

**REVISTA ROMÂNĂ DE
MEDICINĂ DE LABORATOR**
Supliment la Vol. 20, Nr. 2/4, Iunie 2012

Referenți științifici

- Patrice André (*Univ. Claude Bernard Lyon 1, France*)
Vladimir Bacârea (*UMF Tg. Mureș*)
Despina Baghiu (*UMF Tg. Mureș*)
Angela Borda (*UMF Tg. Mureș*)
Ioana Brudașcă (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj*)
Eugen Carasevici (*UMF „Gr. T. Popa” Iași*)
Corina Cianga (*UMF „Gr. T. Popa” Iași*)
Petru Cianga (*UMF „Gr. T. Popa” Iași*)
Irina Codiță (*UMF „Carol Davila” București*)
Adriana Coliță (*UMF „Carol Davila” București*)
Dan Coliță (*UMF „Carol Davila” București*)
Ileana Constantinescu (*Institutul Clinic Fundeni*)
Dan Coriu (*UMF „Carol Davila” București*)
Anca Cristea (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj*)
Mircea Cucuianu (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj*)
Andrei Cucuianu (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj*)
Augustin Curticăpean (*UMF Tg. Mureș*)
Alis Dema (*UMF „Victor Babeș” Timișoara*)
Camelia Dobrea (*UMF „Carol Davila” București*)
Dan Dobreanu (*UMF Tg. Mureș*)
Minodora Dobreanu (*UMF Tg. Mureș*)
Olga Dorobăț (*Institutul Național de Boli Infecțioase „Matei Balș”*)
Maria Dronca (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj*)
Maurizio Ferrari (*Univ. “Vita-Salute San Raffaele”, Milan, Italy*)
Vlad Gorduza (*UMF „Gr. T. Popa” Iași*)
Maria Greabu (*UMF „Carol Davila” București*)
Trefor Higgins (*DynaLIFE_{dx} Laboratories, Edmonton, Canada*)
Ștefan Hobai (*UMF Tg. Mureș*)
Silvia Imre (*UMF Tg. Mureș*)
Gabriel Ionescu (*UMF „Carol Davila” București*)
Hortensia Ioniță (*UMF „Victor Babeș” Timișoara*)
Gabor Kovacs (*Univ. Pecs, Hungary*)
Cezante Lazăr (*RoEQUALM*)
Lilla-Katalin Lorinczi (*UMF Tg. Mureș*)
Mihai Mares (*Universitatea de Medicină Veterinară, Iași*)
Marius Mărușteri (*UMF Tg. Mureș*)
Adriana Mihai (*UMF Tg. Mureș*)
Maria Mohora (*UMF „Carol Davila” București*)
Andreea Moicean (*UMF „Carol Davila” București*)
Roxana Moldovan (*UMF „Victor Babeș” Timișoara*)
Daniela Lucia Muntean (*UMF Tg. Mureș*)
László Muszbek (*Univ. Debrecen, Hungary*)
Marian Neguț (*UMF „Carol Davila” București*)
Manuela G. Neuman (*Institute of Drug Research, Univ. of Toronto, Canada*)
Francisco Nogales (*Universidad de Granada, Spania*)
Galafteon Oltean (*UMF Tg. Mureș*)
Dan Oțelea (*Institutul Național de Boli Infecțioase „Matei Balș”*)
Vladimir Palicka (*Univ. Hradek Kralove, Praga, Czech Republic*)
Ioan Pascu (*UMF Tg. Mureș*)
Ionela Pașcanu (*UMF Tg. Mureș*)
Mariana Pațiu (*Institutul Oncologic „Ion Chiricuță”, Cluj*)
Monica Dana Pop (*UMF Tg. Mureș*)
Connie Prosser (*Univ. of Alberta Hospital, Edmonton, Canada*)
Maria Puiu (*UMF „Victor Babeș” Timișoara*)
Lucian Pușcașiu (*UMF Tg. Mureș*)
Marius Sabău (*UMF Tg. Mureș*)
Monica Sabău (*UMF Tg. Mureș*)
Alexandru Șchiopu (*UMF Tg. Mureș*)
Alexandru Șchiopu Jr. (*Lund University, Malmö, Sweden*)
Margit Șerban (*UMF „Victor Babeș” Timișoara*)
Ana Maria Simundic (*Univ. Zagreb, Croatia*)
Simona Stolnicu (*UMF Tg. Mureș*)
Monica Străuț (*INCMI „I. Cantacuzino”*)
Sorina Taban (*UMF „Victor Babeș” Timișoara*)
Felicia Toma (*UMF Tg. Mureș*)
Elizabeta Topic (*Univ. Zagreb, Croatia*)
Didona Ungureanu (*UMF „Gr. T. Popa” Iași*)
Cornel Ursaciuc (*Institutul Național „Victor Babeș”*)
Camil Vari (*UMF Tg. Mureș*)
Eloaie Florin Zugun (*UMF „Gr. T. Popa” Iași*)

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

A L M R



REVISTA ROMÂNĂ DE MEDICINĂ DE LABORATOR

Romanian Review of Laboratory Medicine

Publicație oficială a ASOCIAȚIEI LABORATOARELOR MEDICALE DIN ROMÂNIA

Supliment la Vol. 20, Nr. 2/4, Iunie 2012

Comitetul de redacție

Redactor șef
Minodora Dobreanu

Redactor adjunct
Liviu Sorin Enache

Traducător
Cosmin Moldovan
Simona Cernea

Secretariat redacție
Alina Mărginean
Andrea Marta Fodor

Comitet redacțional

Ileana Funduc
Elena Luminița Enache
Anca Bacărea
Edit Székely
Adrian Man
Claudia Bănescu
Ovidiu Cotoi

Creditări RRML

Thomson Reuters Scientific – ISI Web of Knowledge

Începând cu anul 2008, RRML este indexată în ISI Web of Knowledge – Web of Science – Science Citation Index Expanded (Thomson Reuters Scientific). Factor impact 2010: 0.113

Elsevier Bibliographic Databases

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

Index Copernicus Master journal List – din anul 2009.

CNCSIS

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

CMR

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

OBBCSSR

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



7th Conference of the Romanian Association of Medical Laboratories

with International Participation

Under the auspices of IFCC and EFLM

20 – 23 June 2012, Sinaia, Romania

Abstract Book

ORGANIZERS

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

AUSPICES

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

ORGANIZING COMMITTEE

Iasi

Eugen Carasevici
Didona Ungureanu
Elena Petrescu
Cristina Dimitriu
Daniela Jitaru
Giorgiana Grigore
Ecaterina Anisie

Tîrgu Mureş

Minodora Dobreanu
Elena Luminiţa Enache
Liviu Sorin Enache

Bucharest

Ileana Funduc
Ariadna Rădulescu
Ioana Culea

SCIENTIFIC COMMITTEE

Prof. Mircea Cucuianu
Prof. Dan Coliţă
Prof. Marian Neğu
Prof. Eugen Carasevici
Prof. Ştefan Hobai
Prof. Minodora Dobreanu
Prof. Anca Cristea
Prof. Olga Dorobăţ
Prof. Mohora Maria
Prof. Greabu Maria

Prof. Monica Străuţ
As. Prof. Didona Ungureanu
As. Prof. Irina Codiţă
As. Prof. Andrei Cucuianu
As. Prof. Ioana Brudaşcă
As. Prof. Mariana Paţiu
As. Prof. Dan Coriu
Lecturer Andreea Moicean
Lecturer Gabriel Ionescu

SPONSORS

Main Sponsors

ROCHE
ABBOTT
DIAMEDIX
PROTON
ANDREESCU LABOR & SOFT

Official Sponsors

CLINILAB
ELTA 90 MEDICAL RESEARCH
BALMED
PATRONATUL PALMED

MEDIA PARTNER

SĂPTĂMÎNA MEDICALĂ

Table of contents

Cuprins

Table of contents.....	9
Cuprins	
ABSTRACTS.....	11
REZUMATELE LUCRĂRILOR	
<i>Posters 1. Biochemistry.....</i>	<i>11</i>
<i>Biochemistry I.....</i>	<i>36</i>
<i>Posters 2. Microbiology, Hematology.....</i>	<i>36</i>
<i>Biochemistry II.....</i>	<i>51</i>
<i>Immunology – Molecular Biology.....</i>	<i>56</i>
<i>Microbiology I.....</i>	<i>65</i>
<i>Microbiology II.....</i>	<i>70</i>
<i>Hematology I.....</i>	<i>76</i>
<i>Hematology II.....</i>	<i>81</i>
<i>Workshop. European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM).....</i>	<i>88</i>
<i>Quality assurance in medical laboratories.....</i>	<i>89</i>
Authors index.....	91
Index de autori	
Information and Guidelines for Authors.....	95
Authorship responsibilities.....	100

ABSTRACTS*

REZUMATELE LUCRĂRILOR

Posters 1. Biochemistry

P1. Studiu privind polimorfismul genelor Interleukinei 1- ca potențial biomarker utilizat în diagnosticul bolii parodontale

Badea Victoria, Grigorian Mircea, Nuca Cristina, Badea Florin Ciprian, Nuca Alexandra Maria

Universitatea „Ovidius” Constanța, Facultatea de Medicină Dentară, Constanța, România

Boala parodontală este un răspuns inflamator al parodonțiului, strâns legat de prezența citokinelor inflamatorii locale, printre care și cele din familia interleukinelor-1 (IL-1). Genele IL-1: IL-1 Alfa (IL-1A) și IL-1 Beta (IL-1B) sunt localizate în cromozomul uman 2q13; sunt multe gene responsabile de producerea polimorfismului, dar cea mai comună formă este polimorfismul unui singur nucleotid (schimbarea unei singure perechi de baze în structura ADN). De aceea, polimorfismul genelor IL-1 A și IL-1 B pot modifica cantitatea de citokine IL-1 produsă, ceea ce explică nivelul înalt al răspunsului imun inflamator în boala parodontală. Studiul are ca obiectiv cercetarea asocierii dintre polimorfismul genelor interleukinei -1 (IL-1) identificate în mucoasa cavității bucale și boala parodontală. **Material și metodă.** Grupul de studiu a fost format din 28 pacienți care au fost examinați clinic oro-dentar în funcție de următorii parametri: adâncimea pungii parodontale, indexul gingival, sângerare la palpate. După examinarea clinică grupul de studiu a fost împărțit în 3 loturi: 9 pacienți cu parodontită agresivă, 10 pacienți cu parodontită cronică și 9 subiecți sănătoși. Analiza polimorfismului genelor IL-1 a fost determinată prin reacție PCR folosind kit-ul GenoType IL-1 (HAIN Lifescience, Germany); au fost determinate genele IL-1A (poziția -889 C/T) și IL-1B (poziția +3953 C/T) din celulele epiteliale ale mucoasei bucale. Acceptul etic privind realizarea studiului și consimțământul scris a fost obținut înainte de începerea studiului de la fiecare participant. Evaluarea statistică a fost efectuată folosind testul ANOVA și testul de corelație Pearson; diferențele și corelațiile statistice au fost apreciate ca fiind semnificative pentru o valoare $p < 0.05$. **Rezultate.** Subiecții heterozigoți și homozigoți cu gene alele 2 identificate în fiecare din pozițiile studiate au fost considerați ca genotip pozitiv. Studiul nostru sugerează că subiecții cu această compoziție a genotipului sunt susceptibili pentru boala parodontală pentru că genotipul pozitiv a fost identificat la 7 (77.8%) pacienți cu parodontită cronică, 8 (89%) pacienți cu parodontită agresivă și doar la 4 (44%) subiecți sănătoși. Profilul homozigot a fost identificat la majoritatea pacienților: 6 (67%) în parodontita agresivă și 5 (50%) în parodontita cronică. Există diferențe semnificative statistice ($p < 0.01$) privind frecvența polimorfismului genelor IL-1 (genotip pozitiv homozigot) între pacienți cu

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

ambele forme de parodontită și grupul control. **Concluzii.** Studiul nostru demonstrează că polimorfismul genelor IL-1 se asociază cu boala parodontală; rezultatele obținute arată că în viitor, profilul genetic evaluat prin genele IL-1 poate fi utilizat ca marker de apreciere a riscului de apariție și progresie în boala parodontală. **Cuvinte cheie:** IL-1 genotip, marker, parodontită

Study regarding interleukine-1 gene polymorphism - as a potential biomarker in periodontitis disease

Badea Victoria, Grigorian Mircea, Nuca Cristina, Badea Florin Ciprian, Nuca Alexandra Maria

“Ovidius” University Constanta, Faculty of Dental Medicine, Constanta

Periodontitis is an opportunistic inflammatory disease of the periodontium, closely linked with the presence of local inflammatory cytokines, between as interleukin-1 family (IL-1). IL-1 genes: IL-1 Alfa (IL-1A) and IL-1 Beta (IL-1B) are located in a cluster on human chromosome 2q13; many genes responsible for cytokines production exhibit polymorphism and the most common form of polymorphism is the single nucleotide polymorphism (change in a single base pair in the genomic DNA). Therefore, IL-1A and IL-1B gene polymorphism can modify the level of IL-1 cytokine, than explain the high level of immune-inflammatory response in periodontitis. The study objective was to investigate the association between Interleukin-1 (IL-1) gene polymorphism in buccal mucous cells and periodontitis. **Material and methods.** The study group comprised in 28 patients that were oro dentar examined using the following parameters: pocket depth, gingival index, bleeding on probing. After the clinical exam the study group was divided into three groups: 9 patients with aggressive periodontitis, 10 with chronic periodontitis and 9 healthy. The analysis of genetic polymorphism of IL-1 gene was determine by PCR reaction using the GenoType IL-1 test (HAIN Lifescience, Germany); it was detected IL-1A (at position -889 C/T) and IL-1B (at position +3953 C/T) from epithelial cells on buccal mucous. Ethical permission was given and written consents from patients were obtained before the beginning of the study. Statistical evaluation was made ANOVA test and Pearson correlation test; difference and correlations were regarded as statistically significant if p index was value < 0.05. **Results.** Subjects heterozygous or homozygous with variant alleles 2 at each of the sites analyzed were named genotype-positive. Our results suggest that this is the composite genotype have represented susceptibility factor for an enhanced periodontitis, because a positive genotype was carried by 7(77.8) patients with chronic periodontitis, 8(89%) patients with aggressive periodontitis and by only 4(44%) healthy subjects. Homozygous profile was carried by majority patients: 6(67%) in aggressive periodontitis and 5(50%) in chronic periodontitis. There were significant differences ($p < 0.001$) in the genotype frequencies of IL1 gene polymorphism (positive genotype-homozygous) between patients with both form of periodontitis and healthy controls. **Conclusions.** Our study have shown that the IL-1 gene polymorphism are associated with periodontitis; our results demonstrated that in the future, genetic profile of IL-1 gene can be used as risk marker for apparition and progress of periodontitis. **Keywords:** IL-1 genotype, marker, periodontitis

P2. Corelația dintre markerii turnover-ului osos și densitatea minerală osoasă la femei în postmenopauză

Bonțe Diana Camelia¹, Lighezan Rodica², Dumitrașcu Victor¹, Sfrijan Felicia¹,
Bonțe Ovidiu Horia³, Anghel Andrei¹

1. Universitatea de Medicină și Farmacie „Victor Babeș” Timișoara, Departamentul de Biochimie și Farmacologie; 2. Departamentul de Morfologie Microscopică; 3. Spitalul Clinic “Dr. Dumitru Popescu”, Timișoara, Departamentul de Cercetare “Dr. Dumitru Popescu”

Introducere. Osteocalcina (OC), marker de formare osoasă, este o proteină noncolagenă, produsă aproape exclusiv de către osteoblaste. Telo-peptidele C-terminale (CrossLaps), markeri ai rezorbției osoase, sunt produse prin degradarea tipului I de colagen, fiind eliberate în circulație. **Obiectivele.** Evaluarea bazală a nivelurilor OC și CrossLaps serice și determinarea corelației valorilor acestor markeri cu vârsta și cu densitatea minerală osoasă (DMO) la femei în postmenopauză, cu sau fără osteoporoză. **Material și metodă.** Studiul a inclus un lot de 96 de femei, împărțite în trei subloturi, după criteriile OMS pentru diagnosticul osteoporozei (metoda DEXA) (lot 1: valori ale masei osoase normale, lot 2: paciente cu osteoporoză, lot 3: paciente cu osteoporoză severă). Acestea li s-au analizat OC și CrossLaps serice (ELISA). **Rezultate.** DMO (lot 1/2/3) – g/cm²: 1.168±0.104/ 0.749±0.107/ 0.719±0.101; OC (lot 1/2/3) – ng/ml: 17.01±9.85/ 29.83±15.98/ 24.11±11.06; CrossLaps (lot 1/2/3) – ng/ml: 0.356±0.210/ 0.594±0.270/ 0.621±0.297. **Discuții.** Între vârsta și nivelurile osteocalcinei, respectiv nivelurile CrossLaps am obținut corelații pozitive semnificative (p<0.05); creșterea cu vârsta a valorilor osteocalcinei demonstrează creșterea remodelării osoase cu vârsta, iar creșterea nivelurilor CrossLaps susține creșterea rezorbției osoase cu vârsta. Între densitatea minerală osoasă și valorile osteocalcinei, respectiv CrossLaps am constatat corelații negative extrem de semnificative (p=0.0001/p=0.002). Creșterea valorilor osteocalcinei demonstrează creșterea turnover-ului osos, urmată de reducerea DMO la pacientele în postmenopauză. Creșterea valorilor CrossLaps seric demonstrează creșterea degradării colagenului de tip I de la nivelul țesutului osos, cu reducerea masei osoase. **Concluzii.** Markerii turnover-ului osos sunt foarte utili în evaluarea fiziologiei și fiziopatologiei metabolismului osos și în elucidarea patogeniei osteoporozei.

The correlation between the bone turnover markers and the bone mineral density in postmenopausal women

Bonțe Diana Camelia¹, Lighezan Rodica², Dumitrascu Victor¹, Sfrijan Felicia¹,
Bonțe Ovidiu Horia³, Anghel Andrei¹

1. “Victor Babeș” University of Medicine and Pharmacy, Timișoara 1. Biochemistry and Pharmacology Dept; 2. Microscopic Morphology Dept; 3. Clinical Hospital, Timișoara, Research Department – “Dr. Dumitru Popescu”

Introduction: Osteocalcin, the bone formation marker, is a non-collagenous protein, produced almost exclusively by osteoblasts. C-terminal telopeptides (CrossLaps), bone resorption markers, are produced by the degradation of type I collagen. **Objectives:** basic assessment of the osteocalcin and serum CrossLaps levels and the determination of the correlation of the values of these markers with age and bone mineral density (BMD) in postmenopausal women, suffering or not from osteoporosis.

Materials and methods: The study included a group of 96 women, divided in three subgroups, according to the WHO for the diagnostic of osteoporosis (DEXA method) (group 1: normal bone mass values, group 2: patients suffering from osteoporosis, group 3: patients suffering from severe osteoporosis). We examined osteocalcin and CrossLaps (ELISA). **Results** (group 1/2/3): BMD – g/cm²: 1.168±0.104/ 0.749±0.107/ 0.719±0.101; osteocalcin – ng/ml: 17.01±9.85/ 29.83±15.98/ 24.11±11.06; CrossLaps – ng/ml: 0.356±0.210/ 0.594±0.270 / 0.621±0.297. **Discussions:** Between age and the osteocalcin and CrossLaps levels we found significant positive correlations (p<0.05); the increase of the osteocalcin values with age prove the increase of bone remodelling with age, while the increase of CrossLaps levels sustain the increase of bone resorption with age. Between the bone mineral density and the osteocalcin and CrossLaps values we found extremely significant negative correlations (p=0.0001/p=0.002). The increase of the osteocalcin values prove the bone turnover increase. The increase of the serum CrossLaps values proves the bone mass reduction. **Conclusions:** The bone turnover markers are very useful in the assessment of the physiology and pathology of bone metabolism and in the elucidation of the osteoporosis pathogenesis.

P3. Valorile serice ale leptinei la femeile in postmenopauza, cu osteoporoză

Bonțe Diana Camelia¹, Lighezan Rodica², Dumitrașcu Victor³, Sfrijan Felicia¹,
Bonțe Ovidiu Horia⁴, Anghel Andrei¹

1. Universitatea de Medicină și Farmacie „Victor Babeș” Timișoara, Departamentul de Biochimie și Farmacologie; 2. Departamentul de Morfologie Microscopică; 3. Spitalul Clinic “Dr. Dumitru Popescu”, Timișoara, Departamentul de Cercetare “Dr. Dumitru Popescu”

Introducere. Leptina este un hormon proteic, sintetizat de adipocite și are un rol important în reglarea greutateii corporale. De asemenea, influențează metabolismul osos (activitatea osteoblastelor), având un efect anabolic pe os. **Obiective.** Evaluarea nivelurilor leptinei serice la pacienți în postmenopauză, cu osteoporoză și la pacienți în premenopauză și determinarea corelațiilor între valorile acestui hormon și indicele de masă corporală (IMC), respectiv densitatea minerală osoasă (DMO). **Material și metodă.** Studiul a inclus un lot de 44 de pacienți cu osteoporoză postmenopauzală (lot 1) și un lot de control, alcătuit din 32 de femei în premenopauză (lot 2). Fiecareia i s-a întocmit o fișă individuală (pe baza greutateii corporale și a înălțimii s-a calculat IMC). DMO s-a măsurat prin absorbtometrie duală cu raze X (DEXA), iar nivelurile serice ale leptinei prin tehnica ELISA sandwich. **Rezultate. Lot 1:** IMC (kg/m²): 25.94 ± 3.73; DMO coloană vertebrală (g/cm²): 0.764 ± 0.126; leptina serică (ng/ml): 22.80 ± 9.11; **lot 2:** IMC (kg/m²): 23.65 ± 4.72; DMO coloană vertebrală (g/cm²): 1.010 ± 0.135; leptina serică (ng/ml): 27.97 ± 8.33. **Discuții.** Între valorile leptinei și indicele de masă corporală am obținut o corelație pozitivă semnificativă (p<0.001) la ambele loturi; de asemenea, între nivelurile leptinei și DMO col. vert. la lotul 1 am constatat o corelație pozitivă semnificativă (p=0.01); și pentru lotul 2 am obținut o corelație pozitivă între DMO și leptina serică (p=0.05). **Concluzii.** Rezultatele noastre sugerează faptul că leptina este implicată în reglarea masei și a turnover-ului osos.

Serum values of leptin in postmenopausal women suffering from osteoporosis

Bonțe Diana Camelia¹, Lighezan Rodica², Dumitrascu Victor³, Sfrijan Felicia¹,
Bonțe Ovidiu Horia⁴, Anghel Andrei¹

1. "Victor Babeș" University of Medicine and Pharmacy, Timișoara 1. Biochemistry and Pharmacology Dept; 2. Microscopic Morphology Dept; 3. Clinical Hospital, Timișoara, Research Department – "Dr. Dumitru Popescu"

Introduction. Leptin is a protein hormone produced by adipocytes with a key role in regulating the body weight. Moreover, it influences the bone metabolism (the osteoblasts' activity), with an anabolic effect on bones. **Objectives.** Assessment of the serum leptin level in postmenopausal women with osteoporosis and in premenopausal women and the determination of the correlations between the values of this hormone and the body mass index (BMI) and bone mineral density (BMD), respectively. **Materials and Methods.** The study included a group of 44 patients with postmenopausal osteoporosis (group 1) and a control group with 32 premenopausal women (group 2). An individual sheet was drawn up for each patient (BMI was calculated on the basis of the body weight and height). BMD was measured by dual energy X-ray absorptiometry, and the serum leptin levels by ELISA sandwich technique. **Results. Group 1:** BMI (kg/m²): 25.94 ± 3.73; BMD_{spine} (g/cm²): 0.764 ± 0.126; serum leptin (ng/ml): 22.80 ± 9.11; **group 2:** BMI (kg/m²): 23.65 ± 4.72; BMD_{spine} (g/cm²): 1.010 ± 0.135; serum leptin (ng/ml): 27.97 ± 8.33 **Discussions:** between the leptin values and the body mass index we found a significant positive correlation (p<0.001) in both groups; moreover, between the leptin values and the BMD spine in group 1 we found a significant positive correlation (p=0.01); and for group 2 we found a positive correlation between BMD and serum leptin (p=0.05). **Conclusions.** Our results suggest that leptin is involved in the regulation of weight and bone turnover.

P4. Diagnosticul citologic și histologic în carcinomul bronhopulmonar nediferențiat cu celule mici

Ana-Maria Drăgan

Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie

Introducere. Carcinomul nediferențiat cu celule mici reprezintă 20-25% din carcinoamele bronhogenice; este puternic asociat cu fumul de tutun, numai la 1% din cazuri apare la nefumători. **Material și metode.** S-au luat în studiu 620 pacienți cu suspiciune clinică și radiologică de cancer bronhopulmonar, având vârsta cuprinsă între 32-84 ani; 88,87% bărbați și 11,12% femei; fumători 86,27%. La toți pacienții s-a practicat examen fibrobronhoscopic cu recoltare de material pentru examen citologic și/sau histologic. La 543 pacienți s-a efectuat examen citologic pe material recoltat prin periaj bronșic (409), amprente (102) și amprente+periaj bronșic (32). La 342 pacienți s-a putut stabili tipul histologic de carcinom bronhopulmonar prin examen citologic. Examenul citologic s-a efectuat pe frotiuri fixate cu alcool metilic și colorate Giemsa. Examenul histologic s-a efectuat pe preparate colorate cu hematoxilină-eozină. **Rezultate.** Prin examen citologic s-a diagnosticat carcinom nediferențiat cu celule mici la 11,40% (39) pacienți iar prin examen histologic la 13,3% (59) pacienți, între cele două metode neexistând diferențe semnificative (p>0,1). Carcinomul nediferențiat cu celule mici a fost întâlnit în procente semnificativ mai mari la pacienți tineri, 33-49 ani, (23,7%), comparativ cu cei peste 70 ani

(8,8%) ($p < 0,001$). La femei a fost diagnosticat la 20,6% (12) din cazuri iar la bărbați la 17% (59), fără a exista diferențe semnificative între cele două sexe. **Concluzii.** Examenul citologic și histologic în diagnosticul carcinomului nediferențiat cu celule mici oferă rezultate asemănătoare; acest tip de cancer este întâlnit predominant la pacienți tineri (33-49 ani).

Cytological and histological diagnosis in small cell lung carcinoma

Ana-Maria Drăgan

University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy

Introduction. Small cell lung carcinoma represents about 20-25% of bronchiogenic carcinoma, being strongly associated with tobacco smoke. Only in 1% of the cases it appears at non-smokers. **Material and methods:** The study was made on 620 subjects presenting clinical and radiological suspicion of bronchopulmonary cancer. The patients are aged between 32 and 84 years, of which 88.87% are men and the rest of 11.12%, are women; 86.27% of them are smokers. The fibrobronchoscopic examination was applied to all patients, collecting material for the cytological and/or histological examination. At 543 of the subjects the cytological examination was made on material recollected through bronchial brushing (409), fingerprints (102) and fingerprints + bronchial brushing (32). For 342 of the patients was possible to establish through cytological examination the histological type of bronchopulmonary carcinoma. The cytological examination was performed on smears fixed with methylated spirit and Giemsa stain. The histological examination was performed on preparations colored with hematoxylin-eosin. **Results.** Through cytological examination, the small cell lung carcinoma diagnosis was established for 11.40% (39) of the patients and through histological examination for 13.3% (59) of the patients. Between the 2 methods there were no significant differences ($p > 0.1$). The small cell lung carcinoma appears in higher percentage at younger patients 33-49 years (23.7%) in comparison with those aged over 70 years (8.8%), ($p < 0,001$). Regarding women, the diagnosis was established in 20.6% (12) of the cases and regarding men in 17% (59) of the cases, without existing significant differences between the sexes. **Conclusions.** The cytological and histological examination in small cell lung carcinoma diagnosis offers similar results; this type of cancer is predominantly encountered at young patients (33-49 years).

P5. Monitorizarea markerilor imuno-biochimici în diabetul zaharat tip 1 asociat cu tiroidita cronică autoimună

Gurban Camelia Vidita¹, Vlad Daliborca Cristina¹, Zosin Ioana², Gotia Smaranda Rodica³, Dumitrascu Victor¹, Gotia Laura³, Balas Melania²

1. Universitatea de Medicina si Farmacie "Victor Babes" Timisoara, Disciplina a de Biochimie si Farmacologie; 2. Disciplina de Endocrinologie; 3. Disciplina de Fiziologie

Scopul studiului: Stabilirea incidenței asocierii tiroiditei cronice autoimune (TCA) la cazurile de diabet zaharat tip 1 (DZ 1), în vederea realizării unei strategii de screening pentru prevenirea apariției precoce a complicațiilor metabolice. **Materiale si metode:** Au fost luați în studiu 64 pacienti adulti cu DZ1, 38 femei și 26 bărbați, vârsta medie fiind $43,7 \pm 13,7$ ani. S-au urmărit pe parcursul unui an: controlul metabolic al DZ 1 (HbA1c, glicemia medie în dinamică, cetoacidoza), profilul lipidic seric (colesterol total, HDL_{coolesterol}, LDL_{coolesterol}, trigliceride) și parametrii imuno-hormonali tiroidieni (anticorpii

anti TPO, TSH, FT4). Parametrii biochimici au fost determinați prin tehnica de biochimie uscată Vitros. Nivelurile serice ale markerilor imuno-hormonali tiroidieni au fost determinate prin tehnica ELISA. Pentru determinarea concentrațiilor serice ale HbA1c s-a utilizat tehnica POC (Micromat II). **Rezultate:** Nivelurile HbA1c au fost crescute la 60 pacienți (94%), prevalența medie a episoadelor de hipoglicemie ușoară/medie fiind de 5-6/lună la 22 pacienți (34%). Se remarcă o incidență scăzută a cetoacidozei (10 pacienți, 15%) și o frecvență crescută a hiperlipoproteinemiei tip IIb la 23 pacienți (36%). În urma screening-ului tiroidian s-a stabilit diagnosticul de TCA (niveluri semnificativ crescute de anticorpi anti TPO) la 21 pacienți (33%). Pacienții cu TCA au prezentat hipotiroidie (10 clinică, 6 subclinică) într-o proporție semnificativ mai mare comparativ cu subiecții fără TCA (3 cazuri cu hipotiroidie subclinică, $p < 0.0001$, testul exact Fisher). **Concluzii:** TCA este mai frecventă la pacienții cu DZ1 față de populația generală. Valorile HbA1c trebuie corelate cu cele ale glicemiei medii pentru redarea exactă a controlului bolii și prevenirea complicațiilor. Dislipidemia are influențe negative asupra prognosticului pe termen lung al DZ 1.

The monitoring of biochemical and immunological markers of diabetes mellitus type 1 associated with chronic autoimmune thyroiditis

Gurban Camelia Vidita¹, Vlad Daliborca Cristina¹, Zosin Ioana², Gotia Smaranda Rodica³, Dumitrascu Victor¹, Gotia Laura³, Balas Melania²

1. University of Medicine and Pharmacy „Victor Babes” Timisoara, 1. Department of Biochemistry and Pharmacology; 2. Department of Endocrinology; 3. Department of Physiology

The aim of the study: To establish the incidence of chronic autoimmune thyroiditis (CAT) to the diabetes mellitus type 1 (DM 1) in order to elaborate a screening strategy to prevent early metabolic complications. **Material and methods:** The study included 64 patients with DM 1, 38 women and 26 men, mean age 43.7 ± 13.7 years. They were monitored during a year, by: metabolic control of diabetes (HbA1c, average blood glucose dynamics, ketoacidosis), serum lipid profile (total cholesterol, HDL_{chol}, LDL_{chol}, triglycerides) and autoimmune and functional thyroid tests (anti TPO antibodies, TSH, FT₄). Biochemical parameters were determined by Vitros dry chemistry technique. Immune and hormonal parameters were determined by ELISA. HbA1c concentrations were measured by POC technique (Micromat II). **Results:** HbA1c levels were elevated in 60 patients (94%), the average prevalence of mild/moderate hypoglycemia episodes being 5-6/month in 22 patients (34%). Ketoacidosis occurred in only 10 patients (15%). Twenty three cases (36%) presented type IIb hyperlipoproteinemia. After screening, CAT was diagnosed in 21 cases (33%) (significantly elevated titers of anti TPO antibodies). Hypothyroidism was diagnosed in a significantly higher proportion in CAT cases (10 clinical, 6 subclinical) as compared to the subjects without CAT (3 subclinical forms, $p < 0.0001$, Fisher's exact test). **Conclusions:** CAT occurs more frequently in patients with DM 1, as compared to the general population. HbA1c values should be correlated with average blood glucose levels, to illustrate the DM control and to prevent complications. Dyslipidemia has negative influences on long-term prognosis of DM 1.

P6. Proteinele colagenice ale matricei osoase și densitatea minerală osoasă în osteoporoza postmenopausală

Gurban Camelia Vidita¹, Vlad Daliborca Cristina¹, Zosin Ioana², Gotia Smaranda Rodica³, Dumitrascu Victor¹, Gotia Laura³, Balas Melania²

1. Universitatea de Medicina si Farmacie „Victor Babes” Timisoara, Catedra de Biochimie si Farmacologie; 2. Catedra de Endocrinologie; 3. Catedra de Fiziologie

Obiective. Analiza implicării PICP (propeptidul al pro-Colagen tip I C-terminal), CTX (telopeptidul al colagenului tip I C-terminal), E2 (Estradiol), ale ionilor de calciu-Ca(2+), fosfor-PHOS(2-) și stabilirea corelațiilor cu nivelurile densității minerale osoase (DMO) în procesul de remodelare osoasă din osteoporoza postmenopausală. **Materiale si metode.** Studiul include 2 grupuri de paciente cu osteoporoză postmenopausală în (funcție de perioada de deprivare estrogenică): grupul I (n=64, mai puțin de 15ani deprivare estrogenică) și grupul II (n=32, peste 15ani deprivare estrogenică), comparativ cu grupul control (n=30, femei la postmenopauza fără osteoporoză). Nivelurile serice ionice au fost analizate prin tehnica de biochimie uscata Vitros. Nivelurile osoase ale acestor ioni au fost analizate prin tehnica spectrofotometriei de absorbție atomică (FAAS). DMO s-a măsurat utilizând tehnica DXA. Nivelurile serice ale markerilor osoși enunțați au fost determinați prin tehnica ELISA. **Rezultate.** Nivelurile serice PICP au fost semnificativ crescute la grupul I (+22.6%, p<0.01) și scăzute la grupul II (-52.4%, p<0.002). Nivelurile serice CTX au fost semnificativ crescute: (group I: +35.4%, p<0.004 și group II: +57.5%, p<0.001) vs. grupul control. Concentrațiile serice ale Ca(2+) și PHOS(2-) au fost crescute la grupul I (+12.1%, p<0.005-calcium și +36.8%, p<0.004-fosfor) și scăzute la grupul II (-85.6%, p<0.006-calcium și -57.2%, p<0.003-fosfor). Nivelurile ionice osoase au fost semnificativ scăzute la ambele loturi (p<0.001, respectiv p<0.002). Nivelurile serice ale E2 au fost scăzute la ambele grupuri, asociat cu scaderea DMO. **Concluzii.** Acest dezechilibru produce o reducere a formării osoase și o creștere a resorbției osoase, ca rezultat al demineralizării osoase prin solubilizarea microcristalelor de hidroxiapatită și mobilizarea lor în torrentul circulator.

Collagen bone matrix protein and bone mineral density in postmenopausal osteoporosis

Gurban Camelia Vidita¹, Vlad Daliborca Cristina¹, Zosin Ioana², Gotia Smaranda Rodica³, Dumitrascu Victor¹, Gotia Laura³, Balas Melania²

“Victor Babes” University of Medicine and Pharmacy Timisoara, Romania, 1. Biochemistry Department; 2. Pharmacology Department, 3. Physiology Department, 4. Endocrinology Department

Objectives. We assessed the implications of PICP (Procollagen type I C-terminal propeptide), CTX (C-terminal crosslinking telopeptide), E2 (Estradiol), calcium-[Ca(2+)], phosphorus-[PHOS(2-)], and their correlation with bone mineral density (BMD) in the process of bone remodeling of postmenopausal osteoporosis. **Methods.** The study was performed on two groups of patients with postmenopausal osteoporosis (with different degrees of estrogenic deprivation): group I (n=64, below 15years of estrogenic deprivation) and group II (n=32, over 15years of estrogenic deprivation), compared with a control group (n=30, postmenopausal women without osteoporosis). Serum levels of the ions were measured by VitrosSlides quantitative technique. Bone levels of these ions were assessed by bone flame atomic absorption spectrometry (FAAS). BMD was measured by Dual-energy X-ray absorp-

tiometry (DXA) technique. Serum levels of the enunciated markers were measured by ELISA technique. **Results.** Serum PICP levels were increased in group I (+22.6%, $p<0.01$), and decreased in group II (-52.4%, $p<0.002$). Serum levels of CTX are significantly higher (group I: +35.4%, $p<0.004$ and group II: +57.5%, $p<0.001$) vs. control. Serum Ca(2+) and PHOS(2-) levels were increased in group I (+12.1%, $p<0.005$ -calcium and +36.8%, $p<0.004$ -phosphorus), and decreased in group II (-85.6%, $p<0.006$ -calcium and -57.2%, $p<0.003$ -phosphorus). The bone levels of these ions decreased in both groups ($p<0.001$, respectively $p<0.002$). Estradiol levels were significantly lower in both groups ($p<0.01$, respectively $p<0.02$), associated with low BMD. **Conclusions.** This unbalance is producing a decrease of bone formation and an increase of bone resorting, being favorable to bone demineralization through hidroxiapatite microcrystal solubilization and mobilization of these ions in the circulation.

P7. Stresul oxidativ și homocisteina în sarcina patologică

Micle Otilia¹, Antal Liana², Micle Liana³, Muresan Mariana¹

1. Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie, Departamentul Discipline Preclinice; 2. Departamentul Chirurgie; 3. Spitalul Clinic Județean de Urgență Oradea

Introducere. Stresul oxidativ este un dezechilibru între producția de specii reactive ale oxigenului și nivelul factorilor de antioxidanți. Hiperhomocisteinemia și stresul oxidativ sunt asociate cu afecțiuni legate de placentă cum ar fi preeclampsia, avorturile spontane și dezlipirea prematură de placentă normal inserată. **Scopul** acestei lucrări este de a determina concentrația homocisteinei, a malondialdehidei și a ceruloplasminei în sarcinile complicate cu amenințare de avort sau de naștere înainte de termen. **Material și metodă.** Studiul s-a realizat la Spitalului Clinic de Obstetrică și Ginecologie Oradea, în perioada 01 decembrie 2009 – 30 martie 2010 și a inclus 18 paciente diagnosticate cu amenințare de avort (grupul 1) și 20 de paciente diagnosticate cu amenințare de naștere înainte de termen (grupul 2). Rezultatele au fost comparate cu grupul martor format din 15 paciente cu sarcină în evoluție fiziologică. Homocisteina serică a fost determinată cu o metodă enzimatică. Stresul oxidativ a fost pus în evidență prin dozarea malondialdehidei și a ceruloplasminei. **Rezultate.** S-au obținut niveluri crescute ale homocisteinei serice în ambele grupuri de studiu în raport cu grupul de control. Concentrația malondialdehidei a fost semnificativ mai mare în sarcinile cu risc de avort și de naștere înainte de termen comparativ cu grupul martor ($p=0.040$, $p=0.031$). Diferențe semnificative ale valorilor ceruloplasminei s-au obținut între grupul 1 și grupul 2 ($p=0.045$), precum și între grupul 2 și grupul de control ($p=0.034$), dar nu și între grupul 1 și grupul de control ($p=0.683$). **Concluzii.** În sarcinile complicate cu risc de avort sau de naștere înainte de termen s-a evidențiat existența unui stres oxidativ și a hiperhomocisteinemiei.

Oxidative stress and homocysteine in pregnancy outcome

Micle Otilia¹, Antal Liana², Micle Liana³, Muresan Mariana¹

University of Oradea, Medicine and Pharmacy Faculty, 1. Departement Preclinical Disciplines; 2. Departement Surgery; 3. County Clinical Emergency Hospital of Oradea

Aim of study. Our research was to determine the concentration of serum homocysteine (Hcy), malondialdehyde (MDA) and ceruloplasmin, in the pregnancies complicated with risk of abortion or preterm birth. **Material and method.** The study was performed at Obstetric Gynecology Clinical Hos-

pital Oradea from December 2009 until March 2010. It included 18 patients with risk of abortion (group 1), 20 with preterm birth (group 2). The results were compared with a control group represented by 15 healthy pregnant women. Serum homocysteine level was measured by an enzymatic method. For proving the oxidative stress we measured the level of malondialdehyde and the level of ceruloplasmin. **Results.** High level of homocysteine in both groups of study in comparison with the control group was found. The concentration of MDA was significantly higher in pregnancies complicated with risk of abortion and preterm birth compared to the control group ($p=0.040$, $p=0.031$). Considerable differences of ceruloplasmin concentration between group 1 and group 2 ($p=0.045$), and between group 2 and control group ($p=0.034$), was noticed but not any important differences between group 1 and control group ($p=0.683$). **Conclusions.** In pregnant women with risk of abortion or with preterm birth an oxidative stress and a hyperhomocysteinemia are present.

P8. Nivelurile serice ale alaninaminotransferazei (ALAT) și intensitatea afectării histologice

Popescu Roxana¹, Verdes Doina¹, Vlad Daliborca Cristina², Cimporescu Adinela³,
Filimon Marioara Nicoleta⁴, Dumitrascu Victor²

1. Universitatea de Medicină și Farmacie 'Victor Babeș' Timișoara, Disciplina de Biologie Celulară și Moleculară; 2. Disciplina de Farmacologie; 3. Spitalul Clinic Județean de Urgență, Timișoara; 4. Universitatea de Vest, Facultatea de Chimie-Biologie-Geografie, Timișoara

Introducere. Hepatitele alcoolice și virale reprezintă cauza majoră a maladiilor cronice hepatice. În condiții fiziologice nivelul seric al transaminazelor este scăzut. Creșterea valorilor ALAT se datorează necrozei celulare extinse, leziune caracteristică hepatitelor cronice virale. **Scop.** Obiectivul acestui studiu a fost de a urmări nivelul seric al ALAT la pacienții cu hepatite cronice virale și de a corela aceste valori cu aspectul histologic al leziunilor hepatice. **Material și metode.** În studiul nostru au fost incluși 107 pacienți care au fost diagnosticați clinic, serologic și histologic cu hepatită cronică de etiologie virală cu virus C (HCV) și cu virus B (HBV). **Rezultate și concluzii.** Rezultatele examenului anatomopatologic au evidențiat afectarea cronică a parenchimului și matricei extracelulare hepatice. Modificările histopatologice traduse prin fibroza hepatică, prezența infiltratului inflamator limfoplasmocitar și steatoza hepatică, au permis stabilirea diagnosticului și gradarea hepatitei cronice în 4 categorii: hepatita cronică cu leziuni minime (7 pacienți cu HCV și 6 pacienți cu HBC), cu leziuni ușoare (15 pacienți cu HCV și 10 pacienți cu HBC), cu leziuni moderate (36 pacienți cu HCV și 12 pacienți cu HBC), și hepatită cronică cu leziuni severe (16 pacienți cu HCV și 5 pacienți cu HBC). 16,21% din cazurile cu HCV ($n=12$) au prezentat valori normale ale ALAT, 36,48% ($n=27$) au prezentat valori de 2 ori mai mari decât cele normale, 24,32% ($n=18$) au avut valori de 2 până la 3 ori peste limitele normale, 10,81% ($n=8$) au prezentat valori de 3 – 4 ori mai mari, iar 12,16% ($n=9$) au depășit de peste 4 ori limita normală. În cazul pacienților cu HBC 15,15% ($n=5$) au prezentat valori normale, 21,21% ($n=7$) au prezentat valori de 2 ori mai mari decât cele normale, 36,36% ($n=12$) au avut valori de 2 până la 3 ori peste limitele normale, 9,09% ($n=3$) au prezentat valori de 3 – 4 ori mai mari, iar 18,18% ($n=6$) au depășit de peste 4 ori limita normală. Urmărind distribuția leziunilor hepatice în funcție de nivelurile serice ale ALAT am constatat că nu există o corelație directă între nivelurile serice ale ALAT și gradul leziunilor hepatice la pacienții cu HCV. La subiecții cu valori normale ale ALAT leziunile histologice identificate au cuprins întreg spectrul lezional în cazul HCV. La pacienții cu HBV și valori normale ale ALAT nu am remarcat leziuni severe. Valorile maxime ale ALAT au avut o evoluție ascendentă în

funcție de severitatea leziunilor în cazul HCV, iar pentru HBV aceste valori au fost întâlnite numai în leziunile moderate și severe. **În concluzie**, nivelurile serice ale ALAT nu indică severitatea bolii hepatice confirmată prin biopsie, chiar dacă la pacienții cu hepatită cu virus B, nivelul ALAT s-a corelat mai bine cu severitatea bolii.

Serum alanine aminotransferase (ALAT) levels and liver histology in chronic hepatitis

Popescu Roxana¹, Verdes Doina¹, Vlad Daliborca Cristina², Cimporescu Adinela³,
Filimon Marioara Nicoleta⁴, Dumitrascu Victor²

1. University of Medicine and Pharmacy Timișoara, Cell and Molecular Biology Department; 2. Pharmacology Department; 3. Emergency County Clinical Hospital, Timisoara; 4. West University of Timișoara, Faculty of Chemistry-Biology-Geography

Introduction. Alcoholic and viral hepatitis are the major cause of chronic liver disease in many countries, including in Romania. In physiological conditions the serum amount of ALAT are low. Elevated serum ALAT levels are caused by extensive cell necrosis, such as severe infectious or toxic hepatitis. **Aim.** The aim of this study is to follow the serum amount of ALAT to the patients with chronic viral hepatitis and to correlate the ALAT levels with liver histology. **Methods.** In our study were included 107 patients after clinical, serological and histological diagnostic with chronic viral hepatitis with C virus (HCV) and B virus (HBV). **Results and conclusions.** The results of pathological examination showed chronic damage to liver parenchyma and extracellular matrix. Histopathological changes such liver fibrosis, inflammatory infiltrate and steatosis, allowed the diagnosis and grading of chronic hepatitis in four categories: chronic hepatitis with minimal lesions (7 patients with HCV and 6 patients with HBC), chronic hepatitis with mild lesions (15 patients with HCV and 10 patients with HBC), chronic hepatitis with moderate lesions (36 patients with HCV and 12 patients with HBC), and chronic hepatitis with severe lesions (16 patients with HCV and 5 patients with HBC). 16.21% from HCV patients (n=12) presented normal values of ALAT, 36.48% (n=27) presented values two times higher than normal, 24.32% (n=18) had 2-3 times higher than normal, 10.81% (n=8) had 3-4 higher than normal, and 12.16% (n=9) exceeded 4 times normal levels of ALAT. From patients with HBC 15.15% (n=5) presented normal values, 21.21% (n=7) had 2 times higher than normal values, 36.36% (n=12) exceeded 2-3 times the normal range, 9.09% (n=3) had 3-4 fold higher levels, and 18.18% (n=6) were 4 times higher. Following the distribution of liver damage by serum ALAT levels, we didn't find a direct correlation between serum ALAT levels and a degree of liver injuries in patients with HCV. In subjects with normal ALAT levels, histological damage identified included the entire spectrum of HCV lesions. In HBV cases with normal ALAT, severe damages were not observed. The maximum ALAT levels had an upward trend compared with the severity of liver lesions for HCV cases, and for HBV these values were found only in moderate and severe injuries. To sum up, the ALAT serum levels do not point the severity of the hepatic disease reached by a biopsy even if for the patients with virus B hepatitis, the ALAT levels are better correlated with the severity of the illness.

P9. Potențialul diagnostic al salivei în boala parodontală

Radu Radulescu, Miricescu Daniela, Greabu Maria, Totan Alexandra

*Universitatea de Medicină și Farmacie “Carol Davila” București, Catedra de Biochimie,
Medicină Dentară*

Scop: evaluarea potențialului diagnostic al salivei în boala parodontală. Saliva poate fi utilizată ca fluid diagnostic pentru numeroase afecțiuni orale (cancer oral, boală parodontală) și generale (diabet zaharat, afecțiuni cardiovasculare). Boala parodontală reprezintă principala cauză de pierdere a dinților, afectând aproape jumătate din pacienții de peste 50 de ani, fiind caracterizată de o inflamație cronică determinată de placa bacteriană având ca rezultat distrugerea suportului implantar al dintelui (gingie, os și ligamente alveolare). Datorită numeroșilor biomarkeri componenți (sistemici și locali) precum și a ușurinței în recoltare saliva totală nestimulată este utilizată în scop diagnostic. Markerii salivari care prezintă modificări în boala parodontală includ acidul uric, TAC (capacitatea totală antioxidantă), GGT (γ -glutamil transferaza), albumina, aminotransferaza (AST). **Concluzii.** Datorită ușurinței de recoltare cât și a prezenței markerilor specifici, saliva reprezintă un mediu biologic adecvat pentru diagnosticul și prognosticul bolii parodontale. **Cuvinte cheie:** boala parodontală, diagnostic, biomarkeri salivari

The diagnostic potential of saliva in periodontal disease

Radu Radulescu, Miricescu Daniela, Greabu Maria, Totan Alexandra

*“Carol Davila” University of Medicine and Pharmacy, Bucharest Dental Faculty,
Biochemistry Department*

Objective: evaluation of the diagnostic potential of saliva in periodontal disease. Saliva can be utilized as a diagnostic fluid for a number of oral affections such as oral cancer, periodontal disease or for systemic diseases like diabetes or cardiovascular diseases. Periodontal disease represents the main cause for tooth loss, affecting almost half of the patients over 50 years old. It is characterized by a chronic inflammation caused by dental plaque resulting in the destruction of the tooth support system (alveolar bone, dental ligaments and gums). Due to the high number of biomarkers contained, both local and systemic, and to the ease of recollection, whole unstimulated saliva is used for diagnostic purposes. Salivary biomarkers modified in periodontal disease include uric acid, TAC (total antioxidant capacity), GGT (gamma-glutamyltransferase), albumin and aminotransferase (AST). **Conclusions:** saliva represents a good biological fluid for diagnostic and prognostic evaluation of periodontal disease due to specific biomarkers and the ease of recollection. **Keywords:** periodontal disease, diagnostic, salivary biomarkers.

P10. Mieloperoxidaza – factor de prognostic in evolutia pacientilor cu infarct miocardic non-Q

Șapira Violeta^{1,2}, Cojocaru Inimioara Mihaela^{2,3}, Docu-Axelerad Any⁴, Grigorian Mircea¹, Badea Victoria¹

1. Universitatea "Ovidius" Constanța, Facultatea de Medicina Dentară; 2. Spitalul Clinic Colentina București, Clinica de Neurologie; 3. Universitatea de Medicina și Farmacie "Carol Davila", București; 4. Universitatea "Ovidius" Constanța, Facultatea de Medicina Generală

Introducere: Mieloperoxidaza (MPO) este o hemoproteină abundentă eliberată în principal de neutrofilele activate și este prezentă în unele macrofage tisulare, cum ar fi cele din leziunile vasculare. Reacțiile catalizate de MPO au fost atribuite activității biologice potențial proaterogenice din întreaga evoluție a bolilor cardiovasculare, inclusiv din timpul inițierii, propagării și fazei acute a complicațiilor procesului aterosclerotic. **Obiectiv:** Am examinat corelația dintre nivelul seric al mieloperoxidazei și prognosticul pacienților cu infarct miocardic non-Q. **Metodă și rezultate:** Nivelul seric al mieloperoxidazei a fost evaluat la 18 pacienți cu infarct miocardic non-Q și 18 voluntari sănătoși. S-au înregistrat decesele de cauză cardiovasculară și debutul evenimentelor cardiovasculare majore: decesul cardiovascular, reinternarea pacientului cu sindrom coronarian acut sau necesitatea de revascularizare coronariană pe durata celor 6 luni de monitorizare. Mieloperoxidaza a fost semnificativ crescută în cazul pacienților cu infarct miocardic non-Q cu evoluție nefavorabilă, precum și în cazul pacienților cu o evoluție favorabilă, comparativ cu valorile înregistrate la grupul de control ($p < 0,05$). De asemenea, în cazul pacienților cu reinternare pe durata celor șase luni de monitorizare, nivelul seric al mieloperoxidazei a fost mai mare decât valorile înregistrate la pacienții cu o evoluție favorabilă, pe toata durata spitalizării. **Concluzii:** Pe baza studiului nostru, putem concluziona că, mieloperoxidaza are valori serice crescute după evenimentul coronarian acut. Nivelul seric crescut al MPO precizează un risc crescut de evenimente cardiovasculare ulterioare, astfel încât MPO poate servi atât ca marker de diagnostic, cât și de prognostic la pacienții cu dureri precordiale. **Cuvinte cheie:** sindrom coronarian acut, infarct miocardic non-Q, leucocite, prognostic, inflamație

Myeloperoxidase - prognostic factor of non-q myocardial infarction patients evolution

Șapira Violeta^{1,2}, Cojocaru Inimioara Mihaela^{2,3}, Docu-Axelerad Any⁴, Grigorian Mircea¹, Badea Victoria¹

1. "Ovidius" University of Constanta, Faculty of Dental Medicine; 2. Colentina Clinic Hospital Bucharest, Department of Neurology; 3. "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest; 4. "Ovidius" University of Constanta, Faculty of General Medicine

Introduction: Myeloperoxidase (MPO) is an abundant hemoproteine released mainly by activated neutrophil and is present in some tissue macrophages such as those in vascular lesions. MPO-catalyzed reactions have been attributed to potentially proatherogenic biological activities throughout the evolution of cardiovascular disease, including during initiation, propagation and acute complication phases of the atherosclerotic process. **Objective:** We have examined the association between myeloperoxidase serum levels and the prognosis of patients with non-Q myocardial infarction. **Methods and Results.** Myeloperoxidase serum level were assessed in the case of 18 patients with non-Q wave

myocardial infarction and 18 healthy voluntary. We recorded death due cardiovascular cause and onset of major cardiovascular events: cardiovascular death, readmission with acute coronary syndrome or the need for coronary revascularization during 6 months of follow-up. Myeloperoxidase is significantly increased in cases of patients with non-Q wave myocardial infarction with bad evolution, as well as in the cases of patients with a favorable evolution, comparative to the recorded values at the control group ($p < 0.05$). Also, in the cases of patients with readmission in the following six months, the serum level of myeloperoxidase is bigger than the recorded values at the patients with a good evolution, for the entire period of hospitalization. **Conclusions:** Based on our study, we conclude that myeloperoxidase is elevated in serum after acute coronary event. Increased MPO serum levels predicts an increased risk for subsequent cardiovascular events, so that MPO may serve both as a marker of diagnosis and as prognosis in patients who present chest pain. **Key Words:** acute coronary syndromes, non-Q wave myocardial infarction, leukocytes, prognosis, inflammation

P11. Microalbuminuria la pacienții cu diabet zaharat: relația cu controlul glicemic și statusul lipidic

**Tătaru Mirela-Victoria¹, Barbu Adina¹, Victoria Braga¹, Botnariuc Mihaela¹,
Voineagu Lavinia¹, Otheitis Ioannis²**

1. Facultatea de Medicina, Universitatea "Ovidius", Constanța; 2. SC Med Muncii SRL

Obiective: Scopul acestui studiu este de a evalua relația existentă între prevalența microalbuminuriei, controlul glicemic și statusul lipidic la pacienții cu diabet zaharat. **Material și metode:** 152 de pacienți cu diabet zaharat, 83 de bărbați (vârsta medie $60,83 \pm 9,94$ ani) și 69 femei (vârsta medie $63,63 \pm 9,14$ ani) au fost investigați pentru prezența microalbuminuriei, HbA1c, nivelul creatininei serice și nivelul seric al fracțiunilor lipidice. Albuminuria și raportul albumină/creatinină urinară au fost măsurate utilizând Compact Urine Analyzer PocketChem UA PU-4010. HbA1c a fost măsurată pe analizorul DiaSTAT D-10, folosind cromatografia de lichide de înaltă performanță. Determinările biochimice au fost efectuate pe analizor automat (D-CHEM 300). Pacienții au fost grupați în subiecți cu diabet zaharat controlat, moderat controlat și necontrolat, respectiv pacienți cu și fără microalbuminurie. De asemenea, nivelul albuminuriei a fost comparat între grupe diferite de vârstă și între sexe. **Rezultate:** Microalbuminuria (albuminurie > 20 mg/L) a fost descoperită la 63 din 152 de persoane cu diabet zaharat. Pacienții cu control glicemic mai slab au avut niveluri ale albuminuriei mai mari față de pacienții cu un control glicemic mai bun ($p = 0,033$). Nivelul albuminuriei a fost mai mare în grupul pacienților de sex masculin față de cel al pacienților de sex feminin ($p = 0,014$); nu a existat o diferență semnificativă între grupele de vârstă. Numărul pacienților la care raportul albumină/creatinină urinară a depășit valoarea prag a crescut o dată cu creșterea HbA1c. Nu au fost diferențe semnificative statistice între fracțiunile lipidice între grupele de pacienți cu și fără microalbuminurie. Nivelul creatininei serice a fost semnificativ crescut la subiecții cu microalbuminurie. **Concluzii:** Studiul de față a arătat că incidența microalbuminuriei este mai mare la subiecții cu diabet zaharat necontrolat decât la cei cu diabet zaharat controlat. În concluzie, controlul hiperglicemiei poate reduce riscul nefropatiei. Raportul albumină/creatinină urinară reprezintă un indicator bun al progresiei nefropatiei diabetice. **Keywords:** microalbuminurie, HbA1c, creatinina serica, fracțiuni lipidice serice, diabet zaharat

Microalbuminuria in patients with diabetes mellitus: relationship to glycaemic control and lipid status

Tătaru Mirela-Victoria¹, Barbu Adina¹, Victoria Braga¹, Botnariuc Mihaela¹,
Voineagu Lavinia¹, Otheitis Ioannis²

1. Faculty of Medicine, „Ovidius” University, Constanța; 2. SC Med Muncii SRL

Objectives: The purpose of this study is to evaluate the relationship between the prevalence of microalbuminuria, glycaemic control and lipid status in patients with diabetes. **Material and methods.** 152 diabetic patients, consisting of 83 males (mean age $60,83 \pm 9,94$ years) and 69 females (mean age $63,63 \pm 9,14$ years) were investigated for the presence of microalbuminuria, HbA1c, serum lipid fractions and serum creatinine levels. Albuminuria and urine albumin/creatinine ratio were measured on Compact Urine Analyzer PocketChem UA PU-4010. HbA1c was measured on DiaSTAT D-10 analyser, using high performance liquid chromatography. Biochemical determinations were assessed by automated analyser (D-CHEM 300). The patients were grouped in controlled, moderately controlled and uncontrolled diabetic subjects, and in patients with or without microalbuminuria, respectively. Albuminuria levels were also compared between different sex and age groups. **Results.** Microalbuminuria (albuminuria > 20 mg/L) was revealed in 63 of 152 diabetic persons. The patients with worse glycaemic control had albuminuria levels higher as compared to patients with better glycaemic control ($p=0,033$). The albuminuria level was higher in group of male patients compared to the group of female patients ($p=0,014$); there was no significant difference between different age groups. The number of patients having urine albumin/creatinine ratio above the cut-off value increased with the increase of HbA1c. There were no statistically significant differences of serum lipid fractions between patients with and without microalbuminuria. Serum creatinine was significantly increased in subjects with microalbuminuria. **Conclusions.** The present study revealed that the incidence of microalbuminuria is higher in uncontrolled diabetes than controlled diabetic subjects. In conclusion, the control of hyperglycaemia may reduce the risk nephropathy. Urine albumin/creatinine ratio represent a good indicator of diabetic nephropathy progression. **Keywords:** Microalbuminuria, Hemoglobin A1c, serum creatinine, serum lipid fractions, diabetes mellitus

P12. Riscul cardiovascular la pacientii cu gută. Acidul uric – marker al aterosclerozei

Ciurșă Adina, Vîlceanu Ioana

Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie, Departamentul de Discipline
Morfologice

Scop: Bolile cardiovasculare sunt cauza principală de mortalitate și morbiditate din lume. Ateroscleroza este cauza majoră a bolilor coronariene. Pentru prevenirea complicațiilor cardiovasculare este important să diagnosticăm și să tratăm hipertensiunea, obezitatea, dislipidemia, diabetul zaharat și alți factori de risc. **Material și metodă.** Scopul studiului a constat în analizarea relației dintre tratamentul hiperuricemiei și complicațiile cardiovasculare, precum și posibilitatea considerării hiperuricemiei ca marker de ateroscleroză. S-a folosit un lot martor cu 15 pacienți cu boli degenerative articulare și un lot test cu 15 pacienți diagnosticați cu gută. S-au determinat pentru ambele loturi nivelurile serice de acid uric, glucoză și a profilului lipidic (colesterol total, trigliceride, LDL-

colesterol, HDL-cholesterol și a factorilor de risc pentru ateroscleroză). **Rezultate.** Toți parametrii biochimici au fost determinați prin metode standard de laborator. Studiul arată ca pacienții cu gută au o incidență crescută a hipertensiunii arteriale (79%), simptome de ateroscleroza cerebrală și coronariană (61%) și simptome caracteristice hipertrigliceridemie (89%). **Concluzii.** Rezultatele sugerează un posibil rol al valorilor crescute de acid uric în patogeneza aterosclerozei, precum și importanța tratamentului hiperuricemiei. **Cuvinte cheie:** acid uric, ateroscleroza, gută.

Cardiovascular risk in gout patients: uric acid as a marker of atherosclerosis

Ciurșăș Adina, Vîlceanu Ioana

University of Oradea, Medicine and Pharmacy Faculty, Department of Morphological Discipline

Background: Cardiovascular disease is the leading cause of mortality and morbidity in the world. Atherosclerosis is the major cause of coronary heart disease. In order to prevent vascular complications in the heart, it is very important to discover and treat hypertension, obesity, dyslipidemias, diabetes mellitus and other risk factors. **Methods:** The aim of the study was to analyze the role of the treatment of hyperuricemia from the view of vascular complications and to establish hyperuricemia as a marker of atherosclerosis. The studied subjects were the control group (15 patients with degenerative joint diseases) and the experimental group (15 patients with gout). We examined the value of serum levels of uric acid, glucose concentrations, and lipid status (total cholesterol, triglycerides, LDL-cholesterol, HDL-cholesterol and index of atherosclerosis and risk factors) in both groups. **Results:** All determined biochemical parameters were measured by standard laboratory methods. Our study demonstrates that patients with gout have a higher frequency of hypertension (79%), symptoms of coronary and cerebral atherosclerosis (61%) and symptoms of hypertriglyceridemia in 89%. **Conclusions:** The results suggest a possible role of uric acid in pathogenesis of atherosclerosis and the importance of treating the hyperuricemia. They furthermore suggest that it represents a marker for the presence of the other risk factors for atherosclerosis and coronary artery disease. **Keywords:** uric acid, atherosclerosis, gout patients.

P13. Corelații între nivelurile serice ale 25-OH-Vit.D, elemente minerale (Mg, Ca, fosfor) și densitatea minerală osoasă (DMO) la pacienți cu defecte ale metabolismului mineral și osos

Vlad Daliborca Cristina¹, Gurban Camelia Vidita², Popescu Roxana³, Poenaru Dan V.⁴, Florescu Sorin⁴, Dumitrascu Victor¹

1. Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara, Disciplina de Farmacologie; 2. Disciplina de Biochimie; 3. Disciplina de Biologie Celulară și Moleculară; 4. Disciplina de Ortopedie – Traumatologie II;

Scop. Analiza nivelurilor serice ale 25-hidroxi-Vitaminei D (25-OH-Vit.D), fosfatazei alcaline specific osoase (BAP), magneziului-Mg⁽²⁺⁾, nivelurile osoase ale calciului-Ca⁽²⁺⁾, fosforului-PHOS⁽²⁻⁾ și stabilirea corelațiilor cu densitatea minerală osoasă (DMO), în procesul de remodelare osoasă la pacienții cu osteoporoză. **Material și metode.** S-a analizat un grup de studiu format din 35 pacienți (20 fe-

mei și 15 bărbați) cu osteoporoză care au suferit intervenții chirurgicale pentru fracturi de șold, comparativ cu un grup de control (n=12, pacienți fără osteoporoză). Nivelurile serice ale 25-OH-Vit.D au fost determinate prin tehnica HPLC, cele ale BAP prin tehnica ELISA, iar ale Mg⁽²⁺⁾ au fost analizate prin tehnica de biochimie uscată (Vitros Fusion 5.1). Nivelurile osoase ionice au fost determinate prin tehnica spectrofotometriei de absorbție atomică (FAAS). DMO s-a măsurat utilizând tehnica DXA. **Rezultate.** Nivelurile serice ale 25-OH-Vit.D au fost semnificativ scăzute la grupul de studiu (-45.2%, p<0.01), comparativ cu grupul control. Nivelurile serice ale BAP au fost crescute la grupul de studiu (+25.2%; p<0.001), iar ale Mg⁽²⁺⁾ au fost scăzute (-18.5%, p<0.05), comparativ cu grupul de control. Concentrațiile ionilor Ca⁽²⁺⁾ și PHOS⁽²⁻⁾ au fost scăzute (-45.5%, p<0.001-calcium și -57.5%, p<0.001-fosfor), versus grupul de control. **Concluzii.** Nivelurile serice ale BAP sunt semnificativ crescute în osteoporoză ca urmare a activării osteoblastelor. Nivelurile serice scăzute ale 25-OH-Vit.D demonstrează activarea osteoclastelor cu solubilizarea microcristalelor de hidroxiapatită osoasă, ce au drept consecință demineralizarea osoasă localizată. Acest dezechilibru produce o reducere a formării osoase și o creștere a resorbției osoase, asociat cu scăderea DMO favorizând astfel apariția de microfracturi/ fracturi osoase.

Correlations between serum levels of 25-oh-vit.d, mineral elements (Mg, Ca, Phos) and bone mineral density (BMD) in patients with disorders of bone and mineral metabolism

Vlad Daliborca Cristina¹, Gurban Camelia Vidita², Popescu Roxana³, Poenaru Dan V.⁴, Florescu Sorin⁴, Dumitrascu Victor¹

1. "Victor Babes" University of Medicine and Pharmacy, Timisoara, Pharmacology Dept; 2. Biochemistry Dept; 3. Cell and Molecular Biology Dept; 4. Orthopedy – Traumatology II Dept

Purpose. Analysis of serum levels of 25-hydroxy-vitamin D (25-OH-Vit.D), bone specific alkaline phosphatase (BAP), magnesium-Mg⁽²⁺⁾, bone calcium levels-Ca⁽²⁺⁾, phosphorus-Phos⁽²⁻⁾ and establish correlations between bone mineral density (BMD), and bone remodeling process in patients with osteoporosis. **Material and methods.** We analyzed a study group of 35 patients (20 women and 15 men) with osteoporosis who had undergone surgery for hip fractures, compared with a control group (n=12, patients without osteoporosis). Serum levels of 25-OH-Vit.D were determined by HPLC technique, BAP by ELISA, and Mg⁽²⁺⁾ was analyzed by dry chemistry technique (Vitros Fusion 5.1). Ionic bone levels were determined by atomic absorption spectrometry technique (FAAS). BMD were measured using DXA technique. **Results.** Serum levels of 25-OH-Vit.D were significantly decreased in the study group (-45.2%, p <0.01), compared with control group. Serum BAP levels were increased in the study group (+25.2%, p <0.001) and Mg⁽²⁺⁾ was decreased (-18.5%, p <0.05) compared with control group. Ion concentrations of Ca⁽²⁺⁾ and Phos⁽²⁻⁾ were lower (-45.5%, p <0.001, calcium and -57.5%, p <0.001, phosphorus), versus the control group. **Conclusions:** Serum levels of BAP are significantly increased in osteoporosis due to activation of osteoblasts. Low serum levels of 25-OH-Vit.D demonstrates activation of osteoclasts, with solubilization of bone hydroxyapatite microcrystals, they result in localized bone demineralization. This imbalance produces a reduction in bone formation, and increased bone resorption associated with decreased BMD, favoring the emergence of microfractures / bone fractures.

P14. Concentrațiile unor oligoelemente în probele de sânge recoltate cu ace de oțel inoxidabil și flexule de Teflon, de la o populație vârstnică sănătoasă

Vlad Daliborca Cristina¹, Cimporescu Adinela⁴, Popescu Roxana² Gurban Camelia Vidita³, Vlad Cristian Sebastian⁵, Cumpanasoiu Ciceronis⁶ Dumitrascu Victor¹

1. Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara, Disciplina de Farmacologie; 2. Disciplina de Biologie Celulară și Moleculară; 3. Disciplina de Biochimie; 4. Spitalul Clinic Județean de Urgență Timișoara, Departamentul de Toxicologie; 5. Dentissimo Dental Care, Cabinet de Medicină Dentară; 6. Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară a Banatului din Timișoara

Introducere. Determinarea metalelor este importantă pentru diagnostic, deoarece concentrațiile unor elemente pot fi legate de anumite stări patologice. Concentrațiile neadevurate pot afecta funcționarea fiziologică a celulelor și pot determina anumite intoxicații. **Scop.** De a stabili un protocol pentru determinarea unor oligoelemente în probele de sânge de la un grup de vârstnici sănătoși recoltați la Spitalul Clinic Județean de Urgență Timișoara și pentru a compara valorile obținute după recoltare de sânge cu ace din oțel inoxidabil, față de flexula de teflon. **Metode și proceduri:** 29 subiecți vârstnici sănătoși (14 bărbați și 15 femei) au fost invitați pentru examene medicale și biologice. Probele de sânge au fost recoltate cu ace din oțel inoxidabil dintr-un braț, iar din celălalt braț cu flexula de teflon, în tuburi cu EDTA. S-au curățat materialele de laborator utilizate cu o soluție diluată de acid azotic și apă deionizată; s-au determinat oligoelementele eliberate din dispozitivele utilizate pentru prelevarea de probe, manipularea și depozitarea lor. Metoda GT-AAS (graphite tube atomic absorption spectrophotometry) a fost aplicată pentru determinarea de Al, Cr, Pb, Cu, Ca, Li, Sr pe spectrometrul de absorbție atomică Zeeman cu PSD 120. **Rezultate și concluzii.** Probele de sânge recoltate de la grupul de vârstnici nu au prezentat exces de oligoelemente. Nu au existat diferențe statistice între concentrațiile oligoelementelor măsurate la bărbați și femei sau între probele recoltate cu ace din oțel inoxidabil și cele recoltate cu flexule de teflon. Contaminarea cu metale a probelor în timpul recoltării, manipulării sau depozitării a fost neglijabilă.

Elemental concentration in blood samples collected from a healthy elderly population using stainless steel needles and teflon cannula

Vlad Daliborca Cristina¹ Cimporescu Adinela⁴, Popescu Roxana² Gurban Camelia Vidita³, Vlad Cristian Sebastian⁵, Cumpanasoiu Ciceronis⁶ Dumitrascu Victor¹

"Victor Babeș" University of Medicine and Pharmacy, Timisoara, 1. Pharmacology Dept; 2. Cell and Molecular Biology Dept; 3. Biochemistry Dept; 4. Emergency County Clinical Hosp, Timisoara, Toxicology Dept; 5. Dentissimo Dental Care, Private Dentistry Unit, Timisoara; 6. University of Agricultural Sciences and Veterinary Medicine of Banat, Timisoara, Faculty of Veterinary Medicine, Microbiology Dept

Introduction. Trace element determination is important for medical diagnosis since the levels of some elements are related to pathological conditions. Inadequate concentrations may impair cellular and physiological function and often cause illness. **Aim.** To establish a protocol for trace element determination in blood samples from healthy elderly people attended at Emergency Clinical Hospital Timisoara, and to compare obtained values after blood collection using stainless steel needles versus

Teflon cannula. **Methods and procedure.** 29 healthy elderly subjects (14 men and 15 women) were invited for medical and biological exams. Blood was collected using stainless steel needles in one arm, and in the other arm using Teflon cannula, in tubes with EDTA. We cleaned lab materials using diluted nitric acid solution and deionized water; we determined elements released from devices used for sampling, handling and storage. GT-AAS (graphite tube atomic absorption spectrophotometry) was applied for determination of Al, Cr, Pb, Cu, As, Li, Sr on 240 Zeeman Atomic Absorption Spectrometer equipped with programmable sample dispenser (PSD 120). **Results and conclusions:** the blood samples from selected elderly group did not present deficiency or excess of trace elements. There was no statistical difference among all trace elements concentrations between men and woman or between stainless steel needles and Teflon cannula. Sample contamination during sample collection, handling and storage was negligible.

P15. Metode neinvazive de studiu al stresului oxidativ la pacienții cu boală renală cronică

Voineagu Lavinia¹, Ion Ileana¹, Adumitresi Cecilia¹, Badea Victoria², Tuță Liliana¹

1. Universitatea "Ovidius", Facultatea de Medicină; 2. Facultatea de Medicină Dentară

Am evaluat relația dintre concentrația de glutation redus și glutation oxidat (GSH și GSSG) și concentrația urinară a markerilor de stres oxidativ (15-isoprostane F_{2t} și 8-hidroxi-2-deoxi guanozina). Au fost examinați 52 de pacienți, în vârstă de 66 ± 9 ani, internați în Secția de Nefrologie a Spitalului Clinic Județean de Urgență, Constanța, diagnosticați cu boală cronică de rinichi (BCR) și 40 de voluntari sănătoși (persoane care nu au fost expuse la principalii factori de stres oxidativ). Concentrațiile de GSH, forma sa oxidată (GSSG) și raportul GSH/GSSG și pe de altă parte, F_{2t} -isoprostanul și 8-OH-dG au fost măsurate din sângele integral și din urină, folosind kituri de reactivi ELISA. A fost determinată o diferență semnificativă între nivelurile de GSH ($p < 0,001$), de GSSG ($p < 0,04$) și raportul GSH/GSSG ($p < 0,001$) la pacienții cu BCR față de martorii sănătoși. Comparativ cu voluntarii sănătoși, pacienții cu BCR au prezentat un nivel semnificativ mai mare de 8-OH-dG urinară ($p < 0,002$) și de isoprostan urinar ($p < 0,001$). Concentrațiile crescute sugerează un exces de radicali liberi și un stres oxidativ crescut. O corelație semnificativă a fost găsită între GSH, GSSG, raportul GSH/GSSG, isoprostan ($r = -0,67$) și 8-OHd-G ($r = -0,75$). Isoprostanul este un marker al peroxidării lipidice și poate fi folosit ca potențial indicator *in vivo* al stresului oxidativ, la pacienții cu boală renală. Excreția urinară a 8-OH-dG, produs rezultat în urma stresului oxidativ la nivelul ADN-ului, este propus de asemenea, ca un biomarker neinvaziv.

Noninvasive methods to study oxidative stress in patients with chronic kidney disease

Voineagu Lavinia¹, Ion Ileana¹, Adumitresi Cecilia¹, Badea Victoria², Tuță Liliana¹

1. University "Ovidius" Constanța, Faculty of Medicine; 2. Faculty of Dental Medicine

We have evaluated the association between concentration of reduced and oxidized glutathione (GSH and GSSG) and the urinary concentration of oxidative stress markers (15-isoprostane F_{2t} and 8-hydroxy-2-deoxy Guanosine, 8OHdG). There were examined 52 patients, age 66 ± 9 years, hospital-

ized in the Nephrology Department of Emergency Clinic Hospital of Constanța, diagnosed with chronic renal disease (CRD) and 40 healthy volunteers (individuals who have not been exposed to the main exogenous factors of oxidative stress). Concentrations of reduced glutathione (GSH), its oxidized form (GSSG), GSH/GSSG ratio, and, on the other side, F2-isoprostane and 8OHdG concentrations were measured from whole blood and urine samples, using ELISA kits of reagents. A significant difference between patients with CRD and healthy controls was found in the levels of GSH ($p < 0,001$), GSSG ($p < 0,04$), and GSH/GSSG ratio ($p < 0,001$). Compared with controls, the patients with CRD had a significantly higher level of urinary 8OHdG ($p < 0,002$) and isoprostane ($p < 0,001$). Increased concentrations suggest an excess of free radicals and oxidant injury. A significant correlation was found between GSH, GSSG, GSH/GSSG ratio, isoprostane ($r = -0,67$) and 8OHdG ($r = -0,75$). Isoprostane is authentic biomarkers of lipid peroxidation and can be used as potential in vivo indicators of oxidant stress in renal failure. The urinary excretion of DNA repair product 8OHdG has been proposed as a noninvasive biomarker as oxidative damage in humans in vivo.

P16. Evaluarea indexului de proliferare Ki-67 și corelația cu parametrii clinico-patologici în cancerul de sân

Zaha Dana Carmen¹, Lazăr Elena², Codreanu Ioana Coralia¹

1. Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie, Departamentul Discipline Preclinice; 2. Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara, Departamentul Morfopatologie

Introducere. Cinetica diviziunii celulare este un factor important predictiv în cazul pacienților cu carcinom de sân și poate fi măsurată folosind o varietate de metode. Determinarea imunohistochimică a indicilor de proliferare reprezintă o zonă de expansiune practică și de cercetare, bazată pe detectarea antigenelor prezente în timpul proliferării celulare, cel mai utilizat fiind Ki-67. **Metode.** A fost utilizată imunohistochimia pentru a determina relația dintre Ki-67 și a următorilor parametri clinico-patologici: vârsta, statusul hormonal, diametrul tumoral, tipul histologic și gradul de diferențiere tumorală, invazia limfo-vasculară, stadiul TNM și supraviețuirea. Determinarea IHC a Ki-67 a fost efectuată folosind anticorpii monoclonali MIB-1 prin tehnica Envision pe secțiuni fixate în formaldehidă și incluse la parafină pe 61 de cazuri selectate. **Rezultate.** Am observat o corelație pozitivă între Ki-67 și mărimea tumorii, gradul histologic, statusul menopauzal și clasificarea moleculară. Tumorile luminal A, au prezentat un indice Ki-67 scăzut și intermediar în 92,3% din cazuri, iar tumorile luminal B în 80%. Carcinoamele de tip bazal și HER-2 au prezentat un Ki-67 numai de grad înalt. Tumorile sub 2 cm în diametru au avut un indice Ki-67 redus în 60% din cazuri, în timp ce tumorile mai mari de 5 cm, au prezentat un Ki-67 înalt în 33,3%. Pacientele cu tumori caracterizate prin Ki-67 redus au arătat o rată de supraviețuire la 5 ani de 88,9%, pentru cele având Ki-67 intermediar a fost de 70% și de 50% pentru cel înalt. Nu s-a observat corelație statistică în legătură cu ceilalți parametri clinico-patologici. **Concluzii.** Ki-67 este un util factor de prognostic. **Cuvinte cheie:** cancer de sân, Ki-67, imunohistochimie

Evaluation of ki-67 proliferation index and correlation with clinic pathological parameters in breast cancer

Zaha Dana Carmen¹, Lazăr Elena², Codreanu Ioana Coralia¹

1. Faculty of Medicine and Pharmacy, University of Oradea, Preclinical Disciplines Department;

2. "Victor Babeș", University of Medicine and Pharmacy, Timișoara, Pathology Department

Background. Cell division kinetics is an important predictor of the clinical outcome of breast carcinoma patients and it can be measured using a variety of methods. Immunohistochemical determination of proliferation indices is an expanding area of practice and research, based on the detection of antigens present during cell proliferation the most widely used being Ki-67. **Methods.** IHC was used to determine the relationship between Ki-67 and clinic pathological parameters: age of patients, hormonal status, tumor diameter, histology and tumor differentiation grade, lymph-vascular invasion, TNM stage, survival and molecular sub typing. IHC determination of Ki-67 was performed using monoclonal antibody MIB-1 by Envision technique on sections fixed in formaldehyde and paraffin included of the 61 cases selected. **Results.** We observed a positive correlation between Ki-67 and tumor size, histological grade, menopausal status and molecular sub typing. The luminal A tumors, have presented a low and intermediate Ki-67 in 92.3% of cases and in 80% of luminal B tumors. Basal-type and HER-2 carcinomas had only high type Ki-67. Tumors measured under 2 cm in size had a proliferation index reduced in 60% of cases, while tumors larger than 5 cm have a high Ki-67 in 33.3%. Patients with carcinomas characterized by low Ki-67 scores showed a survival rate at the end of the range of 5 years of 88.9%; for intermediate Ki-67 it was 70% and 50% for higher Ki-67. No statistical correlation was observed about the other clinic pathological parameters. **Conclusions.** Ki-67 is an useful prognostic factor. **Key words:** breast cancer, Ki-67, immunohistochemistry.

P17. Lactoperoxidaza, biocatalizator enzimatic în sinteza organică

Mărculescu Afrodita-Doina¹, Tudorascu Marius², Tudorascu Stefania³

1. Universitatea de Medicină și Farmacie "Gr.T. Popa Iași, 2. Oficiul de Studii Pedologice și Agrochimice, București, 3. Institutul de Chimie-Fizică "I.G.Murgulescu" al Academiei Române, București, Romania

Introducere. Cei mai importanți acizi carboxilici nesaturați, cum ar fi: acidul maleic, acidul fumaric și acidul trans-cinamic, săruri solubile de amoniu, pot fi transformate în sistem omogen, după un proces enzimatic în produși diiodați în pozițiile 2;3 în prezența peroxizilor de hidrogen și o halogenură ionică (iodura). Produsele diiodate organice după hidroliză generează acizi grași saturați dihidroxi fără nici o activitate optică (atât în racemic cât și în mezoforme). **Materiale și metode.** Sistemul omogen obținut a fost supus unei reacții de iodare cu lactoperoxidază imobilizată și alcool oxidază în amestec într-un reactor tip coloană. După 3-5 ore de reacție, produsele cum ar fi: diamoniul 2,3 -diidosuscinat sau amoniu 2,3- diiodohidrocinaamatul în amestec cu substraturi corespunzătoare nesaturate, au fost analizate la spectrofotometru de absorbție atomică, doar ca produs de calciu insolubil (în mediul pe bază de amoniac, în care, sărurile de calciu sunt solubile), pentru evaluarea conținutului de calciu. **Rezultate și discuții.** Rezultatele obținute în timpul iodării enzimatică a anumitor acizi organici nesaturați (sub formă de săruri de amoniu), au arătat că, lactoperoxidaza a fost cel mai bun biocatalizator cu privire la iodarea compușilor organici de sinteză. Alte enzime, precum: cloroperoxidaza, bromoperoxidaza,

mieloperoxidaza sau peroxidaza extrasa din rădăcină de hrean au performanțe catalitice mult mai mici decât enzimele descrise. **Concluzii.** Rezultatele obținute, utilizând în mod special imobilizarea lactoperoxidazelor în sisteme omogene (precum în sisteme de dispersie, utilizându-le ca substrat, esteri nemiscibili de acizi maleici/fumarici/cinamici), ne conduc către noi oportunități în dezvoltarea industriei farmaceutice și medicale, cum ar fi pentru bitartrat de acetilcolină, butirilcolină sau butiriltiocolină și sinteza dihidrocinamatelor.

Lactoperoxidase, biocatalyst in enzymatic organic synthesis

Mărculescu Afrodita-Doina¹, Tudorascu Marius², Tudorascu Stefania³

1. University of Medicine & Pharmacy "Gr.T. Popa" 16, Iasi, Romania, 2. Office for Pedological and Agrochemical Studies, Bucharest, Romania 3. Romanian Academy Institute of Physical Chemistry, "I.G.Murgulescu, Bucharest, Romania

Introduction. The most important carboxylic unsaturated acids, such as: maleic, fumaric and trans-cinnamic acid, soluble ammonium salts, can be transformed in homogeneous system, after an enzymatic process into 2,3-diiodoproducts in presence of hydrogen peroxide and an ionic halide (iodide). The organic diiodoproducts after hydrolysis generate organic saturated dihydroxiacids with no optical activity (both in racemic and in meso forms). **Materials and methods.** The obtained homogeneous system was subjected to iodination reaction process with immobilized lactoperoxidase and alcohol oxidase in mixture in a column-type reactor. After 3-5 hours of reaction, the products such as: diammonium 2,3-diiodosuccinate or ammonium 2,3-diiodohydrocinnamate in mixture with unreacted corresponding unsaturated substrates were analyzed on atomic absorption spectrophotometer, only as insoluble calcium product (in ammonia medium in which, the Ca salts are solubles), for calcium content evaluation. **Results and discussions.** The results obtained during the enzymatic iodination of certain organic unsaturated acids (as ammonium salts), showed as that, lactoperoxidase was the best biocatalyst with respect to organic iodination compounds synthesis. Other enzymes, such as: chloroperoxidase, bromoperoxidase, myeloperoxidase or horseradishperoxidase have catalytic performance much smaller than the described enzyme. **Conclusions.** The obtained results, using especially the immobilized lactoperoxidase in homogeneous system (like in disperse system, by using as substrates, unmiscible esters of maleic/fumaric/cinnamic acids), leads to new opportunities in agriculture and pharmaceutical industry development, such as, for acetylcholine, butyrylcholine or butyrylthiocholine bitartrates and dihydrocinnamates synthesis

P18. Lărgimea distribuției eritrocitare, proteina C reactivă înalt sensibilă și interleukina 6 la pacienți cu boală coronariană demonstrată angiografic

Buzas Roxana, Mihăescu Rodica, Serban Corina, Suceava Ioana, Lighezan Daniel

Universitatea de Medicină și Farmacie „Victor Babeș” Timișoara

Scopul studiului. Ateroscleroza este un proces dinamic la care participă dislipidemia aterogenă, disfuncția endotelială, inflamația și numeroși alți factori. Mediatorii inflamației dintre care proteina C reactivă înalt sensibilă (hs-CRP) și interleukina 6 (IL-6) pot contribui la exacerbarea procesului aterosclerotic. Lărgimea distribuției eritrocitare (RDW), parametru determinat de rutină este considerat un predictor independent al evenimentelor cardiovasculare. Scopul acestui studiu este de a analiza va-

lorile serice ale hs-CRP, IL-6 și RDW și posibila corelare a acestora, la pacienți cu boală coronariană demonstrată angiografic. **Material și metodă.** Studiul a inclus un număr de 201 pacienți cu boală coronariană demonstrată angiografic care au fost grupați în 3 loturi în funcție de extensia afectării coronariene: 126 pacienți cu afectare monovasculară (lot A: vârsta medie 59.1 ± 9.84 ani), 42 pacienți cu afectare bivasculară (lot B: vârsta medie 59.1 ± 9.65 ani) și 33 pacienți cu afectare coronariană trivasculară (lot C: vârsta medie 64.0 ± 8.81 ani). Cele 3 loturi au fost comparate cu un lot control format din 41 de subiecți aparent sănătoși. Au fost determinate valorile RDW cât și nivelul seric al hs-CRP și IL-6 la toți pacienții. **Rezultate.** Au fost obținute diferențe semnificative din punct de vedere statistic atunci când s-au comparat valorile medii ale RDW cât și ale hs-CRP și IL-6 la cele 4 loturi, pacienții trivasculari având valori semnificativ crescute ale celor trei parametri comparativ cu cei bivasculari, monovasculari sau din lotul control ($p < 0.001$). A fost de asemenea observată o corelație medie, directă și semnificativă statistic între IL-6 și RDW ($r=0.485$, $p < 0.001$). **Concluzii.** Studiul nostru a arătat faptul că IL-6 și hs-CRP reprezintă markeri biochimici ai procesului inflamator cronic sistemic din boala coronariană fiind corelați nu doar cu prezența ci și cu severitatea și extensia acesteia. Valorile crescute ale RDW sunt de asemenea asociate severității și extensiei bolii coronariene iar corelația acesteia cu IL-6 demonstrează faptul că RDW reflectă prezența procesului inflamator sistemic la pacientul cu boală coronariană.

Red cell distribution width, high sensitivity C reactive and Interleukin 6 in patients with angiographically confirmed coronary artery disease

Buzas Roxana, Mihăescu Rodica, Serban Corina, Suceava Ioana, Lighezan Daniel

University of Medicine and Pharmacy "Victor Babes", Timisoara, Romania

Aim of the study. Vascular lipid accumulation and inflammation are hallmarks of atherosclerosis and perpetuate atherosclerotic plaque development. Mediators of inflammation as C reactive protein (hs-CRP) and interleukin 6 (IL-6) may contribute to the exacerbation of atherosclerosis. Red cell distribution width (RDW), routinely reported parameter is a strong predictor of cardiovascular events. The aim of the present study was to investigate RDW and the serum levels of hs-CRP and IL-6 in patients with angiographically confirmed coronary artery disease. **Methods.** We enrolled 201 patients with angiographically confirmed coronary artery disease that were divided in three groups by the extent of coronary artery affection: 126 patients with monovascular affection (group A: mean age 59.1 ± 9.84 years), 42 with bivascular affection (group B: mean age 59.1 ± 9.65 years) and 33 with trivascular affection (group C: mean age 64.0 ± 8.81 years). The groups were compared with a control group formed by 41 apparently healthy subjects. We measured RDW, hs-CRP and IL-6 levels in all patients. **Results.** We obtained significant increased values of mean hs-CRP and IL-6 in trivascular compared to bivascular, monovascular and control groups (all $p < 0.001$). We also obtained significant increase values of RDW in trivascular group compared to bivascular, monovascular and control groups (all $p < 0.001$). We found a moderate significantly correlation between IL-6 and RDW ($r=0.485$, $p < 0.001$). **Conclusion.** Our study showed that increased levels of RDW, hs-CRP and IL-6 are associated with severe extension of angiographically confirmed coronary artery disease. The correlation between IL-6 and RDW levels we obtained shows that high levels of RDW may reflect an underlying inflammatory state causing anisocytosis.

P19. Eritemul migrans (boala Lyme stadiul I): diferite aspecte clinice și același patogen

Chiriac Anca¹, Mihailă Doina², Racoviță Stefana³, Trandafirescu Mioara⁴, Foia Liliana⁴

1. CMI Nicolina, Iași-Romania, 2. Spitalul Universitar "Sf. Maria", Dept. Patologie Iași-Romania, 3. Institutul de Chimie Macromoleculară Petru Poni, Iași-Romania, 4. Universitatea de Medicină și Farmacie "Gr.T. Popa", Iași-Romania

Introducere: Boala Lyme este cea mai frecventă boală infecțioasă determinată de capușe în Europa, cauzată de *Borrelia burgdorferi*, o spirochetă Gram-negativ descoperită în 1982. Boala Lyme cunoaște trei stadii clinice iar probabilitatea de transmitere la om prin înțepătură este redusă în primele 24 de ore de la aderență, dar ulterior aceasta crește rapid și poate duce la o infecție acută sau cronică. **Material și metodă:** Vom prezenta câteva cazuri de eritem migrans apărut în vara anilor 2011-2012, în partea de est a României, în scopul de a sublinia importanța diagnosticului clinic și multiplele fațete ale erupției cutanate cauzate de *Borrelia*. **Rezultate și discuții:** Cea mai frecventă manifestare clinică a infecției precoce cauzată de *Borrelia* este eritemul migrans, care se raspandeste in jurul înțepăturii de capușă, luand o formă rotundă sau ovală. Clinic, au putut fi observate aspecte de hemoragie centrală, necroză și chiar bule, neasociate însă cu durere la locul de infecție. Particularitățile cazurilor raportate au constat în: afectarea la vârste diferite, apariția de leziuni singulare la nivelul obrazilor (spre deosebire de trunchi și extremități unde s-au înregistrat leziuni multiple), și, nu in ultimul rand rapoartele serologice negative pentru *Borrelia*. Terapia de primă linie a constat in administrarea de antibiotice timp de trei saptamani, cu rezultate clinice excelente, monitorizarea ulterioară serologică pentru *Borrelia*, nefiind necesară. **Concluzii:** Diagnosticul bolii Lyme în stadiul I se bazează pe dovezi clinice, fără a fi nevoie de serologie iar tratamentul cu antibiotice este regula, indiferent de rezultatul testelor de laborator.

Erythema migrans (Lyme disease stage I): different clinical aspects and the same pathogen

Chiriac Anca¹, Mihailă Doina², Racoviță Stefana³, Trandafirescu Mioara⁴, Foia Liliana⁴

1.Nicolina Medical Center, Dermatology, Iasi-Romania,2.Saint Mary Children Hospital, Dept. Pathology Iasi-Romania,3.Petru Poni Institute of Macromolecular Chemistry, Iasi-Romania,4.University of Medicine and Pharmacy "Gr.T. Popa", Iasi-Romania

Introduction: Lyme disease is the most frequent tick-borne infectious disease in Europe, it is caused by the pathogen *Borrelia burgdorferi* discovered in 1982, a Gram-negative spirochete. Lyme disease is clinically classified into three stages and the probability of transmission in human by a tick bite is low in the first 24 hours of adhesion, but then it rapidly enhances and it can lead to an acute or chronic infection. **Material and methods:** We present a few cases of erythema migrans appeared in the summer of 2011-2012, in eastern part of Romania, in order to point out the importance of clinical diagnosis and the multiple faces of the *Borrelia* rash. **Results and discussions:** The most common clinical manifestation of early *Borrelia* infection is erythema migrans that spreads around the site of tick bite in a round or oval shape. Central hemorrhage, necrosis and even bullae could be observed, and no pain at the site of infection was reported. The particularities of the cases reported consisted of: affection of different ages, spread of the lesions on the cheeks in the form of singular lesion (contrasting

with multiple lesions on the trunk and extremities), negative serology reports for *Borrelia*. The first line therapy consisted of three weeks antibiotic administrations, with excellent clinical results. Moreover, there was no need for further serum monitoring for the *Borrelia*. **Conclusion:** The diagnosis in Lyme disease stage I is based on clinical evidences, no serology is needed and the antibiotic therapy is the rule despite the laboratory results.

P20. Enzime urinare – markeri biochimici ai nefrotoxicității preparatelor medicamentoase

Vera Sali

LCCS USMF “Nicolae Testemitanu”, Spitalul Clinic Republican, Chisinau, Moldova

În lotul de studiu s-a determinat activitatea enzimelor urinare γ -glutamil transpeptidasei (γ -GT), N-acetil- β -glucozaminidasei (NAG), precum și nivelul β 2- microglobulinei (β 2-M) în urină la pacienții cu nefrolitiază și pielonefrită cronică în acutizare, tratați cu gentamicină și alte antibiotice. La toți pacienții s-a determinat excreția majoră a enzimelor γ -GT, NAG, β 2-M, cât și a nivelului de β 2-M în urină până la tratament. O creștere semnificativă a enzimozității γ -GT, NAG și nivelului de β 2-M pe parcursul terapiei cu gentamicină s-a determinat înainte de creșterea indicilor de creatinină și uree în sânge, fapt ce permite a considera acești indici markeri ai nefrotoxicității.

Urinary enzymes - biochemical markers of nephrotoxicity

Vera Sali

LCCS USMF “Nicolae Testemitanu”, Spitalul Clinic Republican, Chisinau, Moldova

The aim of this study was to investigate the γ -glutamyl transpeptidase (γ -GT), N-acetyl- β -glucosaminidase (NAG) activity and the β 2-microglobulin (β 2-M) levels in urine in patients with nephrolithiasis and chronic pyelonephritis in active forms treated with gentamycin and other antibiotics. The urinary γ -GT, NAG and β 2-M were increased in all patients before the treatment. Increased γ -GT, NAG activity and β 2-M levels during gentamicine therapy has been observed before the rise of the blood serum urea and creatinine levels, this permitting one to consider these indices markers of nephrotoxicity.

Biochemistry I

R1. Role of oxidative stress in atherosclerotic cardiovascular disease

Ian Young

Centre for Public Health, Queen's University Belfast, Royal Victoria Hospital, UK

Abstract not available.

R2. Role of drugs and lifestyle in the management of dyslipidaemia

Ian Young

Centre for Public Health, Queen's University Belfast, Royal Victoria Hospital, UK

Abstract not available.

Posters 2. Microbiology, Hematology

P21. Influența unui supliment din coajă de Lapacho asupra nivelelor serice ale (1→3)-β-D-glucanului la pacienți pediatrici

Șular Floredana Laura^{1,2}, Mărginean Alina^{1,2}, Bilca Doina², Dobreanu Minodora^{1,2}

1. Dept Biochimie Clinică – Imunologie, Univ Med & Farm Târgu Mureș, 2. Spitalul Clinic Județean de Urgență Tg.Mureș, Laborator Central de Analize Medicale

(1→3)-β-D-glucanul (BG) este o componentă de bază în peretele celulei fungice, evidențierea lui în serul uman fiind propusă în scop de screening al unei posibile boli fungice invazive (BFI), respectiv de diagnostic al unei aspergiloze pulmonare. Studiul de față și-a propus să verifice dacă nivelele serice ale BG la pacienții pediatrici sunt influențate de administrarea unui preparat imunomodulator (*Melesan*®) pe bază de extract de coajă de copac Lapacho. Numărul total al pacienților pediatrici studiați a fost de 22, împărțiți într-un lot martor format din 12 pacienți pediatrici hematologici și cu alte patologii care excludeau un posibil aport de BG și un lot de 10 pacienți pediatrici onco-hematologici cărora li se administra preparatul *Melesan*®. În urma testării nivelelor BG, am putut constata existența unei diferențe semnificative statistic între medianele nivelelor serice ale BG-ului lotului martor (15,70±11,79 ng/mL) față de lotul care a consumat preparatul pe bază de extract de Lapacho (88,55±56,74 ng/mL) (p<0,004, α=0,05), pacienții care consumă un astfel de preparat prezentând un risc relativ de 4,8 mai mare de a avea un nivel seric pozitiv al BG, față de pacienții care nu l-au utilizat (p<0,01). **Concluzii.** Consumul preparatului *Melesan*®, pe bază de extract de arbore Lapacho, în populația pediatică onco-hematologică determină creșterea nivelelor serice ale BG-ului. Aceasta face ca testarea nivelului BG

(*Fungitell*®) să nu fie utilă, din punct de vedere clinic, ca test de screening a BFI, la această populație.
Cuvinte cheie: (1→3)-β-D-glucan, Lapacho, pacienți pediatrici hematologici, boală fungică invazivă

Influence of a Lapacho bark supplement on the (1→3)-β-D-glucan serum levels in pediatric patients

Șular Floredana Laura^{1,2}, Mărginean Alina^{1,2}, Bilca Doina², Dobreanu Minodora^{1,2}

1. Dept Clinical Biochemistry – Immunology, Univ Med & Pharm Târgu Mureș, 2. Clinical County Emergency Hospital Tg.Mureș, Central Laboratory

(1→3)-β-D-glucan (BG) (*Fungitell*® test) is a major component of the fungal cell wall, its detection in the human serum being recommended as a screening test for invasive fungal disease (IFD), and diagnosis of pulmonary aspergillosis, respectively. The aim of the present study was to identify whether the BG serum levels in pediatric patients are influenced by the intake of an immunomodulating product (*Melesan*®) obtained from the bark of the Lapacho tree. The total number of pediatric patients that were studied was 22, divided into a witness group made of 12 hematological pediatric patients and patients with other conditions that ruled out a possible BG intake, and one group made of 10 onco-hematological patients who were administered *Melesan*®. After testing the BG levels, we could identify the existence of a statistically significant difference between the BG serum median levels of the control group (15,70±11,79 ng/mL) compared to the group of patients that used the Lapacho bark extract (88,55±56,74 ng/mL) ($p < 0,004$, for $\alpha = 0,05$). The patients that used the Lapacho product had a 4,8 higher relative risk for a positive result of the BG serum testing, compared to the patients that did not use it ($p < 0,01$). **Conclusions.** The intake of *Melesan*®, a product extracted from the bark of the Lapacho tree, causes an increase of the BG serum levels in the onco-hematological pediatric population. This makes the testing of the BG (*Fungitell*® assay) useless for the IFD screening in this population, from the clinical point of view. **Key words:** (1→3)-β-D-glucan, Lapacho, onco-hematological pediatric patients, invasive fungal disease

P22. Metode imunoenzimatică utilizate pentru detectarea anticorpilor serici față de HCV și a hepatitei HBV-HDV la subiecții din ambulator investigați și pentru alte infecții

Boboș Cecilia¹, Bîlc Ana Maria², Pinteia Ioan³, Botezan Nicoleta Delia², Feticu Lucia², Marc Sorina², Cotul Cristina², Terec Aurelia Doina²

1. Disciplina Microbiologie, Universitate de Medicină și Farmacie "Iuliu-Hațieganu", Cluj-Napoca 2. Ambulator Integrat al Spitalului Clinic de Boli Infecțioase, Cluj-Napoca, 3. Departamentul Imunologie al Laboratorului Spitalului Clinic de Boli Infecțioase, Cluj-Napoca

Obiective: A fost investigată prezența anticorpilor serici față de HCV și a infecției mixte HBV-HDV pentru 1148 subiecți prezenți în ambulator în perioada 01 August 2010–31 Ianuarie 2012. Unii subiecți au fost suspectați și pentru prezența altor infecții fiind testați corespunzător. **Material și metode:** Metodele utilizate pentru investigarea a 1148 subiecți (496 subiecți de sex masculin și 652 subiecți

de sex feminin) în vârstă de 3 luni-86 ani, au fost: 1) metoda MEIA (Microparticle Enzyme Immunoassay) pentru testarea în ser a anticorpilor față de HCV, a anticorpilor față de HIV și a antigenului HBs; 2) metoda HDV Ab Competitive Enzyme Immunoassay pentru detectarea semicantitativă „în doi pași” a anticorpilor serici față de virusul hepatitei Delta (HDV); 3) test imunocromatografic pentru depistarea anticorpilor serici față de *Helicobacter pylori*; testele CRP-Latex, ASLO-Latex; detectarea crioglobulinelor; examen coproparazitologic. **Rezultate:** Din 1148 subiecți testați pentru o infecție cu HCV, 1084 (94,4%) subiecți au avut vârsta de 18-86 ani (460 bărbați și 624 femei) și 64 (5,6%) copii și tineri au fost în vârstă de 3 luni-17 ani (36 băieți și 28 fete). Din acești 1148 pacienți, 113 (9,8%) au fost infectați cu un virus al hepatitelor: 68 subiecți de 33-86 ani (27 bărbați și 41 femei) și 2 fete de 10 luni și respectiv de 8 ani, precum și un băiat de 13 ani au prezentat numai anticorpi serici față de HCV; la 40 subiecți de 20-70 ani (17 bărbați și 23 femei) a fost detectat numai antigenul HBs; un bărbat de 66 ani prezenta o infecție mixtă HBV-HDV (au fost detectați antigenul HBs și anticorpii anti-HDV) și un bărbat de 53 ani a avut o infecție mixtă HCV-HBV (au fost depistați antigenul HBs și anticorpii anti-HCV). Au fost afectați mai frecvent subiecții în vârstă de 51-55 ani, comparativ cu alte grupe de vârstă. Din cei 1148 subiecți, în 63 cazuri testate nu au fost depistați anticorpii anti-HIV, la 15 subiecți din 29 testați au fost depistați anticorpi serici față de *Helicobacter pylori*, în 18 cazuri din cele 76 testate, valorile CRP (proteina C reactivă) au fost crescute (6 mg/L sau 8 mg/L sau 12 mg/L), în 3 cazuri valoarea ASLO a fost de 400 UI/ml (unii subiecți au fost investigați pentru depistarea streptococilor beta-hemolitici), la toți cei 89 subiecții testați valorile pentru crioglobuline au fost negative și în materiile fecale au fost detectați *Entamoeba coli* la un bărbat de 64 ani și *Blastocystis hominis* la un bărbat de 59 ani. **Concluzii:** Anticorpii față de HCV au fost testați în 1148 cazuri și din acestea, 71 (6,1%) subiecți au avut numai anticorpi anti-HCV și un subiect a prezentat o infecție mixtă HBV-HDV. Nu s-a constatat o corelație între infecția cu HCV și valorile crioglobulinelor la cazurile investigate.

Enzyme immunoassays for detection of HCV serum antibodies and HBV-HDV hepatitis in out-patients clinic also investigated for other infections

Botezan Nicoleta Delia², Feticu Lucia², Marc Sorina², Cotul Cristina², Terec Aurelia Doina²

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

2. Integrated Ambulatory of Clinic Hospital and Infectious Diseases, Cluj-Napoca, 3. Department of Immunology from Laboratory of Clinic Hospital and Infectious Diseases, Cluj-Napoca

Objectives: The presence of the serum antibodies against HCV and the mixed infection HBV-HDV were investigated in 1148 out-patients clinic in the period 01 August 2010 – 31 January 2012. Some subjects were also suspected for other infections being tested properly. **Material and methods:** The methods used for investigation of 1148 subjects (496 males and 652 females) aged 3 months-86 years, were: 1) MEIA (Microparticle Enzyme Immunoassay) technology (Abbott AxSYM® System) for testing in serum samples of the antibodies against HCV, the antibodies against HIV and HBs Antigen; 2) HDV Ab Competitive Enzyme Immunoassay used for in vitro semi quantitative detection of antibodies against Hepatitis Delta Virus (HDV) in human serum with “a two steps” methodology; 3) the chromatographic immunoassay for detection of the serum antibodies against *Helicobacter pylori*; CRP-Latex Test, ASLO-Latex Test; the detection of the cryoglobulins; the parasitological examination in stools. **Results:** Of the 1148 subjects tested for a HCV infection, 1084 (94.4%) subjects aged 18-86 years (460 males and 624 females) and 64 (5.6%) children and teenagers aged 3 months-17 years (36 boys and 28 girls). Of these 1148 patients, 113 (9.8%) subjects were infected with a virus of hepatitis:

only 68 subjects aged 33–86 years (27 males and 41 females) and 2 girls aged 10 months and 8 years, respectively and also a boy aged 13 years presented serum antibodies against HCV; only 40 subjects aged 20-70 years (17 males and 23 females) had HBs Antigen; a male aged 66 years presented a mixed infection HBV-HDV (HBs Antigen and the anti-HDV antibodies were detected) and a male aged 53 years had a mixed infection HCV-HBV (HBs Antigen and the anti-HCV antibodies were found). The subjects aged 51-55 years were more frequent involved, as compared with the other age groups. Of the 1148 subjects, in 63 tested cases the antibodies anti-HIV were not detected; in 15 subjects of the 29 tested subjects the serum antibodies against *Helicobacter pylori* were detected; in 18 cases of the 76 tested subjects, the values for CRP (C reactive protein) were high (6 mg/L or 8 mg/L or 12 mg/L), in 3 cases ASLO value was 400 UI/ml (some subjects were investigated for the detection of the beta-hemolytic streptococci), in all 89 tested subjects the values for cryoglobulins were negatives and *Entamoeba coli* in a male aged 64 years and *Blastocystis hominis* in a male aged 59 years were detected in the stools. **Conclusions:** The antibodies against HCV were tested in 1148 cases and of these, only 71 (6,1%) subjects had anti-HCV antibodies and a subject presented a mixed infection HBV-HDV. No correlation was found between HCV infection and the cryoglobulins values in the investigated cases. **Key words:** MEIA, infection, HCV, HDV, cryoglobulins.

P23. Detectarea infecției cu *Helicobacter pylori* prin teste imunocromatografice și importanța biopsiei gastrice în diagnostic

Boboș Cecilia¹, Botezan Nicoleta Delia², Zaharie Toader³, Feticu Lucia², Bîlcana Maria², Todor Corina Alexandra², Terec Aurelia Doina²

Disciplina Microbiologie, Universitatea de Medicină și Farmacie “Iuliu-Hațieganu”, Cluj-Napoca, 2. Ambulator Integrat al Spitalului Clinic de Boli Infecțioase, Cluj-Napoca, 3. Laboratorul Clinicii Medicală III, Cluj-Napoca

Obiective: Detectarea infecției cu *Helicobacter pylori* la subiecții din ambulator a fost efectuată în perioada 01 Ianuarie 2010 - 09 Martie 2012. **Material și metode:** Un număr de 3602 subiecți (1248 subiecți de sex masculin și 2354 subiecți de sex feminin) în vârstă de 2 luni - 99 ani au fost investigați prin teste imunocromatografice pentru detectarea antigenului față de *Helicobacter pylori* în materiile fecale sau pentru detectarea anticorpilor serici față de aceeași bacterie. **Rezultate:** Din totalul de 3602 subiecți investigați, antigenul *Helicobacter pylori* a fost testat la 390 subiecți (128 subiecți de sex masculin și 262 subiecți de sex feminin): 350 subiecți (111 bărbați și 239 femei) în vârstă de 18-88 ani și 40 subiecți (17 băieți și 23 fete) în vârstă de 2 luni - 17 ani. Din acești 390 subiecți, antigenul *Helicobacter pylori* a fost depistat în 112 (28,7%) cazuri: 103 subiecți (36 bărbați și 67 femei) în vârstă de 18-78 ani și 9 subiecți (5 băieți și 4 fete) în vârstă 8 luni-17 ani. Din cei 3602 subiecți investigați, anticorpii serici față de *Helicobacter pylori* au fost testați la 3212 subiecți (1120 subiecți de sex masculin și 2092 subiecți de sex feminin) în vârstă de 5 luni - 99ani. Din acești 3212 subiecți, anticorpii serici au fost depistați în 1073 (33,4%) cazuri (345 subiecți de sex masculin și 728 subiecți de sex feminin) și din aceste cazuri pozitive, 874 (81,5%) subiecți (257 bărbați și 617 femei) prezentau vârsta de 18-87 ani și 199 (18,5%) subiecți (88 băieți și 111 fete) aveau vârsta de 6 luni-17 ani. **Concluzii:** Detectarea infecției cu *Helicobacter pylori* la cei 3602 subiecți testați a fost efectuată, în ambulator, prin metode neinvazive (teste imunocromatografice) pentru a detecta antigenul *Helicobacter pylori* în materiile fecale, ceea ce indică o infecție activă (112 cazuri) și pentru evidențierea anticorpilor serici față de această bacterie, care demonstrează trecerea prin infecție (1073 cazuri). Confirmarea diagnosticului etiologic

se poate face prin metode invazive cum este biopsia gastrică prin endoscopie, utilă pentru examenul histologic a probelor de țesut și cultivarea bacteriei.

Cuvinte cheie: *Helicobacter pylori*, teste imunocromatografice, biopsie.

Detection of *Helicobacter pylori* infection by using chromatographic immunoassays and the importance of the gastric biopsy in the diagnosis

Boboș Cecilia¹, Botezan Nicoleta Delia², Zaharie Toader³, Feticu Lucia², Bîlcana Maria², Todor Corina Alexandra², Terec Aurelia Doina

1. Departament of Microbiology "Iuliu-Hațieganu" University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca, 2. Laboratory of Integrated Ambulatory from Clinic Hospital of Infectious Diseases, Cluj-Napoca, 3. Laboratory of Medical Clinic III, Cluj-Napoca

Objectives: The detection of *Helicobacter pylori* infection in out-patients clinic was made in the period 01 January 2010 - 09 March 2012. **Material and methods:** A number of 3602 subjects (1248 males and 2354 females) aged 2 months-99 years were investigated through chromatographic immunoassays for the detection of *Helicobacter pylori* Antigen in the stools or for the detection of the serum antibodies against the same bacterium. **Results:** Of the total number of 3602 investigated subjects, *Helicobacter pylori* Antigen was tested in 390 subjects (128 males and 262 females): 350 subjects (111 males and 239 females) aged 18-88 years and 40 subjects (17 boys and 23 girls) aged 2 months-17 years. Of these 390 subjects, *Helicobacter pylori* Antigen was detected in 112 (28.7%) cases: 103 subjects (36 males and 67 females) aged 18-78 years and 9 subjects (5 boys and 4 girls) aged 8 months-17 years. Of those 3602 investigated subjects, the serum antibodies against *Helicobacter pylori* were tested in 3212 subjects (1120 males and 2092 females) aged 5 months-99 years. Of these 3212 subjects, the serum antibodies were found in 1073 (33.4%) cases (345 males and 728 females) and of these positive cases, 874 (81.5%) subjects (257 males and 617 females) aged 18-87 years and 199 (18.5%) subjects (88 boys and 111 girls) aged 6 months -17 years. **Conclusions:** The detection of *Helicobacter pylori* infection in those 3602 tested subjects was made ambulatory by using the non-invasive methods (chromatographic immunoassays) for the detection of *Helicobacter pylori* Antigen in the stools showing an active infection (112 cases) and for the evidence of the serum antibodies against this bacterium proving the passage through the infection (1073 cases). The confirmation of the etiological diagnosis should be made by using the invasive methods such as the biopsy through gastric endoscopy useful for the histological examination of the tissue samples and for the culture of the bacterium.

Key words: *Helicobacter pylori*, chromatographic immunoassays, biopsy.

P24. Etiologia bronșiolitelor acute la copiii între 1-30 luni: aspecte generale, demografice și de clinică pediatrică

Marusca Patricia¹, Spineanu R.³, Burta Olivia Ligia¹, Micle Otilia¹, Pelea Diana¹, Cladovan Claudia², Cheregi Simona², Iovan R.¹, Reikli S.¹

1.Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicina si Farmacie, Departamentul Discipline Preclinice, 2.Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicina si Farmacie, Departamentul Discipline Medicale, 3.Spitalul Clinic Municipal „Gavril Curteanu” Oradea

Introducere. Bronșiolita acută este una dintre cele mai frecvente afecțiuni respiratorii ale sugarului și copilului mic, și are o etiologie aproape exclusiv virală. **Obiective.** Identificarea agenților virali și stabilirea unor conexiuni sezoniere, demografice și clinice ale acestora în contextul bronșiolitei. **Material și metodă.** Cazuistica a fost reprezentată de 177 pacienți cu vârsta cuprinsă între 1-30 luni, internați la Clinica de Pediatrie din Oradea, pe parcursul a 3 sezoane, în intervalele octombrie-aprilie. Pentru decelarea etiologiei s-a procedat la determinarea anticorpilor antivirali prin metoda ELISA, investigându-se 8 virusuri sau asocieri ale acestora. **Rezultate.** Etiologia a putut fi stabilită la 70,60% din cazuri, cu o dominație netă a virusului respirator sincițial (VRS) (88/70,40%), urmat în ordinea frecvenței, de virusurile paragripale (VPG) (13/10,4%) și adenovirusuri (4/3,2%). Nu s-au constatat diferențe semnificative de structură etiologică între sezoane. La ambele sexe a dominat VRS, cu o mai mare incidență la pacienții de sex masculin (79/69,91%), urmat de VPG 1 la băieți și VPG 2 la fete. VRS domină etiologia la toate subgrupele de vârstă. Nu au existat diferențe semnificative între mediile de proveniență sau între grupele ce definesc nivelul socio-economic al familiei pacienților. VRS a determinat cele mai grave forme clinice de bronșiolită, urmate ca frecvență de VPG și, în consecință cele mai lungi spitalizări (17/13,6%). Prematurii au fost infectați predominant cu VRS sau asocieri între VRS și VPG (18/14,4%). **Concluzii.** Studiul cauzalității virale a bronșiolitelor acute permite identificarea unui particular epidemiologic și etiologic teritorial, multianual, și a unor corelații demografico-clinice. **Cuvinte cheie:** bronșiolita, virusuri respiratorii

The etiology of acute bronchiolitis in children (1-30 months): general, demographic and paediatric clinical aspects

Marusca Patricia¹, Spineanu R.³, Burta Olivia Ligia¹, Micle Otilia¹, Pelea Diana¹, Cladovan Claudia², Cheregi Simona², Iovan R.¹, Reikli S.¹

1.The Preclinic Disciplines Department, The Faculty of Medicine and Pharmacy, The University of Oradea, 2.The Medical Disciplines Department, The Faculty of Medicine and Pharmacy, The University of Oradea, 3. The “Gavril Curteanu” Municipal Clinical Hospital Oradea

Introduction. The acute bronchiolitis is one of the most frequent respiratory disease in infants and toddlers and it has an almost exclusive viral etiology. **Objective.** To identify the viral agents and to establish the seasonal, demographical and clinical connections between them in the context of bronchiolitis. **Material and method.** The group of study has been represented by 177 patients between 1-30 months, admitted in the Paediatric Clinic of Oradea, in 3 seasons, during October and April. In order to identify the etiology, the antiviral antibodies for 8 viruses or their associations by ELISA method has been determined. **Results.** The etiology has been established in 70,6% of cases, with the dominance of respiratory syncytial virus (RSV) (88/70,40%), followed as frequency by parainfluenzae viruses

(13/10,4%) and adenoviruses (4/3,2%). There were no significant differences regarding the etiology between the seasons. The main etiologic agent was RSV, with a higher incidence in males (79/69,91%), followed by parainfluenzae 1 virus in male and parainfluenzae 2 virus in female. RSV dominated the etiology in all the age subgroups. There were no significant differences between the etiology of rural and urban environment or different socio-economic status. RSV produced the most severe clinical of bronchiolitis cases (followed by parainfluenzae viruses) and, therefore, the longest hospitalizations (17/13,6%). The prematures were infected mostly with RSV or associations of RSV and parainfluenzae viruses (18/14,4%). **Conclusions.** The study of viral causality of acute bronchiolitis permits the identification of a territorial epidemiological and etiological peculiar, multiannual, and of some demographic-clinical correlations. **Keywords:** bronchiolitis, respiratory viruses.

P25. Implicarea unor specii de Enterococi in infectii urogenitale

Micle Otilia¹, Muresan Mariana¹, Constangioara Adriana¹, Marusca Patricia¹, Iovan Radu¹, Micle Liana²

1. Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicina si Farmacie, Departamentul Discipline Preclinice, 2. Spitalul Clinic Judetean de Urgenta Oradea

Introducere. Enterococii sunt bacterii care fac parte din flora comensala a tractului intestinal, si de asemenea se pot intalni si la nivelul vaginului sau cavitatii orale. Aceste bacterii au fost considerate ca avand un grad redus de patogenitate, insa in ultimii ani s-a remarcat implicarea tot mai frecventa a acestora in infectiile nosocomiale. **Scopul lucrarii.** Studiul nostru urmareste implicarea unor specii de enterococi in etiologia infectiilor uro-genitale la pacientii din ambulator care s-au adresat unui laborator particular din Oradea in perioada ianuarie-decembrie 2011. **Material si metoda.** S-au luat in studiu un numar de 2046 uroculturi, 446 de secretii vaginale, 84 de secretii uretrale si 87 de spermoculturi. Speciile de enterococi au fost identificate cu sistemul automat Vitek 2 compact (Biomerieux, Franta). **Rezultate:** Din cele 594 de uroculturi pozitive s-au izolat 78 de enterococi (13.13%). Din cele 446 de secretii vaginale, la un numar de 111 s-au izolat enterococi, respectiv 96 tulpini de *Enterococcus faecium* si 15 tulpini de *Enterococcus faecalis*. Din secretiile vaginale la care s-au izolat enterococi, in 57 cazuri etiologia a fost monobacteriana, iar la restul de 54 de prelevate, alaturi de enterococi s-au izolat si alti germeni (*Escherichia coli*, *Stafilococcus aureus*, *Proteus mirabilis* si *Candida albicans*). Din secretiile uretrale si spermoculturi s-au izolat 18 (29%), respectiv 4 (10%) tulpini de enterococi. In total din prelevatele uro-genitale s-au izolat 177 tulpini de *E. faecalis* (150 la femei si 27 la barbati) si 34 tulpini *E. faecium* (18 la femei si 16 la barbati). **Concluzii:** Infectiile uro-genitale cu enterococi apar mai frecvent la femei decat la barbati. 80% din tulpinile de enterococi izolate apartin speciei *E. faecalis*.

The involvement of Enterococci strains in urogenital infections

Micle Otilia¹, Muresan Mariana¹, Constangioara Adriana¹, Marusca Patricia¹, Iovan Radu¹,
Micle Liana²

1 - University of Oradea, Medicine and Pharmacy Faculty, Department Preclinical Disciplines, 2 -
County Clinical Emergency Hospital of Oradea

Introduction. Enterococci are part of the normal flora of the intestinal tract, of the oral cavity and vagina. These bacteria have been considered as having a low degree of pathogenicity, but in recent years it has noted an increasing frequency of their involvement in nosocomial infections. **Aim of study:** The aim of our study was to determine the involvement of *Enterococcus* strains in uro-genital infections during January - December 2011 in outpatients in a private laboratory from Oradea. **Material and methods:** Our study was done on 2046 urocultures, 446 vaginal secretions, 84 urethral discharges and 87 semencultures. Enterococcal strains were identified using the Biomérieux Vitek 2 System (Biomerieux France). **Results:** From 594 positive urocultures we isolated 78 Enterococcal strains (13.13%). In vaginal secretions we identified 111 strains (35%), 96 strains of *Enterococcus faecium* and 15 of *Enterococcus faecalis*, respectively. In the vaginal secretions where enterococci were isolated, in 57 cases was a monobacterial etiology, and the remaining 54 samples, together with enterococci were isolated other bacteria (*Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Proteus mirabilis* and *Candida albicans*) also. In urethral secretions and spermocultures were isolated 18 (29%) and respectively 4 (10%) strains of enterococci. In total urogenital isolates were isolated 177 strains of *E. faecalis* (150 women and 27 men) and 34 *E. faecium* strains (18 women and 16 men). **Conclusions:** Uro-genital infections with enterococci are more frequent in females than in males. 80% of the isolated strains belong to *E. faecalis*.

P26. Relația bacterii marker parodontopatogene salivare - forma clinică de parodontopatie la vârstnicii din Constanța

Nuca C., Badea V., Zaharia A., Caraiane A., Nuca A.C., Badea F.C.

1. Faculty of Dental Medicine, Ovidius University, Constanta, Romania

Istoric: relația parodontopatie - microbiota orală reprezintă un subiect continuu de interes în cercetarea clinică. **Scop:** compararea prevalenței a 10 bacterii - marker parodontopatogene în saliva totală a vârstnicilor (65-74 ani), în relație cu forma clinică de parodontopatie. **Metode:** un eșantion inițial reprezentativ de 196 de persoane din județul Constanța (eșantionare multistadială, 6% eroare eșantionaj, 95% nivel de confidență) au participat la un studiu clinic în vederea colectării de salivă totală nesstimulată și înregistrării formei clinice de parodontopatie; mostrele de salivă au fost analizate în vederea identificării prezenței a 10 bacterii - marker parodontopatogene (Socransky, 1998), prin examen microscopic direct, culturi bacteriene, identificare în sistem automat; după examenul clinic, parodontopatia a fost clasificată conform Departamentului Parodontologie Bucuresti (Dumitriu, 2009). S-au obținut aprobările etice și consimțământul participanților. Statistica a utilizat SPSS 19. **Rezultate:** rata de răspuns a fost 78.06%, eșantionul final cuprinzând 153 subiecți; bacteriile marker au fost prezente în 92.2% dintre mostrele salivare, astfel: *E. corrodens* - 11.8%, *P. nigrescens* - 27.5%, *P. micros* - 38.6%, *F. nucleatum* și *P. intermedia* - 22.2%, *C. rectus* - 17%, *T. denticola* - 25.5%, *A. actinomycetemcomitans* - 18.3%, *P. gingivalis* - 16.3%, *B. forsythus* - 21.6%. Nu s-au înregistrat diferențe semnificative în distri-

buția bacteriilor în funcție de forma clinică a parodontopatiei, cu excepția *T. denticola*, *P. gingivalis* and *B. forsythus*, prezente mult mai frecvent în parodontopatia cronică profundă ($p < 0.05$; corelație Gamma). **Concluzie:** saliva totală a vârstnicilor cu parodontopatie cronică profundă diferă semnificativ față de alte forme clinice de parodontopatie, având o concentrație semnificativ mai crescută de *T. denticola*, *P. gingivalis* *B. forsythus* (bacteriile complexului roșu; Socransky). **Mulțumiri:** Studiul a fost finanțat prin Proiectul CNCSIS–UEFISCSU, PNII–IDEI 1216/2008. **Cuvinte cheie:** forma clinică de parodontopatie, bacterii marker parodontopatogene

Salivary periodontal marker bacteria related to clinical type of periodontitis in elderly people from Constanta

Nuca C., Badea V., Zaharia A., Caraiane A., Nuca A.C., Badea F.C.

1. Faculty of Dental Medicine, Ovidius University, Constanta, Romania

Background: the relationship periodontitis - oral microbiota is a continuous subject of interest in clinical research. **Aim:** to compare the presence of 10 periodontal marker bacteria in the whole saliva of elderly people (65-74 year olds), in relation with clinical type of periodontitis. **Methods:** an initial sample of 196 elderly people from Constanta District (multistadial sampling design, 6% sampling error, 95% Confidence Level) participated in a clinical study for collecting unstimulated total saliva and recording their clinical type of periodontitis; the salivary samples were analysed for the presence of 10 periodontal marker bacteria (Socransky, 1998), by direct microscopic exam, bacterial cultures and automatic identification; after clinical exam, the periodontitis was classified according to Bucharest Periodontics Department (Dumitriu, 2009). Ethics approval and written consent were obtained. Statistics used SPSS 19. Results: the response rate was 78.06% and final sample comprised 153 subjects; the periodontal marker bacteria were present in 92.2% of the saliva samples; their frequencies were: *E. corrodens* - 11.8%, *P. nigrescens* - 27.5%, *P. micros* - 38.6%, *F. nucleatum* and *P. intermedia* - 22.2%, *C. rectus* - 17%, *T. denticola* - 25.5%, *A. actinomycetemcomitans* - 18.3%, *P. gingivalis* - 16.3%, *B. forsythus* - 21.6%. There were not significant differences in distribution of periodontal markers according to periodontitis type, excepting *T. denticola*, *P. gingivalis* and *B. forsythus*, founded more frequently in deep chronic periodontitis ($p < 0.05$; Gamma correlation). **Conclusion:** the whole saliva of elderly patients with deep chronic periodontitis differs significant comparing with other clinical types of periodontitis, having an increased content of *T. denticola*, *P. gingivalis* and *B. forsythus* (red complex bacteria; Socransky). **Acknowledgements:** This work was funded by CNCSIS–UEFISCSU, project PNII–IDEAS 1216/2008. **key-words:** clinical periodontitis, periodontal marker bacteria

P27. Infecții respiratorii cu *Erysipelothrix rhusiopathiae*

Voineagu Lavinia, Braga Victoria, Botnarcu Mihaela, Barbu Adina, Tătaru Mirela

Facultatea de Medicină, Universitatea "Ovidius", Constanța

Identificarea bacteriilor rar întâlnite din la diferite produse biologice și determinarea sensibilității lor la antibiotice se realizează mai specific prin utilizarea metodelor automate. Identificarea speciilor și efectuarea testului de sensibilitate pe sistemul Vitek 2, versiunea 02.01n ne-a ajutat să diagnosticăm o infecție cu *Erysipelothrix rhusiopathiae*. Un bărbat de 68 de ani a fost internat cu dureri retrosternale și tuse productivă cu spută de culoare maro. În ultimele 2 luni, pacientul a pierdut în greutate. Pacientul a

declarat că lucrează la o fermă și a avut contact îndelungat cu diferite animale. Radiografia a arătat o densitate crescută în lobul stâng inferior, adenopatii hilare și mediastinale. La bronhoscopie se constată un carcinom pulmonar. În spută pe froțiul s-au observat numeroase leucocite și cocobacili Gram pozitivi. Cultura a fost pozitivă pe geloză-sânge și pe geloză-chocolat cu izolarea de bacili Gram-pozitivi. Ei au fost identifica și drept *E. rhusiopathiae* pe sistemul Vitek, cu o probabilitate mai mare de 99%. Antibiograma efectuată prin aceeași metodă ca și identificarea relevă sensibilitate la cefalosporine, chinolone, tetraciclină, cloramfenicol, trimetoprim/sulfametoxazol și rezistență la benzilpenicilină, eritromicină, și rifampicină. *Erysipelothrix rhusiopathiae* este un bacil gram-pozitiv. Larg răspândit la nivel mondial, *E. rhusiopathiae* este considerat în primul rând un patogen al animalelor, cauzând o boală cunoscută sub numele erizipel la animale și de erisipeloid la om. Infecțiile pulmonare sunt rare și, de obicei, rar diagnosticate. Rezistența de tulpinii izolate la benzilpenicilină a fost foarte important pentru tratamentul antibiotic.

Respiratory infection with *Erysipelothrix rhusiopathiae*

Voineagu Lavinia, Braga Victoria, Botnarcu Mihaela, Barbu Adina, Tătaru Mirela

Faculty of Medicine, Ovidius University, Constanta, Romania

Identification of unusually isolated bacteria from different species and determination of sensitivity to antibiotics in immunocompromised host is more specific with automatic methods. Identification of species and performing the sensitivity test on Vitek 2 systems, version 02.01n helped us to diagnosed an infection with *Erysipelothrix rhusiopathiae* in immunocompromised patients. A 68-year-old male was admitted with chest pain, especially when breathing deeply, cough, which often produces red-brown sputum. In the last 2 months the patient lost in weight. The patient had worked on a farm and had extensive contact with cattle, horses, and swine. Chest X-Ray- showed lobar density in left lower lung field, hilar and mediastinal nodes infection in one or lobe of the lungs. Bronchoscopy reveal lung carcinoma. In the sputum on the smear there were leucocytes and Gram positive cocobacilli. Sputum cultures were positive on routine blood and chocolate agar media for gram-positive bacilli. They were identified as *E. rhusiopathiae* by Vitek with a greater than 99% probability. The sensitivity test reveal sensibility to cephalosporins, quinolones, tetracycline, cloramphenicol, trimethoprim/sulfamethoxazole and resistance to benzylpenicillin, erythromycin, and rifampicin. *Erysipelothrix rhusiopathiae* is a gram-positive, rod-shaped bacterium. Distributed worldwide, *E. rhusiopathiae* is primarily considered an animal pathogen, causing a disease known as erysipelas in animals and erysipeloid in humans. Lung infection is uncommon and usually rare diagnosed. The resistance of isolated strain of Gram positive bacilli to benzylpenicillin was very important for antibiotic treatment.

P28. Importanța investigațiilor de laborator în stabilirea diagnosticului de certitudine din ”sindromul unghiilor verzi”

Chiriac Anca¹, Foia Liliana², Filip Florina², Profire Lenuța², Cojocaru Elena², Mareș Mihai³

1. Centrul Medical Nicolina, Iași, 2. Universitatea de Medicină și Farmacie “Gr.T. Popa”,
Iași, 3. Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară, Iași

Introducere: "Sindromul unghiilor verzi" sau chloronychia este o infecție cauzată în cea mai mare parte de *Pseudomonas aeruginosa*, dar uneori, infecțiile fungice pot potența colonizarea sau

creșterea *P. aeruginosa* la nivelul unghiilor. Culoarea verde este indusă de către pyoverdin, un fluorofor produs de *P. aeruginosa*. **Material și metodă:** Prezentăm câteva cazuri de pacienți de sex feminin, în unele situații cu patologie asociată și terapie corespunzătoare, care s-au adresat serviciului nostru fie direct, fie prin transfer de la departamentul de chirurgie pentru: modificări de culoare galben/verzuie și îngroșare a unghiilor de la picioare sau degetele mâinilor și perionixis cronic. În toate cazurile, au fost colectate pentru examinare micologică și cultură, debrisuri subunghiale și mici părți din unghie, în scopul de a stabili cu certitudine un diagnostic corect. **Rezultate și discuții:** examenul bacteriologic din materialul obținut din pilitura de unghii a evidențiat, într-o primă etapă, prezența unor agenți Gram-negativ așezați aleatoriu, fără un aranjament special. Utilizarea ulterioară a agarului de tip cetrimid a putut releva prezența de colonii plate, mari, și ovale de *P. Aeruginosa* sensibil la fluorochinolone, cu miros ușor fructat. În toate cazurile, aplicațiile topice de antibiotic au avut efecte excelente asupra infecției bacteriene și au dus la normalizarea culorii unghiilor. **Concluzii:** Deși diagnosticul de chloronychie poate fi sugerat de aspectele clinice (triada clasică - modificări de culoare verde ale unghiilor, paronichie proximală cronică și onicoliză disto-laterală) la persoanele ale căror mâini sunt expuse în mod constant la medii umede, diagnosticul de certitudine este fundamentat de investigațiile de laborator (colorația Gram și cultură).

Laboratory investigations for an accurate diagnosis of Green nails syndrome

Chiriac Anca¹, Foia Liliana², Filip Florina², Profire Lenuța², Cojocaru Elena², Mareș Mihai³

1.Nicolina Medical Center, Dermatology, Iași, 2.University of Medicine and Pharmacy "Gr.T. Popa", Iași, 3.University of Agricol Sciences and Veterinary Medicine, Iași

Introduction: "Green nails" or chloronychia is an infection mostly caused by *Pseudomonas aeruginosa*, but sometimes, fungal infection may potentiate the colonisation or growth of *P. aeruginosa* within a nail. The green color is induced by the fluorescent siderophore pyoverdin, produced by *P. aeruginosa*. **Material and methods:** We present a few cases of female patients, some with associated pathology and corresponding therapy, that addressed to us directly, or being transferred from the surgery department, for greenish/yellowish discolouration, thickening of the toenails or digit nails and chronic perionixis. Subungual debris and a small part of nail plate were taken for mycological examination and culture in each case, in order to establish the diagnosis. **Results and discussions:** Bacteriologic examination of nail scrapings, determined in the first step the presence of Gram-negative rods with no particular arrangement. Further use of the cetrimide agar revealed fluoroquinolone-sensitive *P. aeruginosa*, arranged in flat, large, and oval colonies, carrying a characteristic fruity odor. As seen in all cases, topical antibiotic administrations had excellent effects upon bacterial infection and resulted in normalization of the nail color. **Conclusion:** Albeit one can suspect the diagnosis of chloronychia based on clinical grounds that consists of classical triad - green discoloration of the nail plate, proximal chronic non-tender paronychia and disto-lateral onycholysis, in persons whose hands are constantly exposed to moist environments, the certainty is given by the laboratory investigations (Gram stain and culture).

P29. Evaluarea anemiei prin deficit de fier

Ioniță Ioana, Călămar Despina, Chevereșan Liviu, Ioniță Mihai, Chevereșan Maria,
Ioniță Claudiu, Ioniță Hortensia

Universitatea de Medicină și Farmacie „Victor Babeș”, Timișoara

Introducere. Anemia prin deficit de fier (ADF) este cel mai frecvent deficit nutrițional și apare în procent de 3,5-5,5% la adulții de sex masculin și la femeile în postmenopauză. Studiile privitoare la cauzele ADF la adultul de sex masculin sunt rare, deși se presupune că sângerările cronice gastrointestinale sunt cauza pentru majoritatea pacienților. **Scopul** studiului este evaluarea retrospectivă a adulților de sex masculin cu ADF. **Metode.** Au participat în studiu 148 de pacienți cu ADF, din ianuarie 2004 până în decembrie 2011. Anemia s-a diagnosticat când s-a constatat $Hg < 13\text{g/dL}$ utilizând criteriile WHO. ADF a fost prezentă când feritina serică a fost 15 ng/mL , iar sideremia $< 30\text{ }\mu\text{g/dL}$ cu o saturație a transferinei $< 10\%$. Examenul clinic complet și testul hemoragiilor oculte (THO) s-au efectuat la toți pacienții. De asemenea, s-a efectuat o homogramă, capacitatea totală de legare a fierului și nivelul feritinei serice. Cei mai mulți pacienți au efectuat și esofago-gastro-duodenoscopia (EGD). Colonoscopia s-a efectuat dacă nu s-a evidențiat cauza care a determinat ADF sau dacă THO a fost pozitiv. Tomografia computerizată a fost efectuată în funcție de recomandarea clinicianului. **Rezultate.** Vârsta medie a fost de 59 ani (de la 25-85 ani). Din cei 148 pacienți, 125 pacienți cu ADF au prezentat oboseală, amețeli sau tulburări digestive. În istoricul bolii s-a constatat gastrectomie și boală hemoroidală, care probabil au cauzat ADF la 23 (15,5%) și 31 (21%) din pacienți. Hemoragiile oculte în scaun au fost pozitive la 34 (23%) pacienți. EGD-ul s-a efectuat la 135 (91%) pacienți. Cele mai frecvente modificări la EGD au fost: gastrite (32 pacienți) și ulcer peptic (23 pacienți). Un număr de 41 de pacienți (30%) au prezentat următoarele afecțiuni ale tractului gastrointestinal superior: 8 pacienți gastrită erozivă, 12 pacienți ulcer gastric, 10 ulcer duodenal, 15 cancer gastric). S-a efectuat colonoscopia la 71 pacienți (50,7%) care a demonstrat la 35 de pacienți leziuni clinice importante, care probabil au cauzat ADF. Acestea au fost cancer de colon la 12 (8,1%) pacienți, polipi colonici la 10 (6,7%) pacienți și boală hemoroidală la 13 (8,7%) pacienți. Leziunile maligne responsabile pentru ADF, s-au constatat 19 leziuni la pacienți mai vârstnici de 50 de ani, fiind în procent de 20,4% (19/93 pacienți), iar la pacienții mai tineri de 50 de ani au fost 14,3% (8/55 pacienți). **Concluzie.** Acest studiu demonstrează că pierderile de sânge gastrointestinale sunt cauza majoră de ADF la adulți de sex masculin și că există o rată mare a malignităților la pacienți cu vârstă peste 50 de ani, subliniind necesitatea unui examen gastrointestinal riguros la acest grup de pacienți.

The evaluation of iron deficiency anemia

Ioniță Ioana, Călămar Despina, Chevereșan Liviu, Ioniță Mihai, Chevereșan Maria,
Ioniță Claudiu, Ioniță Hortensia

„Victor Babeș” University of Medicine and Pharmacy, Timișoara

Background. Iron deficiency anemia (IDA) is the common nutritional deficiency worldwide and occurs in 3.5-5.5% of adult men and postmenopausal women. The studies concerning various causes of IDA in adult men ARE rare, although it is assumed that chronic gastrointestinal blood accounts for the majority. **Aim** of the study is to evaluate retrospectively adult men with IDA. **Methods:** One hundred and forty-eight patients with IDA participated at this study from January 2004 to December 2011. Anemia was defined as $Hg < 13\text{ g/dL}$ using the WHO criteria. IDA was considered present if serum ferritin was 15 ng/mL com-

bined with serum iron concentration $< 30 \mu\text{g/dL}$ with a transferrin saturation of $< 10\%$. Complete physical examination and fecal occult blood test (FOBT) of three spontaneously passed stools was done in all patients. All patients had complete blood count, serum and total iron binding capacity, and a serum ferritin level. Most patients underwent esophagogastroduodenoscopy (EGD). Colonoscopy was performed if lesion that caused IDA was not found, and/or FOBT was positive. The abdominal CT scan were performed according to clinician's recommendation. **Results:** The median age was 59 (range 25 to 85) years old. 125 of 148 (84%) men with IDA had symptoms such as fatigue, dizziness, or digestive complaints. The history of prior gastrectomy, hemorrhoid, that probably had caused IDA were reported in 23 (15.5%), 31 (21%) patients, respectively. FOBT was positive in only 34 (23%) subjects. 135 (91%) patients underwent EGD. The most common findings from EGD were gastritis (32 patients) and peptic ulcer (23 patients). Forty-five (30%) patients were found to have upper gastrointestinal disorders (8 patients with erosive gastritis, 12 gastric ulcer, 10 duodenal ulcer, 15 gastric cancer. Seventy-five (50.7%) patients underwent colonoscopy. Evaluation with colonoscopy showed 35 clinically important lesions that probably caused IDA; colon cancer in 12 (8.1%) patients, colon polyp in 10 (6.7%) patients and hemorrhoid in 13 (8.7%) patients. Concerning malignant lesions which are responsible for IDA, 19 malignant lesions were found in patients older than 50 years accounting for 20.4% (19/93 patients) and patients younger than 50 years were 14.3% (8/55 patients). **Conclusions:** This study demonstrated that gastrointestinal blood loss is the main cause of IDA in adult men, and that there is a high rate of malignancy in men older than 50 years, emphasizing a complete and rigorous gastrointestinal examination in this group of patients.

P30. Diversitatea imunofenotipică în relație cu prezența anomaliilor genetice în leucemia acută limfoblastică

Ivanov I.C.¹, Jitaru Daniela¹, Gigore Georgiana¹, Zlei Mihaela², Popescu Roxana¹, Dăscălescu Angela¹, Dănăilă C.¹, Gheorghiu Doramina², Burcoveanu Cristina², Dorohoi Gabriela², Ivanov Anca-Viorica¹, Dumitraș Silvia³, Schmidt Mădălina³, Miron Ingrith-Crenguța¹, Carasevici E.¹

1. Universitatea de Medicină și Farmacie "Grigore T. Popa", Iași; 2. Spitalul Clinic Județean de Urgențe "Sf. Spiridon", Clinica de Hematologie, Iași; 3. Spitalul Clinic de Urgențe pentru Copii "Sf. Maria", Clinica de Hemato-Oncologie, Iași

Introducere: Leucemia acută limfoblastică este definită printr-o proliferare clonală a liniei limfoide fiind reprezentată printr-un grup heterogen de hematopatii maligne. Ea poate fi produsă prin apariția de anomalii cromosomiale care duc la formarea de fuziuni genice. Imunofenotiparea prin flowcitometrie și testele de biologie moleculară pentru detecția anomaliilor genetice stau la baza procedurilor standard de diagnostic, sub-clasificare și evaluărilor postterapeutice. Cele mai frecvente defecte genice întâlnite în leucemia acută limfoblastică sunt t(9:22), t(4:11), t(12:21), t(1:19). Studiul nostru cuprinde cele 4 gene de fuziune, a căror incidență globală (în literatură) este de ~35%, care au rol important în clasificarea pacienților în grupe de risc și în tratamentul diferențiat, conform protocolului IC_BFM_2002. **Material și metodă.** Probele de sânge periferic și/sau maduvă hematogenă de la 73 pacienți diagnosticați cu leucemie acută limfoblastică au fost imunofenotipate prin citometrie în flux la diagnostic pentru identificarea lineajului și stadiului de diferențiere ale clonei leucemice. Acești pacienți au fost internați în Spitalul Clinic Județean de Urgențe "Sf. Spiridon", Iași și în Spitalul de Pediatrie "Sf. Maria", Iași, în perioada martie 2010 - februarie 2012. Acești pacienți au fost investigați prin biologie moleculară pentru identificarea următoarelor anomalii genetice: MLL-AF4, TEL-AML-1, BCR-ABL-p190, E2A-PBX-1. **Rezultate:** Procentajele de identificare a fiecărui

transcript au fost: pentru MLL-AF4: 1,9% (copii)/ 5% (adulți); TEL-AML-1 (7,5/0%), BCR-ABL-p190 (7,5/15%), E2A-PBX-1 (1,9/5%). Nu a fost găsită o corelație clară între profilul imunofenotipic și vreun defect molecular anume. Vor fi prezentate și discutate (imunofenotip versus biomol) câteva cazuri reprezentative, care au pus/rezolvat probleme de diagnostic diferențial. **Concluzie.** Ambele metode, în conjuncție, reprezintă investigații obligatorii pentru o subclasificare corectă a hemopatiilor maligne, deciziile terapeutice și evaluarea răspunsului la tratament.

Immunological diversity in acute lymphoblastic leukemia in relation to genetic anomalies

Ivanov I.C.¹, Jitaru Daniela¹, Gigore Georgiana¹, Zlei Mihaela², Popescu Roxana¹, Dăscălescu Angela¹, Dănăilă C.¹, Gheorghiu Doramina², Burcoveanu Cristina², Dorohoi Gabriela², Ivanov Anca-Viorica¹, Dumitraș Silvia³, Schmidt Mădălina³, Miron Ingrith-Crenguța¹, Carasevici E.¹

1. "Grigore T. Popa" University of Medicine and Pharmacy, Iași; 2. "St. Spiridon" Clinical Emergency County Hospital, Hematology Unit, Iași; 3. "St. Mary" Clinical Emergency Hospital for Children, Pediatric Hematology and Oncology Unit, Iași

Introduction. Acute lymphoblastic leukemia are basically defined by clonal proliferation of lymphoid cells and represent a heterogeneous group of hematological malignancies. Acute lymphoblastic leukemias can be produced by chromosomal abnormalities that form gene fusion. Immunophenotyping by flow cytometry and molecular analysis for the detection of genetic anomalies are clinical standard procedures for diagnosis, sub-classification and post-therapeutic evaluation. The most common defects found in acute lymphoblastic leukemia are t(9:22), t(4:11), t(12:21), t(1:19). We studied this 4 fusion genes, that have, according to literature, a global incidence of ~35%, and they are very important for patient classification (in risk groups) and also for adequate treatment according to IC_BFM_2002 protocol. **Materials and methods.** Bone marrow / blood samples from 73 patients diagnosed with acute lymphoblastic leukemia were immunophenotyped at diagnosis to identify the lineage and differentiation stage of leukemic cells. These patients were hospitalized between March 2010 and February 2012 in "St. Mary's" Hospital for Children/ "St. Spiridon" Clinical Emergency County Hospital, Iași, Romania. These patients were investigated by molecular analysis in order to identify the occurrence of the following genetic anomalies: for MLL-AF4, TEL-AML-1, BCR-ABL-p190, E2A-PBX-1 **Results.** The frequencies of the investigated transcripts were: for MLL-AF4: 1.9% (children)/ 5% (adults); TEL-AML-1 (7.5/0%), BCR-ABL-p190 (7.5/15%), E2A-PBX-1 (1.9/5%). No clear-cut association between the immunophenotypic profiles and specific molecular defects were found. However, several representative or challenging cases will be presented and discussed. **Conclusion.** Both methods in combination remain a prerequisite for an improved sub-classification of hematological malignancies, therapeutic decision and evaluation of treatment response.

P31. Diagnosticul de laborator în leucemia mielo-monocitară cronică

Popovici Codruța¹, Arion Constantin², Cătană Alina³, Drăghilă Livia³

1. Spitalul de Pneumoftiziologie Sibiu; 2. Institutul Clinic Fundeni București; 3. Spitalul Clinic Județean de Urgență Sibiu

Introducere: Leucemia mielo-monocitară cronică (LMMC) este o entitate patogenică controversată cu caractere atât mielodisplazice cât și mieloproliferative caracterizată prin monocitoză periferică ce depășește 1000/ μ l și medulară și un grad variabil de displazie medulară. **Scopul** acestui studiu este de a prezenta caracteristicile hematologice și biologice a unui grup de pacienți diagnosticați cu LMMC. **Material și metodă:** Studiul a cuprins un număr de 40 de pacienți cu LMMC, diagnosticați în Clinica de Hematologie a Institutului Clinic Fundeni din București (36 cazuri) pe o perioadă de 25 de ani (1986-2011) și în Secția de Hematologie a Spitalului Clinic Județean de Urgență Sibiu (4 cazuri) în perioada 2007-2011. Toți pacienții au fost studiați la admitere în studiu: hemoleucograma completă, froturi de aspirat medular, iar examenele histopatologice ale măduvei osoase, citochimice, culturile medulare, analizele de imunofenotipare, de genetică moleculară și studiile citogenetice au fost făcute doar la unii pacienți. Am evaluat caracteristicile morfologice pentru pacienții cu LMMC, utilizând colorația May-Grünwald-Giemsa a froturilor de sânge periferic și de aspirat medular. **Rezultate:** Aproximativ 93% dintre pacienți au avut anemie, iar 70% dintre pacienți au avut leucocitoză și trombocitopenie. Aproximativ 78% dintre pacienți au prezentat o măduvă osoasă hipercelulară. De asemenea, 55% dintre pacienți au avut între 0 și 5% blaști medulari. Modificările displazice ale seriilor granulocitare au fost evidențiate la 92% dintre pacienți, iar modificările displazice ale seriilor eritrocitare la 79% dintre pacienți. **Concluzie:** Prezența acestei boli rare, leucemia mielo-monocitară cronică, subliniază importanța efectuării investigațiilor paraclinice complete pentru elucidarea acestei entități.

Laboratory diagnosis in chronic myelomonocytic leukemia

Popovici Codruța¹, Arion Constantin², Cătană Alina³, Drăghilă Livia³

1. Pneumology Hospital Sibiu; 2. Fundeni Clinical Institute Bucharest; 3. Emergency County Clinical Hospital Sibiu

Introduction: Chronic myelomonocytic leukemia (CMML) is a controversial pathogenic entity with features both of myelodysplasia and of myeloproliferation characterized through peripheral blood monocytosis that exceeds 1000/ μ l and medullary monocytosis and a variable degree of medullary dysplasia. **The purpose** of this study is to present the hematological and biological characteristics in a group of CMML patients diagnosed. **Material and method:** The study included a number of 40 patients with CMML, diagnosed in Hematology Clinic of Fundeni Clinical Institute-Bucharest (36 patients) during a period of 25 years (1986-2011) and in Hematology Department of Emergency County Clinical Hospital Sibiu (4 patients) during the period 2007-2011. All patients were studied on admission with full blood count, bone marrow aspirate smears and some were studied with bone marrow biopsy, cytochemical, cell cultures, immunophenotyping, cytogenetics and molecular studies. We evaluated morphological features for all CMML patients including the availability of May-Grünwald-Giemsa well stained peripheral blood and bone marrow aspirate smears. **Results:** Approximately 93% of patients had anemia, 70% of patients had leukocytosis and thrombocytopenia. Approximately 78% of patients had a bone marrow hypercellular. Also 55% of patients had from 0 to 5% myeloblasts. Granulocytic dysplasia was present in 92% of patients and erythroid dysplasia in 79% of patients. **Con-**

clusion: The presence of this rare disease, chronic myelomonocytic leukemia, underlines the importance of performing complete paraclinic investigations for elucidation of this entity.

Biochemistry II

W1. Serum free light chain measurement

Andrew Burns

Workshop PROTON

Abstract not available.

R3. Proteomul unor lichide umane cu excepția serului și urinii

Ileana Funduc

În ultimii ani s-a subliniat utilitatea detectării și identificării proteinelor specifice din variatele lichide biologice ca markeri de metabolism, cât și/sau rolurile lor structurale și regulatorii în diferite tulburări. În acest studiu se face o trecere în revistă a 7 lichide umane (salivă, lacrimi, bilă, lichid cefalorahidian, lichid de spălare bronhoalveolar, lichid sinovial și lichid amniotic) ca surse pentru markeri clinici. Prin enumerarea tehnologiilor proteomice folosite curent pentru identificarea globală și cuantificarea proteinelor din lichidele umane, trebuie subliniată capacitatea Spectrometriei de Masă de a identifica proteinele în scopul caracterizării probelor biologice complexe, în afara metodei tradiționale 2D-PAGE. În final s-au selectat presupușii biomarkeri descoperiți pentru o varietate de boli.

Proteomics of some human fluids except for serum and urine

Ileana Funduc

In recent years the usefulness of the detection and identification of specific proteins in various body fluids as markers of metabolism has been emphasized, as well as their structural and/or regulatory roles in different disorders. In this study 7 human body fluids (saliva, tears, bile, cerebrospinal fluid, bronchoalveolar lavage fluid, synovial fluid and amniotic fluid) have been reviewed as sources for clinical markers. In the summary of the proteomics technologies currently used for global identification and quantification of human body fluid proteins, the ability of Mass Spectrometric proteins identification to characterize complex biological samples, beside traditional 2D-PAGE method must be emphasized. Finally, the putative biomarkers discovered for a variety of diseases were selected.

C1. Spectroscopia de Rezonanță Magnetică Nucleară: impact biomedical și analiza metabolomică

Ștefan Lorena Ivona¹, Nicolescu Alina², Popa Simona Georgiana³, Moța Maria⁴, Kovács Eugenia⁵, Deleanu C.⁶

1. Spitalul Clinic Județean de Urgență, Departament de Chimie Clinică, Craiova; 2. Institutul de Chimie Macromoleculară "Petru Poni", Grupul de Biospectroscopie, Iași; 3. Spitalul Clinic Județean de Urgență, Departament de Diabet, Nutriție și Boli Metabolice, Craiova; 4. Universitatea de Medicină și Farmacie, Disciplina de Diabet, Nutriție și Boli Metabolice, Craiova; 5. Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", Departament de Biofizică Medicală și Biotehnologie Celulară, București; 6. Institutul de Chimie Organică "C. D. Nenițescu", București

Spectroscopia de rezonanță magnetică nucleară (RMN) este una dintre tehnicile cel mai frecvent utilizate în studii analitice de metabolomică. Până în prezent, au fost raportate un număr mare de studii care folosesc spectroscopia RMN, fiind realizate inclusiv profile metabolomice pentru sânge, urină și ser. Această tehnică este binecunoscută în studii de metabolomică din cauza naturii sale cantitative și datorită reproductibilității rezultatelor. În plus, spectrele RMN furnizează informații biochimice ce nu sunt disponibile prin alte metode. Cu toate acestea, sensibilitatea relativ scăzută a metodei spectroscopiei de rezonanță magnetică nucleară și suprapunerea semnalelor în spectru care apare adesea, limitează numărul și varietatea de metaboliți ce pot fi observați simultan. Această lucrare oferă o imagine de ansamblu a tehnicii spectroscopiei RMN și trece în revistă o serie de articole și rapoarte recente înregistrate în cercetarea biomedicală, cu accent pe studiul metaboliților urinari și corelarea între datele spectrale și caracteristicile biochimice în diabetul zaharat. De asemenea, sunt introduse conversia de date, pre-procesarea și normalizarea acestora, precum și instrumentele de analiză statistică, care facilitează interpretarea setului de date RMN, deoarece reprezintă o provocare importantă și vor constitui concentrarea eforturilor din domeniul bioinformaticii pentru următorii ani.

Nuclear Magnetic Resonance spectroscopy: biomedical impact and metabolomics analysis

Ștefan Lorena Ivona¹, Nicolescu Alina², Popa Simona Georgiana³, Moța Maria⁴, Kovács Eugenia⁵, Deleanu C.⁶

1. County Clinical Emergency Hospital, Department of Clinical Chemistry, Craiova; 2. "Petru Poni" Institute of Macromolecular Chemistry, Group of Biospectroscopy, Iasi; 3. County Clinical Emergency Hospital, Department of Diabetes, Nutrition and Metabolic Diseases, Craiova; 4. University of Medicine and Pharmacy, Department of Diabetes, Nutrition and Metabolic Diseases, Craiova; 5. "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Department of Medical Biophysics and Cellular Biotechnology, Bucharest; 6. "C.D.Nenitescu" Institute of Organic Chemistry, Bucharest

Nuclear magnetic resonance spectroscopy (NMR) is one of the most commonly used analytical techniques in metabolomics studies. To date, a number of large-scale studies using NMR have been reported, including blood, urine and serum metabolome profiling. This technique is popular in metabolomic studies because of its quantitative nature and high reproducibility. In addition, NMR spectra provide biochemical information not available by other methods. However, the relatively low sensitiv-

ity of NMR, and the spectral overlap that often occurs, limits the number and variety of metabolites that can be simultaneously observed. This paper provide an overview of the NMR technique and review a collection of recent reports of biomedical research, with an emphasis on urinary metabolites studies and correlation between spectral data and biochemical characteristics in diabetes mellitus. Data conversion, pre-processing, normalization and statistical analysis tools which facilitates the interpretation of the NMR dataset are introduced, because represents an important challenge and will be the focus of bioinformatics efforts in the coming years.

C2. Relația dintre raportul ApoB/ApoA-1 și alți factori de risc cardiovascular, la copii obezi

Cășăriu Elena Daniela¹, Vîrgolici Bogdana², Lixandru Daniela², Greabu Maria², Totan Alexandra², Miricescu Daniela², Mohora Maria²

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

Obiective: Dislipidemia la copii este factor predictiv pentru dezvoltarea arterosclerozei la adolescenți. Raportul ApoB/ApoA-1 reflectă funcția celor două apoproteine, cu acțiune inversă asupra procesului de ateroscleroză, acestea putând fi folosite ca markeri predictivi, independenți sau sub formă de raport pentru afecțiunile cardiovasculare. Scopul studiului este determinarea relației dintre raportul ApoB/ApoA-1 și alți factori de risc cardiovascular la copii obezi. **Metode:** Un număr de 41 copii obezi de vârstă școlară și 15 copii și adolescenți sănătoși cu greutate normală au fost incluși în studiu. Corelațiile între raportul ApoB/ApoA-1 și diferiți factori de risc cardiovascular au fost stabilite prin testul Pearson. **Rezultate:** Toți parametrii studiați au fost semnificativ modificați la copii obezi față de martori. S-a stabilit o corelație pozitivă între ApoB și raportul ApoB/ApoA-1 și activitatea gama-glutamil transferazei (GGT) ($r = 0,34$), carotid IMT ($r = 0,33$), proteina C-reaktivă (CRP) ($r = 0,38$), alaninaminotransferaza (ALT), parametrii antropometrici, malondialdehida (MDA) și presiunea diastolică și o corelație negativă între ApoA-1, trigliceride ($r = -0,40$), CRP ($r = -0,33$) și parametrii antropometrici. HDL-C s-a corelat pozitiv cu apoA-1 ($r = 0,82$) și negativ cu apoB/apoA-1 ($r = -0,65$), în timp ce LDL-C s-a corelat pozitiv cu ApoB ($r = 0,79$). **Concluzii:** Creșterea raportului ApoB/ApoA-1 la copii obezi față martori s-a corelat cu creșterea valorilor pentru alți factori de risc cardiovascular (peroxidarea lipidică, carotida-IMT, CRP, circumferința taliei, GGT și presiunea diastolică). Valoarea crescută pentru ALT și asocierea sa cu raportul ApoB/ApoA-1 la copii obezi poate fi folosită pentru identificarea riscului de ficat gras.

Relation between ApoB/apoA-1 ratio and other cardiovascular risk factors, in obese children

Cășăriu Elena Daniela¹, Vîrgolici Bogdana², Lixandru Daniela², Greabu Maria², Totan Alexandra², Miricescu Daniela², Mohora Maria²

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

Objective: Dyslipidemia in childhood predicts the development of atherosclerosis in young adults. The ratio apoB/apoA-1 reflects the function of two apolipoproteins which work in opposing directions to enhance atherosclerosis and serve as atherosclerosis markers when alone or combined as a ratio. The aim of this study is to find the relation of apoB/apoA-1 ratio with other cardiovascular risk factors, in obese children. **Methods:** A total of 41 overweight children of school age and 15 healthy children and adolescents with normal weight were enrolled. Correlations between apoB/apoA-1 ratio with different cardiovascular risk factors were evaluated by the Pearson test. **Results:** All the studied parameters were higher in obese children versus normal subjects. High apoB and a high apoB/apoA-1 ratio were correlated with gamma-glutamyl transferase (GGT) activity ($r = 0,34$), carotid intima-media thickness (IMT) ($r = 0,33$), C-reactive protein (CRP) ($r = 0,38$), alanine aminotransferase (ALT), antropometric parameters, malondialdehyde (MDA) and diastolic blood pressure while high apoA-1 was inversely related to triglycerides (TG) ($r = -0,40$), CRP ($r = -0,33$), and antropometric parameters. HDL-C was positively correlated with apoA-1 ($r = 0,82$) and negatively with apoB/apoA-1 ($r = -0,65$), while LDL-C was positively correlated with ApoB ($r = 0,79$). **Conclusions:** The apoB/apoA-1 ratio is higher in obese children than in normal children and the ratio is correlated with increased values of other cardiovascular risk factors (lipid peroxidation, IMT, CRP, waist circumference, GGT and diastolic blood pressure). The higher value for ALT and its association with apoB/apoA-1 ratio in obese children might be useful to identify the risk for fatty liver.

C3. Determinarea Cystatinei C, ca marker de prognostic nefavorabil, la pacienții cu boli cardiovasculare și diabet

Vâlceanu Andreea, Neculoiu Marius, Anghel Maria, Gavriș Claudia, Popa Sînziana

Spitalul Clinic Județean de Urgență, Brașov

Cystatina C este produsă de celulele nucleate cu o rată constantă de producție, pe întreaga perioadă de viață, eliminarea din circulație fiind prin filtrare glomerulară, concentrație serică fiind independentă de masa musculară, sex și vârstă. Cystatina C a fost propusă ca un marker mai sensibil pentru evaluarea ratei de filtrare glomerulară (RFG) superior creatininei, iar date recente propun Cystatina C ca factor de risc cardiovascular independent. **Scopul:** Un studiu prospectiv pentru evaluarea incidenței valorilor crescute ale Cystatinei C serice la pacienții cu boli cardiovasculare și diabet în condițiile unei creatinine serice normale. **Metoda:** Studiul s-a efectuat pe un număr de 100 de pacienți cu evenimente cardiovasculare și diabet. **Rezultate obținute:** Din totalul pacienților incluși în studiul prospectiv pentru Cystatina C, 66 erau diagnosticați cu boli cardiovasculare și 34 cu diabet. După determinarea creatininei și Cystatinei, au fost eliminați cei cu valori crescute ale creatininei (0,47-1,09 mg/L), respectiv 11 pacienți cu boli cardiovasculare și 4 pacienți cu diabet. Valoarea incidenței pacienților cu creatinina normală și Cystatina C peste intervalul de normalitate (0,6-1,1 mg/100 mL) este de: (a) incidența la pa-

cienții cu boli cardiovasculare = 47,27%; (b) incidența la pacienții cu diabet = 50%. **Concluzii:** Cystatina C fiind un puternic factor predictiv de risc și un marker important pentru încadrarea sindromului cardio-renal tip 1 (SCR tip 1), arată că introducerea acestui test în paleta de investigații de laborator este foarte importantă, permițând o mai bună monitorizare a pacienților cu boli cardiovasculare și diabet. **Cuvinte cheie:** rata de filtrare glomerulară (RFG), Cystatina C, boli cardiovasculare, diabet, SCR tip 1.

Determination of Cystatin C, as a marker of poor prognosis in patients with cardiovascular disease and diabetes

Vâlceanu Andreea, Neculoiu Marius, Anghel Maria, Gavriș Claudia, Popa Sînziana

County Clinical Emergency Hospital, Brașov

Cystatin C is produced by nucleated cells at a constant rate of production throughout its life, being removed from circulation by glomerular filtration, serum independent of muscle mass, sex and age. Cystatin C was proposed as a sensitive marker to assess glomerular filtration rate (GFR) higher creatinine, and recent data suggest Cystatin C as independent cardiovascular risk factor. **Purpose:** A prospective study to assess the effects of elevated serum Cystatin C in patients with cardiovascular disease and diabetes in terms of a normal serum creatinine. **Method:** The study was performed on a total of 100 patients with cardiovascular events and diabetes. **Results:** Of all patients included in prospective study Cystatin C, 66 were diagnosed with cardiovascular disease and 34 with diabetes. After determination of creatinine and Cystatin C were eliminated those with elevated creatinine (0.47-1.09 mg/L) and 11 patients with cardiovascular disease and 4 patients with diabetes. The incidences of patients with normal creatinine and Cystatin C above the normal range (0.6 to 1.1 mg/100 mL) are: (a) incidence in patients with cardiovascular diseases = 47.27%; (b) incidence in patients with diabetes = 50%. **Conclusions:** Cystatin C is a powerful predictor of risk and an important marker in classification of cardio-renal syndrome type 1 (CRS type 1), shows that its introduction in the range of laboratory investigations is very important, allowing a better monitoring of patients with cardiovascular disease and diabetes. **Keywords:** glomerular filtration rate (GFR), Cystatin C, cardiovascular disease, diabetes, CRS type 1.

W2. Vitamin D - monitoring a prohormone

Suzana Hatescu

Workshop Abbott

Abstract not available.

Immunology – Molecular Biology

R4. From macro- to nanotechnology: the future of laboratory medicine

Maurizio Ferrari

University Vita-Salute San Raffaele, Milan, Italy

Abstract not available.

R5. Celulele inflamatorii stromale in neoplasmul mamar

Carasevici Eugen^{1,2}, Zlei Mihaela¹, Jitaru Daniela¹, Zugun Florin Eloae^{1,2}

1. Universitatea de Medicina si Farmacie "Gr.T.Popa" Iasi, Disciplina de Imunologie; 2. Institutul Regional de Oncologie Iasi, laboratorul de Biologie Moleculara

Cancerul reprezintă o structură complexă și prin urmare a reduce tratamentul numai la compartimentul celulelor maligne va fi neproductiv, sau chiar va avea ca rezultat intensificarea proliferării. Celulele tumorale se dezvoltă înconjurate de către o structură tisulară comună raportată ca stromă – fibroblaste, vascularizație, celule imune, și matrice interstițială extracelulară (ECM). Componenta stromală tumorală are nu mai puțin decât aceeași importanță ca parenchimul tumoral. Stroma creează funcțional micromediul, care este responsabil pentru homeostazia tisulară. Astfel furnizează semnale supresoare pentru tumoră atât timp cât arhitectura tisulară este controlată efectiv. O dată ce funcția homeostatică este dezechilibrată, micromediul alterat poate el însuși să devină un potent promotor tumoral. Celulele imune componente ale micromediului formează o rețea stromală funcțională, unitatea de control tisular, care constă în monocite, pericite vasculare, limfocite T, precursori ai celulelor dendritice și celule dendritice mature, imunoglobuline. Am studiat urmarea prezenței componentelor inflamatorii stromale ca markeri prognostici și predictivi inerenti în cancerul mamar. Rezultatele noastre, generate prin examinare imunohistochimică, sau prin citometrie în flux, sunt compatibile cu constatarea ca anumite fenotipuri celulare imune, organizarea și distribuția spațială a infiltratului inflamator au, în general, un impact negativ asupra supraviețuirii libere de boala (DFS) și supraviețuirii globale (OS) în cancerul mamar. Zonele tumorale heterogene mamare și celulele imune stromale urmează o evoluție și tranziție fenotipică paralelă generând cu succes anumiți markeri celulari și moleculari cu valoare potențială diagnostică și terapeutică.

Stromal inflammatory cells in breast carcinoma

Carasevici Eugen^{1,2}, Zlei Mihaela¹, Jitaru Daniela¹, Zugun Florin Eloae^{1,2}

1. University of Medicine and Pharmacy "Gr.T. Popa" Iasi, Immunology Department; 2. Regional Institute of Oncology, Laboratory of Molecular Biology, Iasi, Romania

Cancer is a complex structure and therefore to reduce the treatment to malignant cell compartment only will be nonproductive or even resulting in proliferation enhancement. Tumor cells develop surrounded by a joint structure referred as stroma - fibroblasts, vasculature, immune cells and interstitial extra-cellular matrix (ECM). Cancer stromal component has no less than the same importance as

tumor parenchyma. Stroma creates functionally the microenvironment which is responsible for tissue homeostasis. As such provides tumor-suppressive signals as long as the tissue architecture is effectively controlled. Once homeostatic function is lacking balance the altered microenvironment can itself become a potent tumor promoter. Immune cells in the microenvironment build up a stromal functional network, the tissue control unit, which consists of monocyte-derived cells, vascular pericytes, T lymphocytes, precursors and mature dendritic cells, immunoglobulins. We have studied the outcome of stromal inflammatory components as inherent prognostic and predictive markers in breast cancer. Our results generated either by immunohistochemistry or flow cytometry examination are consistent with the finding that some immune cell phenotypes, spatial inflammatory infiltrate organization and distribution have generally a negative impact on disease free survival (DFS) and overall survival (OS) in breast cancer. Heterogeneous breast tumor areas and stromal immune cells undergo a stepwise co-evolution and phenotype transition successfully generating particular cellular and molecular markers eventually with diagnostic and therapeutic aptitudes.

C4. Neoplazia cu celule dendritice plasmacitoide - o malignitate foarte rară

Zlei Mihaela¹, Gigore Georgiana^{1,2}, Ivanov I.C.^{1,2}, Ivanov Anca-Viorica^{2,3}, Dumitraș Silvia³, Miron Ingrith-Crenguța^{2,3}, Ungureanu Didona², Carasevici E.¹

1. Institutul Regional de Oncologie, Laboratorul de Biologie Moleculară, Iași; 2. Universitatea de Medicină și Farmacie "Grigore T. Popa", Iași; 3. Spitalul Clinic de Urgențe pentru Copii "Sf. Maria", Secția Hemato-Oncologie, Iași

Neoplasmalele cu celule dendritice plasmacitoide reprezintă o categorie de malignități extrem de rare, care de-abia recent au fost încadrate într-o entitate patologică distinctă (1, 2). Cu o vârstă medie de 65 de ani la diagnostic, această patologie afectează în special persoanele vârstnice și, în ciuda răspunsului inițial bun la tratament, are o evoluție ulterioară nefavorabilă (3, 4). Incidența pediatrică a acestei patologii este limitată și doar câteva cazuri au fost publicate în literatură. Scopul acestei lucrări este de a prezenta profilul imunofenotipic al unui caz pediatric (o fetiță de 10 ani) diagnosticată cu leucemie cu celule dendritice plasmacitoide în ianuarie 2012. Acesta este singurul caz de acest tip diagnosticat prin imunofenotipare (citometrie în flux) în departamentul nostru în cei zece ani de activitate, deși evaluarea retrospectivă a cazurilor din arhivă este astăzi problematică, întrucât markerii recent validați ca fiind definatorii pentru celulele dendritice plasmacitoide, cum ar fi CD123, nu erau utilizați de rutină în trecut. Cu toate acestea CD123, CD4 și CD56, cei mai frecvenți utilizați markeri pentru diagnosticul acestor neoplazii, pot fi exprimați și în leucemia acută limfoidă sau mieloidă. Prin urmare, dată fiind incidența extrem de redusă și recunoașterea sa recentă ca entitate clinico-patologică distinctă, diagnosticul imunofenotipic al leucemiei cu celule dendritice plasmacitoide implică utilizarea unui set extins de markeri, atât pentru excluderea altor lineaje, cât și pentru confirmarea identității acestei forme rare de leucemie. Diagnosticul diferențial cu alte lineaje este esențială, întrucât evoluția post-terapeutică și prognosticul neoplasmelor cu celule dendritice plasmacitoide prezintă particularități distincte.

Plasmacytoid dendritic cell neoplasm - an extremely rare malignancy

Zlei Mihaela¹, Gigore Georgiana^{1,2}, Ivanov I.C.^{1,2}, Ivanov Anca-Viorica^{2,3}, Dumitraș Silvia³,
Miron Ingrith-Crenguța^{2,3}, Ungureanu Didona², Carasevici E.¹

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

Plasmacytoid dendritic cell neoplasm (PDCN) represents a rare hematopoietic precursor cell malignancy that has only recently been established as a distinct pathologic entity (1, 2). With a median age at diagnosis of approximately 65 years, it generally affects older adults and often follows a rapidly fatal course in spite of a transient initial response to therapy (3, 4). The pediatric occurrence of PDCN is limited, with only a few case reports in the literature. We report here the immunophenotypic profile of a pediatric case (a 10 year-old girl) diagnosed with PDCN in January 2012. This is the only case of this type diagnosed by flow cytometry in our department in its 10 years of activity, although historical review of cases is problematic since recently validated plasmacytoid dendritic cell markers, such as CD123, were not routinely tested in the past. However, CD123, CD4, and CD56, the most commonly used PDCN markers, are not specific and can be expressed in both acute myeloid and lymphoid leukemia. Therefore, due to its rarity and only recent recognition as a distinct clinicopathological entity, an extensive panel of immunophenotypic markers are required in order both to exclude other lineages and to confirm the identity of these rare malignant cells. The differential diagnosis of other lineages is of great importance, as these diseases might behave differently and might have a particular post-therapeutical evolution.

C5. Diagnosticul cancerului de prostată prin determinarea genei glutation S-transferaza P1 (GSTP1) în urină

Dumache Raluca¹, Bumbăcilă Bogdan¹, Bucur Adina¹, David Dana¹, Negru Șerban²,
Minciu Radu¹, Puiu Maria¹

Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș", Timișoara, 2. OncoHelp Hospital, Timișoara

Introducere: Cancerul de prostată (CaP) reprezintă a doua cauză de mortalitate în rândul bărbaților pe plan mondial. Hipermetilarea regiunii promotor de la nivelul genei glutation S-transferaza P1 (GSTP1) apare cel mai frecvent la debutul procesului de carcinogenază prostatică. Scopul acestui studiu a fost acela de a detecta gena GSTP1 din probele de urină ale pacienților cu diagnostic de adenocarcinom de prostată, respectiv hiperplazie benignă de prostată (HBP) prin metode minim invazive. **Material și metode:** Hipermetilarea regiunii promotor a genei GSTP1 a fost investigată la nivelul ADN-ului genomic extras din probele de urină provenite de la 65 bărbați cu CaP și 45 cu HBP. ADN-ul genomic extras a fost supus tratării bisulfite și analizat prin metoda metilării specifice reacției de polimerizare în lanț (MSP), fiind apoi corelat cu parametrii clinico-patologici ai pacienților. **Rezultate:** Nivele ale hipermetilării genei GSTP1 au fost prezente în cazul a 63 din 65 (97%) bărbați cu CaP și în cazul a 5 din 45 (11%) bărbați din lotul control cu HBP. **Concluzii:** În acest studiu am demonstrat că, determinarea genei GSTP1 din probele de urină ale pacienților cu CaP și HBP poate fi folosită ca biomarker neinvaziv în diferențierea afecțiunilor prostatice maligne de cele benigne. **Cuvinte cheie:** cancer de prostată (CaP); hiperplazie benignă de prostată (HBP); glutation S-transferaza P1 (GSTP1); metilare specifică reacției de polimerizare în lanț (MSP)

Noninvasive diagnosis of prostate cancer on urinalysis for glutathione S-transferase P1 (GSTP1) gene

Dumache Raluca¹, Bumbăcilă Bogdan¹, Bucur Adina¹, David Dana¹, Negru Șerban²,
Minciu Radu¹, Puiu Maria¹

University of Medicine and Pharmacy "Victor Babes", Timișoara, 2. OncoHelp Hospital, Timișoara

Introduction: Prostate cancer (PCa), represents the second most prevalent malignancy among males, which is characterized by a high mortality rate. The aim of our study was to analyze the methylation levels of glutathione S-transferase P1 (GSTP1) gene in urine specimens from PCa males and benign prostatic hyperplasia (BPH) males and, to determine whether detection of this gene can distinguish between males with PCa and BPH by noninvasive methods. **Material and method:** Voided urine specimens were collected from 65 patients with PCa and 45 men with BPH. Genomic DNA was isolated and subjected to bisulfite modification. Methylation status of gene GSTP1 was determined by conventional methylation-specific polymerase chain reaction (MSP) analysis, and correlated with clinico-pathological information. **Results:** Promoter methylation of GSTP1 gene in urine samples was found in 63 of 65 (97%) PCa men and in 5 of 45 (11 %) BPH men. **Conclusion:** Gene analysis of GSTP1 using conventional MSP can be used as a noninvasive biomarker to distinguish between men with malignant and benign prostatic diseases in urine specimens. **Key words:** prostate cancer (PCa); benign prostatic hyperplasia (BPH); methylation-specific polymerase chain reaction (MSP); glutathione S-transferase P1 (GSTP1)

C6. Valoarea prognostică a glutation S-transferazei P1 în serul preoperator al bărbaților cu prostatectomie radicală

Dumache Raluca¹, Dumitrașcu Victor¹, Bumbăcilă Bogdan¹, Tudor Anca¹, Minciu Radu¹,
Negru Șerban², Puiu Maria¹, Motoc Marilena¹

Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babes", Timișoara, 2. OncoHelp Hospital, Timișoara

Obiectivele studiului: În acest studiu am evaluat nivelul metilării genei glutation S-transferaza P1 (GSTP1) din serul preoperator al pacienților cu cancer de prostată (CaP) localizat supuși prostatectomiei radicale, ca biomarker de prognostic al recurenței CaP în cazul acestor pacienți. Acest studiu s-a derulat pe o perioadă de 36 luni (3 ani). **Material și metodă:** În studiul nostru am inclus un număr de 87 bărbați cu CaP localizat, supuși prostatectomiei radicale, și un număr de 48 bărbați cu afecțiuni urologice benigne și rezultat negativ al biopsiei prostatice. Probele de ser au fost recoltate înainte de efectuarea biopsiei prostatice, respectiv la interval de 6 luni după prostatectomia radicală. Pentru analiza metilării genei GSTP1 am folosit metoda metilării-specifice de polimerizare în lanț (MSP). **Rezultate:** Din totalul de 87 pacienți incluși în lotul de studiu pe perioada celor 36 de luni, 26 (29.8%) au prezentat recurență a CaP. Hipermetilarea genei GSTP1 s-a observat în serul preoperator a 26 (100%) pacienți înainte de a fi supuși prostatectomiei radicale. Dintre cei 48 pacienți cu rezultatul biopsiei negativ, 2 (4%) au prezentat hipermetilarea genei GSTP1 în probele de ser. **Concluzie:** Rezultatele obținute de noi în acest studiu, indică faptul că determinarea statusului metilării genei GSTP1 din serul preoperator al pacienților cu CaP localizat, care vor urma prostatectomie radicală, poate fi folosit ca biomarker de prognostic al recurenței acestei malignități înainte de intervenția chirurgicală. **Cuvinte cheie:** cancer de prostată (CaP); glutation S-transferaza P1 (GSTP1); metilare-specifică a reacției de polimerizare în lanț (MSP)

Prognostic value of preoperative serum glutathione S-transferase P1 gene in men following radical prostatectomy

Dumache Raluca¹, Dumitrașcu Victor¹, Bumbăcilă Bogdan¹, Tudor Anca¹, Minciu Radu¹,
Negru Șerban², Puiu Maria¹, Motoc Marilena¹

University of Medicine and Pharmacy "Victor Babes", Timisoara, 2. OncoHelp Hospital, Timisoara

Objective of the study: In our study, we evaluated the methylation levels of glutathione S-transferase P1 (GSTP1) gene from preoperative serum samples, in men with clinically localized prostate cancer (PCa) who underwent radical prostatectomy, as a prognostic biomarker for PCa recurrence in men following radical prostatectomy. The study period was of 36 months (3 years). **Materials and methods:** We included a number of 87 men with clinically localized PCa, who underwent radical prostatectomy at the Urology Clinic from County Emergency Hospital Timisoara, and 48 men with negative prostate biopsy. All serum samples were collected before prostate biopsy, respectively after 6 months from radical prostatectomy. To analyze the methylation status of gene GSTP1 before the surgery intervention in serum samples, we used the methylation-specific polymerase chain reaction (MSP) method. **Results:** From the 87 men who underwent radical prostatectomy included in our study, 26 (29.8%) experienced disease recurrence within the study period. Hypermethylation of GSTP1 gene was observed in the preoperative serum samples of 26 (100%) men before radical prostatectomy. From the 48 men with negative prostate biopsy only 2 (4%) presented GSTP1 hypermethylation levels in preoperative serum samples. **Conclusions:** Our study suggests that detection GSTP1 methylation levels from preoperative serum samples, may be a useful prognostic biomarker for disease recurrence in men with clinically localized PCa treated with radical prostatectomy. **Key words:** prostate cancer (PCa); glutathione S-transferase P1 (GSTP1); methylation-specific polymerase chain reaction (MSP)

C7. Biomarkeri convenționali și potențiali în cancerul de sân

Zaha Dana Carmen¹, Codreanu Ioana Coralia¹, Vilceanu Ioana²

1. Departamentul Discipline Preclinice, Facultatea de Medicina și Farmacie, Universitatea din Oradea; 2. Departamentul Discipline Morfologice, Facultatea de Medicina și Farmacie, Universitatea din Oradea

Markerii tumorali sunt utili în depistarea, diagnosticul și prognosticul cancerului și sunt de mai multe tipuri. Deși a fost identificată o gamă largă de markeri tumorali pentru cancerul de sân, lipsa de sensibilitate și de specificitate pentru diagnosticul precoce este principalul dezavantaj. Uneori, acești markeri tumorali sunt utili, dar trebuie să fie utilizați împreună cu alte teste, cum ar fi biopsia, mamografia, ecografia și RMI. Aceste teste sunt puternice, sensibile și specifice pentru a diagnostica cancerul de sân în stadii incipiente. Este important de remarcat că markerii tumorali singuri nu pot furniza suficient sau deloc informații de screening / diagnostic al cancerului de sân. Mai recent, modelele de expresie ale genelor și modificări ale ADN-ului au început, de asemenea, să fie utilizate ca și markeri tumorali. Markerii convenționali în ser sunt: uPA, PAI-1, CA 15-3, CA 27.29, CEA, ER, PR, HER-2, Ki-67 și 70-Gene signature (Mamma print) și 21-Gene signature (Oncotype DX) sunt evaluați în țesutul tumoral pentru a stabili dacă tratamentul cu terapia hormonală (tamoxifen) sau cu trastuzumab este adecvat sau de a evalua riscul de recurență. Următoarele categorii au adus dovezi insuficiente pentru a sprijini utilizarea de rutină: DNA/ploidia prin flow cytometrie, p53, cathepsin D, cyclin D, E, p14ARF,

TBX2/3, VEGF, revers transcriptaza telomerazei umane (hTERT), markeri de celule stem, topoisomeraza IIa, identificarea micrometastazelor în măduva și celule tumorale circulante. Scopul acestei lucrări este de prezentarea succintă a biomarkerilor convenționali existenți și a celor potențiali și prezentarea celor mai eficienți în cancerul de sân. **Cuvinte cheie:** cancer de sân, marker.

Conventional and potential biomarkers in breast cancer

Zaha Dana Carmen¹, Codreanu Ioana Coralia¹, Vilceanu Ioana²

1. Preclinical Disciplines Department, Faculty of Medicine and Pharmacy, University of Oradea,

2. Morphological Disciplines Department, Faculty of Medicine and Pharmacy, University of Oradea

Tumor markers are useful in detection, diagnosis and prognosis of cancer and are of several types. Though a wide range of tumor markers have been identified for breast cancer but lack of sensitivity and specificity for early diagnosis is main disadvantage. These tumor markers are helpful but have to be used together with other tests such as biopsy, mammogram, and ultrasound and breast MRI's. These tests are powerful, highly sensitive and specific to detect breast cancer in early stages. It is important to be noted that tumor marker tests alone cannot provide enough or rather no information to screen/diagnose breast cancer. Recently, patterns of gene expression and changes to DNA have also begun to be used as tumor markers. Conventional markers in serum are: uPA, PAI-1, CA 15-3, CA 27.29, CEA, ER, PR, HER-2, Ki-67 and the 70-Gene signature (Mamma print) and the 21-Gene signature (Oncotype DX) are assessed in tumor tissue to determine whether treatment with hormonal therapy (tamoxifen) or with trastuzumab is appropriate or to evaluate the risk of recurrence. The following categories demonstrated insufficient evidence to support routine use in clinical practice: DNA/ploidy by flow cytometry, p53, cathepsin D, cyclin D, E, p14ARF, TBX2/3, VEGF, Human telomerase reverse transcriptase (hTERT), stem cell markers, topoisomerase IIa, detection of bone marrow micrometastases and circulating tumor cells. The aim of this review is to have a brief insight of the existing conventional and potential biomarkers and presenting the most effective biomarkers for breast cancer. **Key words:** breast cancer, marker.

C8. Biomarkerii salivari - o nouă modalitate de diagnostic în boala parodontală

Miricescu Daniela¹, Totan Alexandra¹, Mocanu Brândușa¹, Didilescu Andreea¹, Spînu Tudor¹, Mohora Maria², Calenic Bogdan¹, Cășăriu Daniela³, Greabu Maria¹

1. Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", Facultatea de Medicină Dentară, București; 2. Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", Facultatea de Medicină, București; 3. Doctorand, Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București

Introducere: Parodontopatiile sunt afecțiuni inflamatorii cronice caracterizate prin pierderi de țesut conjunctiv, resorbția osului alveolar, care afectează populația adultă din întreaga lume. Saliva, datorită compoziției sale, este considerată "oglinza organismului", fluidul biologic perfect pentru biochimia clinică. Scopul studiului nostru a fost determinarea unor biomarkeri salivari cu valoare diagnostică în boala parodontală. **Materiale și metode:** În studiul nostru am inclus 20 de pacienți diagnosticați cu boală parodontală și 20 de subieți sănătoși. Biomarkerii studiați, osteocalcina, 25-hidroxi-vitamina D(25-OH D), au fost determinați în salivă prin metoda ELISA iar fosfataza alcalină (FA) salivară a

fost evaluată cu un analizor automat de biochimie. **Rezultate și discuții:** Rezultatele studiului nostru au evidențiat creșteri statistic semnificative ($p < 0,05$) ale osteocalcinei și 25-OH D și diminuarea statistic semnificativă a FA ($p < 0,001$). **Concluzii:** Biomarkerii salivari determinați, osteocalcina, 25-OH D și FA, pot reprezenta o modalitate utilă, rapidă și neinvazivă de diagnostic a bolii parodontale. **Cuvinte cheie:** boala parodontală, saliva, diagnostic, resorbție osoasă.

Concomitant analysis of salivary biomarkers - a new diagnostic tool for periodontitis

Miricescu Daniela¹, Totan Alexandra¹, Mocanu Brândușa¹, Didilescu Andreea¹, Spînu Tudor¹, Mohora Maria², Calenic Bogdan¹, Cășariu Daniela³, Greabu Maria¹

1. "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Faculty of Dental Medicine, Bucharest; 2. "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Faculty of Medicine, Bucharest; 3. PhD Student, "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest

Introduction: Periodontal disease is a common oral infectious disease that is also a leading cause of tooth loss in adults affecting populations worldwide. Saliva, often regarded as the "mirror of the body", is a perfect surrogate medium to be applied for clinical diagnostics because contain locally and systemically derived mediators of periodontal disease. The aim of our research was to study salivary biomarkers as applicable to the diagnostics of periodontal bone loss. **Materials and methods:** We have included in our study 20 patients with periodontitis *versus* 20 controls. The salivary biomarkers, osteocalcin, 25-hydroxyvitamin D (25-OH D) were performed using ELISA method. Alkaline phosphatase (ALP) was tested using analysis kits on biochemistry automatic analyzer from Biosystems, Spain. **Results and discussions:** Our study revealed statistically significant changes for all parameters in patient's saliva *versus* controls. Osteocalcin, 25-OH D in patient's saliva were significantly increased ($p < 0.05$) *versus* controls. In contrast, salivary ALP was significantly decreased ($p < 0.001$). **Conclusions:** These salivary biomarkers are potential candidates for diagnostics of bone resorption or turnover in periodontal disease. **Keywords:** periodontal disease, saliva, diagnosis, bone resorption.

C9. Cotinina salivară, biomarker al consumului de tutun, în relație cu status-ul parodontal la persoanele vârstnice

Nuca Cristina¹, Badea Victoria¹, Caraiane Aureliana¹, Zaharia Agripina¹, Nuca Alexandra Maria², Badea F. C.¹

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

Istoric: Relația dintre cotinină și severitatea bolii parodontale nu este elucidată, iar importanța analizei biomarkerilor orali pentru măsurarea obiectivă a bolilor este în creștere. **Scopul** studiului este evaluarea relației dintre nivelul cotininei salivare și status-ul parodontal evaluat prin măsurarea PPD (Adâncimea șanțului gingival) și CAL (Piederea inserției epiteliale) la persoanele cu vârste între 65 și 74 ani din Constanța. **Metode:** Un eșantion inițial reprezentativ de 196 de persoane din județul Constanța (eșantionare multistadială, 6% eroare eșantionaj, 95% nivel de confidență) au participat la un studiu clinic în vederea colectării de salivă totală nestimulată (2,5 ml) și înregistrării status-ului parodontal;

nivelele cotininei salivare au fost măsurate semi-cantitativ, utilizând testele de laborator NicAlert™ Saliva; status-ul parodontal a fost evaluat prin examen clinic - măsurarea adâncimii șanțurilor gingivale și pierderii inserției epiteliale în 6 site-uri ale fiecărui dinte, conform criteriilor O.M.S. (1997). S-au obținut aprobările etice și consimțământul scris al participanților. Analiza statistică a utilizat SPSS 19. **Rezultate:** Rata de răspuns a fost de 78,06 %, eșantionul final cuprinzând 153 subiecți; nivele cotininei au fost: 0 – 43,8%, 1 – 34,0%, 3 – 2,0%, 4 – 3,3%, 5 – 13,1% și 6 – 3,9% subiecți; nivelul cotininei salivare a fost negativ corelat cu procentul site-urilor cu PPD și CAL \leq 3mm și pozitiv corelat cu procentul site-urilor cu PPD și CAL \geq 6mm (corelație Spearman; $p < 0,05$). **Concluzie:** Rezultatele studiului au demonstrat faptul că severitatea bolii parodontale crește proporțional cu nivelul cotininei salivare, sugerând că nivelul salivar al cotininei poate oferi informații utile pentru aprecierea riscului parodontal. **Cuvinte cheie:** cotinina, boala parodontală, adâncimea șanțului gingival, pierderea inserției epiteliale. **Mulțumiri:** Studiul a fost finanțat prin Proiectul CNCSIS–UEFISCSU, PNII–IDEI 1216/2008.

Salivary cotinine, biomarker of tobacco consumption, related to periodontal condition in elder people

Nuca Cristina¹, Badea Victoria¹, Caraiane Aureliana¹, Zaharia Agripina¹,
Nuca Alexandra Maria², Badea F. C.¹

1. "Ovidius" University, Faculty of Dental Medicine, Constanța; 2. "Ovidius" University, Faculty of Medicine, Constanța

Background: The relationship between cotinine and the severity of periodontitis is unclear and the analysis of biomarkers from oral fluids for the objective measurement of diseases are increasingly important. The **aim** of this study was to evaluate the relationship between salivary cotinine level and periodontal condition assessed by PPD (Probing Pocket Depth) and CAL (Clinical Attachment Loss) in 65-74 year-olds from Constanta. **Methods:** A representative initial sample of 196 elderly people from Constanta District (multistadial sampling design, 6% sampling error, 95% confidence level) participated in a clinical study for collecting unstimulated total saliva (2.5 ml) and recording their periodontal status; the salivary cotinine levels were measured by a semi-quantitative laboratory method, using NicAlert™ Saliva strips; the periodontal status was assessed by clinical examination, measuring the PPDs and CALs at 6 sites of each tooth, according to W.H.O. 1997 criteria. Ethics approval and written consent were obtained. Statistics used SPSS 19. **Results:** The response rate was 78.06%; the final study sample comprised 153 subjects; the cotinine levels were: 0 - 43.8%, 1 - 34.0%, 3 - 2.0%, 4 - 3.3%, 5 - 13.1%, 6 - 3.9% subjects; the salivary cotinine was negatively correlated with the percent of sites with PPDs and CALs \leq 3mm and positively correlated with the percent of sites with PPDs and CALs \geq 6mm (Spearman correlation; $p < 0.05$). **Conclusion:** These results showed that the severity of periodontal disease increases proportionally with the salivary cotinine level, suggesting that measuring the salivary cotinine can give useful information for the periodontal risk assessment. **Key words:** cotinine, periodontal disease, probing pocket depth, clinical attachment loss.

Acknowledgements: This work was funded by CNCSIS–UEFISCSU, project PNII–IDEAS 1216/2008.

C10. Biomarkeri salivari ai degradării colagenului

Totan Alexandra¹, Bucur Alexandru¹, Miricescu Daniela¹, Totan Cosmin¹, Didilescu Andreea¹, Mohora Maria², Vîrgolici Bogdana², Calenic Bogdan¹, Greabu Maria¹

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

Introducere: Biomarkerii metabolismului osos sunt frecvent determinați în ser și urină și sunt puține date în literatura de specialitate referitoare la determinarea lor în salivă. **Scopul** studiului nostru a fost determinarea în salivă a telopeptidei carboxiterminale a colagenului de tip I (CTX) și a metaloproteazei-8 (MMP-8) la pacienții cu parodontopatii. **Materiale și metode:** Studiul nostru a inclus un lot de 20 de pacienți diagnosticați cu boală parodontală și un lot control. CTX și MMP-8 au fost determinați în salivă prin metoda ELISA. **Rezultate și discuții:** Rezultatele studiului nostru au evidențiat o creștere semnificativă statistic ($p < 0,01$) a nivelului MMP-8 salivar la pacienții cu parodontopatii comparativ cu grupul control. În concordanță cu observațiile legate de MMP-8, în cadrul acestui studiu am obținut valori crescute semnificativ ($p < 0,01$) și pentru CTX salivar, în contextul bolii parodontale, comparativ cu grupul control. **Concluzii:** Biomarkerii salivari studiați, CTX și MMP-8, au o posibilă valoare prognostică, diagnostică și de monitorizare a bolii parodontale.

Salivary biomarkers of collagen degradation

Totan Alexandra¹, Bucur Alexandru¹, Miricescu Daniela¹, Totan Cosmin¹, Didilescu Andreea¹, Mohora Maria², Vîrgolici Bogdana², Calenic Bogdan¹, Greabu Maria¹

1. "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Faculty of Dental Medicine, Bucharest; 2. "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Faculty of Medicine, Bucharest

Introduction: Currently, bone markers, very useful tools to measure bone remodeling, are assessed in serum and urinary samples. Now, there is little information concerning their determination in saliva. Our experimental study evaluates collagen type I carboxiterminal telopeptide (CTX) and matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) in saliva from patients with severe periodontitis in order to use these parameters in diagnostics. **Materials and methods:** We have included in our study 20 patients with periodontitis *versus* 20 controls. The salivary CTX and MMP-8 were performed using ELISA method. **Results and discussions:** Our results revealed statistically significant higher values for salivary MMP-8 in patients with periodontitis *versus* controls ($p < 0.01$). In agreement with our findings concerning salivary MMP-8 our results also revealed significant higher levels ($p < 0.01$) of salivary C-telopeptide in periodontitis patients group compared to the control group. **Conclusions:** Salivary CTX and MMP-8, which were evaluated in this study, are potential reliable predictors for saliva-based diagnostics in monitoring of collagen degradation in periodontal disease. **Keywords:** CTX, saliva, periodontitis, diagnosis, collagen degradation.

Microbiology I

R6. Caracteristici ale unor bacterii implicate în infecții respiratorii

Dorobaț Olga Mihaela

Institutul Național de Boli Infecțioase "Prof. Dr. Matei Bals"

În ultimii ani au fost elucidate mecanismele patogenice ale unor bacterii implicate în infecțiile tractului respirator. *Haemophilus influenzae* netipabil (NTHi) este un comensal nazofaringian care produce o serie de boli ale tractului respirator ca exacerbările BPOC, pneumonii comunitare și complicații ale fibrozei chistice, sinuzite precum și otite acute și cronice. Componentul important al NTHi pentru aderarea și invazia celulelor epiteliale bronșice umane este lipooligozaharidul (LOS). Câștigarea de noi tipuri de NTHi este însoțită de exacerbări ale BPOC. Expunerea săptămânală a șoarecilor la aerosoli de NTHi lizați induce inflamația plămânilor cu un profil de mediatori și celule inflamatorii similar cu cel observat la bolnavii cu BPOC. NTHi activează semnalele proliferative și antiapoptotice, colonizarea cu această bacterie poate contribui la carcinogeneza prin stimularea creșterii și inhibarea apoptozei prin eliberarea de mediatorii ai inflamației (IL-6 și TNF) de către celulele imunității innăscute după activarea semnalelor celulelor epiteliale. Un alt patogen ai mucoaselor umane, în special la bolnavii cu BPOC este *Moraxella catarrhalis*. Prima etapă importantă pentru colonizare este aderarea, etapă pentru care s-au descris mai multe proteine ale membranei externe cu funcție adezivă. *Moraxella catarrhalis* aderent la linia de celule epiteliale bronșice BEAS-2B formează agregate multicelulare asemănătoare ciorchinilor la suprafața celulelor. *Moraxella catarrhalis* pătrunde în celulele epitelului respirator printr-un mecanism asemănător macropinocitozei, bacteriile internalizate fiind situate în vacuole. *Moraxella catarrhalis* situată intracelular participă la răspunsul imun inflamator în epitelul pulmonar uman prin declanșarea căii NOD1.

Characteristics of some bacteria implicated in respiratory infections

Dorobaț Olga Mihaela

National Institute of Infectious Diseases "Prof. Dr. Matei Bals"

Pathogenic mechanisms of some bacteria implicated in respiratory disease were elucidated in the last years. Nontypable *Haemophilus influenzae* (NTHi) is a nasopharyngeal commensally, but causes human airway diseases such as exacerbations of chronic obstructive pulmonary disease (COPD), community acquired pneumonia and complications of cystic fibrosis, sinusitis and chronic and acute otitis media. Lipooligosaccharide (LOS) of NTHi is a major antigenic component of cell surface important in adherence and invasions of human bronchial epithelial cells. Acquisition of new NTHi types is associated with exacerbations of COPD. Weekly exposure of mice to an aerosolized NTHi lysate induce lung inflammation with a profile of mediators and inflammatory cells similar to that observed in COPD patients. NTHi activates proliferative and antiapoptotic signaling pathways, colonization with this bacterium may promote carcinogenesis by stimulating growth and inhibiting apoptosis by release of inflammatory mediators (IL-6 and TNF) from innate immune cells secondary to activation of epithelial innate immune signaling pathways. Another human mucosal pathogen especially in patients with

COPD is *Moraxella catarrhalis* (Mc). Bacterial attachment to the respiratory mucosa is essential first step toward colonization. Several outer membrane proteins with adhesive functions were identified. To the human bronchial epithelial cell line BEAS-2B was demonstrated that adherent Mc formed multicellular grape-like aggregates on the cell surface. Mc invaded respiratory epithelial cells by a macropinocytosis-like mechanism, the internalized bacteria were located within vacuoles. Intracellular Mc participated in the inflammatory immune response in human pulmonary epithelium by triggering the NOD1 pathway.

R7. Din nou rezistența la antibiotice: alerte microbiologice și strategice recente. Ghid de supraveghere

Codița Irina¹, Nica Maria², Șerban Ioana Roxana³

INCDMI Cantacuzino, UMF Carol Davila, București, 2. Sp. Cl. Boli Infecțioase și Tropicale V. Babeș, UMF Carol Davila, București, 3. INSPB, București

Impactul medical, social, economic, etic al infecțiilor nosocomiale cu bacterii rezistente poate fi redus prin implementarea unor programe de supraveghere microbiologică și prevenție, bazate pe instruirea personalului, adoptarea și utilizarea unor ghiduri și proceduri țintite privind alertele microbiologice de rezistență la antibiotice, pregătire continuă etc. Elementele de baza ale programelor de alertă microbiologică sunt: colectarea constantă și analiza datelor privind rezistența la antibiotice, standardizate la nivel național și/sau local prin stabilirea:

1. Tipurilor de infecții monitorizate (ex. septicemii, plăgi chirurgicale, pneumonie de ventilator, infecții de cateter etc.);
2. Tipurilor de secții în supraveghere;
3. Datelor ce vor fi raportate;
4. Frecvenței colectării datelor (ex. lunar);
5. Sistemului de raportare a datelor;
6. Metodei de analiza a datelor.

La alertele microbiologice clasice (*S. aureus* rezistent la metilina, bacili Gram negativi cu beta-lactamaze cu spectru extins, rezistența multiplă sau rezistența la toate antibioticele etc.) s-au adăugat în ultimii ani un număr impresionant de noi mecanisme de rezistență: carbapenemaze, enzime care conferă rezistență la Colistin la *Klebsiella pneumoniae*, o nouă variantă de gena *mecA* etc. În plan strategic, noile evoluții au condus la lansarea unor alerte și poziții strategice recente, de către Parlamentul European, Comisia Europeană, Organizația Mondială a Sănătății. Supunem dezbaterii specialiștilor microbiologi din spitale și laboratoare din ambulator o prima formă a unui ghid de supraveghere a microorganismelor alertă pentru rezistența la antibiotice.

Antimicrobial resistance revisited: current microbiological and strategic alerts. Surveillance guidelines

Codița Irina¹, Nica Maria², Șerban Ioana Roxana³

1. NIRDMI Cantacuzino, Carol Davila University of Medicine and Pharmacy, 2. V. Babes Cl. Hosp Infectious and Tropical Diseases, Carol Davila University of Medicine and Pharmacy, 3. National Institute for Public Health

Medical, social, economical and etical impact of nosocomial infections with antimicrobial resistant bacteria may be reduced by implementing prevention and surveillance programs, based on education of the staff, setting up and use of targetted guidelines and procedures on microbiological antimicrobial resistance alerts, continuous improving of knowledge etc. Core requirements of microbiological resistance alert programs are antimicrobial resistance on-going data collection and data analysis and have to be standardized at national and/or local level by establishing:

1. Type of infections under surveillance (e. g. bloodstream infections, surgical wounds, ventilator pneumonia, cateter infections etc.);
2. Type of units under surveillance (e.g. intensive care units, surgery etc.)
3. Data to be reported;
4. Frequency of data collection (e.g. monthly);
5. Data reporting system
6. Methods of data analysis

Besides classic resistance alerts (Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*, Gram-negative bacteria carrying Extended Spectrum Beta-Lactamases, Multi-Drug or Pan-Drug Resistant microorganisms etc.), impressive number of novel resistance mechanisms are emerging in the last years, like new carbapenemases, new mechanisms conferring Colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae*, novel *mecA* gene in *S. aureus* etc. Looking towards strategy, the new evolutions lead to release of recent positions and alerts from the European Parliament, the European Commission, World Health Organisation etc. A first draft of a guidelines on microbiological antimicrobial resistance alerts surveillance will be submitted to be debated with microbiology specialists working in hospital and/or community laboratories in Romania.

R8. Rolul laboratorului de microbiologie în controlul infecției nosocomiale

Neguț Marian¹, Nascuțiu Alexandra-Maria²

1. UMF Carol Davila, București, 2. UMF Carol Davila, INCDMI Cantacuzino, București

În determinismul infecției de spital sunt major implicate trei categorii de factori: condiția pacientului, condițiile mediului spitalicesc, condiția (calitatea) factorilor terapeutici. În acest context rolul laboratorului de microbiologie este considerat ca esențial în definirea și controlul clinic și epidemiologic al infecției nosocomiale.

Laboratorul de microbiologie:

- Este unitatea suport responsabilă care semnalează primordial apariția, evoluția și urmărirea fenomenului epidemiologic prin investigații etiologice performante fenotipice și genotipice.
- Asigură legătura cu stafful clinico-epidemiologic prin responsabili desemnați ce participă la emiterea deciziilor terapeutice și epidemiologice de control.

- Sesizează, controlează și urmărește continuu prin programe proprii apariția și răspândirea antibioretistenței în mediul spitalicesc.
- Investighează microbiologic pacienții, personalul și mediul spitalicesc în scop epidemic numai atunci când există o justificare bine documentată. Investigările/monitorizările exhaustive, “de rutină”, pot furniza date neconcludente/confuze și augmentează nejustificat costurile. Sunt justificate examenele de control curent al sterilizării și calității apei de dializă.
- Controlează produsele / echipamentele comerciale atunci când suspectează contaminări accidentale.
- Gestionează o bază de date și culturi stoc pe o perioadă determinată de timp pentru a demonstra eficiența măsurilor de urmărire și control anti-epidemic.

Punctual, alte roluri pot fi identificate și definite în funcție de situații și evoluții particulare epidemiologice.

Role of the microbiology laboratory in nosocomial infection control

Neguț Marian¹, Nascuțiu Alexandra-Maria²

1. Carol Davila University of Medicine and Pharmacy, Bucarest, 2. Carol Davila University of Medicine and Pharmacy, Cantacuzino NIRDMI

Three major types of factors are involved in hospital infections: patient status, hospital environment and quality of therapeutical factors. In this context, the role of the microbiology laboratory is thought as essential for defining and controlling nosocomial infection from clinical and epidemiological points of view.

The microbiology laboratory:

- Is the support unit responsible for the acknowledgement of the onset, evolution and follow-up of the epidemiological phenomenon by means of high standard phenotypical and genotypical etiological investigations.
- Ensures the link with the clinical-epidemiological staff through persons in charge who participate in the establishing of therapeutical and epidemiological control decisions.
- Permanently acknowledges, controls and follows through programs the onset and spread of antibiotic resistance in the hospital environment.
- Performs microbiological investigations on patients, staff and environment only in well-documented cases. “Routine” investigations/monitoring can provide non-conclusive data and increase costs. Current control of sterilization process or of water used for dialysis is justified.
- Controls commercial products/equipment when accidental contamination is suspected.
- Builds-up and controls a data base and a culture collection for a certain period of time, in order to check the efficiency of anti-epidemic follow-up and control measures.

Other roles can as well be identified and defined according to particular cases and epidemiological evolutions.

R9. Rolul actual al virusurilor în infecția de spital

Neguț Marian, Teleman Monica, Băncescu Adrian

Carol Davila University of Medicine and Pharmacy, Bucharest

Evaluări epidemiologice relativ recente demonstrează importanța crescândă a virusurilor în patologia spitalicească. Diagnosticul etiologic mult îmbunătățit prin tehnici sensibile a grupelor majore de patogeni, corelările epidemiologice intra/extraspitalicești (frecvent sezoniere) au sporit rata incidenței virale recunoscute în laboratoarele de rutină la peste 5% dintre infecțiile nosocomiale declarate. Fenomenul, reflectat în ansamblul condițiilor proprii spitalicești, recunoaște mai mulți factori determinanți ori favorizanți: reducerea rolului etiologiilor bacteriene (datorită utilizării antibioticelor) la un număr mai restrâns de bacterii antibioretistente, raportarea crescândă a infecțiilor fungice și virale pe fondul unei selecții ecologice precare, creșterea agresivității virale pe fondul unor imunodeficiențe frecvente a pacienților determinate de condiția spitalizării, favorizarea epidemiologică a răspândirii spitalicești care implică surse potențiale multiple: pacienți, personal, vizitatori. Virusurile transmise respirator dețin cea mai înaltă incidență și determină evenimentele epidemice cele mai frecvente, între aceștia virusul respirator sincițial, virusurile gripale și paragripale, rhino- și coronavirusurile, adenovirusurile și virusurile rujeolei, rubeolei și oreionului, datorită înaltei lor contagiozități (60-90%). Dificultățile de diagnostic etiologic determină “declarativ” o rată oficială mult mai scăzută decât cea reală. Virusurile transmise fecal-oral precum rotavirusurile, enterovirusurile, virusurile hepatitei A și E, având un mod de transmitere indirect, mai complicat, sunt întâlnite (raportate) cu o frecvență mult mai redusă decât cele respiratorii. Virusurile transmise parenteral – hepatitice B și C, HIV – sunt în continuare o amenințare severă (în mare parte de origine iatrogenă) datorită consecințelor pe termen lung.

Present role of viruses in hospital infection

Neguț Marian, Teleman Monica, Băncescu Adrian

UMF Carol Davila, București

Recent epidemiological evaluations have pointed out the increasing involvement of viruses in hospital pathology. The much improved etiological diagnostic of the major group of pathogens, epidemiological intra- and extra-hospital correlations increased the incidence rate of viral diseases to over 5% of the reported nosocomial infections. The phenomenon recognizes several determining or favoring factors: decreasing role of bacterial etiologies (due to antibiotic consumption) to a reduced number of antibiotic-resistant bacteria, the increasingly report of fungal and viral infections due to precarious ecological selection, increase of viral aggression favored by frequent immune deficiencies due to hospitalization, epidemiological context of hospital spread that is due to multiple potential sources: patients, staff, visitors. Air-borne viruses have the highest incidence and determine the most frequent epidemic events (respiratory syncytial virus, influenza and parainfluenza viruses, rhino- and coronaviruses, adenoviruses and measles, rubella and mumps viruses, due to their high contagious potential (60-90%). Difficulties in etiological diagnostic are responsible for an officially declares lower incidence rate than the real one. Viruses transmitted by fecal-oral route like rotaviruses, enteroviruses, viruses of hepatitis A and E, having a much more complicated transmission mechanism, are encountered (reported) with a reduced frequency compared to air-borne infections. Blood-borne viruses – hepatitis B and C, HIV – are still a severe threat (mostly iatrogenous) due to long-term health consequences.

W3. Teste serologice Roche in patologia infectioasa-avangarda in screening, diagnostic si monitorizare

Daniela Cristina Gunescu

Work shop Roche

Abstract not available.

Microbiology II

C11. Microorganisme patogene izolate in 2011 de la nivelul tractului respirator inferior

Talapan Daniela, Dorobaț Mihaela, Badicuț Ioana, Rafila Alexandru, Borcan Alina Maria

Institutul Național de Boli Infecțioase "Prof. Dr. Matei Balș"

Scop: Studiul rezistenței la antibiotice a bacteriilor izolate în 2011 din prelevate clinice de la nivelul tractului respirator inferior. **Metode:** Identificarea microorganismelor s-a efectuat în sistem automat Vitek 2 Compact și MicroScan. Antibiograma s-a realizat respectând standardele CLSI 2011, efectuându-se clasic sau în sistem automat. **Rezultate:** Dintre 1293 probe de spută și aspirat bronșic/ lavaj bronhoalveolar, 27,0% au fost necorespunzătoare la triaj și 42,0% au fost pozitive (346 bacterii, 62 levuri/fungi). Bacteriile izolate cel mai frecvent au fost *Pseudomonas aeruginosa* (16,4%), *Staphylococcus aureus* (12,7%), *Haemophilus influenzae* (12,4%), *Acinetobacter baumannii* (12,4%), *Streptococcus pneumoniae* (10,9%). *Candida albicans* a fost cea mai frecventă levură (45,1%). La *Pseudomonas aeruginosa* s-a constatat cea mai mare rezistență la carbapeneme (62,0% la imipenem, 62,5% la meropenem); tulpinile izolate de la pacienții internați în secțiile de terapie intensivă au avut o rezistență de două ori mai mare decât izolatele de la restul pacienților. Dintre tulpinile de *Staphylococcus aureus* 45,8% au fost MRSA. *Haemophilus influenzae* a prezentat cea mai mare rezistență la tetraciclină (89,6%) și trimetoprim/sulfametoxazol (46,8%) și nici o rezistență la alte antibiotice, asemănător cu *Haemophilus parainfluenzae*. *Streptococcus pneumoniae* a fost 7,89% rezistent la penicilina. Dintre tulpinile de *Klebsiella pneumoniae* 46,1% au fost ESBL pozitive, *Escherichia coli* 21,4%; nici una nu a prezentat AmpC. **Concluzii:** Numărul mare de produse necorespunzătoare îndeamnă spre reamprospatarea cunoștințelor în ceea ce privește recoltarea probelor. Rezistența mare de *Staphylococcus aureus* MRSA și *Klebsiella pneumoniae* ESBL pledează pentru izolarea pacienților și pentru respectarea condițiilor de igienă în spital.

Study of bacteria isolated in 2011 from lower respiratory tract infections

Talapan Daniela, Dorobaț Mihaela, Badicuț Ioana, Rafila Alexandru, Borcan Alina Maria

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

Purpose: Study of incidence and resistance of bacteria isolated in 2011 from lower respiratory tract infections. **Methods:** Vitek 2 Compact and MicroScan were used for microbial identification. An-

tibiotic susceptibility testing was performed according to CLSI 2011 standards, either in a classical way or using automated tools. **Results:** From 1293 sputum and bronchoalveolar lavage specimens, 27.0% were unacceptable by microscopy and 42.0% were positive (346 bacteria and 62 yeasts/moulds). The most frequent isolated bacteria were *Pseudomonas aeruginosa* (16.4%), *Staphylococcus aureus* (12.7%), *Haemophilus influenzae* (12.4%), *Acinetobacter baumannii* (12.4%), *Streptococcus pneumoniae* (10.9%). *Candida albicans* was the most frequent yeast (45.1%). *Pseudomonas aeruginosa* strains had the biggest resistance in carbapenems (62.0% to imipenem, 62.5% to meropenem); the strains isolated from ICU patients were twice resistant than those isolated from other patients. Among *Staphylococcus aureus* strains, 45.8% were MRSA. *Haemophilus influenzae* had the biggest resistance to tetracycline (89.6%) and trimethoprim/ sulfamethoxazole (46.8%) and no resistance to other antibiotics, similar as *Haemophilus parainfluenzae*. Penicillin resistance in *Streptococcus pneumoniae* was 7.89%. From *Klebsiella pneumoniae* strains 46.1% were ESBL positive, *Escherichia coli* 21.4% positive; no strain showed AmpC. **Conclusions:** The high number of unacceptable clinical specimens collected from lower respiratory tract infections show us that improving knowledge regarding specimen collection is a must. We need to be aware and to implement the measures of preventing hospital acquired infections, considering that high percent of MRSA and ESBL strains are isolated.

C12. Investigarea de laborator a mecanismelor de rezistență la quinolone a salmonelelor: secvențierea genei *gyrA*

Nascuțiu Alexandra-Maria

INCDMI Cantacuzino, UMF Carol Davila

Rezistența salmonelelor la un panel vast de antibiotice a fost universal semnalată. Achiziția rezistenței la tulpinile de *Salmonella* este un proces gradat, etapizat. Sunt descrise mai multe mecanisme prin care salmonelele capătă rezistență la quinolone, cel mai important fiind apariția de mutații la nivelul regiunii QRDR (quinolone-resistance determining region) a genelor țintă (*gyrA* și *gyrB* care codifică pentru ADN gyrază, și *parC* și *parE* care codifică pentru topoizomeraza IV). Secvențierea ADN este utilă pentru detectarea mutațiilor de la nivelul regiunii QRDR a genei *gyrA*. Datele obținute pot fi analizate folosind programul BioEdit, secvențele putând fi comparate cu cele de referință din băncile de gene, sau software-ul BLAST. Cele mai frecvent întâlnite substituții de aminoacizi la nivelul subunității GyrA care induc apariția unor grade variate de rezistență la quinolone sunt cele de la codonii Ser83 și Asp87, substituții variabile în funcție de serovarul de *Salmonella* analizat și de regiunea geografică de proveniență a izolatului. Pentru apariția rezistenței la acidul nalidixic o singură mutație punctiformă la acest nivel este necesară și suficientă. Scăderea susceptibilității la ciprofloxacina este în general asociată cu prezența mai multor mutații la nivelul genei *gyrA* sau cu o mutație la acest nivel și mecanisme adiționale de rezistență. Întrucât supravegherea rezistenței bacteriene a izolatelor umane, veterinare și din aliment rămâne o problemă de actualitate, cunoașterea mecanismelor moleculare de dobândire a acestei rezistențe este un proces crucial, impunându-se dezvoltarea unor tehnici de laborator fiabile și cu ușurință în execuție.

Laboratory investigation of the molecular mechanisms of quinolone-resistance in *Salmonella* spp.: gyrA sequencing

Nascuțiu Alexandra-Maria

Cantacuzino NIRDMI, Carol Davila University of Medicine and Pharmacy

Salmonella resistance to a great number of antibiotics has been described worldwide. Resistance acquisition of *Salmonella* strains is a stepwise process. Several mechanisms are described, which can lead to the development of quinolone resistance, the most important being the onset of mutations in the quinolone-resistance determining region (QRDR) of the target genes (*gyrA* and *gyrB* encoding DNA gyrase, and *parC* and *parE* encoding topoisomerase IV). PCR amplification using several sets of primers available in literature and DNA sequencing are useful for the detection of point mutations in the QRDR of *gyrA*. Data can be analyzed using the BioEdit Program, the studied sequences being compared to the reference ones available in gene banks, or using the BLAST software. Sequencing can point out the most common aminoacid substitutions in the GyrA subunit resulting in varied degrees of quinolone resistance that occur at codons Ser83 and Asp87, variable according to *Salmonella* serovar and geographical region. A single point mutation is compulsory for developing nalidixic acid resistance. Decreased susceptibility to ciprofloxacin is generally associated with more than one mutation in the *gyrA* or with association of resistance mechanisms. As surveillance for resistant bacteria among human, animal and food sources remains critical, the acknowledgement of molecular mechanisms for resistance-developing is crucial and the development of easy to perform laboratory techniques is necessary.

C13. Detectia prin *real-time* PCR a virusului polyoma BK

Jitaru Daniela², Enache M. Ecaterina¹, Ungureanu Didona¹, Ivanov C. Iuliu², Covic C. Adrian¹, Carasevici Eugen²

1. *Disciplina de Biochimie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Gr. T. Popa", Iasi*, 2. *Laboratorul de Biologie Moleculară – Institutul Regional de Oncologie, Iasi*, 3. *Clinica de Nefrologie - Spitalul „Dr. C. I.” Parhon, Iasi*

Introducere: Nefropatia cu virusul BK este una dintre cele mai importante complicații infecțioase la pacienții cu transplant renal. Deoarece nu există un tratament antiviral eficace, diagnosticarea timpurie a BKVN va fi utilă pentru a limita replicarea virală și deteriorarea ulterioară a alogrefei renale, prin reducerea tratamentului imunosupresor. **Materiale și metode:** În laboratorul nostru am studiat infecția latentă cu virus polyoma BK prin detectia cantitativă, utilizând tehnici de biologie moleculară (*Real Time* - PCR). **Rezultate:** Au fost comparate rezultatele obținute în laboratorul nostru pentru detectia virusului polyoma BK la pacienții cu transplant renal. Detectia viremiilor și viruriilor s-a realizat cu ajutorul unui kit pentru diagnostic (IVD) care a utilizat o sondă TaqMan și o metodă optimizată *in house* utilizând Sybr green și gena ACTB ca genă de referință. Metoda cu SYBR green s-a dovedit a fi mult mai eficientă decât cea în care s-a folosit sonda TaqMan. Toți pacienții evaluați serologic prin tehnica ELISA au fost pozitivi pentru virusul BK, însă doar doi din toți pacienții evaluați au fost diagnosticați cu BKVN. În ambele cazuri cu BKVN, pacienții au prezentat rețet acut de greaf renală, unul dintre acești pacienți dezvoltând o stenoză ureterală pe grefa renală. Ambele cazuri au putut fi rezolvate prin diminuarea dozelor de imunosupresoare. **Concluzii:** Studiul nostru demonstrează pentru prima dată în România existența virusului BK, deschizând perspective de diagnostic molecular a pa-

cienților cu risc crescut de BKVN la noi în țară. La pacienții cu transplant renal evaluați în laboratorul nostru, prevalența infecției cu virusul BK a fost de 100%. La pacienții cu BKVN, reducerea imunosupresiei permite remiterea spontană a patologiei.

Polyoma BK virus detection by *real-time* PCR

Jitaru Daniela², Enache M. Ecaterina¹, Ungureanu Didona¹, Ivanov C. Iuliu², Covic C. Adrian¹, Carasevici Eugen²

1. *Departement of Biochemistry "Gr. T. Popa" University of Medicine and Pharmacy, Iasi,*
2. *Laboratory of Molecular Biology of Regional Oncology Institute, Iasi,* 3. *Department of Nephrology, Dr. C. I. Parhon Hospital, Iasi*

Introduction: The BK virus nephropathy (BKVN) is one of the most important infectious complications in renal transplant recipients. As BKVN lacks any effective antiviral treatment, early diagnosis is required in order to try to limit viral replication and subsequent damage to the renal allograft, by reducing the immunosuppressive therapy. **Materials and methods:** We searched for latent BK virus infection by quantitative detection (*Real Time* - PCR) using molecular biology techniques. **Results:** We compared the results obtained in our laboratory for detection of BK polyoma virus in renal transplant patients. BK virus detection was based on a diagnostic kit (IVD) which used a TaqMan probe and a method using SYBR green optimized in-house and ACTB gene as reference gene. SYBR green method proved to be more effective than the TaqMan probe. All patients screened with ELISA were found to have positive BK virus serology and two of these were diagnosed with BKVN. Both patients with BKVN presented acute impairment of the renal graft function, and one of them developed a ureteral stenosis graft. In both cases, BKVN resolved after reduction of immunosuppressive doses. **Conclusions:** Our study demonstrates for the first time the existence of BK virus in Romania and it opens the perspective of molecular diagnosing BKVN in high-risk patients in our country. In renal transplant patients, which were evaluated in our laboratory, we found the prevalence of BK virus infection to be as high as 100%. In patients with BKVN, the reduction of immunosuppression enables the spontaneous resolution of the disease.

C14. Rolul polimorfismelor genice ale gazdei în evoluția hepatitei cronice virale de tip C

Elena L. Enache¹, Liviu S. Enache¹, Simona Bataga², Minodora Dobreanu¹

UMF Tîrgu Mureș, 1. Disciplina de Laborator – Biochimie Clinică și Imunologie; 2. Disciplina de Medicină Internă

Hepatita cronică de tip C este o problemă majoră de sănătate publică, fiind răspunzătoare pentru mai mult de jumătate din cazurile de carcinom hepatocelular și o treime din cazurile de ciroză hepatică în stadiu terminal și de transplant hepatic. În prezent, nu există încă un vaccin eficace împotriva virusului hepatitei C (HCV), iar tratamentul bazat doar pe combinația de peg-interferon și ribavirină nu induce un răspuns viral susținut decât la aproximativ jumătate dintre pacienții tratați. Mai mulți factori care țin de virus sau de gazdă pot contribui la precizarea rezultatului terapiei: genotipul viral, nivelul viremiei, rasa, fibroza și steatoza hepatică etc. Recent, studii de asocieri genomice au evidențiat polimorfismul genei IL28B drept factor predictiv important atât pentru rezultatul terapiei în cazul infecției cu genotipul 1, cât și pentru vindecarea spontană a infecției. Vom prezenta principalele modele actuale de predicție a răspunsului la tratamentul cu interferon, care țin cont de variantele genei IL28B, la pa-

cienții cu hepatită cronică C. Întrucât introducerea noilor antivirale alături de tratamentul cu peg-interferon și ribavirină a stabilit un nou standard terapeutic, vom trece în revistă importanța polimorfismului IL28B în acest context. Totuși, nu toți pacienții sunt eligibili pentru un tratament bazat pe interferon și, la aceștia, este utilă stabilirea altor ținte terapeutice decât răspunsul viral susținut. Prin urmare, vom aduce în discuție rolul variantelor IL28B și al altor polimorfisme în progresia fibrozei și steatozei hepatice.

Lucrarea a fost realizată cu sprijinul parțial din partea Programului Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane, finanțat din Fondul Social European și de către Guvernul României, în cadrul contractelor cu numerele: POSDRU/89/1.5/S/64331 și POSDRU 6/1.5/17.

The role of host genetic polymorphisms in the outcome of chronic viral hepatitis

Elena L. Enache¹, Liviu S. Enache¹, Simona Bataga², Minodora Dobreanu¹

Univ Med & Pharm Tirgu Mures, 1. Dept. of Laboratory - Clinical Biochemistry and Immunology; 2. Dept. of Internal Medicine

Chronic hepatitis C (CHC) is a major public health problem, being responsible for more than half of the cases of hepatocellular carcinoma and more than one third of the cases of end-stage cirrhosis and liver transplants. At present, there is no effective vaccine against hepatitis C virus, and treatment based solely on the combination of peg-interferon and ribavirin fails to induce a sustained viral response (SVR) in approximately half of the treated patients. A number of host and viral factors may help predict the outcome of the treatment, such as viral genotype, viral load, race, hepatic fibrosis and steatosis. Recently, genome-wide association studies revealed *IL28B* gene polymorphism as an important predictor of treatment outcome in genotype 1 HCV infection, as well as spontaneous clearance of HCV. We will review current prediction models for interferon treatment response in chronic HCV carriers, which account for the presence of variants in *IL28B* gene. As the introduction of new direct acting antivirals along with the classic combination therapy in CHC set a new standard of care, we will review the importance of *IL28B* polymorphisms in this new context. Finally, not all chronically HCV infected patients are eligible for an interferon-based treatment, so different end-points, other than SVR, are appropriate for them. Thus, the role of *IL28B* variants, as well as other polymorphisms, in the progression of liver fibrosis and steatosis will be discussed.

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

C15. Rolul acizilor nucleici circulanți ca biomarkeri în hepatita cronică virală

Liviu S. Enache¹, Elena L. Enache¹, Dan Georgescu², Minodora Dobreanu¹

UMF Tîrgu Mureș, 1. Disciplina de Laborator – Biochimie Clinică și Imunologie; 2. Disciplina de Medicină Internă

Acizii nucleici circulanți au rol de biomarkeri în diverse afecțiuni și situații clinice, de la cancer la infarct miocardic și accident vascular cerebral. Descoperirea ARN de origine tumorală și fetală în circulație s-a dovedit deja relevantă clinic. Recent, ARNm al unor gene cu expresie specifică hepatică,

precum albumina și haptoglobina, a fost detectat în plasmă și a fost propus ca biomarker al leziunilor hepatice în modele animale. Mai multe studii au luat în discuție utilitatea potențială a acizilor nucleici circulanți în evaluarea modificărilor patologice din hepatitele cronice virale. Nivelul unui număr important de ARNm corespunzători genelor implicate în inflamație, fibroză și calea de semnalizare a interferonului, este modificat în serul pacienților cu hepatită cronică de tip C. Mai mult, au fost descrise profiluri specifice ale microARN circulanți capabile de a diferenția cazurile de infecție cu HBV, HCV și cazurile de carcinom hepatocelular HBV-pozitiv. În această lucrare vom sumariza nivelul actual al dezvoltării biomarkerilor în domeniul acizilor nucleici circulanți la pacienții cu hepatite cronice virale și vom sublinia importanța alegerii unor gene de referință potrivite în acest tip de studii.

Lucrarea a fost realizată cu sprijinul parțial din partea Programului Operațional Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane, finanțat din Fondul Social European și de către Guvernul României, în cadrul contractelor cu numerele: POSDRU/89/1.5/S/64331 și POSDRU 6/1.5/17.

The role of circulating nucleic acids as biomarkers in chronic viral hepatitis

Liviu S. Enache¹, Elena L. Enache¹, Dan Georgescu², Minodora Dobreanu¹

Univ Med & Pharm Tirgu Mures, 1. Dept. of Laboratory - Clinical Biochemistry and Immunology; 2. Dept. of Internal Medicine

Cell-free circulating nucleic acids have emerged as novel biomarkers in several diseases and clinical conditions, ranging from cancer to myocardial infarction and stroke. The discovery of tumor-derived RNA and fetal-derived RNA proved to be clinically significant. Recently, mRNA of genes specifically expressed in the liver, such as albumin and haptoglobin, has been detected in plasma and has been proposed as a biomarker of liver injury in animal models. Since then, several studies have addressed the utility of circulating nucleic acids in the assessment of biological changes related to chronic viral hepatitis. A high number of mRNAs from genes involved in inflammation, fibrosis and interferon signaling have been found to be deregulated in the serum of chronic hepatitis C patients. Furthermore, specific signatures of plasma microRNAs have been described as capable of differentiating HBV, HCV and HBV-positive hepatocellular carcinoma cases. We will review the current status of biomarker development in the area of circulating nucleic acids in patients with chronic viral hepatitis, and will address the issue of proper reference target selection in this type of studies.

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

W4. HPV infection: molecular diagnostic

Dan Hotnog

Workshop Diamedix

Abstract not available.

Hematology I

R10. Comportamentul celulelor stem ca răspuns la topografii specifice

Calenic Bogdan, Totan Alexandra, Miricescu Daniela, Greabu Maria

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

Introducere: În mediul interstițial al diferitelor țesuturi, celulele sunt permanent expuse unor topografii diferite care modulează comportamentul celular. Substraturile biocompatibile cu topografii predefinite cuprinzând micro și nano-structuri sunt instrumente foarte eficiente în ingineria tisulară. Principalul obiectiv al proiectului este de a explora comportamentul de celule stem orale keratinocite pe topografii specifice. **Materiale și metode:** Pentru acest studiu celule stem keratinocite orale au fost izolate de la nivelul mucoasei orale pe baza a doi markeri de suprafață (integrina alfa6 beta4 și CD71), folosind o tehnică de separare magnetică. Topografiile au fost realizate printr-un proces în două etape: iradierea directă laser femtosecunde, urmată de acoperire de polimeri folosind tehnica MAPLE. Caracteristicile celulare au fost analizate cu ajutorul microscopiei de forță atomică, imunofluorescenței și microscopiei digitale holografice. **Rezultate:** Expunerea la diferite topografii de suprafață și diferite poziții de polimeri au modificat aderența, morfologia, proliferarea și migrarea keratinocitelor stem orale. **Concluzii:** Progresele realizate în tehnicile de microfabricație au permis producerea unor suprafețe precise pentru a studia comportamentul celular. Substraturile cu topografii specifice, care conțin micro și nano-structuri reprezintă instrumente promițătoare pentru ingineria tisulară. **Cuvinte cheie:** celule stem, epitelii, substrat.

Stem cell behavior on specific substrates

Calenic Bogdan, Totan Alexandra, Miricescu Daniela, Greabu Maria

"Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Faculty of Dental Medicine, Bucharest

Introduction: Within the microenvironment of different tissues, cells are continually exposed to different topographies that modulate cell behavior. Biocompatible substrates with well defined topographies comprising micro and nano-patterns are efficient tools for tailoring the cell-material interfaces for tissue engineering. The main focus of the present project is to explore the behavior of oral keratinocyte stem cells on specific topographies. **Materials and Methods:** For the study oral keratinocyte stem cells were isolated from oral mucosa based on two surface markers (integrin alfa6 beta4 and CD71) following a magnetic cell sorting technique. The topographies were designed using a two step process: direct laser irradiation with femtosecond pulses followed by film coating of polymers using Assisted Pulsed Laser Evaporation technique. The cellular characteristics were analyzed using atomic force microscopy, immunofluorescence and digital holographic microscopy. **Results:** Exposure to different surface topographies and compositions altered the adhesion, morphology, proliferation and migration of oral keratinocyte stem cells. **Conclusions:** The advances made in microfabrication techniques have enabled production of precise surface topographies to study cell behavior in response to topography alone. Substrates with specific topographies comprising micro and nano-patterns represent promising tools for tissue engineering. **Keywords:** stem cells, epithelia, substrate.

R11. Particularități ale conducerii și monitorizării tratamentului cu anticoagulante orale

Brudașcă Ioana

Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu", Catedra de Biochimie Medicală, Cluj Napoca

Tratamentul cu anticoagulante orale este utilizat pe scară largă pentru terapia și prevenirea bolii trombotice. Un tratament care nu este bine controlat se poate asocia cu riscul apariției de hemoragii sau de tromboze recurente. Efectul biologic al anticoagulantelor orale este influențat de numeroși factori incluzând medicamente, alimente, boli asociate, precum și factori genetici. La ora actuală s-a stabilit existența unor polimorfisme genetice (CYP2C9 și VKORC1) care influențează răspunsul individual la acțiunea anticoagulantelor orale. Monitorizarea în laborator prin INR a tratamentului cu anticoagulante orale este una dintre cele mai vechi forme de monitorizare terapeutică, necesitând o supraveghere strânsă și pe termen lung; frecvența monitorizării trebuie adaptată în funcție de răspunsul individual al pacientului. O evoluție favorabilă a pacienților cu tratament anticoagulant depinde de coordonarea dintre medicul curant, pacient și testarea de laborator.

Issues in managing and monitoring oral anticoagulant therapy

Brudașcă Ioana

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

Oral anticoagulant therapy (OAT) is used worldwide for the treatment and prevention of the thrombotic disease. If not well managed, OAT can result in hemorrhagic complications or in recurrent thrombosis. The biological effect of oral anticoagulants is influenced by numerous drug, diet and associated medical conditions interactions, as well as by the genetic individual response. Genetic polymorphisms in genes influencing metabolism (CYP2C9) and pharmacodynamic response (VKORC1) are presently known to be associated with oral anticoagulants. Laboratory monitoring of oral anticoagulant therapy (OAT) by INR represents one of the oldest forms of drug monitoring and it is a close and long-term process; its frequency should be adapted to the individual response. A positive anticoagulation - related outcome depends upon the coordination between the health - care provider, the patient and the laboratory testing.

R12. Anemiile normocitare

Ioniță Hortensia, Ioniță Ioana

Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș", Timișoara

Termenul de "normocitar sau normocitic" se referă la faptul că volumul eritocitar mediu (MCV) este între 80 și 90 fl. Normocitoza ca un prim pas în diagnostic este relevantă numai dacă există și anemie. Anemiile normocitare sunt rezultatul unui grup larg de cauze disparate, situație neîntâlnită în anemiile micro și macrocitare. În general există aproximativ opt cauze majore de anemie normocitară: anumite deficiențe endocrine, insuficiență renală, anemia post hemoragică, anemia din bolile cronice, anemia megaloblastică- combinată cu anemia din deficitul de fier sau cu anemia din bolile cronice, infiltrarea sau înlocuirea măduvei hematogene, anemiile hemolitice și hipersplenismul. **Diagnosticul**

anemiilor normocitare se confruntă din punct de vedere al hematologului cu un pacient care este anemic și care prezintă valoarea MCV normală. În practica clinico-hematologică ne confruntăm cu un pacient care se prezintă palid, și astenic, dar la care descoperim o anemie normocitară. Există patru aspecte practice utilizate în confirmarea diagnosticului unei anemii normocitare: 1. Condițiile clinice asociate cu anemia normocitară acoperă un spectru larg al medicinei generale clinice. 2. Anemia este doar uneori pe primul loc. Cel mai adesea anemia este o constatare secundară într-un caz care se prezintă cu trăsături de boală ale altui sistem, decât cel hematopoietic. 3. Număratoarea completă a sângelui (hemograma) este decisivă sau cel puțin înalt-sugestivă ca și morfologia celulelor hematopoietice care este tot așa de importantă în anemia normocitară ca și în celelalte tipuri de anemii. 4. Anemia normocitară necesită mai mult ca și oricare alt tip de anemie o largă evaluare clinică. De asemenea, anumite manifestări clinice specifice pot fi foarte utile: splenomegalia, limfadenopatia și durerile osoase. Integrarea evaluării clinice cu cea de laborator este de importanță majoră în aceste cazuri. Hemograma singură arareori furnizează un diagnostic specific, dar poate fi un indicator deosebit de util în confirmarea diagnosticului.

The normocytic anemias

Ioniță Hortensia, Ioniță Ioana

”Victor Babeș” University of Medicine and Pharmacy, Timișoara

The term “normocytic” means that the MCV lies between 80 and 98 fl. “Normocytosis” as a first-stage diagnosis is only of relevance if there is anemia. The normocytic anemias are the result of a large group of disparate causes; there are no unifying themes, as there are with the micro- and macrocytic anemias. In general there are eight causes: certain endocrine deficiencies, renal insufficiency, post-hemorrhagic anemia, anemia of chronic disorders (ACD), combinations of megaloblastic anemia with iron deficiency or ACD, bone marrow infiltration or replacement, hemolytic anemias, hypersplenism. **Making the diagnosis:** From the hematologist’s point of view, one is faced with a patient who is anemic and whose MCV is within the reference range. But in fact in clinical practice one is faced with a sick patient, perhaps pale, in whom we discover a normocytic anemia. There are four practical issues in the diagnostic approach: 1. The clinical conditions associated with a normocytic anemia cover a wide spectrum of general clinical medicine. 2. Anemia is only sometimes the primary focus. Most commonly it is a secondary consideration in a case that presents with features of disease in other systems. 3. The full blood count are decisive or at least highly suggestive and the blood cell morphology is as important in the normocytic anemias, as in other anemias. 4. The normocytic anemias are the most requiring of broad-based clinical assessment. In addition, certain specific clinical features may be of great assistance: splenomegaly, lymphadenopathy, and bone tenderness. An integrated clinical/ laboratory assessments is of major importance in these cases. The full blood count alone will seldom provide the specific diagnosis, although it can provide very helpful pointers.

R13. Progrese în diagnosticul și terapia β -thalasemiei majore în România - experiența Institutului Clinic Fundeni București

**Diaconu Adriana¹, Coliță Anca¹, Asan Mirela², Gheorghe Anca², Talmaci Rodica³,
Jardan Dumitru³, Coriu Dan¹, Arion Constantin¹**

1. Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", Institutul Clinic Fundeni, București; 2. Institutul Clinic Fundeni, București; 3. Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București

Departamentul de îngrijire a copiilor și adolescenților cu β -thalasemie din Centrul de Pediatrie al Institutului Clinic Fundeni are în evidență 35 de pacienți cu β -thalasemie majoră. În ultimii 10 ani s-au înregistrat progrese în diagnosticul și terapia acestor bolnavi în Institutul Clinic Fundeni ca rezultat al colaborării eficiente între Centrul de Pediatrie și Centrul de Hematologie și Transplant Medular: diagnosticul prin examenul morfologic al sângelui periferic și măduvei osoase; confirmarea diagnosticului prin electroforeza hemoglobinei; studiul prin metode de biologie moleculară al anomaliilor genetice responsabile de producerea bolii; terapia transfuzională cu concentrate eritrocitare fenotipate și leucodepleționate; monitorizarea, profilaxia și tratamentul supraîncărcării cu fier prin utilizarea la toți pacienții peste 6 ani a preparatului chelator oral Deferasirox; monitorizarea creșterii și dezvoltării pacienților, inclusiv a modificărilor endocrine secundare depozitării în exces a fierului; efectuarea în anul 2010 a primului transplant allogenetic de măduvă osoasă de la donator familial în România, unei paciente în vârstă de 7 ani, cu reușită meritorie (obținerea independenței transfuzionale totale); realizarea primelor diagnostice prenatale în Laboratorul de Biologie Moleculară al Centrului de Hematologie și Transplant Medular. Este analizat aportul tehnicilor moderne de laborator la diagnosticul, modularea terapiei și monitorizarea evoluției copiilor și adolescenților cu β -thalasemie majoră.

Advances in diagnosis and therapy of β -major thalassemia in Romania - Fundeni Clinical Institute experience

**Diaconu Adriana¹, Coliță Anca¹, Asan Mirela², Gheorghe Anca², Talmaci Rodica³,
Jardan Dumitru³, Coriu Dan¹, Arion Constantin¹**

1. "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Fundeni Clinical Institute, Bucharest; 2. Fundeni Clinical Institute, Bucharest; 3. "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest

In the department of Pediatrics, Fundeni Clinical Institute Bucharest there are 35 children and adolescents with β -thalassemia major. In the last 10 years there have been advances in diagnosis and therapy of these patients in Fundeni Institute as a result of effective collaboration between the Center of Hematology and the Center for Pediatric Hematology and Bone Marrow Transplantation: diagnosis by morphological examination of peripheral blood and bone marrow, confirming the diagnosis by hemoglobin electrophoresis, by methods of molecular biology study of the genetic abnormalities responsible for disease, transfusion therapy with leucodepleted packed red cells, monitoring, prevention and treatment of iron overload in all patients above 6 years using the oral chelator Deferasirox, monitoring of growth and statural development, including endocrine changes secondary to excess iron storage; in 2010, in our Center it was successfully performed the first allogeneic bone marrow transplant for a thalassemia major patient, from sibling donor, in a 7 year age girl; first prenatal

diagnosis in the Molecular Biology Laboratory of the Center for Hematology and Bone Marrow Transplantation. We analyze the contribution of modern laboratory techniques to diagnosis, therapy and evolution monitoring of children and adolescents with β -thalassemia major.

R14. Anemia din bolile cronice; patogenie și diagnostic

Badea M, Badea Daniela, Genunche Amelia, Badea A.

Universitatea de Medicină și Farmacie, Craiova

Anemia din bolile cronice (ACD) nu este asociată doar cu afecțiunile infecțioase, inflamatorii sau neoplazice, ci și cu o varietate de alte stări patologice, precum: traumatismele severe, insuficiența cardiacă, diabetul zaharat, anemia persoanelor în vârstă sau la cei cu activarea acută sau cronică a sistemului imun. Anemia este de obicei hipoproliferativă, normocromă, normocitară, caracterizată de: blocarea fierului în macrofag (hipoferemie), incapacitatea creșterii eritropoiezei ca răspuns la anemie, o relativă scădere a sintezei de eritropoietină (EPO) și o scădere a duratei de viață a hematiilor. Citokinele proinflamatorii sunt responsabile pentru majoritatea anormaliilor descrise. Hepcidina, o proteină de fază acută este implicată adânc în metabolismul fierului: este factorul ce determină scăderea absorbției de fier la nivelul intestinului subțire, a transportului de fier la nivelul placentei, precum și a eliberării de fier din macrofage; secundar ea reglează internalizarea și degradarea proteinei de export a fierului - ferroportina. Concentrația fierului seric și a nivelului transferinei (capacitatea totală de legare a fierului, TIBC) sunt reduse, dar saturația transferinei este de obicei normală. Unii autori au susținut că evaluarea receptorului solubil al transferinei (sTfR) poate distinge între anemia prin deficiență de fier (IDA) și ACD, dar alte studii neagă acest fapt. Raportarea sTfR la logaritmul feritinei (RTF-feritinei index) < 1,0 sugerează diagnosticul de ACD, în timp ce un index > 2,0 sugerează fie IDA, sau IDA asociată cu ACD. Conținutul în hemoglobină al reticulocitelor < 26 pg/celulă reprezintă un indicator fidel al deficitului de fier. Măduva osoasă arată un număr redus de sideroblaști, în contextul unei cantități normale sau crescute de fier stocate în macrofage.

The anemia of chronic disease; pathogeny and diagnosis

Badea M, Badea Daniela, Genunche Amelia, Badea A.

University of Medicine and Pharmacy, Craiova

The anemia of chronic disease (ACD) was associated not only with infectious, inflammatory, or neoplastic disease, but it can be seen in a variety of other conditions: like severe trauma, heart failure, diabetes mellitus, and anemia of the elderly and with acute or chronic immune activation. The anemia is typically hypoproliferative, normochromic, normocytic with trapping of iron in macrophages (hypoferrmia), inability to increase erythropoiesis in response to anemia, a relative decrease in EPO production, and an abnormal decreased red cell survival. The proinflammatory cytokines are responsible for almost abnormally. Hepcidin, an acute phase protein, is involved in iron metabolism: it is the predominant negative regulator of iron absorption in the small intestine, iron transport across the placenta, as well as iron release from macrophages, secondary to its effect on internalization and degradation of the iron export protein ferroportin. The serum iron concentration and transferrin level (total iron binding capacity, TIBC) are both low with the percent saturation of transferrin is usually normal. Some authors have claimed that measurement of soluble transferrin receptor (sTfR) can distinguish between

iron deficiency anemia (IDA) and ACD, but other study denies this fact. The ratio of sTfR to the logarithm of ferritin (TfR-ferritin index) < 1.0 suggests the diagnosis of ACD, while an index > 2.0 suggests either IDA or the combination of IDA and ACD. Reticulocyte hemoglobin content < 26 pg/cell was a stronger predictor of iron deficiency. Bone marrow show a decreased numbers of sideroblasts in context of normal or increased amounts of storage iron in macrophages.

Hematology II

R15. Aspecte noi ale homeostaziei fierului

Coliță Dan, Coliță Adriana, Coriu Daniel

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

Din punct de vedere funcțional, fierul este un element dual: este esențial pentru celulele mamiferelor ca mediator de transfer de electroni pentru unele enzime (citocromi, peroxidaze, catalaze, ribonucleotidreductaza) și, totodată, prin capacitatea sa de formare de specii reactive la oxigen este înzestrat cu proprietăți de alterare a unor componente celulare (lipide, protide, acizi nucleici). El trebuie să se miște prin toate sectoarele organismului sub forme non-toxice (prin cuplare cu proteine - cărăuși) sau sub forme oxidate (în medii extracelulare) sau reduse (în celule). Cărăusul plasmatic este transferina care, în situații normale, este 30% saturată cu Fe. Celulele exprimă pe suprafață receptori (R) pentru transferină (Tf). Se descriu 2 tipuri de RTf: RTf1 exprimat pe majoritatea celulelor somatice (cu precădere pe cele avide de fier - cum ar fi eritroblaștii medulari) și RTf2 (cu funcții imprecise) expus pe hepatocite. Complexele plasmatic Tff $\square\square$ se cuplează cu RTf1 și pătrund prin endocitare în celule, unde Fe se desface, străbate membrana endozomală cu ajutorul unui transportor - DMT1 și este captat de feritină. Complexul Tf - RTf1 este călăuzit spre membrana externă celulară unde are loc disocierea Tf de RTf1. Cele doua componente se reciclează. Feritina este proteina de depozit intracelular a Fe. Ea împiedică efectele toxice ale Fe. Cantități foarte mici de feritină sunt decelabile în plasmă în corelație cu stocurile generale ale Fe. Altă formă de depozitare intracelulară a Fe, de această dată nonmobilizabilă, este reprezentată de cuplarea Fe cu hemosiderina - derivată din degradarea parțială a feritinei. Hemosiderina este depusă preferențial în macrofage. Poate fi depistată printr-o colorație specifică, cu albastru de Prusia (colorația "Perls"). Aprecierea hemosiderinei în măduva osoasă, împreună cu feritine-mia, transferinemia și RTf1 mobilizați în plasmă reflectă nivelele Fe din organism. Alte proteine servesc la transportul Fe prin membranele celulare externe și interne. N. ramp 2/DMT1 și RTf1 servesc la intrarea în celule și ferroportina asigură exportul Fe în afara celulelor. Intrarea în celule este facilitată de o feroreductază (Dcytb) iar ieșirea necesită acțiunea unei oxidaze - hephaestina - o enzimă înrudită cu ceruloplasmina. Inhibarea ferroportinei și implicit diminuarea exportului Fe din celule este mediată de hepcidină. Efectul acesteia la nivelul enterocitelor este scăderea exitului Fe și indirect controlul sideremiei. În absența hepcidinei se produce hiperabsorbția Fe, plus hipermobilizarea sa din macrofage și supraîncărcarea organismului cu Fe. Homeostazia intracelulară a Fe este asigurată de cuplul IRE/IRP (intracellular elements / iron responsive proteins) care permit celulelor să-și adapteze achiziția Fe la nevoile lor imediate. Absorbția duodenală a Fe este riguros controlată (cca 1 mg) și excreția este limitată la descumările epitelilor (~ 1mg/zi) la care se adaugă pierderile menstruale la femei (~ 1,5 - 2 mg/zi). La un adult normal cantitatea totală a Fe este de ~ 4 g. Ea tinde să rămână constantă deoarece 80% din Fe eliberat prin liza eritrocitelor senescente este reciclat în eritropoieză. Acest proces, conti-

nuu, reciclează zilnic 20 – 30 mg Fe care este preluat inițial de macrofage în feritină și hemosiderină. Fe din macrofage reprezintă cel mai important compartiment de depozit tisular al acestui element (cca 1,5 g) și sursa de aprovizionare a precursorilor eritroizi în curs de maturare. Întrucât intrările și ieșirile din sistem sunt strict limitate, ele nu pot compensa pierderile sau supraîncărcările depozitelor. Așa se produc anemia hipocromă feriprivă și, respectiv, hemocromatoza. Anemia hipocromă feriprivă se instalează din momentul în care depozitele tisulare de Fe sunt secătuite și este singura indicație a tratamentului marțial. Mai multe tulburări genetice ca și alte mecanisme și boli dobândite conduc la supraîncărcare cu Fe a organismului (hemocromatoza). Mutația genei HFE – în status homozigot (pCys282Tyr/pCys282Tyr) produce o hiperabsorbție continuă a Fe prin duoden și reprezintă forma comună de hemocromatoză la caucazieni. Mai recent s-au identificat și alte tulburări genetice care stau la baza unor forme non-HFE de hemocromatoză: mutația RTf2, mutația feroportinei, aceruloplasminemia (hemocromatoză, diabet, retinopatie, neuropatie). În fine, mutația genei DMT1 produce la homozigoți o formă de anemie microcitară hipocromă neonatală însoțită de hemosideroză hepatică.

New insights in iron homeostasis

Coliță Dan, Coliță Adriana, Coriu Daniel

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

Functionally, the iron is a dual element: it is essential for the mammal cells as a mediator of electron transfer for some enzymes (like the cytochromes, the peroxydases, catalases and ribonucleotid reductase) and at the same time it has a toxic potential due to its capacity to react with oxygen to form reactive oxygen species endowed with damaging properties on the main components of the cells (lipids, proteins and nucleic acids). The iron must move by plasma between different cellular sectors, traverse some functional cells (e.g. the enterocytes) or store in others (e.g. bone marrow macrophages). In all of these hypostases the iron must be bound with specific proteins for carrying it in biological fluids, transport it through cellular membranes and store it in cells in a non toxic and easy mobilisable form. These carrier proteins are functionally devoted. The transferrin is the plasmatic carrier of iron and it is 30% saturated with iron in the normal state. The majority of cellular types express receptors for transferring by plasma and so are able to receive Fe. There are two different species of TfRs: TfR1 expressed on the majority of cells and mainly on the cells with huge needs for iron (e.g. the medullary erythroblasts) and the TfR2 expressed concurrently with TfR1 on the hepatocytes. TfR1 binds the complex Tf - Fe²⁺ and endocytoses together, forming an endosome. Later, the Fe²⁺ is delivered, pass towards the cytoplasm aided by a transporter - DMT1. The complex Tf and TfR return to the cell surface, dissociates there and recycles. Intracellular storage iron is mostly deposited in ferritin which is virtually present in all cells of the body. Ferritin prevents iron from reacting with other cellular constituents and controls the iron release in response to cellular needs. Minute concentrations of ferritin exists in plasma in correlation with total body iron stores and their measurement serves for the diagnosis of the disorders of iron metabolism. The mobilisation of stored Fe and the egress from the cell to the plasma when it is attached to the transferrin is possible. Another form of intracellular storage iron is the hemosiderin – a partially degraded ferritin which accumulate large quantities of stable, non mobilisable, Fe. Hemosiderin found predominantly in macrophages. It's stainable with the Prussian – blue (the "Perls" reaction) and can be easily detectable in bone marrow specimens reflecting, together with ferritinemia, transferrinemia and soluble TfR1 discharged in plasma, the status of the iron levels in organism. Besides the transferrin and ferritin the iron moves across the cellular membranes to the cells

and from the cells with the aid of specific protein transporters: N. ramp 2/DTM1 and TfR1 as importers and ferroportin as exporter. The condition of this travel of Fe across the cells is to transform it in divalent form by the action of Dcytb (a membrane bound reductase) at the entry in the cells and inverse, from divalent to trivalent form at the egress from the host cells by the action of a multi copper oxidase – hephaestin – which shares 50% homology with coeruloplasmin. The intracellular iron homeostasis as response to the iron levels is assured by the system IRE/IRP (intracellular elements / non responsive proteins). IRP act as sensors of iron and IREs is implicated in iron transport. These iron regulations are post-transcriptional and permit the cell to adapt its capacity for iron to its immediate requirement. Another peptide involved in iron homeostasis is hepcidine. It reduces the quantity of circulating iron by preventing its exit from the enterocytes (mainly), macrophages and other cells, by binding to the ferroportin, thereby inducing its degradation. In the absence of hepcidin occurs an overload parenchymatous iron provoked by an increased iron absorption plus an increased efflux from macrophages. The iron metabolism is in its main aspects a locked one. The entries from the duodenum are rigorously controlled and the excretion are very scanty. So the daily needs are covered by a recycling the hemic iron delivered after the erythrophagocytosis performed by the macrophages. The losses (e.g. bleeding or chronic intravascular hemolysis) which surpass the maximal capacity of the duodenal absorption replacement conducts to the iron depletion hypochronic microcytic anemia, the most common form of anemia world wide. Conversely, the surcharge with iron conducts to a tissular overload (hemo-chromatosis) resulted from the surpassing the excretion mechanisms. The most frequent situations for iron overload are the excessive transfusions (e.g. in refractory anemias) or the genetic mutation of HFE gene. The product of this gene controls the duodenal absorption of the iron, by a mechanism which implies the affinity of TfR1 to transferrin, mediated by β_2 microglobulin. The mutation of the HFE gene in homozygous state (pCys282Tyr/pCys282Tyr) produces an incontrollable hyperabsorption of Fe and the most frequent form of hereditary hemochromatosis in Caucasians. Now it is known that a lot of genetic malformations conduct to diseases of Fe metabolism: homozygous mutations of DMT1 explain a neonatal form of hypochronic microcytic anemia + liver iron overload; other 30 mutations of HFE gene produces hemochromatosis; another hereditary hemochromatosis non-HFE related is the result of a mutation of TfR2; another form of autosomal hemochromatosis results from mutations of ferroportin; the hereditary aceruloplasminemia accompanied by iron overload, diabetes, retinal degenerations and neuropathy.

R16. Anemiile diseritropoietice congenitale (ADC): diagnostic și tratament

Coliță Adriana

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

ADC cuprind un grup de boli ereditare rare caracterizate prin eritropoieză inefectivă ca mecanism predominant al anemiei și prin anomalii morfologice tipice ale eritroblaștilor din măduva osoasă (MO). Heimpel și Wendt (1968) au clasificat ADC în trei tipuri (I, II, III) bazați pe anomaliile morfologice ale eritroblaștilor iar în ADC tip II și pe baza caracteristicilor serologice. Modificările morfologice caracteristice în tipul I sunt prezența eritroblaștilor megaloblastoizi și a punților cromatiniene internucleare; în tipul II prezența de eritroblaști bi- și multinucleați și testul lizei cu ser acidifiat (HAM) pozitiv și în tipul III prezența de eritroblaști multinucleați (“gigantoblasti”). Forme noi de ADC au fost descrise în trei sau mai multe familii și au fost clasificate ca ADC IV, V, VI, VII. În general, diagnosticul de ADC cere prezența a patru criterii: 1) evidența de anemie, icter congenital sau un istoric familial po-

zitiv; 2) evidența de eritropoieză inefectivă; 3) aspect tipic morfologic al eritroblaștilor din măduva osoasă; 4) excluderea anemiilor congenitale care îndeplinesc criteriile 1 și 2 dar au fost clasificate după defectul de bază ca sindroame talasemice, hemoglobinopatii, anemii ereditare sideroblastice. **Evidențierea primului criteriu** este dificilă la pacienții adulți pentru care nu există date anterioare de laborator. În majoritatea ADC, transmiterea este autosomal recesivă și dat fiind numărul mic de descendenți în majoritatea familiilor europene, un singur caz într-o familie este regula mai degrabă decât excepția. Raritatea acestor afecțiuni și necesitatea de a obține preparate de MO pentru diagnostic explică de ce diagnosticul corect este adesea stabilit cu întârziere, în special în cazurile ușoare, chiar și când anemia și/sau hiperbilirubinemia erau cunoscute de mai mulți ani. Eritropoieza inefectivă a fost identificată ca mecanism principal al anemiei prin studii de eritroferokinetică. Durata de viață a eritrocitelor, în special în ADC tip II, poate fi moderat scurtată. Eritropoieza inefectivă ca **al doilea criteriu** este suspectată dacă sunt observate simptome și semne ale turnoverului crescut al hemoglobinei (creșterea bilirubinei indirecte, scăderea sau absența haptoglobinei) ca în anemiile hemolitice dar numărul de reticulocite scăzut nu corespunde gradului anemiei. Există întotdeauna o marcată creștere a eritroblaștilor din MO și este crescută concentrația serică a receptorului solubil al transferinei reflectând expansiunea țesutului eritropoietic. Modificările morfologice caracteristice ale eritroblaștilor reprezintă **al treilea criteriu** și este încă baza diagnosticului și prima treaptă în determinarea tipului de ADC. Recunoașterea anomaliilor morfologice este mai ușoară pe preparatele de aspirat de MO decât pe secțiuni histologice. Analiza frotiurilor de sânge periferic și de MO sunt necesare pentru diagnosticul fiecărui caz suspectat de ADC. Pe lângă colorația panoptică, frotiurile de MO trebuie colorate pentru fier non-heminic pentru a exclude anemia sideroblastică cu modificări asemănătoare ADC și pentru a estima rezervele tisulare de fier. Numărul de sideroblaști poate fi crescut la pacienții cu rezerve crescute de fier, dar sideroblaștii inelari sunt prezenți în cazuri excepționale. Alte boli ereditare ale eritropoiezei întrunesc unele din criteriile ADC dare ele sunt recunoscute și clasificate în acord cu defectul lor de bază. **Al patrulea criteriu** de diagnostic cere excluderea lor prin teste specifice înainte de a definitiva diagnosticul de ADC. Aceasta este în special important pentru diagnosticul variantelor de ADC. Clasificarea corectă a ADC este importantă pentru terapie. ADC tip I poate fi tratată eficient cu doze mici de Interferon-alfa cu normalizarea hemoglobinei și întreruperea absorbției crescute a fierului de enterocite. Splenectomia ameliorează anemia din ADC tip II și este indicația în cazurile moderate sau severe dar nu previne absorbția crescută în continuare a fierului. Supraîncărcarea cu fier necesită tratament cu chelatori de fier. Transplantul allogenic de celule stem poate fi luat în considerare la copii cu forme severe de ADC care necesită transfuzii repetate.

The congenital dyserythropoietic anemias (CDAs): diagnosis and therapy

Coliță Adriana

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

CDAs comprise a group of rare hereditary disorders that are characterized by ineffective erythropoiesis as the predominant mechanism of anemia and by distinct morphological abnormalities of erythroblasts in the bone marrow (BM). Heimpel and Wendt (1968) classified the CDAs into three types (I, II, III) based on the morphological abnormalities affecting the erythroblasts and, in the case of CDA type II, also on serological characteristics. Characteristic morphologic alterations are: in type I: megaloblastoid erythroblasts and erythroblastic internuclear chromatin bridges; in type II: erythroblastic multinuclearity and a positive acidified serum test and in type III: erythroblastic multinuclearity (“gi-

gantoblasts”). The new forms of CDAs that have been found in three or more families have been tentatively classified into CDA IV, V, VI, VII. The diagnosis of the CDAs requires the presence of four criteria: 1) evidence of congenital anemia/jaundice or of hereditary; 2) evidence of ineffective erythropoiesis; 3) typical morphological appearance of bone BM erythroblasts; 4) exclusion of congenital anemias that fulfill criteria 1 and 2, but were classified according to the underlying defect, such as the thalassemia syndromes, certain hemoglobinopathy or hereditary sideroblastic anemias. Proof of the **first criteria** may be difficult in adult patients for whom sufficient previous laboratory data is unavailable. In the majority of CDAs, inheritance is autosomal recessive, and due to the small number of offspring in most European families, single cases in one family are the rule rather than the exception. Together with the rarity of the disorder and the need to obtain BM for diagnosis, this explains why correct diagnosis is often delayed, particularly in mild cases, even when anemia and/or hyperbilirubinemia were known for many years. Ineffective erythropoiesis was identified as the main mechanism for the anaemia by erythroferrokinetic. Red cell lifespan may be moderately shortened, particularly in CDAs type II. Ineffective erythropoiesis as the **second criteria** is suspected if symptoms and signs of increased hemoglobin turnover (indirect hyperbilirubinaemia, low or absent haptoglobin) as in hemolytic anemia, are noted, but the reticulocyte count does not correspond to the degree of anemia. There is always a pronounced increase of erythroblasts, and the serum concentration of the soluble transferrin receptor test that reflects the expansion of the erythropoietic tissue is elevated. The characteristic morphological aberrations of the erythroblasts, defining the **third criteria**, are still the cornerstone of the diagnosis and also the first step in determination of the CDA type. Recognition is much easier in smears of aspirated bone marrow than in histology specimens and morphological analysis of both peripheral blood and appropriate bone marrow smears is required for diagnosis of any case of CDA. In addition to panoptic staining, the specimen should be stained for non-haem iron to exclude congenital sideroblastic anaemia with CDA-like morphological aberration in a minority of cells and also to estimate tissue iron stores. The number of sideroblasts may be increased in patients with increased iron stores, but ringed sideroblasts are present only in exceptional cases. Other hereditary disorders of erythropoiesis share some of the criteria with the CDAs, but were already known and classified according to the underlying pathogenesis. As started in the **fourth criteria**, they have to be excluded by appropriate tests before the ultimate diagnosis of CDA is made. This is of particular relevance for the variant types of CDA. Correct classification is relevant for therapy. CDA I can be effectively treated with small doses of Interferon-alpha, with normalization of the hemoglobin concentration and abrogation of the upregulated iron uptake by enterocytes. Splenectomy improves the anemia in CDA II and is indicated in moderate or severe cases. It does not, prevent further increased iron uptake. Iron overloading necessitates iron depletion regimens, in analogy to the strategies used in thalassemia intermedia. Allogeneic stem cell transplantation may be considered in children with aberrant CDAs who need regular transfusions.

R17. Sindroame de insuficiență medulară congenitală - valoarea tehnicilor de laborator pentru diagnostic

Coliță Anca^{1,2}, Diaconu Adriana^{1,2}, Sboră Rodica², Asan Mirela², Gheorghe Anca², Jardan Cerasela¹, Jardan Dumitru¹, Coriu Dan^{1,2}, Arion Constantin^{1,2}

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

Sindroamele de insuficiență medulară congenitală (IMC) sunt în mod tradițional considerate a fi afecțiuni pediatrice, dar mulți dintre pacienți sunt diagnosticați la vârsta adultă. Cele mai frecvente dintre aceste afecțiuni rare includ anemia Fanconi (FA), diskeratoza congenitală (DKC), sindromul Diamond-Shwachman (SDS) și trombocitopenia amegacariocitară, care dezvoltă adesea anemie aplastică și pot evolua către sindrom mielodisplazic și leucemie; anemia Diamond-Blackfan (DBA), neutropenia congenitală severă (SCN) și trombocitopenia cu absența radiusului (TAR) reprezintă monocitopenii care rareori determină anemie aplastică, dar au riscuri crescute de evoluție către leucemie. Diagnosticul de sindrom BMF necesită recunoașterea anomaliilor fizice caracteristice, atunci când acestea sunt prezente, asociat cu examene hematologice și teste specifice de genetică moleculară și de analiza mutațiilor. Vom prezenta experiența Institutului Clinic Fundeni în diagnosticul sindroamelor IMC: analiza măduvei osoase, examenul citogenetic și noile tehnici moleculare. Vă prezentăm, de asemenea, experiența noastră în tratamentul acestor boli rare, inclusiv primul caz de DKC transplantat în centrul nostru, un băiat de 3 ani, la care s-a realizat transplantul alogen HLA compatibil familial cu rezultat favorabil și reconstituire hematologică completă.

Inherited bone marrow failure syndromes - the value of laboratory techniques for diagnosis

Coliță Anca^{1,2}, Diaconu Adriana^{1,2}, Sboră Rodica², Asan Mirela², Gheorghe Anca², Jardan Cerasela¹, Jardan Dumitru¹, Coriu Dan^{1,2}, Arion Constantin^{1,2}

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

The inherited bone marrow failure (BMF) syndromes are traditionally considered to be pediatric disorders, but many of the patients now are diagnosed as adults. The most common of these rare disorders include Fanconi anemia (FA), dyskeratosis congenita (DKC), Shwachman-Diamond syndrome (SDS) and amegakaryocytic thrombocytopenia, which often develop aplastic anemia and may progress into myelodysplastic syndrome and leukemia; Diamond-Blackfan anemia (DBA), severe congenital neutropenia (SCN), and thrombocytopenia absent radii (TAR), represent single cytopenias that rarely become aplastic, but have increased risks of leukemia. Diagnosis of a BMF syndrome requires recognition of characteristic physical abnormalities, when present, associated with hematological and specific molecular genetic tests and mutation analysis. We will present the Fundeni Clinical Institute experience in the diagnosis of BMF syndromes: the bone marrow analysis, the cytogenetic examination and the new molecular techniques. We also present our experience in the treatment of these rare diseases, including the first case of DKC transplanted in our center, a 3 years old boy that received HLA compatible sibling allogeneic stem cell transplantation with favorable outcome and complete hematological reconstitution.

R18. Diagnosticul molecular și screeningul purtătorilor pentru beta-talasemie în România

Coriu D.^{1,3}, Talmaci Rodica¹, Dan Letiția⁴, Dogaru Monica³, Badelita Sorina³, Coliță Anca^{1,2}, Bratu Denisa^{1,3}, Gavrilă L.⁴

1. Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București; 2. Institutul Clinic Fundeni, Departmentul de Pediatrie, București; 3. Institutul Clinic Fundeni, Departmentul de Hematologie, București; 4. Institutul de Genetică al Universității București, Departamentul de Genetică Umană

β -talasemia este o boală genetică caracterizată de reducerea sau absența completă a lanțurilor beta globinice. Obiectivul acestui studiu este identificarea mutațiilor beta talasemice în populația României. Hemograma a fost efectuată folosind un analizor automat (Coulter). Cuantificarea hemoglobinei a fost realizată prin electroforeza în gel de agaroză și cation exchange HPLC. Analiza mutațiilor în genele β -globinice s-a realizat folosind metode PCR: Amplification Refractory Mutation System (ARMS), Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE), Genotipare Real Time PCR și secvențiere directă. În studiu au intrat 124 pacienți cu β -talasemie: 102 pacienți cu forma heterozigotă, 16 pacienți cu forma homozigotă și 6 pacienți status heterozigot, dar pattern genetic necunoscut. În plus, au fost identificați patru pacienți cu Hb Lepore. Analiza moleculară a 134 alele relevă 13 mutații diferite: 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%) și mutații necunoscute (4,47%). La un pacient tânăr a fost identificat un nou polimorfism +3 (A-T) asociat cu mutația IVS I-1. Apariția acestui nou tip de polimorfism are impact pe fenotip deoarece asociat cu mutația IVS I-1 induce un fenotip clinic de β -talasemia intermedia. Aceste rezultate indică faptul că β -talasemia în România are origine Mediteraneană. Aceste informații despre spectrul mutațiilor are implicații importante pentru controlul talasemiei populația României prin diagnostic prenatal și de asemenea în stabilirea corelației genotip – fenotip la acești pacienți.

Această lucrare a fost realizată în cadrul Proiectelor de Cercetare CEEX 49/2005; CNCSIS 201/2007; PN II 41-045/2007 și FP6-ITHANET.

The molecular diagnosis and carrier screening for beta-thalassaemia in Romanian population

Coriu D.^{1,3}, Talmaci Rodica¹, Dan Letiția⁴, Dogaru Monica³, Badelita Sorina³, Coliță Anca^{1,2}, Bratu Denisa^{1,3}, Gavrilă L.⁴

1. "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest; 2. Fundeni Clinical Institute, Department of Pediatrics, Bucharest; 3. Fundeni Clinical Institute, Department of Hematology, Bucharest; 4. Genetics Institute of Bucharest University, Human Genetics Department

β -Thalassaemia is a worldwide inherited disorder characterized by a reduction or complete absence of a β -globin expression. This study was designed to identify the beta-thalassaemia mutations in Romanian population. Hematological data were collected with automated cell counters (Coulter). Quantization of hemoglobin was done by cation exchange HPLC and by agarose gel electrophoresis. Analysis of the mutation in the β -globin gene has been performed using the PCR based methods: Amplification Refractory Mutation System (ARMS), Denaturing Gradient Gel Electrophoresis (DGGE),

Real Time PCR Genotyping and direct sequencing. One hundred and twenty four patients with β -thalassaemia were included: one hundred and two cases with heterozygous β -thalassaemia; sixteen cases with homozygous β -thalassaemia; and six patients with unknown patterns in heterozygous state. In addition, four patients were identified with Hb Lepore. Molecular analysis of 134 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%). A new polymorphism +3 (A-T) associated with IVS I-1 mutation was found in a young patient. The occurrence of this new polymorphism has an impact on the phenotype because when associated with the IVS I-1 mutation it results in a β -thalassaemia intermediate status. These results show, as we anticipated, that β -thalassaemia in Romania is of Mediterranean origin. This information on the spectrum of mutations has implications for the control of β thalassaemia in Romanian population and also on the genotype-phenotype correlation of the disease.

This work was supported by Research Projects CEEX 49/2005; CNCSIS 201/2007; PN II 41-045/2007 and FP6-ITHANET.

Workshop. **European Federation of Clinical Chemistry and Laboratory Medicine (EFLM)**

R19. Specialists in Laboratory Medicine. **The European Directive on professional qualifications**

Simone Zerah

*Chair of the Professional committee of L'EFLM/EC4, ISO and CEN expert, Vice president of
CEPLIS (Comité Européen des professions libérales)*

EFLM is the European Federation for Clinical Chemistry and Laboratory medicine (previously EFCC). We will explain: the structure, the goals, the objectives and the Key strategic areas; the role and activities of the Professional Committee; the revision of the Directive on professional qualifications. The first Directive of the European Parliament and the Council (2005/36/EC) on Recognition of Professional Qualifications had to be transposed by all Member States by 2007. This document is under revision. We will give a quick overview of the history to enable understanding of where we are now, after active participation in the numerous meetings and questionnaires, and stress the importance for the future of our profession. We are officially recognized by the European Commission as representing the profession. We will present the 2 methods for recognising qualifications, the automatic system for 7 « sectoral professions » and the « general system ». We will report the propositions of the "green paper" and the subsequent draft of the revised directive. The draft of the revised directive was published in December 2011 and has been proposed to the European Parliament by the European Commission. It is currently under discussion. We will explain our strong involvement and position on the main points: Professional cards, « Common training principles » replacing the common-platforms, back to harmonization instead of identifying differences for compensation measures, CPD, rules on language skills. The European pro

Professional associations should be well placed to take the lead in devising harmonisation frameworks: our aim is the excellence of our profession in Europe. The new Directive is due to be published by the end of 2012. The European Parliament has officially made it a priority. The Member of the Parliament in charge is Bernadette Vergniaud whom we have met. Meanwhile, we continue to work on the improvement of the draft proposition through the next steps ahead of the adoption of the new Directive.

Quality assurance in medical laboratories

R20. Quality assurance and molecular diagnosis - which tests and in which patients

Maurizio Ferrari

University Vita-Salute San Raffaele, Milan, (Italy)

Abstract not available.

C16. Erori extra-analitice in Laboratorul Clinic al Spitalului de Urgență Târgu Mureș

Marta Andrea Fodor^{1,2}, Minodora Dobreanu^{1,2}

1. Dept Biochimie Clinică – Imunologie, Univ Med & Farm Târgu Mureș

2. Spitalul Județean de Urgență Tg.Mureș, Laboratorul Central de Analize Medicale

Erorile/greșelile în etapele extra-analitice reprezintă peste 80% din totalul erorilor de laborator, faza preanalitică fiind sursa majoră a acestora (40-70%).

În scopul evaluării principalelor surse ale acestor greșeli am conceput un studiu transversal, utilizând un chestionar cu întrebări specifice referitoare la procedurile zilnice de rutină din fazele extra-analitice: recoltarea produselor patologice, criteriile de acceptare/respingere a probelor, prelucrarea lor primară, raportarea rezultatelor și înregistrarea neconformităților. Am obținut răspunsuri de la 29 de tehnicieni de laborator și 49 de asistente din secțiile clinice ale spitalului. Răspunsurile au fost cantificate în funcție de frecvența cu care se aplică procedura respectivă.

Pentru procedura de colectare a probelor biologice, am obținut scoruri medii mai ridicate pentru tehnicienii de laborator, comparativ cu asistentele de pe secțiile clinice. Tehnicienii de laborator au obținut scor mai mic vizând decizia de a recolta sânge în condiții postprandiale. Asistentele clinice au obținut un scor scăzut la întrebarea privind utilizarea sistemului Vacutainer ca tehnică exclusivă de recoltare a sângelui. Majoritatea personalului din laborator cunoaște regulile de acceptare a probelor, mai puțin aspectele legate de determinarea potasiului din probele hemolizate. În ceea ce privește gradul de cunoaștere a criteriilor de acceptare a probelor, scorul cel mai ridicat s-a obținut la întrebarea referitoare la efectuarea hemoleucogramei automate din tuburi cu cantitate insuficientă de sânge. Cele mai bune scoruri s-au obținut la întrebările referitoare la raportarea rezultatelor și înregistrarea neconformităților.

Accreditarea laboratorului a condus la o cunoaștere mai bună a procedurilor de către personalul laboratorului, dar scorul mediu obținut pe proceduri extra-analitice nu este unul satisfăcător. Cel mai mic scor au obținut asistentele de pe secții privind tehnicile utilizate la recoltarea sângelui. În vederea

îmbunătățirii performanțelor fazei pre-analitice este nevoie de un proces de educație intensivă și o colaborare mai strânsă între clinică și laborator.

Extra-analytical Errors in Clinical Laboratory of Emergency Hospital Târgu Mures

Marta Andrea Fodor^{1,2}, Minodora Dobreanu^{1,2}

1. Dept Clinical Biochemistry – Immunology, Univ Med & Pharm Târgu Mureș;

2. Central Laboratory, Clinical County Emergency Hospital Tg.Mureș, Romania

Errors/mistakes generated in extra-analytical procedures account for up to 80% of total laboratory medicine errors and pre-analytical phase is the major source (40-70%).

We performed a cross-sectional survey on 29 laboratory technicians and 49 clinical assistants using a questionnaire with specific questions about extra-analytical routines performed everyday: collecting procedures for biological samples, sample acceptance rules in laboratory, handling primary sample, reporting results and recording of non-conformities. Answers were quantified according to the frequency of applied procedure.

The average score for sample collection was higher to laboratory technicians comparing with clinical assistants; in laboratory technicians score was lowest for decision to collect blood samples in postprandial condition; in clinical assistants score was lowest for blood collection with only vacutainer system. The majority of participants in laboratory technicians group, knows the criteria for sample acceptance and management of hemolyzed samples, except for potassium determination; in sample acceptance criteria the highest scores were obtained for automated blood cells analyzed from tubes with insufficient biological sample. The best performances in our survey were for reporting results and recording nonconformities.

Laboratory accreditation was associated with better practices for laboratory technicians but overall score of extra-analytical phase was not satisfactory. Lowest score was obtained by clinical technicians for sample collection with only vacutainer system; a more intensive training on sample collection techniques is mandatory in clinical – laboratory relationship.

Authors index

Index de autori

A

Adumitresi Cecilia: P15
Anghel Andrei: P2, P3
Anghel Maria: C3
Antal Liana: P7
Any Docu-Axelerad: P10
Arion Constantin: P31, R13, R17
Asan Mirela: R13, R17

B

Badea A.: R14
Badea Daniela: R14
Badea Florin Ciprian: C9, P1, P26
Badea M.: R14
Badea Victoria: C9, P1, P10, P15, P26
Badelita Sorina: R18
Badicuț Ioana: C11
Balas Melania: P5, P6
Băncescu Adrian: R9
Barbu Adina: P11, P27
Bataga Simona: C14
Bîlc Ana Maria: P22
Bilca Doina: P21
Bîlcana Maria: P23
Boboș Cecilia: P22, P23
Bonțe Diana Camelia: P2, P3
Bonțe Ovidiu Horia: P2, P3
Borcan Alina Maria: C11
Botezan Nicoleta Delia: P22, P23
Botnarcu Mihaela: P11, P27
Braga Victoria: P11, P27
Bratu Denisa: R18
Brudașcă Ioana: R11
Bucur Adina: C5
Bucur Alexandru: C10
Bumbăcilă Bogdan: C5, C6
Burcoveanu Cristina: P30

Burns Andrew: W1
Burta Olivia Ligia: P24
Buzas Roxana: P18

C

Călămar Despina: P29
Calenic Bogdan: C8, C10, R10
Caraiane Aureliana: C9, P26
Carasevici Eugen: C4, C13, P30, R5
Cășăriu Elena Daniela: C2, C8
Cătană Alina: P31
Cheregi Simona: P24
Chevereșan Liviu: P29
Chevereșan Maria: P29
Chiriac Anca: P19, P28
Cimporescu Adinela: P8, P14
Ciursaș Adina: P12
Cladovan Claudia: P24
Codița Irina: R7
Codreanu Ioana Coralia: C7, P16
Cojocaru Elena: P28
Cojocaru Inimioara Mihaela: P10
Coliță Adriana: R15, R16
Coliță Anca: R13, R17, R18
Coliță Dan: R15
Constangioara Adriana: P25
Coriu Daniel: R13, R15, R17, R18
Cotul Cristina: P22
Covic C. Adrian: C13
Cumpanasoiu Ciceronis: P14

D

Dan Letiția: R18
Dănăilă C.: P30
Dăscălescu Angela: P30
David Dana: C5
Deleanu C.: C1

Diaconu Adriana: R13, R17
 Didilescu Andreea: C8, C10
 Dobreanu Minodora: C14, C15, C16, P21
 Dogaru Monica: R18
 Dorobaș Olga Mihaela: C11, R6
 Dorohoi Gabriela: P30
 Drăgan Ana-Maria: P4
 Drăghilă Livia: P31
 Dumache Raluca: C5, C6
 Dumitraș Silvia: C4, P30
 Dumitrașcu Victor: C6, P2, P3, P5, P6, P8,
 P13, P14

E

Enache Elena L.: C14, C15
 Enache Liviu S.: C14, C15
 Enache M. Ecaterina: C13

F

Ferrari Maurizio: R4, R20
 Feticiu Lucia: P22, P23
 Filimon Marioara Nicoleta: P8
 Filip Florina: P28
 Florescu Sorin: P13
 Fodor Marta Andrea: C16
 Foia Liliana: P19, P28
 Funduc Ileana: R3

G

Gavrilă L.: R18
 Gavriș Claudia: C3
 Genunche Amelia: R14
 Georgescu Dan: C15
 Gheorghe Anca: R13, R17
 Gheorghiu Doramina: P30
 Gigore Georgiana: C4, P30
 Gotia Laura: P5, P6
 Gotia Smaranda Rodica: P5, P6
 Greabu Maria: C2, C8, C10, P9, R10
 Grigorian Mircea: P1, P10
 Gunescu Daniela Cristina: W3
 Gurban Camelia Vidita: P5, P6, P13, P14

H

Hatescu Suzana: W2
 Hotnog Dan: W4

I

Ion Ileana: P15
 Ioniță Claudiu: P29
 Ioniță Hortensia: P29, R12
 Ioniță Ioana: P29, R12
 Ioniță Mihai: P29
 Iovan Radu: P24, P25
 Ivanov Anca-Viorica: C4, P30
 Ivanov C. Iuliu: C4, C13, P30

J

Jardan Cerasela: R17
 Jardan Dumitru: R13, R17
 Jitaru Daniela: C13, P30, R5

K

Kovács Eugenia: C1

L

Lazăr Elena: P16
 Lighezan Daniel: P18
 Lighezan Rodica: P2, P3
 Lixandru Daniela: C2

M

Marc Sorina: P22
 Mărculescu Afrodita-Doina: P17
 Mareș Mihai: P28
 Mărginean Alina: P21
 Marusca Patricia: P24, P25
 Miclă Liana: P7, P25
 Miclă Otilia: P7, P24, P25
 Mihăescu Rodica: P18
 Mihailă Doina: P19
 Minciu Radu: C5, C6
 Miricescu Daniela: C2, C8, C10, P9, R10
 Miron Ingrith-Crenguța: C4, P30
 Mocanu Brândușa: C8
 Mohora Maria: C2, C8, C10
 Moța Maria: C1
 Motoc Marilena: C6
 Muresan Mariana: P7, P25

N

Nascuțiu Alexandra-Maria: C12, R8
Neculoiu Marius: C3
Negru Șerban: C5, C6
Neguț Marian: R8, R9
Nica Maria: R7
Nicolescu Alina: C1
Nuca A.C.: P26
Nuca Alexandra Maria: C9, P1
Nuca Cristina: C9, C26, P1

O

Otheitis Ioannis: P11

P

Pelea Diana: P24
Pintea Ioan: P22
Poenaru Dan V.: P13
Popa Simona Georgiana: C1
Popa Sînziana: C3
Popescu Roxana: P8, P13, P14, P30
Popovici Codruța: P31
Profire Lenuța: P28
Puiu Maria: C5, C6

R

Racoviță Stefana: P19
Radulescu Radu: P9
Rafila Alexandru: C11
Reikli S.: P24

S

Șapira Violeta: P10
Sbora Rodica: R17
Schmidt Mădălina: P30
Serban Corina: P18
Șerban Ioana Roxana: R7
Sfrijan Felicia: P2, P3
Spineanu R.: P24
Spînu Tudor: C8
Ștefan Lorena Ivona: C1
Suceava Ioana: P18
Șular Floredana Laura: P21

T

Talapan Daniela: C11
Talmaci Rodica: R13, R18
Tătaru Mirela-Victoria: P11, P27
Teleman Monica: R9
Terec Aurelia Doina: P22, P23
Todor Corina Alexandra: P23
Totan Alexandra: C2, C8, C10, P9, R10
Totan Cosmin: C10
Trandafirescu Mioara: P19
Tudor Anca: C6
Tudorascu Marius: P17
Tudorascu Stefania: P17
Tuță Liliana: P15

U

Ungureanu Didona: C4, C13

V

Vâlceanu Andreea: C3
Vera Sali: P20
Verdes Doina: P8
Vilceanu Ioana: C7, P12
Vîrgolici Bogdana: C2, C10
Vlad Cristian Sebastian: P14
Vlad Daliborca Cristina: P5, P6, P8, P13, P14
Voineagu Lavinia: P11, P15, P27

Y

Young Ian: R1, R2

Z

Zaha Dana Carmen: C7, P16
Zaharia Agripina: C9, P26
Zaharie Toader: P23
Zerah Simone: R19
Zlei Mihaela: C4, P30, R5
Zosin Ioana: P5, P6
Zugun Florin Eloae: R5

Information and Guidelines for Authors

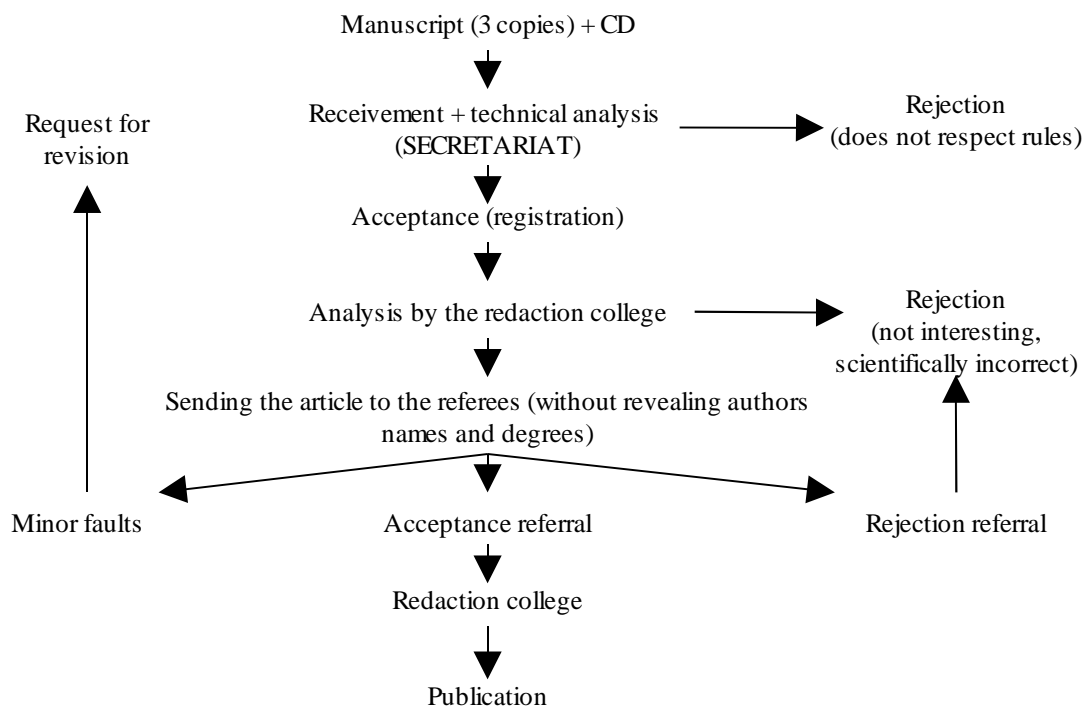
Version: June 1st 2011.

Revista Română de Medicină de Laborator (The Romanian Review of Laboratory Medicine) publishes editorials, original scientific and professional articles general reviews, case presentations, guidelines and recommendations of national and international scientific and professional associations, book reviews and announces events (congresses, symposia, courses) in the field of laboratory medicine. Its aim is to publish new information which can lead to a better understanding of the biological mechanisms of human diseases, improve prophylaxis and early diagnosis, as well as therapy evaluation and patient health

status. The *Review* also includes a “Course Notes” section for medical residents and for those who would like to update their knowledge into the approached fields. The frequency of the *Review* is currently four issues *per* year.

Manuscript submission

Manuscripts and all attached files (tables and illustrations) should be submitted in electronic form, either using the on-line manuscript submission form available on the website of the Romanian Review of Laboratory Medi-



cine (www.rrml.ro), or by regular mail to the Editor-in-Chief, on compact disk. It is preferable that one copy of the manuscript (including tables and figures), printed on one side of A4 paper format, double-spaced, with 2.5 cm margins, be also submitted to the same address.

Please note that general reviews and course notes are invited by the editor. Questions may be directed to Prof. Minodora Dobreanu (dobreanum@yahoo.com).

Submission documents

At the time of submission, the *Romanian Review of Laboratory Medicine* requires an explicit statement by the corresponding author warranting that the manuscript, as submitted, has been reviewed by and approved by all named authors; that the corresponding author is empowered by all of the authors to act on their behalf with respect to the submission of the manuscript; that the article does not infringe upon any copyright or other proprietary right of any third party; that neither the text nor the data have been published previously (abstracts excepted); and that the article or a substantially similar article is not under consideration by another journal at that time.

Upon submission of the manuscript, the corresponding author must provide the Editorial Board with documents proving that all those quoted for personal communications or listed in the *Acknowledgement* section have agreed to their inclusion. Authors are responsible for obtaining permission to reproduce copyrighted material from other sources and send an authenticated copy of the permission to the Editorial Board.

Each author must provide a clear **statement on potential conflicts of interest** in which he or she may be involved. The statement should include sources of funding, including internal support or grants from non-commercial institutions. The absence of funding should also be declared. The statement on conflicts of interest will be pub-

lished at the end of the paper.

Mailing address. Please submit all requested signed documents by regular mail to the Secretariat in attention to Prof. Minodora Dobreanu (Editor-in-Chief), University of Medicine and Pharmacy, Tirgu Mures, code 540136, No. 38, Str. Gheorghe Marinescu, Romania.

Scanned copies sent electronically and fax submissions are not acceptable.

Authorship

All named authors should meet the criteria for authorship as stated in the "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication" issued by the International Committee of Medical Journal Editors (www.icmje.org):

"Authorship credit should be based on 1) substantial contributions to conception and design, acquisition of data, or analysis and interpretation of data; 2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content; and 3) final approval of the version to be published. Authors should meet conditions 1, 2, and 3. [...]"

Acquisition of funding, collection of data, or general supervision of the research group alone does not constitute authorship.

All persons designated as authors should qualify for authorship, and all those who qualify should be listed."

The *Romanian Review of Laboratory Medicine* considers all authors to be responsible for the content of the entire paper.

Authors are requested to describe their individual contributions to a study/ paper in a section that will be signed, attached to and sent together with the "Authorship Responsibilities" form.

Individuals who supplied reagents, strains or facilities should not be listed as authors, but may be recognized in the *Acknowledgements* section. Individuals who gave advice on the manuscript should be acknowledged, but are not considered authors.

Research involving human subjects or experimental animals

If the scientific project involves human subjects or experimental animals, authors must state in the manuscript that the protocol has been approved by the Ethics Committee of the institution within which the research work was undertaken. Experiments on live vertebrates or higher invertebrates must be demonstrated to be ethically acceptable and in accordance with institutional and national guidelines or regulations for laboratory animals. If the manuscript reports medical research involving human subjects, authors must include a statement confirming that informed consent was obtained from all subjects, according to the World Medical Association Declaration of Helsinki, revised in 2000, Edinburgh.

Editorial process and peer review

Submitted manuscripts are screened for completeness and quality of files and will not enter the review process until all files are satisfactory. The Secretariat will announce the corresponding author about the receipt and the status of the manuscript.

The articles are sent to referees with expertise in the laboratory medicine area, without revealing the authors' names and position. Also, the referees' identities are not known by the authors. Following the referees' recommendations, the Editors decide if a paper is published or not.

Submissions may be declined without external review as deemed appropriate by the Editor-in-Chief and the members of the Editorial Board.

The authors of the manuscripts that have been rejected or need revision will be announced. Revised manuscripts should be resubmitted as soon as possible, but **not later than 6 weeks**, unless otherwise requested by the Editor. Although unusual, a resubmission may be rejected after revision if the response to suggestions and requests is considered inadequate.

Corrections

Scientific fraud are rare events; however, they have a very serious impact on the integrity of the scientific community. If the Editorial Board uncovers possible evidence of such problems it will first contact the corresponding author in complete confidence, to allow adequate clarification of the situation. If the results of such interactions are not satisfactory, the Board will contact the appropriate official(s) in the institution(s) from which the manuscript originated. It is then left to the institution(s) in question to pursue the matter appropriately. Depending on the circumstances, the *Romanian Review of Laboratory Medicine* may also opt to publish errata, corrigenda, or retractions.

Manuscript preparation

Manuscripts must be written in English and prepared in conformity to the "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Biomedical Publication" issued by the International Committee of Medical Journal Editors (www.icmje.org). Romanian authors will also provide a copy of the title, affiliation, abstract and keywords translated into Romanian.

Authors should consult someone proficient in the English language, if they feel it is necessary. If the manuscript is not conform to accepted standards of English usage, the authors will be required to bear the cost of English supervision: the charge is 12,5 RON (3,5 EUR)/supervised page.

Articles must be written in Microsoft Word, Style: Normal + Justified, Font: Times New Roman, font size 12. All manuscripts must be typed double-spaced. Original source files, not PDF files, are required. In text editing, authors should not use spacing with spacebar, tab or paragraph mark, but use the indentation and spacing options in Format → Paragraph. Automatic paging is preferred.

Please do not import tables or figures into the text document, but only specify their insertion in text (e.g. *Table No3 insertion*). They have to be sent in separate files. Files should be labeled with appropriate and descriptive file names, without diacritics (e.g. Popescu Imunofluorescenta.doc, Popescu Imunofluorescenta Fig1.tiff, Popescu Imunofluorescenta Table2.doc).

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.

Publication fee

Starting with June 1st 2011, a publication fee of 300 RON (75 EUR) will have to be paid for articles submitted for publication in the Romanian Review of Laboratory Medicine (invited contributions excepted). The fee will be paid upon submission of the paper. The author will bear the cost of publication for color illustrations, if their number exceeds two color figures (invited contributions excepted). The charge is 60 RON (15 EUR) for each color figure, starting with the third illustration). The authors will also bear the cost of English supervision (if the manuscript needs assistance): the charge is 12,5 RON (3,5 EUR)/page.

All payments will be operated in RO56BRDE270SV16682302700 bank account open for Romanian Association of Medical Laboratories – CF 17383407 – at BRD-Groupe Société Générale SA, Agen ia Petru Maior, Str. Mihai Viteazu 31, T rgu Mureş. Please fax a copy of the bank draft at the Editorial Secretariat (+40 265 217 425).

Manuscript organization

Text will be structured on separate pages, as follows:

Page 1: Title of the paper, having no more than 150 characters, with no abbreviations.

Page 2: First name, middle initials and surname of the authors, without any scientific, didactic or military degrees; full name of the working-place (institution and department) for each author; contact details of the corresponding author (full address, telephone number, fax number, e-mail address) and the address of the institution and department where the study has been carried out. Contact details will be published unless otherwise requested by the author.

Page 3: Abstract page.

The **abstract** should have no more than 250 words and describe briefly the purpose of the study, methods and procedures used, the most important results, main conclusions, new aspects and importance of the study. **Key words** (at least 3) according to *Index medicus*.

Pages 4 and next:

The text of original papers will be organized in: introduction (no more than 25% of the text), material and methods, results, comments or discussions and acknowledgements. **Material and methods** have to be described in enough detail to permit reproduction by other teams. The same product names should be used throughout the text (with the brand name in parenthesis at the first use). **Results** should be presented concisely. Tables and figures should not duplicate text. The **discussion** should set the results in context and set forth the major conclusions of the authors. Information from the Introduction or Results should not be repeated unless necessary for clarity. The discussion should also include a comparison among the obtained results and other studies from the literature, with explanations or hypothesis on the observed differences, comments on the importance of the study and the actual status of the investigated subject, unsolved problems, questions to be answered in the future. In addition to the customary recogni-

tion of non-authors who have been helpful to the work described, the **acknowledgements** section must disclose any substantive conflicts of interest.

Abbreviations shall be preceded by the full term at their first apparition in text. A list of all used abbreviations shall be made at the end of the article.

Separate pages: tables, graphics, pictures and schemes will appear on separate pages.

Tables will have a reasonable number of rows and columns.

Please do not forget to send the tables, charts, schemes etc. in their original file format (for example, .xls files if they were created in Microsoft Excel), and not embedded in the article text file (see **Manuscript preparation** section).

References should be numbered consecutively in the order in which they are first mentioned in the text. Identify references in text, tables, and legends by Arabic numerals in parentheses. References cited only in tables or figure legends should be numbered in accordance with the sequence established by the first identification in the text of the particular table or figure. The titles of journals should be abbreviated according to the style used in *Index*

Medicus. Consult the list of Journals Indexed for MEDLINE, published annually as a separate publication by the National Library of Medicine. Authors are responsible for the accuracy and completeness of all references and are also responsible for ensuring that references are not used out of context.

For journal articles use the following form: authors' surnames and first names initials, article's title, the journal abbreviation according to the *Index Medicus*, year, volume, starting and ending pages of the article. If there are more than six authors, list the first six and add et al.

e.g. Zimmermann MB, de Benoist B, Corigliano S, Jooste PL, Molinari L, Moosa K, et al. Assessment of iodine status using dried blood spot thyroglobulin: development of reference material and establishment of an international reference range in iodine-sufficient children. *J Clin Endocrinol Metab.* 2006 Dec;91(12):4881-7

For books or monographs: the names of the cited chapter's authors, chapter's title, the editors, the book's or monograph's title, Editure's name and location, the year of the appearance and pages.

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: office@rrml.ro, Website: www.rrml.ro

A L M R



Authorship responsibilities

Signing this form, the authors of the manuscript entitled:

guarantee that:

- the corresponding author is empowered by all of the authors to act on their behalf with respect to the submission of the manuscript;
- the article, as submitted, has been reviewed by and approved by all named authors;
- all named authors have participated substantially in the work;
- all those who have participated in the work in a substantive way have been named as authors of the paper;
- the paper is original (only applies to articles reporting research results);
- the article does not infringe upon any copyright or other proprietary right of any third party;
- neither the text nor the data have been published previously, abstracts excepted (applies to articles reporting research results)
- the article or a substantially similar article is not under consideration by another journal at submission time. If this can not be certified, permission from the copyright owner to republish copyrighted material must be included with the manuscript.

The author(s), in consideration of the acceptance of the above paper for publication, does hereby assign to the Editorial Board of the Romanian Review of Laboratory Medicine the rights to publish the above mentioned paper, in its current form and in any form subsequently revised for publication and/or electronic dissemination and they will republish/re-disseminate this material only with the written consent from the Editor-in-Chief of the Romanian Review of Laboratory Medicine.

Authors:

Name, Signature, Date

1. _____	5. _____
2. _____	6. _____
3. _____	7. _____
4. _____	8. _____