Hematologie; 2. Spitalul Clinic Municipal Cluj-Napoca*

Decelarea modificărilor morfologice eritrocitare este extrem de utilă în diagnosticul bolilor hematologice și nehematologice.

În ciuda progreselor tehnice și a existenței analizoarelor tot mai sofisticate, morfologia eritrocitară este accesibilă doar prin examenul microscopic al frotiului sanguin.

Prezentăm câteva modificări eritrocitare (poichilocite) care sunt mai rar întâlnite în practica medicală, dar care au semnificație diagnostică certă.

1. Prekeratocite (hemighosts, blister cells) – celule care au o masă densă ocupând jumătate din volum, cealaltă jumătate aparând goală.

2. Keratocite – celule cu spiculi (2-6) formate prin fuzionarea membranelor oponente având ca urmare apariția de pseudovacuole și ruptura membranei.

3. Eritrocite neregulat contractate – celule mai mici și mai dense decât eritrocitele de dimensiuni normale, caracterizate prin lipsa palorii centrale.

4. Degmacite (bite cells) – celule care au o lipsă neregulată de substanță în contur, formate prin îndepărțarea corpilor Heinz de către splină.

5. Pincer cells – celule sub formă de ciupercuțe apărute în urma expulziei nucleare incomplete sau separării unui cromozom în timpul mitozei anormale.

În bibliografia autohtonă disponibilă poichilocitele mai sus menționate nu se regăsesc; recunoașterea lor este însă hotărâtoare pentru unele afecțiuni hematologice.

## **Less known poikilocytes; diagnostic significance**

**Violeta Nastase<sup>1</sup>, Roxana Pop<sup>1</sup>, Raluca Hotea<sup>1</sup>, Claudia Nicorici<sup>2</sup>, Mariana Patiu<sup>1</sup>**

*1. "Prof.Dr.I Chiricuță" Cancer Institute, Laboratory of Hematology*

*2. City Clinical Hospital, Cluj Napoca*

The detection of erythrocytary morphological modifications is extremely useful in the diagnosis of haematological and non-haematological diseases.

Despite technical progresses and the existence of more and more sophisticated analysers, erythrocytary morphology is only accessible by way of the microscopic examination of the blood

smear.

We present a few erythrocytary modifications (poikilocytes) which are more rarely encountered in medical practice, but which have a doubtless diagnostic signification.

1. Hemighosts, blister cells – cells that have a dense mass occupying half of the volume, the other half appearing empty.

2. Keratocytes – cells with spicules (2-6) formed by the fusion of the opponent membranes having as a consequence the appearance of pseudo-vacuoles and the tearing of the membrane.

3. Irregularly contracted cells – cells smaller and denser than normal sized erythrocytes, characterised by the lack of the central pallor.

4. Bite cells – cells that have an irregular lack of substance in the contour, formed by way of the removal of the Heinz bodies by the spleen.

5. Pincer cells – cells of the shape of small mushrooms appearing as a consequence of incomplete nuclear expulsion or the separation of a chromosome during abnormal mitosis.

The above mentioned poikilocytes cannot be found in the available bibliography; their recognition is nevertheless decisive for some haematological diseases.

## **P11. Talasemii minore - o patologie subestimată?**

**Mariana Pațiu<sup>1</sup>, Claudia Nicorici<sup>3</sup>, Delia Dima<sup>1</sup>, Cristina Catană<sup>1</sup>, M. Zdrenghea<sup>2</sup>**

*1. Institutul oncologic "Prof.Dr. I. Chiricuță", Laborator - Hematologie; 2. UMF "Iuliu Hațieganu" Catedra Hematologie; 3. Spitalul Clinic Municipal Cluj-Napoca*

Talasemiile minore ocupă locul al 2-lea între cauzele de anemie microcitare după anemia prin deficit de fier. Modificările hemogramei și ale morfologiei eritrocitare nu sunt suficient de precise pentru a face singure diagnosticul diferențial al acestor două entități. Incidența reală a talasemiei minore în țara noastră este necunoscută.

În Ambulatorul Departamentului de Hematologie al IOCNA în 2007, la 60 pacienți s-a suspionat diagnosticul de talasemie minoră. La 24 pacienți s-a efectuat electroforeza hemoglobinei care a identificat: 3 hemoglobinopatii heterozigote cu Hb Lepore, 7 talasemii minore. În Ambulatorul Spitalului Clinic Municipal Cluj Napoca, în anul 2007 s-a efectuat electroforeza hemoglobinei la 19 pacienți; s-au diagnosticat astfel 2 cazuri de hemoglobinopatie heretozigotă cu Hb Lepore, 10 β talasemii minore și 1 caz cu persistență de Hb F. Similitudinea modificărilor hemogramei și ale morfologiei eritrocitare între β talasemia minoră și anemia feriprivă determină numeroase încadrari eronate și justifică obiectivul principal al acestei lucrări de a atrage atenția asupra talasemiei minore - patologie subestimată.

## **Thalassemia minor - an underestimated pathology?**

**Mariana Patiu<sup>1</sup>, Claudia Nicorici<sup>3</sup>, Delia Dima<sup>1</sup>, Cristina Cătană<sup>1</sup>, M.Zdrenghea<sup>2</sup>**

*1. "Prof.Dr. I Chiricuta" Cancer Institute, Laboratory of Hematology; 2. UMF "Iuliu Hatieganu" Hematology Department; 3. City Clinical Hospital, Cluj Napoca*

Thalassemia minor occupies the 2<sup>nd</sup> position among the causes of microcytic anaemia after iron deficiency. The modifications of the blood count and of the erythrocyte morphology are not precise enough to determine the differential diagnostic of these two entities by themselves. The real incidence of thalassemia minor in our country is unknown.

In the Ambulatory of the Haematology Department of The Oncology Institute of Cluj-Napoca in 2007, there was suspicion of diagnosis of thalassemia minor in the case of 60 patients. For 24 patients the electrophoresis of the haemoglobin was carried out, which identified: 3 heterozygote haemoglobinopathies with HbLepore, 7 thalassemia minors. In the Ambulatory of the Municipal Clinical Hospital of Cluj-Napoca, during the year 2007, the electrophoresis of the haemoglobin was carried out for 19 patients; thus 2 cases of heterozygote haemoglobinopathy with Hb Lepore were found, 10 β thalassemia minors and 1 case with persistence of Hb F. The similitude of the modifications of the blood count and of the erythrocyte morphology between β thalassemia minor and iron deficiency anaemia determines many erroneous classifications and justifies the main objective of this work of drawing attention to thalassemia minor – an underestimated pathology.

## **P12. Investigarea sindromului anemic la bolnavul neoplazic**

**Mihaela Scarlat, Aurora Tache, Laura Calustian**

*Institutul Oncologic "Al. Trestioreanu" Bucureşti*

Deoarece în practica curentă anemia este definită prin scăderea valorilor parametrilor care apreciază cantitatea de hematii din circulație, numarul, volumul (Ht) și conținutul lor în hemoglobină, investigația primară obligatorie în toate cazurile în care bănuim prezența unei anemii este hemograma completă, inclusiv stabilirea formulei leucocitare.

Având în vedere frecvența anemiilor considerate secundare în patologia oncologică, am realizat un studiu retrospectiv pe 210 pacienți internați în Institutul Oncologic în perioada noiembrie 2002 - noiembrie 2007, la care s-au efectuat investigații pentru stabilirea diagnosticului de sindrom anemic.

Am urmărit *parametrii hematologici* precum hemoleucograma cu formula leucocitară, reticuloci, punția medulară, și *biochimici*, ca sideremă, feritină, LDH, bilirubină, urobilinogenuria. Doar 62% aveau investigații complete, 33% neavând efectuat un frotiu de sânge periferic.

Punția medulară a putut orienta diagnosticul doar în 70% din cazuri.

Rezultatele evidențiază necesitatea respectării algoritmului de diagnostic pentru stabilirea corectă a tipului de anemie de care suferă pacientul.

## **Anemic syndrome investigation in neoplastic diseases**

**Mihaela Scarlat, Aurora Tache, Laura Calustian**

*Oncological Institute "Al. Trestioreanu" Bucharest*

Since the current definition for anemia is the decrease of all the parameters indicating the quantity of functional red blood cells like number, volume, hematocrit percentage (Ht) and hemoglobin content, the primary investigation that is mandatory in all cases suspected of anemia is the full blood test, including the leukocyte formulae.

By taking into account the large number of secondary anemia occurring in the oncological pathology we performed a retrospective study on a sample consisting in 210 patients registered at the Oncological Institute "Al. Trestioreanu" Bucharest. For all of them the characteristic parameters for anemia detection were investigated such as hematological markers like leukocyte-reticulocyte formulae, medullar puncture, and biochemical markers like sideremy, LDH-ferritin, bilirubin, etc. While only as much as 62% benefit from complete investigation, 33% have not had taken even an elementary peripheral blood sample for investigation.

The medullar puncture was supporting the diagnosis orientation only in 70% of the total number of cases.

The results are pointing out the necessity of obeying the proper diagnosis procedure in the in order to correctly establishing the type of anemia that affects any particular patient.

### **P13. Identificarea stadiilor avansate de limfom Hodgkin prin imunohistochimie**

**Corina Flangea<sup>1</sup>, Sorin Gîju<sup>2</sup>, Elena Potencz<sup>3</sup>, Rodica Mihăescu<sup>4</sup>**

*1. UMF "Victor Babeș" Timișoara, Biochemistry Department; 2. County Hospital No. 1 Timisoara, Central Laboratory; 3. UMF "Victor Babeș" Timișoara, Pathology Department; 4. UMF "Victor Babeș" Timișoara, Hematology Department*

**Introducere.** În acest studiu am utilizat expresia a șase markeri de progresie tumorală cunoscuți, pentru a analiza expresia lor imunohistochimică la nivelul celulelor Hodgkin și Sternberg-Reed în cazurile de limfom Hodgkin clasic. Rezultatele obținute au fost corelate cu subtipul histologic și cu evoluția clinică.

**Material și Metodă.** Am utilizat țesuturi parafinate provenite de la 63 de pacienți internați în Spitalul Municipal Timișoara. Diagnosticul de limfom Hodgkin a fost făcut conform criteriilor clasificării WHO (2001) utilizate în prezent. Pentru reacțiile imunohistochimice am folosit: Bcl2 (clona 124, subclasa IgG1 kappa), p53 (clona DO7), CD31 (clona JC70A), Ki67 (clona MIB1), CD15 (clona C<sub>3</sub>D<sub>1</sub>) și CD30 (clona BerH2). Sistemele de vizualizare au fost: tehnica APPAP cu New Fuchsin ca și cromogen și sistemul LSAB2 cu DAB ca și cromogen. Datele clinice au fost accesibile pentru toți pacienții.

**Rezultate și Discuții.** În studiul nostru am identificat o scădere a expresiei CD15 și o creștere a expresiilor CD30, Bcl2 și Ki67 în stadiile avansate de limfom Hodgkin dar nu am observat nici o corelație cu tipul histologic. De asemenea, am găsit o corelație bună între stadiile clinice avansate și expresia CD30 și Bcl2. Am observat doar în câteva cazuri de limfom Hodgkin stadiul IV celule care exprimă CD31 și cazuri izolate p53 pozitive.

**Concluzii.** Studiul nostru indică necesitatea restadializării pacienților cu stadiile I și II, dar cu o expresie intensă a CD30 și Bcl2 pentru a exclude un stadiu avansat cu evoluție rapidă letală. Precizia stadalizării clinice are un rol foarte important pentru eficacitatea terapiei.

### **Hodgkin's lymphoma advanced stage identified by immunochemistry**

**Corina Flangea<sup>1</sup>, Sorin Giju<sup>2</sup>, Elena Potencz<sup>3</sup>, Rodica Mihaescu<sup>4</sup>**

*1. UMF "Victor Babes" Timisoara, Biochemistry Department; 2. County Hospital No. 1 Timisoara, Central Laboratory; 3. UMF "Victor Babes" Timisoara, Pathology Department; 4. UMF "Victor Babes" Timisoara, Hematology Department*

**Introduction.** Classic Hodgkin lymphomas were analyzed by immunohistochemistry for expression of six tumoral progression markers in Hodgkin and Sternberg-Reed cells. The results obtained were correlated with the histological subtype and clinical course.

**Material and Method.** Paraffin-embedded tissue specimens from 63 patients of City Hospital Timisoara were available. The diagnosis Hodgkin lymphoma was assessed according to criteria of the

current WHO classification (2001). Immunohistochemistry was done with the following antibodies Bcl2 (clone 124, subclass IgG1 kappa), p53 (clone DO7), CD31 (clone JC70A), Ki67 (clone MIB1), CD15 (clone C<sub>3</sub>D<sub>1</sub>) and CD30 (clone BerH2). As a detection system we used APAAP technique and New Fuchsine as chromogen or LSAB2 system and DAB as chromogen. Clinical data were accessible for all patients.

**Results and discussions.** We identified a decreased expression of CD15 and an increased expression of CD30, Bcl2 and Ki67 in advanced stage of patients with Hodgkin's lymphoma but no correlation with histological subtypes. We found a strong correlation especially between CD30 and Bcl2 expressions and clinical advanced stage. We observed cells which express CD31 only in few cases of bulky Hodgkin's disease in stage IV and isolated cases p53 positive.

**Conclusions.** Our study indicates that in Hodgkin lymphoma patients of stage I and II and with an additional high expression of Bcl2, and CD30 a re-staging should be performed to exclude a covert higher stage. The precise clinical staging is very important for adequate and successful therapy.

#### **P14. Rezistența la proteina C activată analizată printr-un procedeu bazat pe testul APTT**

**Lucia Dican<sup>1</sup>, M. Cucuiaru<sup>1</sup>, Illeana Olteanu<sup>1</sup>, Ioana Brudașcă<sup>1</sup>**

*1. Catedra de Biochimie Medicală, Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu” Cluj-Napoca*

Dahlback și colab. au evidențiat în 1993 o mare incidență a trombozelor venoase profunde în cazul subiecților cu rezistență la proteina C activată (APC), iar acest defect al mecanismului anticoagulant a fost atribuit de către Bertina și colab. în 1994, unei mutații Arg 506Gln în lanțul lung al moleculei factorului V al coagulației. Rezistența la APC poate fi deci detectată fie prin metodele biologiei moleculare, detectându-se mutația, fie prin procedee funcționale, demonstrând un răspuns anticoagulant redus la adaosul de APC. Utilizând un procedeu bazat pe testul APTT aplicat la plasma diluată cu plasmă deficitară în factorul V (COATEST-APC resistance V) s-a găsit că rezistența față de APC a survenit la 30,8% din cei 39 pacienți cu tromboză venoasă profundă, dar și la 7,14% din cei 56 subiecți care nu au fost vreodată afectați de procese trombotice. Deși rezistența la APC perturbă un important mecanism anticoagulant și în plus încetinește fibrinoliza, rolul patogen al acestei anomalii pare a fi condiționat de asocierea cu alte stări protrombotice.

#### **Activated protein C resistance analyzed by an APTT-based assay**

**Lucia Dican<sup>1</sup>, M. Cucuiaru<sup>1</sup>, Illeana Olteanu<sup>1</sup>, Ioana Brudașcă<sup>1</sup>**

*1. Biochemistry Department, UMF “Iuliu Hatieganu” Cluj*

A high incidence of deep vein thrombosis in subjects displaying resistance to activated protein C (APC) had been demonstrated by Dahlback et al in 1993 and this impaired anticoagulant mechanism was attributed in 1994 by Bertina et al to the Arg506Asn mutation in the long chain of clotting factor V. Detection of APC-resistance may therefore be obtained by either molecular biology techniques detecting the mutation by functional assays demonstrating a poor anticoagulant response to APC in patients plasma. By using an APTT-based assay in plasma samples previously diluted with factor V deficient plasma (COATEST-APC resistance V) this abnormal response to APC was detected by our laboratory in 30,8% of the 39 patients with deep vein thrombosis but also in 7,14% of the 56 subjects

who had never experienced thrombotic events. Although APC resistance impairs an important feedback anticoagulant mechanism and would also delay fibrinolysis, its pathologic role seems to be conditioned by association with other prothrombotic conditions.

## **P15. Monitorizarea excreției fluorurii urinare în cadrul profilaxiei disfuncțiilor tiroidiene**

**Zita Fazakas, Melinda Székely, Annamária László, Stefan Hobai**

*UMF Tg. Mureș, Disciplina de Biochimie*

Lucrarea prezintă necesitatea monitorizării fluorurii urinare la pacienți hipertiroidieni nefrațați din Târgu Mureș, unde în apa potabilă concentrațiile ionilor de fluorură și iodură nu ating valorile optime (0,1 ppm în loc de 1 ppm, respectiv 1 µg/L în loc de 2 µg/L).

Au fost luați în studiu 10 bolnavi cu hipertiroidism și două grupe martor, 62 de copii preșcolari și 50 de studenți. Concentrația fluorurii urinare a fost măsurată cu electrod de F<sup>-</sup>-selectiv.

În cazul copiilor preșcolari excreția fluorurii urinare zilnică este de 35% iar în cazul studenților ea este 41%, valori care corespund excreției optime. Restul de fluorură se acumulează în țesutul osos, dental, în glandele tiroide. În cazul bolnavilor cu hipertiroidism excreția este 85%, deci eliminarea fluorurii este mult mai mare. Fiindcă F<sup>-</sup> în exces stimulează eliminarea iodurii, probabil că, în mod reciproc, iodura în exces stimulează eliminarea fluorurii, lucru constatat în lucrarea de față în cazul bolnavilor de hipertiroidism.

**Concluzii:** La concentrații urinare de 1 ppm F din țesuturi previn caria dentală și nu alterează funcția tiroidiană. La concentrații cuprinse între 2,3-4,5 ppm ei reduc metabolismul basal al pacienților cu hipertiroidism prin inhibarea concentrării iodurii în glanda tiroidă, dat fiind faptul că această glandă concentrează în celulele sale prin transport activ toți halogenii. La concentrații de peste 5 ppm în urină, ionii de fluorură se găsesc la nivele toxice și pot cauza fluoroză dentală sau scheletică și hipotiroidism. Considerăm că este necesară monitorizarea excreției fluorurii urinare în cadrul profilaxiei cariei dentare și a disfuncțiilor tiroidiene.

## **Monitoring of urinary fluoride excretion within the prophylaxis of dysfunctions of thyroid glands**

**Zita Fazakas, Melinda Székely, Annamária László, Stefan Hobai**

*UMF Târgu Mureș, Biochemistry Department*

The aim of the study was to present the necessity of monitoring urinary fluoride in the case of patients with untreated hyperthyroidism from Târgu Mureș, where the fluoride and iodide concentration of the tap water doesn't reach the optimal level (0,1 ppm instead of 1 ppm respectively 1 µg/L instead of 2 µg/L).

The research was done on 10 patients having hypothyroidism and 2 control groups, 62 preschool children and 50 students. The concentration of urinary fluoride was measured with the selective F<sup>-</sup> electrode.

In the case of preschool children the daily urinary fluoride excretion is of 35%, in the case of students 41%, these values correspond with the optimal excretion level. The rest of the fluoride accumulates in the bone tissues, dental tissues or thyroid glands. In the case of patients with

hypothyroidism the excretion is of 85%, the level of fluoride excretion is much higher.

Forasmuch the excess of fluoride stimulates iodide excretion; probably iodide excess also stimulates fluoride excretion, based on the present paper in the case of patients with hyperthyroidism.

Conclusion: at 1 ppm fluoride concentration the fluoride ion prevents dental caries and doesn't change the thyroid function. Prolonged administration of a daily dose of 2,3 - 4,5 ppm of fluoride to patients with hyperthyroidism may reduce the basic metabolism, because the fluoride ion inhibits the thyroid gland's iodide-concentrating mechanism. The reason of this fact is that the thyroid gland has an affinity for all halogens. If the concentration of urinary fluoride is greater than 5 ppm, the concentrations of this ion in other compartments are toxic; they may cause dental fluorosis and hypothyroidism. We conclude that the monitoring of urinary fluoride excretion is necessary with respect to the prophylaxy of dental caries and disfunctions of thyroid glands.

## **POSTERE - MICROBIOLOGIE/ POSTERS - MICROBIOLOGY**

### **P16. Mediile de cultură în noua eră a controlului de calitate în laboratoarele de microbiologie**

**Ana Magdalena Saizu**

*Spitalul Clinic de Copii "Louis Turcanu" Timișoara*

Investigațiile realizate în laboratorul clinic au evoluat enorm în ultima perioadă, grație folosirii unor echipamente sofisticate și a unor reactivi de înaltă calitate.

Pentru a avea încredere în rezultatele obținute trebuie să monitorizăm în permanență performanțele laboratorului și să le menținem la cele mai înalte standarde ale calității.

În laboratorul de microbiologie elemental definiitoriu îl reprezintă mediul de cultură. Calitatea acestuia dictează corectitudinea rezultatului. Controlul calității poate fi împărțit în 3 etape:

- controlul preparării mediului incluzând testarea parametrilor fizici și chimici;
- controlul performanței mediilor de cultură;
- controlul condițiilor de stocare.

Controlul de calitate în microbiologie intră într-o nouă decadă. Până acum se urmăreau procedurile de laborator. Astăzi se impune ca întreg procesul pornind de la solicitarea doctorului clinician și până la interpretarea rezultatelor de laborator să fie urmărit.

Presiunea exercitată de autorități pentru scăderea costurilor în sănătate va duce la o tranșantă împărțire a procedurilor productive și neproductive. Urmărind evoluția lucrurilor în alte țări, observăm soluția găsită de ei: crearea unor laboaratoare de referință zonale unde volumul mare de probe ce trebuie testate duce la scăderea costurilor pentru controlul de calitate.

Pentru o eficiență maximă e nevoie de proceduri practice și de un personal bine pregătit care să înțeleagă necesitatea controlului și să participe activ la realizarea lui.

## Culture media in the new era of quality control within microbiology laboratories

**Ana Magdalena Saizu**

*Children Clinical Hospital “Louis Turcanu” Timișoara*

Clinical investigations underwent a spectacular evolution lately, due to the use of more sophisticated equipments as well as high quality reagents, embracing the latest technology benefits.

In order to obtain fully reliable results we also need to constantly check laboratory performance and keep pace with highest quality standards. Culture medium represents the key element for microbiology labs.

Its quality automatically engenders the accuracy of the tests. Quality control can go into 3 stages, as follows:

- supervising the lab environment preparation, including chemical and physical parameters testing;
- culture media performance check;
- storage conditions check.

Microbiology quality control is at the dawn of a new Era. Up to recent times, only the lab procedures were under minute-care supervision. Nowadays, all procedures go through a keen-eye check, medical records including everything from the physician's order entries to the lab results.

The increasing pressure of authorities on cutting-off health costs will lead to a clear-out division between productive and non-productive procedures.

Other more developed countries have already come up with this solution: building of local reference labs, where the increased number of samples to be tested will engender lower costs for quality check.

To attain maximum efficiency, more practical procedures are necessary, as well as highly instructed personnel who can fully grasp the meaning of this imperative need and who can pro-actively embrace this change.

## P17. Studiu prospectiv al infecției cu rotavirus în cadrul Spitalului de Copii “Louis Turcanu” Timișoara

**Ana Magdalena Saizu, Maria Lesovici, Tunde Vetezi, Miliana Trasca**

*Spitalul Clinic de Copii “Louis Turcanu” Timișoara*

În studiul de față ne-am propus să analizăm diferite aspecte ale infecției cu rotavirus la cazurile din cadrul Spitalului de Copii “Louis Turcanu” Timișoara. Am ales acest subiect de studiu din următoarele considerente:

- gastroenteritele virale se apropie ca frecvență de infecțiile respiratorii virale;
- infecția cu rotavirus e cea mai frecventă cauză de diaree la copii cu vârste cuprinse între 6 luni și 5 ani;
- faptul că virusul e rezistent în mediul extern și calea de transmitere este fecal-orală, fac din prevenția infecției cu rotavirus un obiectiv principal în managementul stării de sănătate a copiilor din creșe, grădinițe și alte colectivități.

Am studiat 1036 de cazuri cu probleme digestive, dintre acestea 134 au avut suspiciunea de

infecție cu rotavirus. Diagnosticul infecției a fost unul serologic, prin identificarea rapidă a antigenului, folosind latex aglutinarea.

Rezultatele studiului sunt congruente cu rezultatele altor studii asemănătoare citate în literatura de specialitate. Particularitatea studiului o reprezintă evidențierea unei ponderi mai mari a cazurilor în secția de distrofici. Se accentuează astfel rolul imunității jucat în infecția cu rotavirus.

## **Prospective study of rotavirus infection within “Louis Turcanu” Children Hospital in Timișoara**

**Ana Magdalena Saizu, Maria Lesovici, Tunde Vетеси, Miliana Trasca**

*“Louis Turcanu” Children Clinical Hospital Timișoara*

In the present study I aim to tackle several medical issues related to rotavirus infection within L T children hospital in TM.I particularly chose this studytopic for the following reasons:

- viral gastroenteritis almost equalized the viral respiratory infections in its occurrence;
- rotavirus infection is the most common-spread cause for diahreea affecting infants and children up to 5 years old;
- the concerning fact that rotavirus is medium-resistant, easily transmitted by hand-to-mouth contact, with stool from an infected person, remaining active on all surfaces.

Prevention of this extremely severe infection is of utmost concern for pediatricians assessing children health, especially in communities such as nurseries and pre-schools.

I studied 1036 cases of digestive problems, of which 134 highly indicating rotavirus infection as root-cause for the symptoms.

Infection diagnosis was serological-based, after quick antigen identification, using latex agglutination.

The results of this study were astonishingly inter-twined with similar studies in the field.

Underlining the higher occurence of this disease among the dystrophic patients represents the most particular feature of this study.

Key-role played by the imune system in fighting rotavirus is therefore underlined here.

## **P18. *Escherichia coli*: incidență și chimiosensibilitate în septicemii la copil**

**Tunde Vетеси, Miliana Trasca, Maria Lesovici, Simona Lavinia Mitica, Laura Motoi**

*Spitalul de Urgență pentru Copii “Louis Turcanu” Timișoara*

Rata mortalității în septicemii este de circa 30-80%, un prognostic mai sumbru înregistrându-se în infecțiile cu germeni Gram-negativi.

Au fost luate în studiu 2169 de hemoculturi în perioada 1 ianuarie-31 decembrie 2006 și 2916 hemoculturi în perioada 1 ianuarie - 31 decembrie 2007 recoltate de la pacienții internați în secțiile de pediatrie în cadrul Spitalului de Urgență pentru Copii “Prof. Dr. Louis Turcanu” din Timișoara, analizând comparativ etiologia, incidența tulpinilor de *Escherichia coli* și chimiosensibilitatea germenilor izolați.

Izolarea germenilor s-a făcut pe sistemul automat BACTEC 9060 cu flacoane speciale Peds Plus AEROBIC/ F, ANAEROBIC/ F, MYCOSIS I.C/ F, flacoane universale SIGNAL ( OXOID), geloză sânge Columbia, agar MacConkey, iar identificarea prin galerii API 20E (Bio-Merieux). Antibio-gramele s-au efectuat prin metoda difuzimetrică Kirby-Bauer conform standardelor NCCLS 2006.

Rezultatele studiului relevă o creștere a numărului de cazuri cu germenii Gram-negativi de la un an la altul, creșterea incidenței tulpinilor de *Escherichia coli* în 2007 față de anul precedent și o dominantă a infecției cu *Escherichia coli* pe secția de oncohematologie.

Am remarcat o foarte bună sensibilitate a tulpinilor de *Escherichia coli* la carbapeneme și fluorochinolone, precum și apariția unui număr crescut de tulpini rezistente la cefalosporine și aminoglicozide în anul 2007 comparativ cu anul 2006.

### ***Escherichia coli: frequency and antibiotic resistance of strains recovered from children with sepsis***

**Tunde Vetezi, Miliana Trasca, Maria Lesovici, Simona Lavinia Mitica, Laura Motoi**

*“Louis Turcanu” Pediatric Emergency Hospital Timișoara*

The mortality rate in sepsis cases is approximately 30-80%, a worse prognostic being observed in infections generated by the gram negative germs.

Between 1<sup>st</sup> January- 31 December 2006 we have studied 2169 blood cultures and 2916 blood cultures between 1<sup>st</sup> January-31 December 2007, taken from the patients hospitalised in the pediatric departments at “Prof. Dr. Louis Turcanu” Pediatric Emergency Hospital Timișoara, by analysing comparatively the origine, the frequency of *Escherichia coli* and the antibiotic resistance of the isolated germs.

The isolation of the germs has been made through the authomatic system BACTEC 9060 with special bottles Peds Plus AEROBIC/ F, ANAEROBIC/ F, MYCOSIS I.C/ F, universal bottles SIGNAL (OXOID), Columbia blood agar base, MacConkey agar and the identification through API 20 E strips (Bio-Merieux). Antibiotic resistance was determined by the disc diffusion method Kirby-Bauer according to NCCLS 2006 standards.

The results are showing an increasing number of sepsis cases with Gram-negative germs from one year to another, the increasing of *Escherichia coli* frequency in 2007 comparatively with the year before and a preponderence of the *Escherichia coli* infection in the oncohematology department.

We have noticed a good sensitivity of *Escherichia coli* at carbapenem and fluoroquinolone as well as the occurrence of an increased number of resistant strains to cephalosporin and aminoglycoside in 2007 comparative to 2006.

### **P19. Infectii bacteriene și micotice în sfera ORL**

**Denis Șerban<sup>1</sup>, Camelia Gurban<sup>2</sup>, Felicia Sfrijan<sup>2</sup>, Monica Licker<sup>1</sup>, Ramona Lăcătuș<sup>1</sup>, Delia Muntean<sup>1</sup>, Mihaela Popa<sup>1</sup>, Delia Berceanu<sup>1</sup>, Matilda Rădulescu<sup>1</sup>, Roxana Moldovan<sup>1</sup>**

*1. UMF “Victor Babeș” Timișoara, Catedra de Microbiologie și Virusologie; 2. UMF “Victor Babeș” Timișoara, Catedra de Biochimie*

Obiective: Identificarea agenților patogeni din secrețiile purulente prelevate din sfera ORL și testarea sensibilității la antibiotice și antimicotice cu scopul stabilirii unor scheme eficiente de tratament.

Materiale și metode: Au fost examineate secrețiile purulente provenite de la 45 de pacienți din ambulator care s-au adresat unui laborator de analize medicale din Timișoara în anul 2007. Toți

pacienții au prezentat simptomatologie afirmativ pozitivă în sfera ORL (13 cazuri de otită medie acută supurată, 15 cazuri de sinuzită frontală acută supurată și 17 cazuri de rinofaringoamigdalită purulentă acută). Produsele biologice au fost însământate pe medii de cultură specifice (geloză simplă, geloză sânge, Chapman, MacConkey, Sabouraud); după pozitivarea culturilor s-au efectuat frotiuri colorate Gram și teste biochimice specifice, iar apoi s-au efectuat antibiograme și antifungigrame prin metoda difuzimetrică Kirby-Bauer în funcție de agentul patogen identificat.

**Rezultate și discuții:** În secrețiile purulente analizate s-a constatat prezența a 20 tulpini de *Staphylococcus aureus* meticilino-rezistente (MRSA) și 11 tulpini de *Klebsiella pneumoniae* fenotipul BLSE (betalactamaze cu spectru extins). Au mai fost izolate 8 tulpini de *Pseudomonas aeruginosa* fenotip hiperproducător de cefalosporinază (TIC-R, CAZ-R), cu rezistență izolată la carbapeneme și 6 tulpini *Escherichia coli* fenotipul cu rezistență multiplă la quinolone și aminoglicozide. În toate cazurile au fost izolate levuri din genul *Candida* sp. sensibile la fluconazol și ketoconazol.

**Concluzii:** Creșterea alarmantă a tulpinilor multirezistente sugerează revizuirea schemelor de tratament antibiotic și antifungic pentru ameliorarea calității vieții și prevenirea apariției altor complicații infecțioase la acești pacienți.

## Bacterial and fungal infections in oto-rhino-laryngology (ENT)

**Denis Serban<sup>1</sup>, Camelia Gurban<sup>2</sup>, Felicia Sfrijan<sup>2</sup>, Monica Licker<sup>1</sup>, Ramona Lăcătus<sup>1</sup>, Delia Muntean<sup>1</sup>, Mihaela Popa<sup>1</sup>, Delia Berceanu<sup>1</sup>, Matilda Rădulescu<sup>1</sup>, Roxana Moldovan<sup>1</sup>**

1. UMF "Victor Babeș" Timișoara, Department of Microbiology and Virusology;
2. UMF "Victor Babeș" Timișoara, Department of Biochemistry

**Objectives:** identifying the pathogenic agents from the purulent secretion taken from ENT areas and testing the sensitiveness to antibiotics and antifungal therapy in order to establish an effective scheme of treatment.

**Materials and methods:** the purulent secretions have been examined from 45 out-patients clinic. The secretions have been taken to a clinical laboratory in Timișoara in 2007. All the patients showed positive symptomatology in the ENT area (13 cases of acute purulent otitis, 15 cases of frontal acute purulent sinusitis and 17 cases of acute purulent rhino-pharyngo-tonsilitis). The biological products have been impregnated into the specific medium culture (plain agar-agar, blood agar-agar, Chapman, MacConkey, Sabouraud). After the cultures were positive, Gram-colored smears and specific biochemical tests have been done and then antibiotic and antifungal tests have been performed through the Kirby-Bauer disc diffusion method, in accordance with the identified pathogenic agent.

**Results and debates:** 20 strains of Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (or MRSA) have been found in the analyzed purulent secretion and 11 strains of *Klebsiella pneumoniae* phenotype BLSE (broad spectrum of beta-lactam). 8 strains of *Pseudomonas aeruginosa* have been isolated, phenotype that is a super producer of cephalosporin (TIC-R, CAZ-R) with and isolated resistance to carbapeneme and 6 strains of *Escherichia coli*, the phenotype with multiple resistance to quinolones and aminoglycosides. Leavens of the *Candida* spp. types have been identified in all cases that are sensitive to fluconazole and ketoconazole.

**Conclusions:** the alarming increase of the multiple resistance strains suggests that the scheme of antibiotic and antifungal therapy should be revised so that the patients could have healthier lives and other infections could be prevent to appear.

## P20. Rezistența la quinolone a tulpinilor de *Escherichia coli*

**D. Șerban<sup>1</sup>, Camelia Gurban<sup>2</sup>, Felicia Sfrijan<sup>2</sup>, Monica Licker<sup>1</sup>, Liliana Dan<sup>1</sup>, Dorina Dugăeșescu<sup>1</sup>, F. Horhat<sup>1</sup>, C. Piluț<sup>1</sup>, Elena Hogaș<sup>1</sup>, Roxana Moldovan<sup>1</sup>**

**1. UMF "Victor Babeș" Timișoara, Catedra de Microbiologie și Virusologie; 2. UMF "Victor Babeș" Timișoara, Catedra de Biochimie**

**Obiective:** Studiul rezistenței la quinolone a tulpinilor de *Escherichia coli* izolate și identificate din uroculturi, realizat într-un laborator de analize medicale din Timișoara în decursul anului 2007.

**Materiale și metodă:** Au fost studiate 150 tulpieni de *Escherichia coli* izolate dintr-un număr total de 520 de uroculturi pozitive. Germenii au fost identificați cu ajutorul galeriilor API (BioMerieux), testarea sensibilității la antibiotice s-a făcut prin metoda difuzimetrică Kirby-Bauer, iar interpretarea rezultatelor s-a efectuat conform standardului CLSI.

**Rezultate și discuții:** Se remarcă prezența unor fenotipuri de *Escherichia coli* cu rezistență încrucișată la quinolone, fenotipul IV - 35 de tulpieni (CIP, NOR rezistente), cu rezistență crescută la quinolone fenotipul III - 92 de tulpieni (CIP sensibil, NOR rezistente), iar 23 din tulpinile izolate au prezentat fenotipul sensibil la quinolone. Nici una din tulpinile de *Echerichia coli* nu a prezentat fenomenul de eflux caracterizat prin rezistență izolată la norfloxacin.

**Concluzii:** Creșterea incidentei tulpinilor de *Escherichia coli* multirezistente la quinolone constituie un imperativ pentru găsirea unor alternative terapeutice noi, deoarece fluorochinolonele sunt frecvent utilizate în medicația infecțiilor urinare.

### The Quinolones resistance of *Escherichia coli* strains

**Denis Șerban<sup>1</sup>, Camelia Gurban<sup>2</sup>, Felicia Sfrijan<sup>2</sup>, Monica Licker<sup>1</sup>, Liliana Dan<sup>1</sup>, Dorina Dugăeșescu<sup>1</sup>, Florin Horhat<sup>1</sup>, Ciprian Piluț<sup>1</sup>, Elena Hogaș<sup>1</sup>, Roxana Moldovan<sup>1</sup>**

**1. UMF "Victor Babeș" Timișoara, Department of Microbiology and Virusology; 2. UMF "Victor Babeș" Timișoara, Department of Biochemistry**

**Objectives:** the study of Quinolones resistance of *Escherichia coli* strains isolated and identified from the urocultures. The study has been done in a clinical laboratory in Timișoara in 2007.

**Materials and methods:** there have been studied 150 strains of *Escherichia coli* isolated from a total number of 250 positive urocultures. The germs have been identified using the API galleries (BioMerieux). The testing for sensitiveness has been done through the Kirby-Bauer disc diffusion method and the results have been explained in accordance with the CLSI standard.

**Results and debates:** there have been noticed the presence of some phenotypes of *Escherichia coli* with cross-resistance to quinolones, phenotype IV- 35 strains (CIP, NOR resistant) with increased resistance to quinolones of phenotype III – 92 strains (sensitive CIP, resistant NOR) and 23 isolated strains have presented the sensitive phenotype to quinolones. None of the *Echerichia coli* strains have shown the effluent phenomenon characterized by isolated resistance to norfloxacin.

**Conclusions:** the increase in number of the *Escherichia coli* strains which are multi resistant to quinolones forces us to find a new and alternative therapeutic method because the fluoroquinolones are widely used for the urinary infections.

## **P21. Evaluarea rezistenței la antibiotice a enterococilor implicați în infecții urinare**

**Mihaela Idomir<sup>1,2</sup>, Rodica Guth<sup>2</sup>, Daniela Neculoiu<sup>2</sup>, Lucia Baiu<sup>2</sup>, Mihaela Ardeleanu<sup>2</sup>**

*1. Universitatea "Transilvania", Brașov; 2. Spitalul Clinic Județean de Urgență Brașov*

La om, enterococci fac parte din flora intestinală normală și pot coloniza tractul respirator superior și cavitatea vaginală. De asemenea, sunt agenții etiologici ai unor infecții, mai frecvent urinare dar și biliare, peritoneale, endocardice, meningeale, sistemice sau ale plăgilor. Infecțiile urinare enterococice apar mai ales la pacienții spitalizați, cu factori de risc cum ar fi terapia antibiotică sau imunosupresivă și procedurile medicale invazive. Apariția și răspândirea rapidă a tulpinilor enterococice rezistente la glicopeptide și aminoglicozaide produce o îngrijorare crescândă.

Studiul retrospectiv a inclus enterococi izolați din urina pacienților internați în Spitalul Clinic Județean de Urgență Brașov. Obiectivele au constat în evaluarea gradului de implicare în infecții urinare, a rezistenței la antibiotice, a ponderii tulpinilor rezistente sau intermedier rezistente la glicopeptide și a tulpinilor cu rezistență înaltă la gentamicină.

S-a practicat urocultura prin metoda anselor calibrate, iar pentru identificarea enterococilor s-au utilizat testul bilă-esculină și galerii API. Antibiograma a fost realizată conform CLSI, prin metoda difuzimetrică. Testarea tulpinilor cu nivel înalt de rezistență s-a realizat cu biodiscuri de gentamicină 120 µg.

Enterococci au fost implicați în 5, 95% dintre infecțiile urinare. S-au înregistrat procente variate de rezistență la antibioticele testate, mai ridicate la eritromicină și ciprofloxacin. A fost obținut un procent redus de enterococi intermedier rezistenți la vancomycină (2,15%). Nu s-au evidențiat enterococi rezistenți la vancomycină. Au existat procente egale de tulpini rezistente și intermedier sensibile la teicoplanin (2,15%). Tulpinele cu nivel înalt de rezistență la gentamicină au reprezentat 25,4% din cele testate.

### **Antibacterial resistance of enterococci implicated in urinary tract infections**

**Mihaela Idomir<sup>1,2</sup>, Rodica Guth<sup>2</sup>, Daniela Neculoiu<sup>2</sup>, Lucia Baiu<sup>2</sup>, Mihaela Ardeleanu<sup>2</sup>**

*1. "Transilvania" University of Brașov; 2. Clinical County Emergency Hospital of Brașov*

In humans, enterococci are component of normal intestinal flora and may colonize upper respiratory tract and vaginal cavity. Also, these germs are etiological agents of some infections, most frequently, urinary tract infections, but also cholecystitis, peritonitis, endocarditis, meningitis, septicemia and wound infections. Urinary infections determined by enterococci occur especially in hospitalized patients who are associated with risk factors as antibiotic or immunosupresive therapy and invasive medical procedures. The progressive emergence and fast spread of resistant enterococcal strains to glycopeptides and amynoglycosides produce an increasing concern.

Our retrospective study included enterococci isolated from the urine of the patients hospitalized in the Clinical County Emergency Hospital of Brașov. The objectives have consisted in the evaluation of the degree of implication in urinary infections, resistance to antibiotics, the percentage of resistance or intermediate susceptibility strains to glycopeptides and of the percentage of strains with high level resistance to gentamycin.

The method of calibrated loops was used and for the identification of enterococci we have used the bile-esculin test and API galleries. Antibiogram has been performed according to CLSI, by disc

diffusion method. The testing of the high level resistant strains was done with gentamycin 120 µg bidiscs.

Enterococci were implicated in 5,95% of the urinary infections. Variated percentages of resistance to the tested antibiotics were found, higher to eritromycin and ciprofloxacin. A small percentage of enterococci intermediate resistant to vancomycin (2,15%) were found. No strains were found to be resistant to vancomycin. There have been equal percentages of strains resistant and intermediate susceptible to teicoplanin (2,15%). 25,4% of the tested strains had a high level resistance to gentamycin.

## P22. Aspecte etiologice și terapeutice privind infecțiile urinare comunitare

**Mihaela Idomir<sup>1,2</sup>, Leașu F.<sup>1</sup>, Codruța Nemet<sup>1</sup>, Bălescu A.<sup>1</sup>, Liliana Rogozea<sup>1</sup>**

*1. Universitatea "Transilvania", Brașov; 2. Spitalul Clinic Județean de Urgență Brașov*

Din punct de vedere al frecvenței, infecțiile urinare se situează pe locul al doilea, după infecțiile respiratorii, afectând milioane de persoane și având un impact socio-economic real pe tot globul. Acestea sunt rezultatul colonizării tractului urinar cu diverse agenți microbieni. Germenii patogeni clasic asociați cu aceste afecțiuni își modifică caracteristicile datorită instalării rezistenței la antibiotice. Etiologia acestora este influențată de factori individuali ai gazdei.

Studiul efectuat a fost retrospectiv și a avut drept scop evaluarea spectrului etiologic al infecțiilor urinare acute necomplicate, depistate la pacienți nespitalizați, precum și a rezistenței la antibiotice a tulpinilor bacteriene implicate. Izolarea și identificarea germenilor și antibiograma au respectat recomandările CLSI și au fost realizate în laboratorul KRONMEDICA 2003.

Am constatat că spectrul etiologic al infecțiilor urinare comunitare este divers incluzând *Escherichia coli* (54,3%), *Enterobacter* spp. (34,2%), *Proteus* spp. (5,5%), *Klebsiella* spp. (3%), *Staphylococcus* spp. (2%) și *Pseudomonas aeruginosa* (1%).

Deși lotul a inclus pacienți nespitalizați cu infecții necomplicate, s-au înregistrat procente diferite de rezistență la antibioticele testate. *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp. și *Proteus* spp. au fost rezistente în procente mari la ampicilina (81,2%; 60,6%; 70,6%), amoxicilină-acid clavulanic (81,2%; 69,2%; 76,5%), trimetoprim/sulfametoxazol (47,9%; 58,7%; 76,5%) și acid nalidixic (44,2%; 50%; 76,5%), probabil datorită utilizării mai crescute în ambulator a acestor antibiotice. Datele obținute susțin necesitatea uroculturii și a antibiogramei pentru diagnosticul și terapia eficientă a infecțiilor urinare comunitare.

## Etiological and therapeutic aspects regarding community-acquired urinary tract infections

**Mihaela Idomir, Leașu Florin, Codruța Nemet, Bălescu Alexandru, Liliana Rogozea**

*"Transilvania" University of Brașov*

Urinary infections are the second frequent infections, after the respiratory infections, affecting millions of people and having a high social and economical impact worldwide. They are the result of the colonization of the urinary tract with diverse microbial agents. Clasic pathogenic germs, associated with these diseases modify their characteristics due to the installation of the resistance to antibiotics. Their ethiology is influenced by individual factors of the host.

The aim of this retrospective study was the evaluation of the etiological spectrum of acute

uncomplicated urinary infections, detected in unhospitalized patients, as well as the resistance to antibiotics of the implicated strains. The isolation and identification of the germs were done in the KRONMEDICA 2003 laboratories, according to the CLSI method.

We have determined that the ethiological spectrum of urinary infections is large, including *Escherichia coli* (54,3%), *Enterobacter* spp. (34,2%), *Proteus* spp. (5,5%), *Klebsiella* spp. (3%), *Staphylococcus* spp. (2%) and *Pseudomonas aeruginosa* (1%).

Although the study group has included patients with uncomplicated infections that were not hospitalized, there were detected different percentages of resistance to the tested antibiotics. *Escherichia coli*, *Enterobacter* species and *Proteus* species were resistant in a higher percentage to ampicillin (81,2%; 60,6%; 70,6%), amoxicillin clavulanate (81,2%; 69,2%; 76,5%), trimethoprim/sulfamethoxazole (47,9%; 58,7%; 76,5%) and nalidixic acid (44,2%; 50%; 76,5%), probably due to the large use in ambulatory of these antibiotics. The results sustain the necessity of uroculture and antibiogram for the diagnosis and efficient therapy of the community-acquired urinary infections.

## **P23. Prevalența *Mycoplasma hominis* și *Ureaplasma urealyticum* pe un lot de 1534 de paciente**

**Elena Baicoianu, Mihaela Iliuta, Sandra Stoica, Marta Neacsu, Eliana Dima, Cosmina Filimon**

*Laboratoarele Unisyn București*

Scopul studiului: Incidența *M. hominis* și *U. urealyticum* pe un lot de 1534 paciente venite la consult în cabinetul de ginecologie cu simptomatologie clinică specifică sau la control periodic în perioada ianuarie 2007 – februarie 2008 .

Metoda: După examinarea clinică li s-au recoltat probe din zona endocervicală; s-a efectuat examen microscopic colorat cu albastru de metilen și Gram. *M. hominis* și *U. urealyticum* s-au identificat folosind trusele A.F. Genital System, LIOFILCHEM Bacteriology Products.

Rezultate: Lotul investigat de 1534 paciente cu o mediană de vîrstă de 34 ani (14-54 ani), a prezentat 219 (14,27%) probe pozitive: 176 paciente cu *U. urealyticum* (11,47%), 36 paciente (2,34%) cu *M. hominis*, iar ambele micoplasme în 7 cazuri (0,45%). Un număr de 583 secreții (38%) au avut >10 PMN/câmp, iar 951 (62%) au avut <10 PMN /câmp. Cea mai mare rezistență la antimicrobiene pentru *U. urealyticum* s-a observat la josamicină și claritromycină, iar pentru *M. hominis* la eritromycină și claritromycină.

Concluzii: 1. *M. hominis* și *U. urealyticum* pot determina infecții urogenitale cronice și complicații. 2. În literatură colonizarea căilor genitale și urinare cu micoplasme la persoanele active sexual este 15% cu *M. hominis* și 45-75% cu *U. urealyticum*. 3. În studiul nostru prevalența *U. urealyticum* este 11,47% (176 paciente), iar *M. hominis* este 2,34% (36 paciente), ambele micoplasme prezente în 7 cazuri (0,45%). 4. Sunt necesare mai multe cercetări pentru o înțelegere corectă a rolului *M. hominis* și *U. urealyticum* în infecțiile urogenitale.

## **Prevalence *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma urealyticum* in the study group of 1534 women pacients**

**Elena Baicoianu, Mihaela Iliuța, Sandra Stoica, Marta Neacșu, Eliana Dima, Cosmina Filimon**

*Unisyn Laboratories Bucharest*

The aim of this this study was to evaluate occurrence of *M. hominis* and *U. urealyticum*. A group of 1534 pacients came in gynecology cabinet for consulting with clinical symptomatology or periodical consulting from January 2007 to February 2008.

Method: After clinical examination endocervical samples were collected; Methylene blue staining and Gram was effectuated. *M. hominis* and *U. urealyticum* were identified using A. F. Genital System kit, LIOFILCHEM Bacteriology Products.

Results: The study group consisted of 1534 women aged 14-54 years mean 34 and 219 were found positive (14,27%). *U. urealyticum* was detected in 176 (11,47%), *M. hominis* in 36 (2,34%), and both of them in 7 pacients (0,45%). More than 10 WBC on each high power microscope area were found in 583 samples (38%) and less than 10 WBC in 951 (62%). The highest antimicrobial resistance for *U. urealyticum* was observed to josamycin and clarithromycin, and for *M. hominis* erythromycin and clarithromycin.

Discussions: 1. *M. hominis* and *U. urealyticum* may lead to chronic genitourinary infections. 2. In literature, genital and urinary systems colonisations with micoplasma in sexually active persons is 15% *M. hominis* and 45-75% with *U. urealyticum*. 3. In our study the prevalence *U. urealyticum* is 11,47% (176 pacients) and *M. hominis* 2,34% (36 pacients), both micoplasma were present in 7 cases (0,45%). 4. More research is necessary for a proper understanding of the role of *M. hominis* and *U. urealyticum* in genitourinary infections.

## **P24. *Staphylococcus saprophyticus* în ITU necomplicate**

**Mihaela Iliuta, Elena Baicoianu, Florentina Randuroiu, Simina Florea, Nicoleta Becheru, Cosmina Filimon**

*Laboratoarele Unisyn București*

Scopul lucrării: Incidența *S. saprophyticus* în ITU necomplicate la femeile tinere și, mai rar, la bărbați, în ambulatoriu.

Material: 6521 pacienți s-au prezentat în perioada ianuarie 2007-februarie 2008 la Laboratoarele Unisyn cu uroculturi, 1458 din uroculturi fiind pozitive. Mediana de vîrstă a fost 45 ani (1-89) și repartitia pe sexe: bărbați 22,1% și femei 77,9%.

Metoda: Cultivarea uroculturilor pe agar Columbia – sânge, la 37° C, timp de 18 – 24 ore, identificarea bacteriei: colonii nehemolitice, de tip S, mari (3-9 mm), nepigmentate, catalazo-pozitive, coagulazo-negative, rezistență la novobiocin (diametrul zonei de inhibiție a creșterii pe Muller-Hinton agar < 16 mm) și biotipizare folosind sistemul microtest ApiStaph.

Rezultate: Din 1458 uroculturi pozitive *E. coli* 68,85%, *Klebsiella* 10,25%, *Proteus* 2,8%, *Enterobacter* 1,82%, *Citrobacter* 0,27%, *P. aeruginosa* 0,52%, *Enterococcus* 4,21%, *Streptococcus agalactiae* 5,18%, *S. aureus* 0,94%, *S. saprophyticus* 1,18%, altele 3,98%.

Repartiția pe grupe de vîrstă: 1-20 ani 6%, 21-30 ani 53,3%, 31-40 ani 27,6%, 41-50 ani 13,1%.

Concluzii: 1. *S. saprophyticus* poate fi considerat agent etiologic al ITU, în special la femeile tinere. 2. Din 1458 uroculturi pozitive am izolat *Staphylococcus saprophyticus* în procent de 1,18% 3. Testarea de rutină a sensibilității la antibiotice a izolatelor de *S.saprophyticus* din urină nu este necesară deoarece răspund la agenții antimicrobieni folosiți în tratamentul ITU necomplicate, e.g. nitrofurantoin, trimethoprim/sulfamethoxazol sau fluorochinolone conform CLSI/2007.

### ***Staphylococcus saprophyticus in uncomplicated UTI***

**Mihaela Iliuta, Elena Baicoianu, Florentina Randuroiu, Simina Florea, Nicoleta Becheru, Cosmina Filimon**

*Unisyn Laboratories Bucharest*

The aim of this study was to evaluate occurrence *S. saprophyticus* in uncomplicated UTI in young people (mostly women).

**Materials:** The urine culture of 6521 patients was investigated at Unisyn Laboratory from January 2007 to February 2008; 1458 urine culture was positive. In our study the patient's median age was 45 years (1-89).

**Methods:** The urine culture were inoculated onto blood agar Columbia at 37° C, for 18 – 24 hours, identification of bacteria: non-hemolytic colonies, type S, large (3-9 mm), colourless, catalase-positive, coagulase-negative, resistance to novobiocin (inhibition zone of growth on Muller-Hinton agar <16 mm) and biotyping using microtest system API Staph.

**Results:** On 1458 positive urine culture: *E. coli* 68,85%, *Klebsiella* 10,25%, *Proteus* 2,8%, *Enterobacter* 1,82%, *Citrobacter* 0,27%, *P. aeruginosa* 0,52%, *Enterococcus* 4,21%, *Streptococcus agalactiae* 5,18%, *S. aureus* 0,94%, *S. saprophyticus* 1,18%, others 3,98% .

*S. saprophyticus* strains were detected: 6% in 1-20 years, 53,3% in 21-30 years, 27,6% in 33-40 years, 13,1% in 41-50 years .

**Conclusions:** 1. *S. saprophyticus* may be considered UTI etiologic agent , especially in young women. 2. We isolated 1,18% *Staphylococcus saprophyticus* from 1458 positive urine culture. 3. Routine testing of urine isolates *S. saprophyticus* is not advised, because infections respond to concentration achieved in urine of antimicrobial agents commonly used to treat acute, uncomplicated urinary tract infections (e.g. nitrofurantoin, trimethoprim/sulfamethoxazol or a fluoroquinolone) according to CLSI/2007.

### **P25. Caracterizarea pattern-urilor de rezistență a tulpinilor de *Klebsiella pneumoniae* izolate în secția de ATI**

**Tutelcă Ancuță<sup>1</sup>, Licker M.<sup>2</sup>, Anghel A.<sup>2</sup>, Grecu D.<sup>2</sup>, Seclaman E.<sup>2</sup>, Lenghel F.<sup>2</sup>, Săndesc D.<sup>3</sup>, Brânzeu C.<sup>3</sup>, Opris S.<sup>3</sup>, Orb C.<sup>4</sup>, Bădițoiu L.<sup>2</sup>, Zugravu R.<sup>2</sup>, Moldovan R.<sup>2</sup>**

*1. Laborator de analize medicale "Labordiagnostică" Timișoara; 2. UMF "Victor Babeș" Timișoara; 3. Spitalul Clinic Județean de Urgență Timișoara; 4. Laborator de analize medicale "Medisol" Alba Iulia*

**Introducere:** Implicarea *Klebsiella pneumoniae* într-o gamă variată de infecții nosocomiale la pacienți imunodeprimăți, cu precădere la pacienți din secții de terapie intensivă, precum și lipsa în multe cazuri a unor mijloace eficace de tratament au stârnit interesul pentru studiul acestui

microorganism.

Scopul prezentului studiu a fost evidențierea fenotipurilor circulante și punerea în evidență a genelor *bla<sub>SHV</sub>* și *bla<sub>TEM</sub>* responsabile de rezistența tulpinilor de *K. pneumoniae* izolate din secții cu risc crescut.

**Metodă:** Genotiparea tulpinilor de *K. pneumoniae* producătoare de BLSE s-a realizat prin amplificarea PCR a fragmentelor genice specifice beta-lactamazelor SHV și TEM, utilizând primeri adecvați. Diferențierea genelor *bla<sub>SHV-BLSE</sub>* de *bla<sub>SHV-nonBLSE</sub>* a fost posibilă prin digestia enzimatică a produșilor PCR cu enzima de restricție *NheI*, utilizând tehnica RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism). Pentru determinarea polimorfismului ADN s-a utilizat metoda AFLP-PCR (Amplified fragment length polymorphism PCR).

**Rezultate:** Screening-ul PCR cu primeri specifici TEM și SHV ne-a evidențiat că din cele 35 de tulpi de *K. pneumoniae* multirezistente, 85,71% (30 de tulpi) au prezentat atât gena *bla<sub>TEM</sub>* cât și gena *bla<sub>SHV</sub>* și 14,29% (5 tulpi) au avut doar gena *bla<sub>SHV</sub>*. La cele 21 de tulpi analizate prin AFLP-PCR s-au obținut 12 profiluri de rezistență, gradul de înrudire al acestora fiind stabilit prin aplicarea principiilor lui Tenover.

**Concluzii:** Metodele PCR sunt net superioare testelor fenotipice de încadrare a tulpinilor secretoare de BLSE, precizând gena ce determină expresia fenotipică. AFLP-PCR este o metodă cu o mare putere de discriminare, dar care este laborioasă, costisitoare și care necesită personal înalt calificat și cu experiență.

În secția de ATI din care au provenit tulpiile există o polyclonalitate și o circulație a tulpinilor de *K. pneumoniae* care indică necesitatea revizuirii și îmbunătățirii programelor de control al infecțiilor nosocomiale.

## Characterisation of resistance patterns of *Klebsiella pneumoniae* strains isolated in Intensive Care Unit

**Tutelcă Ancuța<sup>1</sup>, Licker M.<sup>2</sup>, Anghel A.<sup>2</sup>, Grecu D.<sup>2</sup>, Seclaman E.<sup>2</sup>, Lenghel F.<sup>2</sup>, Săndesc D.<sup>3</sup>, Brânzeu C.<sup>3</sup>, Opris S.<sup>3</sup>, Orb C.<sup>4</sup>, Bădițoiu L.<sup>2</sup>, Zugravu R.<sup>2</sup>, Moldovan R.<sup>2</sup>**

*1. Medical Laboratory "Labordiagnostica" Timișoara; 2. UMF "Victor Babeș" Timișoara; 3. Districtual Hospital Timișoara; 4. Medical Laboratory "Medisol" Alba Iulia*

**Background:** The involvement of *Klebsiella pneumoniae* in a large variety of nosocomial infections in immunodepressed patients, especially in ICU patients receiving mechanical ventilation, together with the frequent lack of effective treatment methods, have stirred the interest in the study of this microorganism.

The aim of the present study is to reveal the circulating phenotypes and the *bla<sub>SHV</sub>* and *bla<sub>TEM</sub>* genes responsible with the *K. pneumoniae* resistance isolated in high-risk units.

**Methods:** The genotyping of *K. pneumoniae* strains that produce ESBL was performed by PCR amplification of gene fragments specific to SHV and TEM beta-lactamase, using adequate primers. The *bla<sub>SHV-ESBL</sub>* and *bla<sub>SHV-nonESBL</sub>* gene differentiation was possible through the enzymatic digestion of the PCR products with the *NheI* restriction enzyme, using RFLP (Restriction Fragment Length Polymorphism). AFLP-PCR is a highly sensitive method for detecting polymorphisms in DNA.

**Results:** PCR screening with TEM and SHV specific primers revealed that, of the 35 multiresistant *K. pneumoniae* strains, 85,71% (30) had both the *bla<sub>TEM</sub>* and the *bla<sub>SHV</sub>* gene, while 14,29% (5) had only the *bla<sub>SHV</sub>* gene. The 21 strains analysed showed 12 distinct AFLP patterns. The

relatedness of the strains was established according to Tenover's principles.

**Conclusions:** PCR methods are superior to phenotypic tests that classify the ESBL secreting strains, as they specify the gene that determines the phenotype expression. AFLP-PCR has a good discriminatory power, but is a time consuming method, expensive and needs high qualified and experienced personnel. Circulating of *K. pneumoniae* strains from Intensive Care Unit are polyclonal which denotes the necessity for reviewing and improving the nosocomial infection control policy.

## **P26. Studiu privind morbiditatea prin hepatită virală tip B la pacienții spitalizați**

**F. Răcănel<sup>1</sup>, F. Petrescu<sup>2</sup>, Georgiana Sireteanu<sup>1</sup>, Sorina Cone<sup>1</sup>, Mădălina Stănculescu<sup>1</sup>, O. Zlatian<sup>3</sup>, Lucica Roșu<sup>3</sup>, Andrea Ilie<sup>1</sup>,**

*1. Spitalul Clinic de Urgență Craiova, Laborator de analize medicale; 2. Spitalul Clinic de Urgență Craiova, Medicină Internă; 3. UMF Craiova, Disciplina Microbiologie*

Introducere: Hepatitele virale reprezintă o importantă problemă de sănătate publică.

Material și metodă: A fost realizat un studiu retrospectiv în perioada 1.07.2006 - 31.12.2007, pe 162 pacienți internați în secția de Medicină Internă din cadrul Spitalului Clinic Județean de Urgență Craiova cu diagnosticul de hepatită cronică și ciroză hepatică. Etiologia infecțioasă virală a fost confirmată prin evidențierea imunomarkerilor specifici infecției virale hepatitice tip B, C și D prin metode ELISA (antigen HBs, anticorpi anti-HBs, antigen HBe, anticorpi anti-HBe, anticorpi anti-HBc, anticorpi anti-VHC, anticorpi anti-delta). Concomitent s-a investigat funcția hepatică.

Pacienții au fost grupați în 4 loturi în funcție de diagnosticul clinic și paraclinic:

- Hepatită cronică cu virus tip B (59 cazuri)
- Hepatită cronică cu virusuri tip B și C (3 cazuri)
- Hepatită cronică cu virusuri tip B și D (2 cazuri)
- Ciroză hepatică cu virus tip B (15 cazuri)
- Ciroză hepatică cu virusuri tip B și C (1 caz)

Rezultatele obținute au fost coroborate cu vârsta, sexul, mediul de proveniență al pacienților și stadiul evolutiv al bolii. Morbiditatea prin infecție virală hepatitică tip B a fost de 49,68 % din bolnavii investigați, cu o incidență crescută la femei (75 %), la pacienți proveniți din mediul rural (62,50%), la persoane cu vârstă cuprinsă între 51 – 60 ani (43,75%, dintre care 80% femei) și 41-50 ani (27,5%, dintre care 81,82% femei). S-a constatat o alterare a funcției hepatice.

Concluzii: Investigațiile imunoserologice susțin diagnosticul clinic, stadiul evolutiv, orientând acțiunea terapeutică, monitorizarea evoluției bolii.

## **Morbidity by type B viral hepatitis in hospitalized patients**

**Florin Răcănel<sup>1</sup>, F. Petrescu<sup>2</sup>, Georgiana Sireteanu<sup>1</sup>, Sorina Cone<sup>1</sup>, Mădălina Stănculescu<sup>1</sup>, O. Zlatian<sup>3</sup>, Lucica Rosu<sup>3</sup>, Andrea Ilie<sup>1</sup>**

*1. Clinical Emergency Hospital of Craiova, Medical analysis laboratory; 2. Clinical Emergency Hospital of Craiova, Department of Internal Medicine; 3. University of Medicine and Pharmacy, Craiova, Department of Microbiology*

Introduction: Viral hepatitis represents an important public health issue.

**Material and method:** We performed a retrospective study in the period 1.07.2006-31.12.2007, on 162 patients hospitalized in the Internal Medicine department of Clinical Emergency Hospital from Craiova, Romania, diagnosed with chronic hepatitis and hepatic cirrhosis. The viral etiology was confirmed by specific immunomarkers for viral infection with hepatitis viruses type B, C and D, by ELISA methods (HBs antigen, anti-HBs antibodies, HBe antigen, anti-HBe antibodies, anti-HBc antibodies, anti-VHC antibodies, anti-delta antibodies). In the same time was assessed the function of the liver.

The patients were grouped in 4 lots, according to clinical and paraclinical diagnosis:

- Chronic hepatitis with type B virus (59 cases)
- Chronic hepatitis with type B and C viruses (3 cases)
- Chronic hepatitis with type B and D virus (2 cases)
- Chronic cirrhosis with type B virus (15 cases)
- Chronic cirrhosis with type B and C viruses (1 case)

The results obtained were associated with age, sex, geographic area and evolution stage of the disease. The morbidity by type B viral hepatitis infection was 49,68% from patients investigated, with an increased incidence in women (75%), in patients from countryside areas (62,50%), in persons with age between 51-60 years (43,75%, from which 80% women) and 41-50 years (27,5% from which 81,82% women). We demonstrated an alteration of liver function.

**Conclusions:** The immune serological investigations sustain the clinical diagnosis, evolution stage, helping to guide the therapy and monitoring the course of the disease.

## **P27. Complexul TORCH – test de screening**

**Simona Neamțu**

*UMF Craiova*

Bolile induse de agenții complexului TORCH la femeia gravidă sunt capabile să producă malformații fetale congenitale sau chiar întreruperea de sarcină. Din observațiile actuale am sesizat faptul că, ideal ar fi, ca fiecare gravidă să cunoască statusul imunologic pentru agenții TORCH înainte de concepție. În studiul meu am remarcat faptul că metoda cea mai eficientă de a scădea incidența cazurilor de infecție congenitală o constituie profilaxia. Din aceste considerente controlul prenupțial ar trebui să includă și complexul TORCH. În țara noastră rămâne în continuare o problemă prevenția primară, care necesită intensificarea campaniilor făcute de medicii de familie și medicii obstetricieni. Din cercetările efectuate am sesizat că o altă fațetă a problemei o constituie cultura medicală a populației, care trebuie începută încă din școală. Din studiul actual am constatat că sarcina patologică și gradul scăzut de școlarizare al mamei s-au dovedit factori de risc semnificativi pentru morbiditatea și mortalitatea neonatală. În cazul diagnosticării infecțiilor congenitale TORCH la făt, cu prognostic rezervat este necesar să recomandăm întreruperea sarcinii. Prognosticul copiilor cu infecții congenitale TORCH este rezervat datorită posibilității apariției întârzierii mintale și a sechelelor neurologice, ce se pot dezvolta în luni sau chiar ani după naștere.

## **TORCH complex - screening test**

**Simona Neamțu**

*UMF Craiova*

The diseases induced by TORCH complex agents during pregnancy are capable to produce congenital fetal malformations or even interruption of pregnancy. Based on my research, I noticed that it would ideally be that every pregnant woman should know the immunological status of TORCH agents prior to conception. During my research, I noticed that the most effective method to reduce the number of cases of congenital infection is prophylaxis. Based on these considerations, the prenuptial control should also include TORCH complex. The primary prevention is still an issue in our country and therefore the family doctors and the obstetricians should intensify related campaigns. As noticed during my research, the medical background of the population is another face of the issue and it should start even during school. Based on my research, I noticed that the pathological pregnancy and a low level of mother's education are significant risk factors for morbidity and neo-natal mortality. In the case of a fetus diagnosed with TORCH congenital infections and having a "moderate" prognostication, the abortion is needed to be recommended. The prognostication for the babies having TORCH congenital infections is "moderate" due to the possibility of the appearance in months or even years after birth of mental retardations and neurological diseases.

## **P28. Prevalența infecțiilor oculare – agenți etiologici și spectrul de rezistență la antibiotice**

**Mirela Livadariu, Violeta Cristea, Mihaela Toderici**

*Laboratorul Synevo București*

Introducere: Complexitatea structurilor care compun globul ocular sau îl protejează determină varietatea infecțiilor localizate la acest nivel.

Scopul lucrării: Precizarea principalilor agenți etiologici microbieni implicați în infecții oculare și spectrul de rezistență al acestora la antibiotice.

Material și metodă: S-au luat în studiu un număr de 731 de pacienți care s-au prezentat pentru investigații la Laboratorul Synevo București în perioada: 01.06.2005 – 31.05.2007. Din produsele primite s-au efectuat preparate microscopice (froturi colorate Gram și Giemsa) și culturi bacteriene. S-au obținut 579 de rezultate negative (79,56%) și 152 rezultate pozitive (20,44%). Însământarea produselor s-a efectuat pe mediul agar Columbia cu 5% sânge de berbec și mediul agar Chocolate cu incubare timp de 24 de ore la 37°C în atmosferă de CO<sub>2</sub>. Pentru identificarea agenților patogeni am utilizat metode clasice și truse API (BioMerieux). Testarea sensibilității la antibiotice s-a efectuat prin metoda difuzimetrică Kirby – Bauer conform CLSI 2005 – 2006.

Rezultate: Din cele 152 de rezultate pozitive, 59 au avut ca agent etiologic *Staphylococcus aureus* (38,81%), urmat de *Haemophilus influenzae* – 39 de cazuri (25,66%) și *Streptococcus pneumoniae* – 26 de cazuri (17,10%). S-au mai izolat germeni din familia Enterobacteriaceae – 14 cazuri (9,21%) și Nonenterobacteriaceae – 12 cazuri (7,89%).

Testarea sensibilității la antibiotice a scos în evidență prezența a 6 tulpi (10,16%) de *Staphylococcus aureus* meticilino-rezistent (MRSA) din cele 59 izolate. Dintre tulpinile de *Streptococcus pneumoniae*, 17 (65,38%) au fost sensibile la penicilină. Din clasa Enterobacteriaceae am izolat 1 tulpină de *Klebsiella pneumoniae* secretoare de betalactamaze cu spectru extins (ESBL).

Concluzii: 1. Pentru un diagnostic corect este necesară corelarea examenului microscopic cu culturile bacteriene. 2. Cel mai frecvent agent etiologic izolat este *Staphylococcus aureus*, urmat îndeaproape de *Haemophilus influenzae* și *Streptococcus pneumoniae*.

## **Prevalence of eye infections – etiologic agents and their spectrum of antibiotic resistance**

**Mirela Livadariu, Violeta Cristea, Mihaela Toderici**

*Synevo Laboratory Bucharest*

**Introduction:** The complexity of the structures that are part of the eyeball or ensure its protection is responsible for the diversity of infections that occur at this level.

**Purpose:** To specify the main bacterial etiologic agents that are involved in eye infections and their spectrum of antibiotic resistance.

**Material and methods:** Our study included 731 patients that were referred for microbiologic investigations at Bucharest Synevo Laboratory between 01.06.2005 and 31.05.2007. Both smears for microscopic examination (Gram and Giemsa stained) and cultures were prepared from the specimens collected. There were obtained 579 negative results (79,56%) and 152 positive results (20,44%). Specimens were inoculated on Agar Columbia with 5% sheep blood and Agar chocolate plates with 24 h incubation at 37° C in a CO<sub>2</sub> atmosphere. Classical methods as well as API kits (BioMerieux) were used for pathogen identification. Antibiotic susceptibility was performed by disk-diffusion method Kirby – Bauer according to CLSI 2005 – 2006.

**Results:** The main etiologic agent was *Staphylococcus aureus* that was identified in 59 cases (38,81% from the total of 152 positive cultures), followed by *Haemophilus influenzae* – 39 cases (25,66%) and *Streptococcus pneumoniae* – 26 cases (17,10%). There were also isolated bacteria that belong to Enterobacteriaceae – 14 cases (9,21%) and Nonenterobacteriaceae families – 12 cases (7,89%).

Antibiotic susceptibility testing confirmed the presence of 6 *Staphylococcus aureus* strains that were methicillin-resistant MRSA (10,16% from 59 isolates). Out of *Streptococcus pneumoniae* strains 17 (65,38%) were sensitive to penicillin. From Enterobacteriaceae family we identified an ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* strain.

**Conclusions:** 1. correlation of microscopic examination with culture results is essential for proper diagnosis of eye infections; 2. the most frequently isolated etiologic agent is *Staphylococcus aureus* followed closely by *Haemophilus influenzae* and *Streptococcus pneumoniae*.

## **Index de autori**

### **Authors index**

#### **A**

Ailenei Mirela, P9  
Al-Aissa Zahra, C31, P4  
André Patrice, R12  
Anghel A., P25  
Anisie Ecaterina, P3  
Ardeleanu Mihaela, P21  
Arion C., P8

#### **B**

Bacârea Anca, R9  
Baiu Lucia, P21  
Balogh-Sămărghițan V., P4  
Bardan Alina, P7  
Bădițoiu L., P25  
Băicoianu Elena, P23, P24  
Bălescu A., P22  
Becheru Nicoleta, P24  
Bene Liliana, R18  
Berceanu Delia, P19  
Bilca Doina, C28  
Bodizs I.G., P2  
Bonalumi S, R2  
Brânzeu C., P25  
Brie Ioana, C11, C20  
Brisci A, R2  
Brudașcă Ioana, P14  
Brudașcă Ioana, R1, R7, P14  
Bucur Gabriela, C28  
Burac Lucia, C16  
Buzea Mariana, C26

#### **C**

Caisân Ruxandra Elena, P7  
Calustian Laura, P12  
Carteret Olivier, C29  
Castiglion E, R2  
Călugăroiu C., P8  
Cătană Alina, C19  
Cătană Cristina, P11  
Cepoida P., C32  
Cherecheș Gabriela, C11, C20  
Chiriac A., C22  
Chiș Doina Ramona, C27  
Colhon D., R7  
Coliță Adriana, R8  
Coliță D., C6, R8, P8  
Cone Sorina, R15, P26  
Coriu D., C6  
Cremonesi L, R2  
Cristea Anca, R14, R18  
Cristea Violeta, P28  
Crișan Doina, R14  
Cucuijanu A., R9  
Cucuijanu M., R1, R7, P14

#### **D**

Dan Liliana, P20  
Dascălu A., R9  
Dican Lucia, R7, P14  
Dicu T., C20  
Dima Delia, P11  
Dima Eliana, P23  
Dobreanu Minodora, C31, R35, P4

Dogaru Monica, C6  
 Dorobăț Olga Mihaela, R25  
 Dragotoiu Gh., C33  
 Dronca Maria, R5  
 Drugărin Doina, P5, P6  
 Dugăeșescu Dorina, P20  
 Dumitrașcu V., C22  
 Dumitrescu Adriana, R10, P8  
 Duțescu Irina Monica, P7

**F**

Fazakas Zita, P15  
 Ferrari F, R2  
 Ferrari M, R2  
 Filimon Cosmina, P23, P24  
 Fischer Fodor Eva, C11, C20  
 Flangea Corina, C22, P13  
 Florea Simina, P24  
 Florescu Cristina, P1  
 Foia Liliana, P3  
 Földes Annamaria, C28  
 Frunzoi Marilena, C26  
 Funduc Illeana, R30

**G**

Ganciu Cristina, P1  
 Gîju S., C22, P13  
 Golieanu Mădălina, P5, P6  
 Grecu D., P25  
 Grigore Camelia, R36  
 Grigore N., R36  
 Gurban Camelia, P5, P6, P19, P20  
 Guth Rodica, P21

**H**

Hazi Georgeta, C33  
 Higgins Trefor, C31  
 Hobai Șt., R4, P15  
 Hogaș Elena, P20  
 Horhat F., P20  
 Hotea Raluca, P10

**I**

Idomir Mihaela, P21, P22  
 Ilie Andreea, R15, P26  
 Ilinca Doina Silvia Cornelia, P7  
 Iliuță Mihaela, P23, P24  
 Ioanițescu Monica, Roche  
 Ionescu D., R24  
 Ionescu G., R23  
 Ivan Florentina, C17

**J**

Jako Zsuzsanna, C28, C31, P4  
 Jitaru Daniela, P3

**K**

Kalinina Liana, C32  
 Kósa Beáta, C31, P4  
 Kovacs L. Gabor, R34

**L**

László Annamária, P15  
 Lazăr Crezante, R37, R38  
 Lăcătuș Ramona, P19  
 Lăcătușu Cristina, P3  
 Leașu F., P22  
 Lenghel F., P25  
 Lesovici Maria, P17, P18  
 Licker Monica, P19, P20, P25  
 Livadariu Mirela, P28  
 Lőrinczi Lilla, C28

**M**

Mambet Cristina, C17, P1  
 Mareș-Ferencz Gizella, P4  
 Mihai B., P3  
 Mihail Adina, Sanimed  
 Mihăescu Rodica, P13  
 Mihăilă R., C19

Mircea A.P., R14  
Mirea V., P8  
Mitică Simona Lavinia, P18  
Miu N., C16  
Moicean Andreea Delia, R10, P8  
Moldovan Roxana, P19, P20, P25  
Moraru V., P8  
Motoi Laura, P18  
Muntean Delia, P19

## N

Nagy Georgiana, R14  
Nastase Violeta, P9, P10  
Neacșu Marta, P23  
Neacșu Mihaela, P1  
Neamțu Simona, P27  
Neculoiu Daniela, P21  
Nemes-Nagy Enikő, C31, P4  
Nemeș B., R5  
Nemet Codruța, P22  
Neuman G. Manuela, R13  
Nicorici Claudia, R9, P9, P10, P11

## O

Olteanu Ariela, C19  
Olteanu Ileana, P14  
Oprea M., C19  
Opriș S., P25  
Orb Cristina, P25  
Ostroveanu Daniela, R10, P8

## P

Pașca S. P., R5  
Pațiu Mariana, R9, P9, P10, P11  
Perde Schrepler Maria, C11, C20  
Petrescu F., R15, P26  
Petrică Ligia, C22  
Piluț C., P20  
Pop Roxana, P9, P10  
Popa Constanța, R39  
Popa Mihaela, P19

Postescu I. D., C11, C20  
Potencz Elena, P13  
Pușcariu T., P8

## R

Racz K.E., P2  
Rahaian Rodica, R14  
Randuroiu Florentina, P24  
Răcănel F., R15, P26  
Rădulescu Ariadna, C21  
Rădulescu Matilda, P19  
Reid Deborah, C31  
Robert Beke, ABBOTT  
Rogozea Liliana, P22  
Roșu Lucica, R15, P26  
Rus Ciucă D., C11

## S

Sabău Monica, C28  
Saizu Ana Magdalena, P16, P17  
Sali Vera, C32  
Samașca G., C16  
Săndesc D., P25  
Scarlat Mihaela, P12  
Seclaman E., P25  
Sfrijan Felicia, P5, P6, P19, P20  
Simundic Ana-Maria, R3  
Sirețeanu Georgiana, R15, P26  
Soangher Lavinia, C26  
Soritau Olga, C11  
Stănculescu Mădălina, R15, P26  
Stenirri S., R2  
Stoica Sandra, P23  
Susman S., C11  
Székely Edit, C28  
Székely Melinda, P15  
Şerban D., P5, P19, P20

## T

Tache Aurora, P12  
Tacu Dorina, P7

Talapan Daniela, C26  
Tatomir Corina, C11, C20  
Tălmaci Rodica, C6  
Tănase A., C32  
Teleanu Veronica, R10  
Toderici Mihaela, P28  
Tranulis Raluca, P7  
Trașcă Miliana, P17, P18  
Tsai Saprina, Balmed  
Tutelcă Ancuța, P25  
Țenea Cristina, R25

**V**

Vasilache D., P8  
Vetesi Tunde, P17, P18  
Virag Piroska, C11, C20  
Vlad Daliborca, C22  
Vladuțiu D., R5  
Vlase L., R5  
Voicu Georgeta, Sanimed

**Z**

**U**  
Ulea Lorena Liliana, P7  
Ungureanu Didona, P3  
Usein Codruța Romanița, R23  
Ușurelu Daniela, R10

Zaharie I., C19  
Zdrenghaea M., P11  
Zlatian O., R15, P26  
Zugravu R., P25

## Recomandări pentru autori

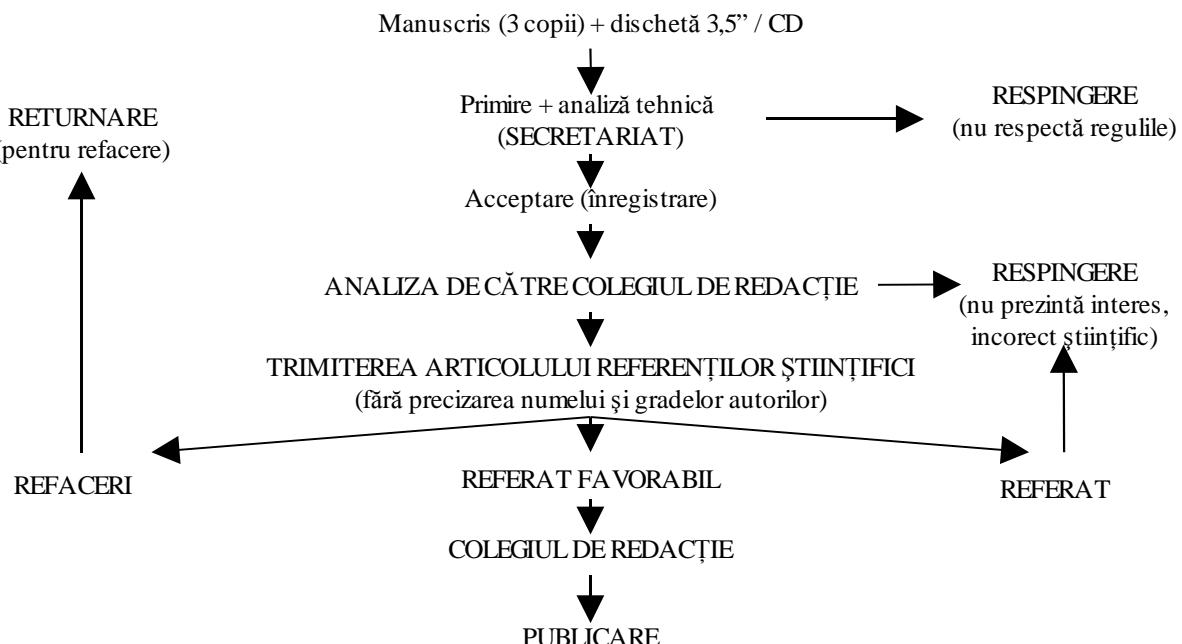
*Revista Română de Medicină de Laborator* publică editoriale, articole originale științifice și profesionale, referate generale, prezenteri de caz, ghiduri și recomandări ale asociațiilor științifice și profesionale naționale și internaționale, evenimente în domeniul medicinei de laborator (congrese, simpozioane, cursuri, apariție de carte). Obiectivul revistei este acela de a publica informații noi care să ducă la o mai bună înțelegere a mecanismelor biologice de producere a bolilor umane, la prevenirea și la diagnosticul lor cât mai precoce, precum și la monitorizarea terapiei și a evoluției stării de sănătate a pacienților. Revista cuprinde și o secțiune de "Note de curs" cu adresabilitate atât pentru medicii rezidenți, cât și pentru cei care doresc să își actualizeze cunoștințele în domeniile abordate. Frecvența de apariție a RRML este

de patru numere pe an.

Înainte de a fi publicate, articolele sunt analizate de către referenți științifici (*peer-review*) și redactate. Articolele sunt trimise referenților cu experiență în domeniul medicinei de laborator din universități medicale din țară sau străinătate, fără a preciza numele și funcția autorilor. De asemenea, numele referenților nu este cunoscut de către autori. În funcție de recomandarea referenților, Comitetul de redacție al RRML decide dacă un articol va fi publicat sau nu.

Autorii articolelor care au fost respinse sau necesită revizuire vor fi înștiințați.

Materialele propuse pentru publicare se trimit pe adresa secretariatului de redacție și vor fi acceptate pentru analiză numai dacă îndeplinesc următoarele condiții.



## **Politica editorială**

*Revista Română de Medicină de Laborator* solicită, la momentul trimiterii materialelor, un formular de *Declarație din partea Autorilor* completat și semnat de către aceștia (formularul poate fi găsit anexat la sfârșitul Recomandărilor pentru autori). Declarația specifică faptul că articolul este original, că nu a mai fost publicat anterior și nici nu este analizat pentru publicare de către un alt jurnal. Autorul care poartă corespondența trebuie să aibă permisiunea coautorilor de a acționa în numele lor în privința manuscrisului. Autorii sunt responsabili de obținerea permisiunii de a reproduce materiale împrumutate din alte surse. Articolele publicate în *Revista Română de Medicină de Laborator* sunt supuse legii Copyright-ului. Publicarea integrală sau parțială de către autor în altă publicație se face numai cu avizul Editorului.

Dacă proiectul științific include subiecți umani sau animale experimentale, autori trebuie să afirme în manuscris faptul că protocolul a fost aprobat de către Comisia de Etică a instituției în care s-a desfășurat studiul. Trebuie demonstrat faptul că experimentele făcute pe vertebrate sau nevertebrate superioare sunt acceptabile etic și în acord cu reglementările naționale și instituționale privitoare la animalele de laborator. Dacă manuscrisul raportează cercetare medicală asupra unor subiecți umani, autori trebuie să includă o declarație că a fost obținut consimțământul informat de la toți subiecții, conform cu Declarația de la Helsinki a World Health Association, revizuită în 2000, la Edinburgh.

## **Pregătirea manuscrisului**

Manuscrisul trebuie pregătit conform „Cerințelor uniforme pentru manuscrisele trimise jurnalelor biomédicale” (Stilul Vancouver pentru Medicină 1991, 324: 424-428).

Articolele trebuie editate în Microsoft Word, Stil: Normal + Stânga-Dreapta (Normal

+ Justified), Caractere (Font): Times New Roman, dimensiunea 11 și dimensiunea caracterelor pentru rezumat: 10. Manuscrisul trebuie editat la două rânduri. Sunt necesare fișierele text originale, nu fișiere PDF. La editare nu se va folosi spațierea prin *spacebar*, *Tab* sau *paragraph mark*, ci comanda de indentare și spațiere a paragrafului (Format → Paragraph). Se va efectua paginarea automată, evitându-se cea manuală.

Desenele, schemele, tabelele și graficele nu vor fi inserate în text, ci va fi specificat doar locul inserției lor (ex. Inserție Tabel Nr. 3). Acestea trebuie trimise ca fișiere separate. Fișierele vor purta denumiri sugestive, fără diacritice (ex. Popescu Imunofluorescenta.doc, Popescu Imunofluorescenta Fig1.tiff, Popescu Imunofluorescenta Tabel2.doc).

Autorii vor trimite întregul manuscris în formă electronică, pe dischetă de 3,5" sau, de preferat, pe *compact disk*. Se vor trimite, de asemenea, 3 copii ale manuscrisului (inclusiv ale tabelelor și figurilor), listate pe hârtie de dimensiunea A4, pe o singură parte, la două rânduri, cu margini de 2,5 cm. Pentru editarea în limba română se vor folosi setările de limbă (Language settings) pentru tastatură (în Control Panel din Windows) și nu alte tipuri de caractere românești. Se vor folosi obligatoriu caractere românești pentru materialele trimise în limba română (ă,â,ș,ț,î).

Imaginiile scanate trebuie să aibă o rezoluție de cel puțin 300 dpi la dimensiunea la care vor apărea tipările și să fie lipsite de defecți de scanare (ex. umbre, rotație). De preferat, formatul imaginilor digitale va fi TIFF (Tagged Image file Format). JPEG (Joint Photographic Experts Group) poate fi, de asemenea, folosit pentru fotografii dacă imaginea este salvată cu o compresie minimă. Va fi evitat formatul GIF (Graphics Interchange Format). Orice instrucțiuni speciale privind dimensiunile de publicare trebuie clar specificate. Pentru toate imaginile de microscopie se vor menționa tehnica de colorare și factorul de mărire.

## Organizarea manuscrisului

Textul va fi structurat pe pagini separate, după cum urmează:

**Pagina 1:** Titlul articolului, având mai puțin de 150 caractere, fără abrevieri, atât în limba română, cât și în limba engleză.

### Pagina 2:

Prenumele și numele autorilor, fără grade de științifice, didactice sau militare;

Denumirea completă a locului de muncă (instituție și departament) pentru fiecare autor;

Adresa de corespondență a primului autor (adresa completă, număr de telefon, număr de fax, adresa de e-mail) și adresa instituției și departamentul unde a fost efectuat studiul.

### Pagina 3: Pagina pentru rezumat

**Rezumatul** va avea cel mult 250 cuvinte și va descrie pe scurt scopul studiului, metodele și procedurile folosite, rezultatele cele mai importante, principalele concluzii, aspecte noi și importanța studiului.

**Cuvinte cheie** (cel puțin 3 și cel mult 5) cuprinse în *Index medicus*.

Rezumatul și cuvintele cheie vor fi trimise atât în limba română, cât și în limba engleză.

### Pagina 4 și următoarele:

Textul articolelor originale va fi organizat în: introducere (maxim 25% din text), material și metode, rezultate, comentarii sau discuții și, eventual, mulțumiri. Materialele și metodele trebuie descrise suficient de detaliat pentru a permite reproducerea lor de către alte echipe. Produsele vor purta aceeași denumire pe parcursul textului (cu numele de marcă în paranteză, la prima utilizare). Rezultatele pot fi prezentate în tabele sau figuri care nu vor duplica textul. Discuțiile vor pune rezultatele în contextul studiului și vor prezenta principalele concluzii ale autorilor. Informațiile din Introducere sau Rezultate nu vor fi repetate decât dacă este necesar pentru claritate. Discuțiile vor include, de asemenea, o comparație între rezultatele obținu-

te și alte studii din literatură, cu explicații și ipoteze în privința diferențelor observate, comentarii asupra importanței studiului și situației actuale a subiectului investigat, probleme nerezolvate, întrebări care își așteaptă răspunsul în viitor. Pe lângă obișnuita recunoaștere a meritelor non-autorilor care au ajutat la efectuarea lucrării descrise, secțiunea de **Mulțumiri** trebuie să rezolve orice potențial conflict de interes.

Articolele originale vor avea în medie 2000 cuvinte, dar nu mai mult de 3000 cuvinte și maximum 3 tabele și 6 figuri.

**Abrevierile** vor fi precedate de termenul lung la prima apariție în text. La sfârșitul lucrării se va introduce o listă a abrevierilor. Nu se vor utiliza abrevieri în titlu.

**Pagini separate:** tabelele, graficele, figurile și schemele vor fi paginate separat.

Tabelele vor avea un număr rezonabil de rânduri (maxim 15) și coloane (maxim 6).

Vă rugăm să nu uitați să trimiteți atașate tabelele, graficele, schemele etc. în formatul fișierelor originale în care au fost create (de exemplu, fișiere .xls dacă au fost create în Microsoft Excel) și nu incluse în textul articolului (v. Secțiunea **Pregătirea manuscrisului**).

## Bibliografie

Bibliografia (maxim 20 referințe) va fi alcătuită în ordine alfabetică. Toate referințele bibliografice trebuie identificate în text, tabele sau legende prin numere arabe, scrise ca exponent (superscript) (ex. „Un alt studiu<sup>3</sup> precizează că...”).

Pentru articole din reviste, folosiți următoarea formă: numele autorilor, urmat de inițialele prenumelor, titlul articolului, abrevierea revistei conform cu *Index medicus*, anul apariției, volumul, pagina de început și cea de sfârșit ale articolului. Dacă articolul are mai mult de 3 autori, se vor menționa primii 3, urmați de „et al.”.

### Exemplu:

Gerstner H.B., Huff J.E. – Clinical toxi-

cology of mercury - J. Toxicol. Environ Health, 1977;2: 491-526.

Pentru cărți și monografii: numele autorilor capitolului citat, titlul capitolului, editorii, titlul cărții sau al monografiei, numele și locația editurii, anul apariției și paginile.

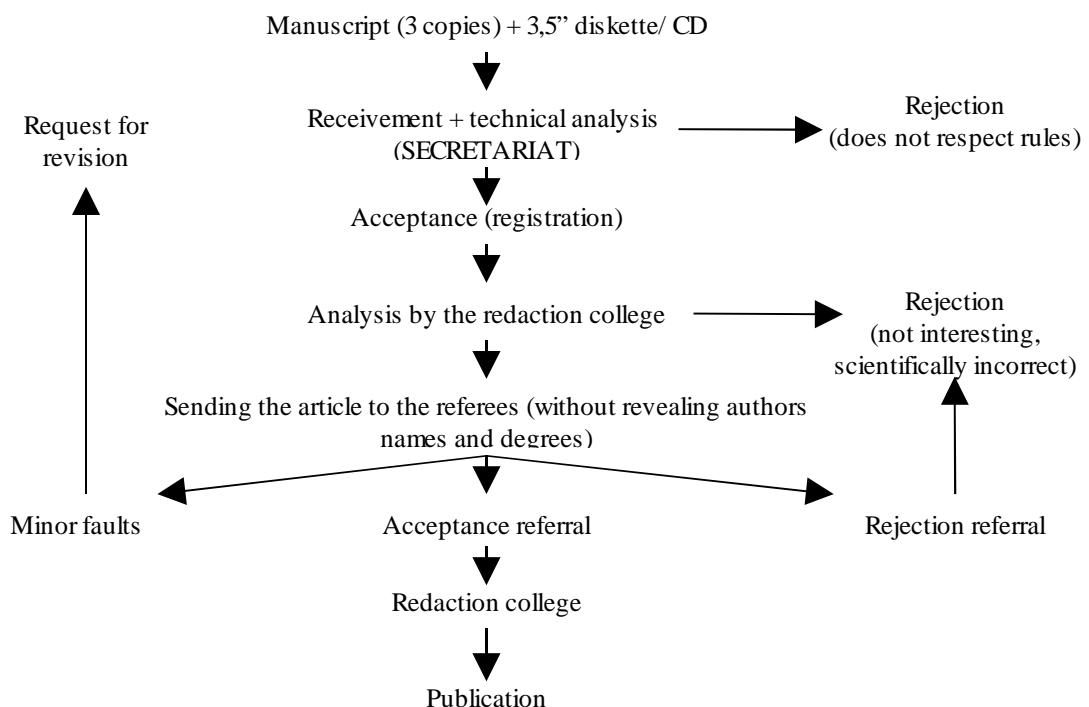
#### *Exemplu:*

Gustafsson J.A., Eneroth P., Hokfelt T. et al. - Studies on the hypothalamo-pituitary axis: a novel concept in regulation of steroid and drug metabolism. In: Langer M., Chiandussi L., Chapra I.J. et al. – The endocrines and the liver – London: Academic Press, 1984: 9-34.

## Instructions for authors

*Revista Română de Medicină de Laborator (The Romanian Review of Laboratory Medicine)* publishes editorials, original scientific and professional articles general reviews, case presentations, guidelines and recommendations of national and international scientific and professional associations, book reviews and announces events (congresses, symposia, courses) in the field of laboratory medicine. Its aim is to

publish new information which can lead to a better understanding of the biological mechanisms of human diseases, improve prophylaxis and early diagnosis, as well as therapy evaluation and patient health status. The *Review* also includes a “Course Notes” section for medical residents and for those who would like to update their knowledge into the approached fields. The frequency of the *Review* is currently four



issues *per year*.

The articles are published after being analyzed by referees and redacted. The articles are sent to referees with expertise in the laboratory medicine area from medical universities, without revealing the authors' names and position. Also, the referees' identities are not known by the authors. Following the referees' recommendations, the Editors decide if a paper is published or not.

The authors of the articles that have been rejected or need revision will be announced.

The articles should be sent to the redaction secretariat address and will be accepted for further evaluation only if they meet the following requirements:

### **Editorial policy**

At the time of submission, the *Romanian Review of Laboratory Medicine* requires an explicit statement by the senior 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 is original; 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. Authors are responsible for obtaining permission to reproduce copyrighted material from other sources.

Articles published in the *Romanian Review of Laboratory Medicine* are subject for the Copyright laws. Authors can fully or partially publish the articles elsewhere only with the editor's consent.

If the scientific project involves human subjects or experimental animals, authors must

state in the manuscript that the protocol has been approved by a 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**

Manuscripts must be prepared in conformity to the "Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals" (the Vancouver style of Medicine 1991, 324: 424-428).

Articles must be written in Microsoft Word, Style: Normal + Justified, Font: Times New Roman, font size 12 and abstract font size 10. The manuscript must be typed double-spaced. Original source files, not PDF files, are required. In text editing, authors must not use spacing with spacebar, tab or paragraph mark, but use the indentation and spacing options in Format → Paragraph. Automatic paging is preferred.

Do not import tables or figures into the text document, only specify their insertion in text (e.g. *Table No3 insertion*). They have to be sent separately. Files should be labeled with appropriate and descriptive file names, without diacritics (e.g. Popescu Imunofluorescenta.doc, Popescu Imunofluorescenta Fig1.tiff, Popescu Imunofluorescenta Table2.doc).

Authors must submit the whole manuscript in electronic form, on 3,5" floppy diskette or, preferably, on compact disk. Three copies of the manuscript (including tables and figures) should be submitted to the editor, print-

ed on one side of A4 paper format, double-spaced, with 2.5 cm margins.

Resolution of scanned images must be at least 300 dpi at the size they will appear in the print and there must be no scanning faults (e.g. shadows, malrotation). The preferred format for digital images files is TIFF (Tagged Image File Format). JPEG (Joint Photographic Experts Group) format can be used for photographs if the image is saved with minimum compression. Please do not save digital files in GIF (Graphics Interchange Format) format. Any special instructions regarding sizing should be clearly noted. Authors should state the coloration technique and the magnification factor of all images of microscopic samples.

### **Manuscript organization**

Text will be structured on separate pages, as follows:

**Page 1:** Title of the paper, having no more than 150 characters, with no abbreviations.

**Page 2:**

First name, middle initial and surname of the authors, without any scientific, didactic or military degrees;

Full name of the working-place (institution and department) for each author;

Correspondence address of the first author (full address, telephone number, fax number, e-mail address) and the address of the institution and department where the study has been carried out.

**Page 3:** Abstract page.

The **abstract** should have no more than 250 words and describe briefly the purpose of the study, methods and procedures used, the most important results, main conclusions, new aspects and importance of the study.

**Key words** (at least 3 and maximum 5) according to *Index medicus*.

**Pages 4 and next:**

The text of original papers will be orga-

nized in: introduction (no more than 25% of the text), material and methods, results, comments or discussions and acknowledgements. **Material and methods** have to be described in enough detail to permit reproduction by other teams. The same product names should be used throughout the text (with the brand name in parenthesis at the first use). **Results** may be presented in tables or figures that should not duplicate text. The **discussion** should set the results in context and set forth the major conclusions of the authors. Information from the Introduction or Results should not be repeated unless necessary for clarity. The discussion should also include a comparison among the obtained results and other studies from the literature, with explanations or hypothesis on the observed differences, comments on the importance of the study and the actual status of the investigated subject, unsolved problems, questions to be answered in the future. In addition to the customary recognition of non-authors who have been helpful to the work described, the **acknowledgements** section must disclose any substantive conflicts of interest.

Original papers should count in mean 2000 words, but no more than 3000 words, and a maximum of 3 tables and 6 pictures.

Abbreviations shall be preceded by the full term at their first apparition in text. A list of all used abbreviations shall be made at the end of the article.

**Separate pages:** tables, graphics, pictures and schemes will be paginated separately.

Tables will have a reasonable number of rows (up to 15) and columns (up to 6).

Please do not forget to send the tables, charts, schemes etc. in their original file format (for example, .xls files if they were created in Microsoft Excel), not embedded in the article text file (see **Manuscript preparation** section).

### **References**

References should be numbered con-

secutively in alphabetical order. Be sure to identify all references in the text, tables and legends by Arabic numerals, superscript (e.g. Another study<sup>3</sup> states that...). Up to 20 references may be used for an article.

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 3 authors, list the first three and add *et al.*

e.g. Gerstner H.B., Huff J.E. – Clinical toxicology of mercury - *J. Toxicol. Environ*

*Health*, 1977;2: 491-526.

For books or monographs: the names of the cited chapter's authors, chapter's title, the editors, the book's or monograph's title, Editure's name and location, the year of the appearance and pages.

e.g. Gustafsson J.A., Eneroth P., Hokfelt T. et al. - Studies on the hypothalamo-pituitary axis: a novel concept in regulation of steroid and drug metabolism. In: Langer M., Chiandussi L., Chapra I.J. et al. – The endocrines and the liver – London: Academic Press, 1984: 9-34

**Revista Română de Medicină de Laborator**

Publicație oficială a Asociației Laboratoarelor Medicale din România

**Adresa redacției:**

Prof. Univ. Dr. Minodora Dobreanu  
 Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș  
 Disciplina de Biochimie Clinică  
 Str. Gh. Marinescu, Nr. 38, Tîrgu Mureș, România  
 Tel./Fax: 0265 217 425, E-mail: publication@almr.ro, Website: www.almr.ro

**A L M R****Declarație din partea autorilor**

Autorii manuscrisului cu titlul:

garantează, prin semnătura lor, că:

- autorul care poartă corespondența cu Revista Română de Medicină de Laborator este împuñernicit de către toți ceilalți autori să acționeze în numele lor în privința trimiterii manuscrisului;
- manuscrisul, aşa cum a fost trimis, a fost revăzut și aprobat de către toți autorii săi;
- toți autorii menționați au participat în mod semnificativ la realizarea lucrării;
- toți cei care au participat semnificativ la realizarea lucrării au fost menționați ca autori ai articolului;
- articolul este original;
- articolul nu încalcă Copyright-ul sau alt drept de proprietate al nici unei terțe părți;
- textul sau datele materialului nu au fost publicate anterior (cu excepția rezumatelor) și articolul sau un alt articol foarte asemănător cu acesta nu este analizat în vederea publicării de către un alt Jurnal/ Revistă, la momentul respectiv. În caz contrar, se va trimite împreună cu manuscrisul și acordul scris al deținătorului Copyright-ului.

Autorii, în cazul acceptării pentru publicare a acestui material, acordă Redacției Revistei Române de Medicină de Laborator dreptul de publicare a lucrării mai sus menționate, în forma sa actuală și în toate formele care vor rezulta în urma revizuirii pentru publicare și/sau difuzare electronică și vor putea repune/redisuna materialul respectiv sub orice formă numai cu permisiunea scrisă din partea Redacției Revistei Române de Medicină de Laborator.

**Autorii:**

Numele și prenumele, Semnătura, Data

- |          |          |
|----------|----------|
| 1. _____ | 5. _____ |
| 2. _____ | 6. _____ |
| 3. _____ | 7. _____ |
| 4. _____ | 8. _____ |

## **Revista Română de Medicină de Laborator**

Official publication of the *Romanian Association of Medical Laboratories*

### **Editorial Office:**

Prof. Minodora Dobreanu

University of Medicine and Pharmacy, Tîrgu Mureş

Dept. of Clinical Biochemistry

Str. Gh. Marinescu, Nr. 38, Tîrgu Mureş, Romania

Tel./Fax: +40 265 217 425, E-mail: publication@almr.ro, Website: www.almr.ro

**A L M R**



## **Authorship responsibilities**

Signing this form, the authors of the manuscript entitled:

---

---

---

guarantee that:

- the corresponding author is empowered by all of the authors to act on their behalf with respect to the submission of the manuscript;
- the article, as submitted, has been reviewed by and approved by all named authors;
- all named authors have participated substantially in the work;
- all those who have participated in the work in a substantive way have been named as authors of the paper;
- the paper is original;
- 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 submission time. If this can not be certified, permission from the copyright owner to republish copyrighted material must be included with the manuscript.

The author(s), in consideration of the acceptance of the above paper for publication, does hereby assign to the Editorial Board of the Romanian Review of Laboratory Medicine the rights to publish the above mentioned paper, in its current form and in any form subsequently revised for publication and/or electronic dissemination and they will republish/re-disseminate this material only with the written consent from the Editor-in-Chief of the Romanian Review of Laboratory Medicine.

### **Authors:**

Name, Signature, Date

1. _____	5. _____
2. _____	6. _____
3. _____	7. _____
4. _____	8. _____