

**REVISTA ROMÂNĂ DE
MEDICINĂ DE LABORATOR**

Supliment la Vol. 22, Nr. 1, Martie, 2014

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



REVISTA ROMÂNĂ DE MEDICINĂ DE LABORATOR

Romanian Review of Laboratory Medicine

Publicație Oficială a ASOCIAȚIEI LABORATOARELOR MEDICALE DIN ROMÂNIA

Supliment la Vol. 22, Nr. 1, Martie, 2014

Comitetul de redacție

Redactor șef
Minodora Dobreanu

Redactor adjunct
Adrian Man

Secretariat redacție
Floredana Șular

Comitet redacțional

Anca Bacărea
Claudia Bănescu
Simona Cernea
Ovidiu Cotoi
Carmen Duicu
Elena Luminita Enache
Liviu Sorin Enache
Andrea Marta Fodor
Ileana Funduc
Andrada Loghin
Cosmin Moldovan
Edit Szekely
Septimiu Voidăzan

Creditări RRML

Thomson Reuters Scientific - ISI Web of Knowledge

Începând cu anul 2008, RRML este indexată în ISI Web of Knowledge - Web of Science - Science Citation Index Expanded (Thomson Reuters Scientific). Factor impact 2012: 0,097

Elsevier Bibliographic Databases

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

Index Copernicus Master journal List - din anul 2009.

CNCSIS

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

CMR

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

OBBCSSR

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

Scientific Reviewers

- Isabel Alvarado-Cabrero (*Mexican Oncology Hospital, Mexico City, Mexico*)
 Aurora Arghir (*Institutul Național „Victor Babeș” București*)
 Simona Avram (*Spitalul „Regina Maria” Cluj*)
 Patrice André (*Univ. Claude Bernard Lyon 1, France*)
 Vladimir Bacărea (*UMF Tîrgu Mureș*)
 Rodica Ioana Bălașa (*UMF Tîrgu Mureș*)
 Despina Baghiu (*UMF Tîrgu Mureș*)
 Aurel Bizo (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj*)
 Elena Bobescu (*Univ. „Transilvania” Brașov*)
 Angela Borda (*UMF Tîrgu Mureș*)
 Ovidiu Bratu (*Spitalul Militar București*)
 Ioana Brudașcă (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj*)
 Magdalena Budișteanu (*Spitalul Clinic de Psihiatrie „Alexandru Obregia” București*)
 Eugen Carasevici (*UMF „Gr. T. Popa” Iași*)
 Carmen Chifiriuc (*Universitatea București*)
 Carmen Chiriac (*UMF Tîrgu Mureș*)
 Corina Cianga (*UMF „Gr. T. Popa” Iași*)
 Petru Cianga (*UMF „Gr. T. Popa” Iași*)
 Mircea Cintează (*UMF „Carol Davila” București*)
 Irina Codiță (*UMF „Carol Davila” București*)
 Adriana Coliță (*UMF „Carol Davila” București*)
 Dan Coliță (*UMF „Carol Davila” București*)
 Ileana Constantinescu (*Institutul Clinic Fundeni*)
 Dan Coriu (*UMF „Carol Davila” București*)
 Anca Cristea (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj*)
 Victor Cristea (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj*)
 Mircea Cucuianu (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj*)
 Andrei Cucuianu (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj*)
 Augustin Curticăpean (*UMF Tîrgu Mureș*)
 Alis Dema (*UMF „Victor Babeș” Timișoara*)
 Camelia Dobrea (*UMF „Carol Davila” București*)
 Dan Dobreanu (*UMF Tîrgu Mureș*)
 Minodora Dobreanu (*UMF Tîrgu Mureș*)
 Olga Dorobăț (*Institutul Național de Boli Infecțioase „Matei Balș”*)
 Maria Dronca (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj*)
 Maurizio Ferrari (*Univ. “Vita-Salute San Raffaele”, Milan, Italy*)
 Mirela Flonta (*Spitalul de Boli Infecțioase, Cluj*)
 Dan Georgescu (*UMF Tîrgu Mureș*)
 Vlad Gorduză (*UMF „Gr. T. Popa” Iași*)
 Éva György (*Universitatea Sapientia, Miercurea Ciuc*)
 Maria Greabu (*UMF „Carol Davila” București*)
 Trefor Higgins (*Dyna LIFE Dx Laboratories, Edmonton, Canada*)
 Steliana Huhulescu (*Institut für med. Mikrobiologie und Hygiene, Viena, Austria*)
 Nicolae Hîncu (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj*)
 Daniela Homorodean (*Spitalul de pneumofiziologie Cluj*)
 Steliana Huhulescu (*Institut für med. Mikrobiologie und Hygiene, Wien, Austria*)
 Silvia Imre (*UMF Tîrgu Mureș*)
 Gabriel Ionescu (*UMF „Carol Davila” București*)
 Hortensia Ioniță (*UMF „Victor Babeș” Timișoara*)
 Gabor Kovacs (*Univ. Pecs, Hungary*)
 Crezante Lazăr (*RoEQUALM*)
 Monica Licker (*UMF Timișoara*)
 Lilla-Katalin Lorinczi (*UMF Tîrgu Mureș*)
 Mihaela Lupșe (*UMF „Iuliu Hațieganu” Cluj*)
 Mihai Mareș (*Universitatea de Medicină Veterinară, Iași*)
 Claudiu Mărgăritescu (*UMF Craiova*)
 Marius Mărușteri (*UMF Tîrgu Mureș*)
 Adriana Mihai (*UMF Tîrgu Mureș*)
 Maria Mohora (*UMF „Carol Davila” București*)
 Andreea Moicean (*UMF „Carol Davila” București*)
 Dumitru Moldovan (*UMF Tîrgu Mureș*)
 Roxana Moldovan (*UMF „Victor Babeș” Timișoara*)
 Daniela Lucia Muntean (*UMF Tîrgu Mureș*)
 Adelina Munteanu (*UMF „Carol Davila” București*)
 László Muszbek (*Univ. Debrecen, Hungary*)
 Marian Neguț (*UMF „Carol Davila” București*)
 Manuela G. Neuman (*Institute of Drug Research, Univ. of Toronto, Canada*)
 Francisco Nogales (*Universidad de Granada, Spania*)
 Grazyna Odrowaz - Sypniewska (*Nicolaus Copernicus University, Torun, Poland*)
 Galaftion Oltean (*UMF Tîrgu Mureș*)
 Dan Oțelea (*Institutul Național de Boli Infecțioase „Matei Balș”*)
 Vladimir Palicka (*Univ. Hradec Kralove, Praga, Czech Republic*)

Ioan Pascu (UMF Tîrgu Mureş)
 Ionela Paşcanu (UMF Tîrgu Mureş)
 Mariana Paţiu (Institutul Oncologic „Ion Chiricuţă”, Cluj)
 Monica Dana Pop (UMF Tîrgu Mureş)
 Connie Prosser (Univ. of Alberta Hospital, Edmonton, Canada)
 Maria Puiu (UMF „Victor Babeş” Timişoara)
 Lucian Puşcaşiu (UMF Tîrgu Mureş)
 Marius Sabău (UMF Tîrgu Mureş)
 Monica Sabău (UMF Tîrgu Mureş)
 Alexandru Şchiopu Jr. (Lund University, Malmö, Sweden)
 Margit Şerban (UMF „Victor Babeş” Timişoara)
 Emilia Severin (UMF „Carol Davila” Bucureşti)
 Cristiana Simionescu (UMF Craiova)
 Ana Maria Simundic (Univ. Zagreb, Croatia)
 Cristina Skrypnik (Arabian Gulf University, Manama, Bahrain)
 Robert Soslow (Memorial Sloan Kettering Cancer Center, New York, USA)

Horia Stanescu (University College London, UK)
 Simona Stolnicu (UMF Tîrgu Mureş)
 Cătălina Suzana Stîngu (Universitätsklinikum Leipzig, Germany)
 Monica Străuţ (INCDMI „I. Cantacuzino”)
 Adrian Streinu-Cercel (UMF „Carol Davila” Bucureşti)
 Franc Strle (University Medical Centre Ljubljana, Slovenia)
 Sorina Taban (UMF „Victor Babeş” Timişoara)
 Felicia Toma (UMF Tîrgu Mureş)
 Elizabeta Topic (Univ. Zagreb, Croatia)
 Adrian Trifa (UMF „Iuliu Haţieganu” Cluj)
 Didona Ungureanu (UMF „Gr. T. Popa” Iaşi)
 Cornel Ursaciuc (Institutul Naţional „Victor Babeş”)
 Camil Vari (UMF Tîrgu Mureş)
 Dumitru Zdrenghea (UMF „Iuliu Haţieganu” Cluj)
 Mihaela Zlei (Institutul Regional de Oncologie, Iaşi)
 Eloaie Florin Zugun (UMF „Gr. T. Popa” Iaşi)

Table of contents

Cuprins

8th Conference of the Romanian Association of Medical Laboratories with international participation.....	S9
Abstracts* / Rezumate	S13
Authors Index / Index de autori	S113
Information and Guidelines for Authors	S117

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



A L M R

**8th Conference of the Romanian Association of Medical Laboratories
with international participation**

Under the auspices of IFCC and EFLM



ABSTRACT BOOK

28-31 May 2014 Sibiu, Romania

Organizers

Romanian Association of Medical Laboratories
University of Medicine and Pharmacy Iuliu Hațieganu Cluj Napoca
University of Medicine and Pharmacy Târgu Mureș
University of Medicine and Pharmacy Gr T Popa Iași
Romanian Society of Microbiology
Romanian Society of Hematology

Organizing Committee

Cluj Napoca

Ioana Brudașcă (RAML President)
Mihai Aldica

Târgu Mureș

Minodora Dobreanu

Bucharest

Ileana Funduc (RAML Vice-president)
Ariadna Rădulescu
Daniela Miricescu

Iași

Eugen Carasevici
Didona Ungureanu

Sibiu

Ariela Olteanu

Scientific Committee

As. Prof. Ioana Brudașcă
Prof. Mircea Cucuianu
Prof. Daniel Coriu
Prof. Dan Coliță
Prof. Eugen Carasevici
Prof. Minodora Dobreanu
As. Prof. Didona Ungureanu
As. Prof. Anca Cristea

Prof. Olga Dorobăț
Prof. Marian Neguț
Prof. Maria Greabu
Prof. Maria Mohora
As. Prof. Mariana Pațiu
As. Prof. Andrei Cucuianu
As. Prof. Irina Codiță
Lecturer Gabriel Ionescu

GOLD SPONSORS

ROCHE
ROCO SYSTEM
BALMED
ABBOTT
TOP DIAGNOSTIC

SILVER SPONSORS

PROTON
AMS
BIVARIA
DIAMEDIX

BRONZE SPONSORS

ELTA'90
SYNEVO
TEHNO INDUSTRIAL

MEDIA PARTNERS

JURNAL DE SĂNĂTATE
SĂPTĂMÂNA MEDICALĂ

R1. NEXT GENERATION SEQUENCING FROM BENCH TO BEDSIDE

Maurizio Ferrari

Chair of the Education and Management Division (EMD) of IFCC, University Vita-Salute San Raffaele, Milan, Italy

Abstract not available

C1. AUTOMATIC ANGIOGENESIS EVALUATION AND QUANTIFICATION IN DISTINCT BREAST TUMOR FIELDS

Anca Haisan,^{1,2} Radu Rogojanu,^{3,4} Camelia Croitoru,⁵ Daniela Jitaru,⁶ Cristina Tărniceriu,⁷ Eugen Carasevici⁶

1. Emergency Medicine Department, Gr.T.Popa University of Medicine and Pharmacy, Iasi, 2. Emergency Medicine Department, Saint Spiridon Hospital, Iasi, 3. Pathophysiology and Allergy Research Department, Medical University of Vienna, 4. Tissue Gnostics GmbH, Vienna, 5. Pathology Department, County Emergency Hospital, Piatra Neamt, Laboratory of Molecular Biology, Regional Institute of Oncology, Iasi, 7. Department of Anatomy, Gr.T.Popa University of Medicine and Pharmacy, Iasi

Aim: Angiogenesis, usually defined by microvessel density (MVD), plays a central role in both local tumor growth and distant metastasis in breast cancer. However, due to variability of measurement systems and cutoffs, it is uncertain to date whether it contributes to predictive or prognostic assessment. Our study aims to grade vascular heterogeneity by comparing clear-cut compartments: tumour associated stroma (TAS), tumour parenchyma, and tumour invasive front. **Material and Methods.** Computerized vessel area measurement was performed using a tissue cytometry system (TissueFAXS) on slides originated from 50 patients with breast cancer. Vessels endothelial cells were IHC stained with CD34. Regions of interest were manually defined for each tumour compartment. **Results.** Tumour invasive front vascular endothelia area was 2.15 times higher than that in tumour parenchyma and 4.61 times higher than that in TAS ($P < 0.002$). In contrast with node positive patients, the lymph node negative subgroup of patients show a slight but constant increase of vessel index in all examined compartments of breast tumour, including invasive front. **Conclusion.** Whole slide digital examination and region of interest (ROI) analysis are a valuable tool in scoring angiogenesis markers and disclosing their prognostic capacity. Our study reveals compartment variability of vessel density at the tumour level and highlights the predisposition of invasive front to associate an active process of angiogenesis heralding node involvement. This behavior could function as a surrogate marker for the capacity of a tumor to metastasize relating potential implications for adjuvant therapy.

EVALUAREA ȘI CUANTIFICAREA AUTOMATĂ A ANGIOGENEZEI ÎN CÂMPURI DISTINCTE DIN TUMORA MAMARĂ

Anca Haisan,^{1,2} Radu Rogojanu,^{3,4} Camelia Croitoru,⁵ Daniela Jitaru,⁶ Cristina Tărniceriu,⁷ Eugen Carasevici⁶

1. Departamentul de Medicina de Urgențe, Universitatea de Medicină și Farmacie Gr. T. Popa, Iași, 2. Unitatea Primire Urgențe, Spitalul Sf. Spiridon, Iași, 3. Departamentul de Cercetare în Fiziopatologie și Alergie, Universitatea de Medicină Viena, 4. Tissue Gnostics GmbH, Viena, 5. Departamentul de Anatomie Patologică, Spitalul Județean de Urgențe, Piatra Neamț, 6. Laboratorul de Biologie Moleculară, Institutul Regional de Oncologie, Iași, 7. Departamentul de Anatomie, Universitatea de Medicină și Farmacie Gr. T. Popa, Iași

Obiectiv: Angiogeneza, de obicei definită ca densitate microvasculară (MVD), joacă un rol central atât în creșterea locală a tumorii cât și în metastazarea la distanță în cancerul mamar. Totuși, dat fiind variabilitatea sistemelor de măsură și delimitare (cutoff), este încă nesigur dacă prezintă o valoare predictivă și prognostică. Studiul de față urmărește stadializarea heterogenității vasculare prin compararea unor compartimente distincte: stroma asociată tumorii (TAS), parenchimul tumoral, și frontul invaziv al tumorii.

Materiale și Metode: Măsurarea computerizată a ariilor vasculare a fost realizată prin utilizarea unui sistem de citometrie tisulară (TisssueFAXS) pe preparate provenind de la 50 de pacienți cu cancer mamar. Celulele endoteliale vasculare au fost marcate imunohistochimic cu CD34. Regiunile de interes au fost definite manual pentru fiecare compartiment tumoral. **Rezultate:** Aria vasculară endotelială a frontului invaziv tumoral a fost de 2.15 ori mai mare decât cea a parenchimului tumoral și de 4.61 ori mai mare decât în stroma asociată tumorii (TAS) ($P < 0.002$). În contrast cu pacienții cu ganglioni axilari pozitivi, subgrupul cu ganglioni axilari negativi prezintă o ușoară, dar constantă creștere a indicelui vascular în toate compartimentele tumorale examinate, inclusiv frontul de invazie. **Concluzie:** Examinarea digitală a întregului preparat și analiza regiunilor de interes (ROI) reprezintă un instrument important în determinarea scorului markerilor angiogenici și revelarea capacității lor prognostice. Studiul nostru evidențiază variabilitatea zonală a densității vasculare la nivelul tumorii și subliniază predispoziția frontului invaziv de a dezvolta un proces activ de angiogeneză care anunța interesarea ganglionilor limfatici regionali. Acest comportament ar putea reprezenta un marker surrogat pentru capacitatea de metastazare a tumorii cu potențiale implicații pentru terapia adjuvantă.

R2. QUALITY ASSURANCE IN MOLECULAR DIAGNOSIS

Maurizio Ferrari

Chair of the Education and Management Division (EMD) of IFCC, University Vita-Salute San Raffaele, Milan, Italy

Abstract not available

C2.ORAL KERATINOCYTE STEM CELLS: ISOLATION, MOLECULAR MECHANISMS AND POTENTIAL USES IN REGENERATIVE DENTISTRY

Bogdan Calenic, Maria Greabu, Alexandra Totan, Daniela Miricescu, Iustina Varlan, Doriana Lupescu

UMF Carol Davila, Bucharest, Romania, Faculty of Dentistry, Department of Biochemistry

Oral keratinocyte stem cells reside in the basal layers of the oral epithelia and are a minor population of cells, quiescent, with a great potential to self-renew and proliferate over the course of their life-time. Although oral keratinocyte stem cells play key roles in tissue homeostasis, wound healing and tumor initiation and progression they remain difficult to isolate and characterize due to the lack of specific markers. Despite these difficulties intense scientific efforts are currently undertaken in order to identify, separate and reprogram them due to their potential uses in regenerative dentistry. Putative surface molecules that characterize keratinocyte stem cells include classes such as integrins, clusters of differentiation, or cytokeratins. Biological processes such as self-renewal, proliferation, wound healing or programmed cell death are governed by specific molecular pathways that can execute multiple functions within the same stem cell. The present lecture will focus on recent advances in understanding the molecular signaling pathways coordinating the behavior of keratinocyte stem cells in general and oral keratinocyte stem cells in particular and in identifying current suitable surface markers used for their isolation and characterization.

CELULE STEM DIN EPITELIUL ORAL: IDENTIFICARE, MECANISME MOLECULARE SPECIFICE ȘI UTILIZARE ÎN MEDICINA DENTARĂ REGENERATIVĂ

Bogdan Calenic, Maria Greabu, Alexandra Totan, Daniela Miricescu, Iustina Varlan, Doriana Lupescu

UMF Carol Davila, Facultatea de Medicina Dentara, Catedra de Biochimie

Keratinocitele stem orale sunt localizate în straturile bazale ale epitelului oral reprezentând o populație celulară redusă cu un potențial crescut de auto-regenerare și proliferare pe parcursul ciclului de viață celular. Deși aceste celule joacă roluri cheie în menținerea arhitecturii tisulare, în homeostazie sau în patologia țesutului (inflamație, vindecare, inițierea și progresia tumorilor etc.), acest grup celular rămâne foarte dificil de izolat și caracterizat, datorită lipsei de markeri de suprafață specifici și cunoașterii insuficiente a mecanismelor moleculare care guvernează activitatea celulară. În ciuda acestor dificultăți, eforturi de cercetare intense sunt întreprinse în scopul de a identifica, separa și reprograma keratinocitele stem ca urmare a potențialului lor ridicat pentru aplicații în medicina dentară regenerativă. Moleculele de suprafață care caracterizează (potențial) keratinocitele stem includ clase de citokeratine, integrine, clustere de diferențiere.

Procese biologice, cum ar fi auto-regenerarea, proliferarea, vindecarea sau moartea celulară programată sunt guvernate de căi moleculare specifice, care pot executa mai multe funcții în cadrul aceleiași celule stem. Prezentarea de față se va concentra pe recente progrese în înțelegerea căilor de semnalizare

moleculare care coordonează comportamentul keratinocitelor stem orale, și pe identificarea markerilor de suprafață cu potențial de a fi specifici.

C3. ANTIBODY MICROARRAY FOR QUANTIFICATION OF HUMAN HEART TYPE FATTY ACID-BINDING PROTEIN (HFABP)

Mihaela Savin ¹, Carmen Mihailescu ¹, Dana Stan ², Monica Simion ³

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

Microarray technology is the edge technology that has developed a lot in recent years due to the spectacular results achieved in the genomics field. The need to develop proteomics technologies, able to analyze, with high resolution, complex molecules such as proteins, led to new high-tech technologies. The development of an antibody microarray, with improved functionalization methods of antibodies immobilization on solid matrix, is of great interest to the field of medical diagnostic. The reason is that antibodies, unlike DNA, are chemically unstable and having a three-dimensional structure is critical to their bioactivity. Traditional methodologies, such as ELISA, are usually based on nonspecific adsorption of the capture antibody onto a relatively big surface. The silicone/gold slide was chemically functionalized with self assembled monolayers procedure and an OmniGrid Micro printer (Genomic Solution) was used for printing hFABP capture antibody. The antibody array was formed by printing in triplicate in fifteen fields with eighteen probes/field. After a sandwich-type reaction on each field, the intensity of signal detected for each spot was analyzed using GeneTAC™ UC4 Microarray Scanner and found to be proportional to the quantity of hFABP protein bound on the surface.

The results show that four-parameter logistic fit algorithm gave a calculated value of 0.9966 for R^2 and dynamic working ranges are similar to the commercially available ELISA kits for hFABP. Good analytical performance for this antibody array design and ability to measure multiple cardiac proteins in complex mixtures using small amount of sample is an important feature of antibody microarrays.

APLICAREA TEHNOLOGIEI DE TIP «MICROARRAY» CU ANTICORPI IMOBILIZATI PENTRU DETECȚIA PROTEINEI DE LEGARE A ACIZILOR GRAȘI FRACȚIA CARDIACA (HFABP)

Mihaela Savin ¹, Carmen Mihailescu ¹, Dana Stan ², Monica Simion ³

1. Departamentul de Chimie-Fizică, Facultatea de Chimie, Universitatea din București, România; 2. DDS Diagnostic București, România; 3. Institutul Național pentru Cercetare și Dezvoltare în Microtehnologii (IMT), București, România

Tehnologia microarray este cea mai recentă tehnologie care a luat un mare avânt în ultimii ani, ca urmare a rezultatelor spectaculoase obținute în domeniul genomicii. Necesitatea dezvoltării de tehnologii pro-

teomice, în măsură să analizeze, cu înaltă rezoluție, molecule complexe, cum ar fi proteinele, a condus la apariția de noi tehnologii “high-tech”. Dezvoltarea microarray-ului de anticorpi, cu metode eficiente de imobilizare a anticorpilor pe suportul solid, este de mare interes pentru diagnosticul medical. Aceasta datorită faptului că anticorpilor, spre deosebire de ADN, sunt instabili chimic iar păstrarea structurii tridimensionale este foarte importantă pentru menținerea bioactivității acestora.

Metodele tradiționale cum ar fi ELISA, implică de obicei legături nespecifice ale anticorpului de captură cu o suprafață relativ mare. Pentru depunerea anticorpilor de captură anti-hFABP cu micro-printerul OmniGrid s-a folosit un suport solid, o lamă acoperită cu un strat subțire de aur funcționalizată pe care s-au printat anticorpilor anti-hFABP în 15 micro-suprafețe ce conțin 18 spoturi/suprafață. După reacția sandwich, pe fiecare micro-suprafață, intensitatea semnalului fluorescent detectat, pentru fiecare spot, proporțională cu cantitatea de proteină imobilizată, a fost analizată utilizând un scanner GeneTAC™ UC4 pentru microarray. Rezultatele arată că prin algoritmul de fitare “4-parametri logistici” s-a obținut coeficientul de regresie $R^2 = 0.9966$ și un domeniu de liniaritate identic cu cel al truselor comerciale ELISA pentru detecția hFABP. Performanțele analitice bune pentru acest design de microarray cu anticorpi imobilizați oferă posibilitatea de a măsura mai multe proteine cardiace simultan dintr-un amestec utilizând cantități foarte mici de probe.

P1. FLUORESCENCE TAGGING AT CARBOXY-TERMINUS OF RAD52 DOES NOT AFFECT THE PHENOTYPE OF A STRAIN OF SCHIZOSACCHAROMYCES POMBE

Gabriela Bordeianu, Elena Petrescu, Raluca Stănescu, Cristina Dimitriu, Bogdan Stoica, Didona Ungureanu

University of Medicine and Pharmacy “Grigore T. Popa” Iași, Biochemistry Departament

Introduction: Schizosaccharomyces pombe is an easily manipulated yeast, used as a model for molecular biology studies. Due to the phylogenetically conserved proteins, some of which involved in oncogenesis, the results obtained for this organism can be extrapolated to complex organisms. **Aim:** We aimed to tag a protein involved in DNA repair, Rad52, attaching a fluorescent protein (yEGFP) at carboxy-termini end and to test if this tagging affect or not protein function. **Methods:** We used a base strain of *S. pombe* and modified it by gene replacement with Cre recombinase-mediated cassette exchange (RMCE). The result was a strain of *S. pombe* with Rad52 tagged at the C-terminus. To investigate the function of the new protein construct we used spot tests and exposure to gamma radiation. **Results:** Exposure to gamma radiation at doses of 0, 100, 500 Gy showed that repair function of the new constructed Rad52 protein is similar to that of wild-type, thus proving that Rad52 protein does not lose function by attachment of fluorescent protein yEGFP. **Conclusions:** Attaching a fluorescent protein is usefull for intracellular localization of proteins in various cellular processes. Considering that tagging does not change the protein function, EGFP tagging of Rad52 protein may represent a method to analyze mutant variants of the protein under various conditions (native or induced)

ETICHETAREA PROTEINEI RAD52 LA CAPĂTUL CARBOXY-TERMINAL CU O PROTEINĂ FLUORESCENTĂ NU AFECTEAZĂ FENOTIPUL TULPINII DE *SCHIZOSACCHAROMYCES POMBE*

Gabriela Bordeianu, Elena Petrescu, Raluca Stănescu, Cristina Dimitriu, Bogdan Stoica, Didona Ungureanu

Universitatea de Medicină și Farmacie "Grigore T. Popa" Iași, Disciplina Biochimie

Introducere: *Schizosaccharomyces pombe* este o drojdie, organism model pentru studiile de biologie moleculară, ușor manipulabil. Există proteine conservate filogenetic și care sunt implicate în oncogeneză, rezultatele obținute în urma cercetării pe acest organism putând fi extrapolate la organismul uman. **Scop:** Ne-am propus să etichetăm proteina Rad52 implicată în repararea ADN atașându-i la capătul carboxi-terminal o proteină fluorescentă (yEGFP) și să observăm dacă această alipire nu afectează funcția proteinei. **Material și metodă:** Am utilizat o tulpină de bază de *S. pombe* și cu ajutorul schimbului de casete mediat de Cre-recombinaza (RMCE) am obținut tulpina de *S. pombe* cu Rad52 etichetată la capătul C-terminal. Pentru verificarea funcționalității am utilizat testul spoturilor și respectiv expunerea la radiații gama. **Rezultate:** Expunerea la radiații gama în doze de 0, 100, 500 Gy arată că funcția de reparare a proteinei Rad52 este similară cu cea a tulpinii sălbatice, arătând astfel că proteina Rad52 nu își pierde funcția prin atașarea proteinei fluorescente yEGFP. **Concluzii:** Atașarea unei proteine fluorescente ajută la localizarea proteinei intracelular în diverse procese celulare. Atașarea yEGFP proteinei Rad52 poate constitui o metodă de a observa diferiți mutanți ai proteinei în diverse condiții naturale sau induse având în vedere că etichetarea nu modifică funcția proteinei.

P2. PRELIMINARY STUDY CONCERNING SALIVARY NICKEL AND CHROMIUM LEVELS IN PATIENTS WITH FIXED ORTHODONTIC APPLIANCES

Doina Paula Balaban ¹, Dragoș Totolici ¹, Constantin Dina ^{2,3}, Mariana Ion ³, Mihaela Dinisov ³, Victoria Badea ¹, Mircea Grigorian ¹, Aureliana Caraiane ¹

Ovidius University of Constanta, 1. Faculty of Dental Medicine; 2. Faculty of Medicine; 3. Direction of Public Health Constanta.

Introduction: Several studies have reported that salivary nickel and chromium levels varied during different stages of orthodontic treatment. **The aim** of this study was to determine salivary nickel and chromium concentrations levels in patients with orthodontic appliances during different periods of treatment. **Methods:** Ten patients aged between 14 and 18 years with fixed orthodontic appliances were included in this study. Non-stimulated saliva samples were collected in five stages of orthodontic treatment: before treatment, ten minutes, 7, 30 and 90 days after fixation of orthodontic appliances. Salivary nickel and

chromium concentrations levels were determined using atomic absorption spectroscopy (AAS). **Results:** Average value of nickel concentrations levels in saliva before treatment in all patients was higher than that of chromium: 5.37 versus 0.56 ppb. The highest average values of salivary nickel and chromium concentrations levels were obtained in the second stage: Ni - 14.76 ppb and Cr - 1.14 ppb. Decrease in salivary nickel and chromium concentrations levels began after the third stage for all patients. Mean values of salivary nickel and chromium concentration levels in the fifth stage were comparable to the mean values of the two metals concentration levels obtained before fixing appliances. **Conclusions:** Increase in salivary nickel and chromium levels in the second stage of the study demonstrated a corrosion process attributable to oral medium. Progressive decrease in salivary nickel and chromium concentration levels was probably caused by to the formation of a metal oxide protective coating on the metal surface of the orthodontic appliances

STUDIUL PRELIMINAR PRIVIND VALORILE NICHELULUI ȘI CROMULUI SALIVAR LA PACIENȚII CU APARATE ORTODONTICE FIXE

Doina Paula Balaban¹, **Dragoș Totolici**¹, **Constantin Dina**^{2,3}, **Mariana Ion**³, **Mihaela Dinisov**³, **Victoria Badea**¹, **Mircea Grigorian**¹, **Aureliana Caraiane**¹

Universitatea Ovidius Constanța, 1. Facultatea de Medicină Dentară; 2. Facultatea de Medicină, 3. Direcția de Sănătate Publică Constanța.

Introducere: Multe studii au aratat ca valorile nichelului si cromului salivar au variat in timpul diferitelor etape ale tratamentului ortodontic. **Scopul:** acestui studiu a fost de a determina concentrațiile nichelului și cromului salivar la pacienții cu aparate ortodontice fixe în timpul diferitelor perioade ale tratamentului. **Metode:** Zece pacienți cu vârste cuprinse între 14 și 18 ani cu aparate ortodontice fixe au fost incluși în acest studiu. Probele de salivă nestimulată au fost colectate în cinci etape: înainte de tratament, zece minute, 7, 30 și 90 de zile de la fixarea aparatului ortodontic. Concentrațiile nichelului și cromului salivar au fost determinate folosind spectroscopia de absorbție atomică (AAS). **Rezultate:** Media valorilor concentrațiilor nichelului înainte de tratament pentru toți pacienții a fost mai mare decât cea a cromului: 5,37 ppb versus 0,56 ppb. Cele mai mari valori medii ale concentrațiilor nichelului și cromului salivar au fost obținute în etapa a doua: Ni - 14,76 ppb și Cr - 1,14 ppb. Descreșterea valorilor concentrațiilor nichelului și cromului salivar a început după cea de a treia etapă a tratamentului pentru toți pacienții. Valorile medii ale concentrațiilor nichelului și ale cromului salivar în etapa a cincea au fost comparabile cu valorile medii ale concentrațiilor celor două metale obținute înainte de fixarea aparatelor ortodontice. **Concluzii:** Creșterea valorilor concentrațiilor nichelului și cromului salivar în etapa a doua a studiului au demonstrat existența unui proces de coroziune datorat mediului oro-dentar. Scăderea progresivă a valorilor concentrațiilor nichelului și cromului salivar s-a datorat probabil formării unui strat protector de oxizi metalici pe suprafața metalică a aparatului.

P3. A COMPARATIVE STUDY FOR ENDOTHELIAL DYSFUNCTION MARKERS IN OBESE MOTHERS AND IN THEIR OBESE TEENAGE OFFSPRING

Bogdana Vîrgolici¹, Elena Daniela Cășăriu², Horia Vîrgolici¹, Maria Greabu¹, Maria Mohora¹

1. "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Department of Biochemistry, Bucharest, Romania; 2. PhD "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania and General Practitioner at a Private medical office

Subclinical atherosclerosis can be assessed by brachial artery flow-mediated dilation (FMD) and by common carotid artery intima-media thickness (IMT). This study aimed to calculate the relations for IMT and FMD with different atherosclerotic risk markers in two obese groups (mothers and their obese teenage offsprings) and to compare the results.

Twenty one obese mothers (30-45 years old) and their thirty obese offsprings (9-16 years old) were enrolled. For each group, lean subjects with matched age and sex were involved. Anthropometric indices, dyslipidemia, inflammatory markers and blood pressure values were measured in the studied groups. Bidimensional ultrasonography was used for FMD and IMT measurements and colorimetric methods for biochemical parameters.

In the obese mothers the FMD values were 10.93% and IMT 0.8 mm, while in the obese children the FMD values were 10.89% and IMT 0.5mm. In both obese groups, mothers and children, the obese subjects *versus* the lean ones had lower values for FMD ($p < 0.01$) and higher values for carotid IMT ($p < 0.05$). In both obese groups, the body mass index, the waist circumference, the blood diastolic pressure, the ratio apoB/apoA1, the plasma concentration of CRP (C reactive protein) were positively correlated with IMT and negatively correlated with FMD.

In conclusion, in obese mothers and their obese teenage offsprings, the same atherosclerotic risk factors are associated negatively with flow-mediated dilation and positively with carotid artery intima-media thickness. The pathogenic mechanisms of atherosclerosis seem to be similar in adults and in children.

STUDIU COMPARATIV PENTRU MARKERII DISFUNȚIEI ENDOTELIALE LA MAME OBEZE ȘI DESCENDENȚII LOR ADOLESCENȚI OBEZI

Bogdana Vîrgolici¹, Elena Daniela Cășăriu², Horia Vîrgolici¹, Maria Greabu¹, Maria Mohora¹

1. Universitatea de Medicina și Farmacie "Carol Davila", Catedra de Biochimie, București, România, 2. Doctor în medicină, Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București, România și medic primar medicină de familie SC CABINET DANAMED SRL

Ateroscleroza subclinică poate fi evaluată prin dilatația mediată de flux a arterei brahiale (FMD) și prin grosimea intimă-medie la nivelul arterei carotide comune (IMT). Acest studiu are ca scop să calculeze corelațiile dintre IMT și FMD cu diferiți markeri de risc aterosclerotic în cele două grupuri de obezi (mamele și descendenții lor adolescenți obezi) și să compare aceste rezultate.

Douăzeci și unu mame obeze (30-45 ani) și cei treizeci de descendenți obezi ai lor (9-16 ani) au fost incluși în studiu. Pentru fiecare grup, au existat martori – subiecți normoponderali potriviți ca vârstă și sex. Markerii antropometrici, dislipidemici, inflamatori și valorile tensiunii arteriale au fost măsurate în grupurile studiate. Ecografia bidimensională a fost utilizată pentru determinarea FMD și IMT și metode colorimetrice pentru parametrii biochimici.

La mamele obeze, valorile FMD au fost 10,93% și IMT 0,8 mm, în timp ce la copiii obezi, valorile FMD au fost 10,89% și IMT 0,5 mm. La ambele grupuri, mame și copii, subiecții obezi versus cei slabi au avut valori mai scăzute pentru FMD ($p<0,01$) și valori mai mari pentru IMT ($p<0,05$). La ambele grupuri de obezi, indicele de masă corporală, circumferința taliei, tensiunea arterială diastolică, raportul apo B/apo A1, concentrația plasmatică a CRP (proteina C reactivă) au fost corelate pozitiv cu IMT și negativ cu FMD.

În concluzie, la mamele obeze și descendenții lor obezi, aceiași factori de risc aterosclerotic sunt asociați negativ cu FMD și pozitiv cu IMT. Mecanismele patogenice ale aterosclerozei par să fie similare la adulți și copii.

P4. RELATION BETWEEN URICEMIA AND ENDOTHELIAL DYSFUNCTION IN OBESE TEENAGE CHILDREN

Bogdana Vîrgolici¹, Elena Daniela Cășăriu², Daniela Miricescu¹, Horia Vîrgolici¹, Maria Mohora¹

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

2. PhD, "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest

The aim of this study is to find the relations of uricemia with markers of atherosclerosis and metabolic syndrome in obese teenage children.

Forty one obese teenage children and twenty age and gender matched lean children were enrolled. The value of 5.5 mg/dL for uricemia was used as a cutoff to divide obese children in two groups, those with lower risk of cardiometabolic diseases (uricemia <5.5 mg/dL, $n=23$) and those with higher risk (uricemia >5.5 mg/dL, $n=18$). Correlations between uricemia with endothelial dysfunction markers and prediabetes criteria were evaluated by the Pearson test. ELISA, spectrophotometric and ultrasound methods were used.

Anthropometric markers, blood pressure, brachial artery flow-mediated dilation (FMD), carotid artery intima-media thickness (IMT), serum leptin, adiponectin, dyslipidemia markers and serum C peptide were modified in the obese versus the lean children. Uricemia ($p<0.05$) was positively correlated with waist circumference ($r=0.61$), blood pressure ($r=0.53$), GGT activity ($r=0.39$), creatinine ($r=0.64$), triglycerides ($r=0.45$), C peptide ($r=0.70$) and negatively with serum adiponectin ($r=-0.38$) and with FMD ($r=-0.36$). In the high risk group versus the low risk group, higher values for waist circumference, serum leptin ($p<0.03$), triglycerides ($p<0.01$), creatinine ($p<0.02$), C peptide ($p<0.03$), apoB/apoA ratio ($p<0.03$), blood pressure ($p<0.03$) were measured while lower levels for FMD ($p<0.03$) and adiponectin ($p<0.01$) were determined. IMT was not modified significantly between groups.

In conclusion, high uricemia in teenage obese children is associated both with endothelial dysfunction, demonstrated by low FMD, serum adipocytokines imbalance and high blood pressure and with insulin resistance, demonstrated by high C peptide.

CORELAȚIA ÎNTRE URICEMIE ȘI DISFUNȚIA ENDOTELIALĂ LA ADOLESCENȚII OBEZI

Bogdana Vîrgolici¹, Elena Daniela Cășăriu², Daniela Miricescu¹, Horia Vîrgolici¹, Maria Mohora¹

Universitatea de Medicină și Farmacie “Carol Davila”, Catedra de biochimie, București, România

Scopul acestui studiu a fost identificarea corelației între uricemie și markerii aterosclerozei și ai sindromului metabolic la adolescenții obezi.

41 adolescenți obezi și 20 copii slabi potriviți ca vârstă și sex au fost înrolați. Valoarea de 5,5 mg/dL pentru uricemie a fost utilizată ca limită pentru a divide copiii obezi în două grupuri, aceea cu risc scăzut pentru boli cardiometabolice (uricemia < 5,5 mg/dL, n=23) și aceea cu risc crescut (uricemia > 5,5 mg/dL, n=18). Corelațiile uricemiei cu markerii disfuncției endoteliale și de prediabet au fost evaluate prin testul Pearson. ELISA, spectrofotometria și ecografia bidimensională au fost utilizate.

Markerii antropometrici, tensiunea arterială, dilatația mediată de flux a arterei brahiale (FMD), grosimea intimă medie a arterei carotide (IMT), leptina serică, adiponectina, markerii dislipidemiei și peptidul C seric au fost modificate la obezi versus copii slabi. Uricemia ($p < 0,05$) a fost pozitiv corelată cu circumferința taliei ($r = 0,61$), tensiunea arterială ($r = 0,53$), activitatea GGT ($r = 0,39$), creatinina ($r = 0,64$), trigliceridele ($r = 0,45$), peptidul C ($r = 0,70$) și negativ cu adiponectina serică ($r = -0,38$) și cu FMD ($r = -0,36$). În grupul cu risc crescut versus grupul cu risc scăzut, au fost determinate valori mai crescute pentru circumferința taliei, leptină ($p < 0,03$), trigliceride ($p < 0,01$), creatinina ($p < 0,02$), peptidul C ($p < 0,03$), raportul apoB/apoA ($p < 0,03$), tensiunea arterială ($p < 0,03$) și valori mai scăzute pentru FMD ($p < 0,03$) și adiponectina ($p < 0,01$). IMT nu a fost modificat semnificativ între grupuri.

În concluzie, hiperuricemia la adolescenții obezi este asociată atât cu disfuncția endotelială, demonstrată prin scăderea FMD, dezechilibrul adipocitokinelor serice, creșterea tensiunii arteriale, cât și cu rezistența la insulină, demonstrată prin creșterea peptidului C.

P5. RELATIONS OF CALCEMIA WITH ANTROPOMETRIC MARKERS, INFLAMMATORY MARKERS AND IgE IN OBESE CHILDREN

Laura Anca Popescu¹, Diana-Elena Comăndașu¹, Bogdana Vîrgolici¹, Horia Vîrgolici³, Maria Mohora¹

1, 2 “Carol Davila” University of Medicine and Pharmacy, Department of Functional Sciences, Bucharest, Romania, 3. “Spiru Haret” University, Department of Mathematics and Informatics, Bucharest, Romania

Low calcemia and vitamin D deficiency are associated with obesity. A chronic inflammatory status is present in obesity, while the incidence of allergies is continuously increasing.

The aim of this study was to determine the relation of calcemia with antropometric markers, inflammatory markers (leptin, haptoglobin) and Ig E values in the obese children.

Sixty obese children (10-16 years old) and thirty age and sex matched lean children were included in the study. The obese children group was divided using a cut off value of 4 mg/dl for ionic calcemia and two subgroups were obtained including 37, respectively 22 subjects. Spectrophotometric and ELISA methods were used and Pearson correlations (for $p < 0.05$) were calculated.

In the obese children, although the values for total and ionic calcemia were in normal range, they were significantly reduced ($p < 0.001$) comparing to the control group, while plasma albumin was not modified. In the obese children, the ionic serum calcium level was negatively correlated with leptin ($r = -0.28$), haptoglobin ($r = -0.37$), erythrocyte sedimentation ratio ($r = -0.35$), body mass index ($r = -0.34$), waist circumference ($r = -0.36$), blood systolic pressure ($r = -0.40$), blood diastolic pressure ($r = -0.37$) and Ig E ($r = -0.34$). In the subgroup with low ionic calcium, haptoglobin ($p < 0.02$), leptin ($p < 0.05$), BMI ($p < 0.02$), waist circumference ($p < 0.02$), blood pressure ($p < 0.01$) and IgE ($p < 0.02$) were higher versus the subgroup with ionic calcium higher than 4mg/dl.

In conclusion, in the obese children, the calcemia is at the lower limit of the normal level. The improvement of ionic calcemia should be included in the therapeutical management of obesity in children in order to obtain an antiinflammatory and antiallergic effect and a lower level for blood pressure and antropometric markers.

Key words: calcemia, childhood obesity, inflammation, allergy

CORELAȚIILE CALCEMIEI CU MARKERI ANTROPOMETRICI, CU MARKERI AI INFLAMAȚIEI ȘI CU Ig E LA COPIII OBEZI

Laura Anca Popescu¹, Diana-Elena Comandașu¹, Bogdana Vîrgolici¹, Horia Vîrgolici², Maria Mohora¹

1. Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", Catedra de științe funcționale, București, România, 2. Universitatea "Spiru Haret", Catedra de Matematică și Informatică, București, România

Calcemia scăzută și deficiența de vitamina D se asociază cu obezitatea. Un status inflamator cronic este prezent în obezitate, în timp ce incidența alergiilor este în continuă creștere. Scopul studiului a fost să se determine relația calcemiei cu markeri antropometrici, cu markeri ai inflamației (leptina, haptoglobina) și cu valoarea IgE la copiii obezi.

Șaizeci de copii obezi (10-16 ani) și treizeci de copii normoponderali de același sex și vârste au fost incluși în studiu. Copiii au fost împărțiți după valorile calciului ionic seric, folosind un cut off de 4 mg/dl în două subgrupe, având 37 și respectiv 22 de subiecți. Metode spectrofotometrice și ELISA au fost folosite, iar corelațiile Pearson (pentru $p < 0.05$) au fost calculate.

La copiii obezi, deși valorile calcemiei totale și ionice au fost în limite normale, acestea au fost semnificativ mai mici comparativ cu lotul martor ($p < 0.001$), în timp ce albumina plasmatică nu a fost modificată. La copiii obezi, calcemia ionică s-a corelat negativ cu leptina ($r = -0.28$), haptoglobina ($r = -0.37$), VSH ($r = -0.35$), indicele de masă corporală ($r = -0.34$), circumferința abdominală ($r = -0.36$), tensiunea arterială sistolică ($r = -0.40$), tensiunea arterială diastolică ($r = -0.37$) și Ig E ($r = -0.33$). În lotul celor cu calciu ionic mic, haptoglobina ($p < 0.02$), leptina ($p < 0.05$), IMC ($p < 0.02$), circumferința taliei ($p < 0.02$), tensiunea arterială ($p < 0.01$) și IgE ($p < 0.02$) au fost mai mari comparativ cu copiii cu calciu ionic normal.

În concluzie, la copiii obezi, calcemia este la limita inferioară a normalului. Îmbunătățirea concentrației

calciului seric trebuie inclusă în managementul terapeutic al copiilor obezi pentru obținerea unui efect antiinflamator, antialergic și pentru reducerea valorilor tensiunii arteriale și a markerilor antropometrici crescuți în obezitate.

Cuvinte cheie: calcemie, obezitate infantilă, inflamație, alergie

P6. EFFECTS OF OMEGA-3 FATTY ACIDS SUPPLEMENTS, ENRICHED IN ANTIOXIDANT VITAMINS ON SERUM MINERALS LEVELS IN OBESE CHILDREN

Laura Anca Popescu¹, Diana-Elena Comăndașu¹, Bogdana Vîrgolici¹, Horia Vîrgolici², Olivia Timnea³

1. "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Department of Functional Sciences, Bucharest, Romania, 2. "Spiru Haret" University, Department of Mathematics and Informatics, Bucharest, Romania, 3. Ecologic University of Bucharest, Faculty Physical Education and Sports, Bucharest, Romania

Poor mineral (calcium, magnesium, iron) status may influence the endothelial function in obesity.

We aimed to study the serum mineral levels in obese children and to determine the effects of Omega-3 fatty acids supplements, enriched in antioxidant vitamins on plasma minerals concentrations and on some proatherosclerotic factors (leptin, PAI-1), in obese children.

Sixty obese children (10-16 years old) and thirty age and sex matched lean children were included in the study. Each day for three months, Omega-3 fatty acids (docosahexaenoic acid, DHA 130 mg and eicosapentaenoic acid, EPA 25 mg) and vitamins (A 200 µg, D 1.25 µg, E 2.5 mg and C 30 mg) were administered to the obese children. Blood measurements were made before and after the treatment. During the treatment the children haven't changed their lifestyle. Spectrophotometric and ELISA methods were used.

In obese children, the serum values for calcium (total and ionic) and magnesium were in normal range, but significantly reduced ($p < 0.001$ and $p < 0.01$, respectively) comparing to the control group, while serum iron level was unchanged. Serum magnesium was negatively correlated with GPx activity ($r = -0.35$), PAI-1 concentration ($r = -0.31$) and beta globulins ($r = -0.41$), while calcium was negatively correlated with blood diastolic and systolic pressure values ($r = -0.37$ and $r = -0.40$) and with some inflammatory markers (leptin, $r = -0.28$).

The treatment increased serum mineral levels ($p < 0.001$) and reduced blood pressure levels ($p < 0.0001$) and some proatherosclerotic factors concentrations: PAI-1 ($p < 0.001$) and leptin ($p < 0.0001$).

In conclusion, the endothelial beneficial effect of Omega-3 fatty acids supplements, enriched in antioxidant vitamins, may be explained by multiple effects, including improving the serum mineral levels.

Key words: Omega-3 fatty acids, minerals, childhood obesity

EFECTELE SUPLIMENTELOR CU ACIZI GRAȘI OMEGA-3 ÎMBOGĂȚITE CU VITAMINE ANTIOXIDANTE ȘI MINERALE SERICE LA COPIII OBEZI

Laura Anca Popescu¹, Diana-Elena Comandașu¹, Bogdana Vîrgolici¹, Horia Vîrgolici², Olivia Timnea³

1. Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", Catedra de științe funcționale, București, România, 2. Universitatea "Spiru Haret", Catedra de Matematica și Informatica, București, România, 3. Universitatea Ecologică București, Facultatea de Educație Fizică și Sport, București, România

Nivelele scăzute de minerale (calciu, magneziu) pot influența funcția endotelială în obezitate.

Scopul studiului a fost studierea nivelurilor mineralelor serice la copiii obezi și determinarea efectelor suplimentelor de acizi grași Omega-3, îmbogățite cu vitamine antioxidante asupra valorilor concentrațiilor mineralelor plasmatice (calciu, magneziu) și a unor factori proaterosclerotici (leptina și PAI-1), la copiii obezi.

Șaizeci de copii obezi (10-16 ani) și treizeci de copii fără patologie, de același sex și vârste au fost incluși în studiu. Timp de trei luni au fost administrate zilnic suplimente de acizi grași Omega-3 (acid docosahexaenoic, DHA 130mg și acid eicosapentaenoic, EPA 25 mg) și vitamine (A 200 µg, D 1.25 µg, E 2.5 mg și C 30 mg). Valorile sangvine ale mineralelor au fost măsurate înainte și după tratament. Pe perioada tratamentului copiii nu și-au schimbat stilul de viață. S-au folosit metode spectrofotometrice și ELISA. La copiii obezi versus lotul martor nivelele serice ale calciului (total și ionic) și magneziului au fost în limite normale, dar semnificativ reduse ($p < 0.001$ și, respectiv $p < 0.01$), în timp ce nivelul fierului seric a fost normal. Valoarea magneziului seric s-a corelat în mod negativ cu activitatea GPx ($r = -0.35$), concentrația PAI-1 ($r = -0.31$) și beta globulinele ($r = -0.41$), în timp ce calciul s-a corelat în mod negativ cu valorile tensiunii arteriale diastolice și sistolice ($r = -0.37$ și $r = -0.40$) și cu anumiți markeri inflamatori (leptina, $r = -0.28$).

Tratamentul a crescut nivelele mineralelor serice ($p < 0.001$), a redus valorile tensiunii arteriale ($p < 0.0001$) și a unor factori proaterosclerotici: PAI-1 ($p < 0.001$) și leptina ($p < 0.0001$).

În concluzie, beneficiul endotelial al suplimentelor de acizi grași Omega-3, îmbogățite cu vitamine antioxidante, poate fi explicat prin multiple efecte, incluzând îmbunătățirea nivelurilor mineralelor serice.

Cuvinte cheie: acizi grași Omega-3, minerale, obezitate infantilă

P7. CORRELATIONS BETWEEN CYTOLOGICAL AND BIOCHEMICAL ASPECTS IN THE EXAMINATION OF PLEURAL FLUID

Ana-Maria Drăgan¹, Natalia Zaporozhan²

1. University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy, 2. Municipal Hospital "dr.Gavril Curteanu", Oradea

Introduction. The study consists of the biochemical investigation of pleural fluid and correlation between the study outcomes and cytological issues in patients in the Department of Pneumology. **Materials and**

methods: We have studied 122 patients aged 3-94 of whom 71 males (58.19%) and 51 women (41.80%); we ran biochemical and cytological examination for all patients. The tests ran on patients were: protein, LDH, glucose and adenosine deaminase (ADA), ran through Flexor Junior Analyzer and cytological examination was performed on Giemsa stained smears. **Results:** In the case of cytological examination the changes noted were benign, and intensively inflammatory in 104 patients (85.24%) of which: in the case of 13 patients neutrophils level was $>50\%$; in the case of 87 patients, lymphocytes level was $>50\%$; in the case of 4 patients the level of eosinophils was $>10\%$; malignant changes occurred in the case of 18 patients (14.75%), of whom: 16 patients whose lymphocytes level was $>50\%$; 2 patients whose eosinophils level was $>10\%$. The protein level was $>3\text{mg}\%$ in the case of 88 patients (72.13%) of whom: 70 patients showing inflammatory changes; 18 patients showing malignant changes; in the case 34 patients (27.86 %) with inflammatory changes the level was $<3\text{ mg/dL}$. LDH values were $>200\text{U/l}$ in the case of 73 patients (59.83 %), of whom: 57 showing inflammatory cytological changes; 16 patients showing neoplastic cytology. Glucose values were as follows: $>60\text{ mg/dL}$ in the case of 92 patients (75.40 %) with inflammatory modifications; $<60\text{ mg/dL}$ in the case of 12 patients with inflammatory changes (of whom 8 patients had glucose value below 10 mg/dL). ADA values were high in the case of 19 patients with inflammatory changes; one patient presented malignant changes. **Conclusions.** The combination of biochemical and cytological investigations allows guiding the diagnosis to tuberculosis or non tubercular etiology. Elevated ADA and proteins levels guide diagnosis to tuberculosis etiology.

CORELAȚII ÎNTRE ASPECTELE CITOLOGICE ȘI MODIFICĂRILE BIOCHIMICE ÎN EXAMENUL LICHIDULUI PLEURAL

1. Ana-Maria Drăgan, 2. Natalia Zaporojan

1.Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie; 2.Spital Clinic Municipal „dr. Gavril Curteanu”, Oradea

Introducere. Studiul a cuprins investigarea biochimică a lichidului pleural și corelarea cu aspectele citologice, la pacienții din secția de Pneumoftiziologie. **Material și metode.** S-au luat în studiu 122 pacienți cu vârsta între 3-94 ani, 71 bărbați (58,19%) și 51 femei (41,80%); la toți pacienții s-a efectuat examen biochimic și citologic. Testele urmărite au fost: proteine, LDH, glucoza și adenosine deaminase (ADA), efectuate cu analizorul Flexor Junior; examenul citologic s-a realizat pe frotiuri colorate Giemsa. **Rezultate.** La examenul citologic au fost modificări benigne, inflamatorii și intens inflamatorii la 104 pacienți (85,24%) din care: la 13, neutrofilele au fost $>50\%$; la 87 limfocitele au fost $>50\%$; la 4 eozinofilele au fost $>10\%$; modificări maligne la 18 pacienți (14,75%), din care: la 16, limfocitele au fost $>50\%$; la 2 eozinofilele au fost $>10\%$. Valoarea proteinelor a fost la 88 pacienți (72,13%) $>3\text{mg/dL}$, din care: la 70 cu modificări inflamatorii; la 18 cu modificări maligne; la 34 pacienți cu modificări inflamatorii (27,86%) a fost $<3\text{mg/dL}$. Valorile LDH au fost $>200\text{U/l}$ la 73 pacienți (59,83%), din care: 57 cu modificări citologice inflamatorii; 16 cu citologie neoplazică. Valorile glucozei au fost $>60\text{mg/dL}$ la 92 pacienți (75,40%) cu modificări inflamatorii, $<60\text{mg/dL}$ la 12 pacienți cu modificări inflamatorii (la 8 valoarea a fost sub 10mg/dL). Valorile ADA au fost crescute la: 19 pacienți cu modificări inflamatorii; 1 pacient cu modificări maligne. **Concluzii.** Evaluarea testelor biochimice și asocierea lor cu examenul citologic permite

orientarea diagnosticului pentru etiologie tuberculoasă sau netuberculoasă. Valorile crescute ale ADA și proteinelor orientează diagnosticul către etiologia tuberculoasă.

P8. CORRELATIONS BETWEEN NAD⁺ ENZYME SERUM LEVELS AND HISTOPATHOLOGICAL LESIONS IN HEPATOCELLULAR CARCINOMA

Camelia Vidiță¹, Gurban¹, Norina Basa², Alexandra Faur³, Rodica Lighezan⁴, R. Tîrziu⁵, O. Crețu⁵

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

The **purpose** of the study is to evaluate NAD⁺-dependent enzyme serum levels together with imunohistochemical markers(IHC) in patients with hepatocellular carcinoma (CHC) and correlate them with the histopathological appearance of the tumor. **Materials and methods:** The study included two groups, one with 21 patients with CHC with age between 50-64 and a control group (20 patients with similar ages, without CHC). The serum level of IHC markers(AFP,-CEA) was determined through the ELISA method. The serum levels of NAD⁺-dependent enzymes (ALAT,-ASAT,-LDH,-GLDH), ALP and of ammonia, were analyzed by kinetic enzymatic spectrophotometry. The usual morphological colorations permitted the diagnostic of malignancy, and IHC was investigated through the expression of Hep Par-1(marker of hepatocyte differentiation), AFP (alpha-fetoprotein), and CEA (carcioembrionary antigen). **Results:** In all patients with CHC the serum levels of NAD⁺-dependent enzymes, ALP and ammonia were significantly elevated ($p < 0.001$, respectively $p < 0.01$) in comparison with the control group; the fraction (ALAT+ASAT)/GLDH was < 1 , for all patients with CHC ($p < 0.001$, in comparison with the witness lot). An increased serum level of CEA and AFP was observed in 50%($p < 0.01$), respectively 75%($p < 0.001$) of patients with CHC, in comparison with the control group. HE coloration showed tumoral cells with trabecular, pseudoacinar or solid pattern, with nuclear and areas of tumoral necrosis. IHC and only well differentiated CHC showed Hep Par-1 and AFP with cytoplasmatic pattern. **Conclusions:** The increased serum levels of biochemical markers and IHC show the unfavorable evolution of patients with CHC. The inversion of the enzymatic proportions results from the necrosis of the hepatocyte's mitochondria which is shown by the degenerative modifications of the hepatocytes in patients with CHC.

CORELAȚII ALE NIVELULUI SERIC AL ENZIMELOR NAD⁺-DEPENDENTE CU LEZIUNILE HISTOPATOLOGICE ÎN CARCINOMUL HEPATOCELULAR

Camelia Vidiță¹, Gurban¹, Norina Basa², Alexandra Faur³, Rodica Lighezan⁴, R. Tîrziu⁵, O. Crețu⁵

Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara, 1. Disciplina Biochimie, 2. Disciplina Semnologie Medicală; 3. Disciplina Morfopatologie; 4. Disciplina Histologie; 5. Disciplina Semnologie Chirurgică

Lucrarea are ca **scop** evaluarea nivelului seric al unor enzime NAD⁺-dependente și al unor markeri imunohistochimici (IHC) la pacienții cu carcinom hepatocelular (CHC) și corelarea acestora cu aspectul

histopatologic al tumorii. **Material și metodă:** În studiu am inclus 21 pacienți cu CHC cu vârsta cuprinsă între 50-64 ani și un lot martor (20 pacienți cu vârste apropiate, fără CHC). Toți pacienții au fost examinați clinic și ecografic. Nivelul seric al markerilor IHC (AFP, -CEA) a fost determinat prin metoda ELISA. Nivelul seric al enzimelor NAD⁺-dependente (ALAT, -ASAT, -LDH, -GLDH), ALP și amoniacului au fost analizate prin tehnicile de cinetică enzimatică spectrofotometrică. Colorațiile morfologice uzuale au permis formularea diagnosticului de malignitate, iar IHC s-a investigat expresia Hep Par-1 (marker al diferențierii hepatocitare), AFP (alfa-fetoproteina) și CEA (antigenul carcinoembrionar). **Rezultate:** La toți pacienții cu CHC nivelul seric al enzimelor NAD⁺-dependente, ALP și al amoniacului au fost semnificativ crescute ($p < 0.001$, respectiv $p < 0.01$), comparativ cu grupul de control; raportul (ALAT+ASAT)/GLDH a fost subunitar la toți pacienții cu CHC ($p < 0.001$) față de lotul martor. Am notat un nivel seric crescut al CEA și AFP, la 50% ($p < 0.01$) și respectiv 75% ($p < 0.001$) din pacienții cu CHC comparativ cu lotul martor. Colorația HE a evidențiat celule tumorale cu pattern trabecular, pseudoacinar sau solid, cu pleomorfism nuclear, hiperchromazie și $\pm$ arii de necroză tumorală. IHC, doar CHC bine diferențiate au exprimat Hep Par-1 și AFP, cu pattern citoplasmatic. **Concluzii:** Creșterea nivelului seric al markerilor biochimici și IHC demonstrează evoluția nefavorabilă la pacienții cu CHC. Inversarea raportului enzimatic rezultă din necroza mitocondriilor hepatocitare evidențiată prin modificări degenerative hepatocitare la pacienții cu CHC.

P9. ANTIINFLAMMATORY AND ANTIOXIDANT EFFECT OF POLYUNSATURATED FATTY ACIDS IN COLON CANCER

Corina Muscurel, Valeriu Atanasiu, Maria Mohora, Laura Gaman, Irina Stoian,

UMF Carol Davila Bucharest, Biochemistry Dept

Carcinogenesis is a multistep process and the imbalance in the oxidative status and chronic inflammation could be an important causative agents in the progression of a tumor.

Neoplastic cells present an overexpression of cyclooxygenase 2 due to their state of oxidative stress. Omega-3 PUFAs (polyunsaturated fatty acids) help to reduce inflammation and most omega-6 PUFAs tend to promote inflammation. The present study was focused on determination of some oxidative stress and inflammatory parameters: 1. before and after intake of dietary omega-3 PUFAs in colon adenocarcinomas patients (incipient stage) and 2. before surgical removal of the tumors in colon cancer patients in different stage. Healthy persons were used as control.

Spectrophotometrically methods were used: the 5,5'-dithiobis-nitrobenzoic acid method for total thiol groups, the p-phenyldiamine oxidase method for ceruloplasmin activity, and the biuret method for total protein. Conclusions: 1. Supplementation of omega-3 PUFAs may have a favorable effect in colon cancer patients by decreasing the inflammatory and oxidative stress response and by increasing the anti-oxidative thiol groups ($p < 0.05$) and 2. cancer patients demonstrated a significant decrease in total plasma thiol groups compared to healthy controls and this decrease was correlated with the tumor stage ($p < 0.05$). Antiinflammatory and substitutive thiol-group agents (eg. N-acetylcysteine) may be required to prevent the tumor progression. A diet containing high levels of dietary fish oil might reduce the colon tumor incidence.

EFFECTUL ANTIINFLAMATOR SI ANTIOXIDANT AL ACIZILOR GRASI POLINESATURAȚI OMEGA-3 ÎN CANCERUL DE COLON

Corina Muscurel, Valeriu Atanasiu Maria Mohora, Laura Gaman, Irina Stoian,

UMF Carol Davila Bucharest, Disciplina de Biochimie

Carcinogeneza este un proces complex, un rol determinant având modificarea statusului oxidativ și procesele inflamatorii cronice.

Celulele transformate neoplazice prezintă superexprimarea ciclooxigenazei 2. Acizii grași polinesaturați omega-6 au rol proinflamator, iar cei omega-3 au rol antiinflamator.

În acest studiu s-a urmărit determinarea unor parametri inflamatori și antioxidanți pe două direcții de studiu: 1. la pacienți cu adenocarcinom de colon înainte și după administrarea timp de 60 zile a 2 g preparate cu acizi grași polinesaturați omega-3 și a doua direcție 2. la pacienți cu neoplasm de colon în diferite stadii înainte de extirparea tumorii. Lotul de control este format din persoane sănătoase cu vârste asemănătoare pacienților din loturile de studiu.

S-au utilizat metode spectrofotometrice pentru dozarea grupurilor tiol totale plasmatică, a ceruloplasminei, proteinelor totale.

Concluzii: 1. Suplimentarea dietei cu acizi grași polinesaturați omega-3 are un efect favorabil în diminuarea răspunsului inflamator și creșterea antioxidanților 2. avansarea stadiului tumorii determină scăderea antioxidanților plasmatici.

Administrarea de antiinflamatoare, de compuși cu grupuri tiol și a preparatelor cu acizi grași polinesaturați de tip omega-3 ar putea avea efecte benefice în prevenirea și încetinirea progresiei tumorale la nivelul colonului.

P10. EVALUATION OF SKIN CAROTENOIDS BY RAMAN SPECTROSCOPY

Dana Tutunaru, Michaela Dobre, Gabriela Gurău, Mihaela Debita

"Dunarea de Jos" University of Galați, Faculty of Medicine and Pharmacy

Objectives: *In situ* evaluation of the average level of carotenoids using Raman spectroscopy in correlation with age and lifestyle parameters. **Material and methods:** The study was conducted on 150 subjects (aged 20-70 years, 68 males and 82 females), with no acute inflammatory diseases, chronic degenerative conditions or tumor. Carotenoids level was measured on the skin (palm of the hand), using a portable *Pharmanex* spectrophotometer connected to a notebook. The 450-520 nm monochromatic light overlaps the absorption band of carotenoids, the difference between excited and diffused photons being recorded as mean score of carotenoids in the skin (SCS). Subsequently, subjects were distributed questionnaires about lifestyle, which were interpreted. **Results:** A mean SCS of 24587 units was recorded in the study group, varying by age (30911 units/20-30 years, 29461 units/31-40 years, 24500 units/41-50 years, 19235 units/51-60 years, 17846 units/61-70 years) but not significant in terms of gender. There is a negative correlation between the level of carotenoids in the skin and chronological age and smoking (SCS = 20330 units/smokers vs. 26716 units/non-smokers) and a positive one regarding the consumption

of fresh fruits and vegetables and dietary supplements (SCS = 39000 units/over 6 servings/day, 28219 units/4-6 servings/day, 25812 units/2-4 servings/day, 16868 units/less than 2 servings/day – a serving consisting of 100g/day). **Conclusions:** As a non-invasive, fast and cheap method, Raman spectroscopy could be used as a screening method for carotenoids investigation, monitoring the quality of life and correcting lifestyle

EVALUAREA CAROTENOIZILOR LA NIVELUL PIELII PRIN SPECTROSCOPIE RAMAN

Dana Tutunaru, Michaela Dobre, Gabriela Gurău, Mihaela Debita

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

Scopul lucrării: Evaluarea nivelului mediu al carotenoizilor *in situ* utilizând spectroscopia Raman și corelarea rezultatelor cu datele referitoare la vârstă și stil de viață. **Material și metodă:** Studiul a fost realizat pe 150 subiecți (20-70 ani, 68 bărbați și 82 femei), fără afecțiuni inflamatorii acute, afecțiuni cronice degenerative sau tumorale. Măsurarea carotenoizilor s-a realizat la nivelul pielii din palmă, utilizând un spectofotometru portabil *Pharmanex* conectat la un laptop. Fasciculul luminos monocromatic emis în domeniul 450-520 nm corespunde benzii de absorbție a carotenoizilor, diferența de frecvență între fotonii excitați și cei difuzați fiind înregistrată ca scor mediu al carotenoizilor la nivelul pielii (SCS). Ulterior, subiecților li s-au distribuit chestionare cu privire la stilul de viață, care au fost interpretate.

Rezultate și discuții: La nivelul lotului de studiu s-a înregistrat un SCS mediu de 24587 unități, variabil în funcție de vârstă (30911 unități/20-30 ani, 29461 unități/31-40 ani, 24500 unități/41-50 ani, 19235 unități/51-60 ani, 17846 unități/61-70 ani) dar nesemnificativ în funcție de sex. Nivelul carotenoizilor în piele este invers proporțional cu vârsta cronologică, fumatul (SCS = 20330 unități/fumători vs 26716 unități/nefumători) și direct proporțional cu consumul de fructe și legume proaspete și suplimente alimentare (SCS = 39000 unități/peste 6 porții/zi, 28219 unități/4-6 porții/zi, 25812 unități/2-4 porții/zi, 16868 unități/sub 2 porții/zi – o porție constând în 100g/zi). **Concluzii:** Fiind o metodă neinvazivă, rapidă și ieftină, spectroscopia Raman ar putea fi utilizată ca metodă de screening pentru investigarea carotenoizilor, în vederea monitorizării calității vieții și corectării stilului de viață.

P11. STUDY ON IL-1A GENE POLYMORPHISM AND BIOMARKERS OF OXIDATIVE STRESS IN AGGRESSIVE PERIODONTAL DISEASE

Mircea Grigorian¹, Cristina Nucă¹, Alina Martinescu², Lucian Petcu¹, Aureliana Caraiane¹, Ciprian-Florin Badea¹, Anca Pavalache², Gabriela Gegiu³, Victoria Badea¹

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

Introduction: Aggressive periodontal disease (AgP) affects between 5 and 20% of the young population and is considered one of the most common infectious human diseases with impact on the overall

homeostasis of human macroorganism. AgP has a multifactorial etiology, having as the main elements bacteria, immune status and the magnitude of the inflammatory phenomenon. **Objective:** The purpose of this study was to highlight the possible correlation between the clinical status, interleukin-1A gene polymorphism (IL-1A) and the biomarkers of oxidative stress, namely salivary IL-1 and 8-hidroxy-2-deoxy guanosine (8-OHdG) identified in patients with AgP. **Material and methods:** The study group consisted of 54 subjects, 17 were oro-dental clinically healthy and 37 subjects with clinical evidence of AgP. For the genetic identifications we used Genotype IL-1® kit based on DNAStrip technology; salivary biomarkers were quantified by ELISA. Statistical analysis was performed by ANOVA test in SPSS 18. **Results:** Quantitative IL-1 and 8-OHdG, as oxidative stress markers, are correlated with the clinical status (measured by the depth of the periodontal pocket) ($p < 0.001$); there is a high correlation between the quantity of IL-1 and the genetic profile (presence of IL-1A gene polymorphism, respectively the homozygous and heterozygous state) ($p < 0.001$). **Conclusions:** It can be concluded that there is an association between the IL-1A genetic polymorphisms and the degree of the inflammatory process, as demonstrated by the values of IL-1 and 8-OHdG in the AgP; genetic profiling with a quantitative assessment of these salivary biomarkers can be used in the diagnosis and monitoring of AgP.

STUDIU PRIVIND POLIMORFISMUL GENEI IL-1A ȘI BIOMARKERII DE STRES OXIDATIV ÎN BOALA PARODONTALĂ AGRESIVĂ

Mircea Grigorian¹, Cristina Nucă¹, Alina Martinescu², Lucian Petcu¹, Aureliana Caraiane¹, Ciprian-Florin Badea¹, Anca Pavalache², Gabriela Gegiu³, Victoria Badea¹

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

Introducere: Boala parodontală agresivă (BPA) afectează între 5 și 20% din populația tânără, fiind considerată una dintre cele mai frecvente boli infecțioase ale omului, cu impact major asupra homeostaziei generale organismului uman. BPA are o etiologie multifactorială, având ca principale elemente prezența bacteriilor, statusul imun și amplitudinea fenomenului inflamator. **Obiectiv:** Scopul acestui studiu este de a evidenția posibila corelație dintre statusul clinic, polimorfismul genei interleukinei-1A (IL-1A) și biomarkerii de stress oxidativ, respectiv IL-1 și 8-hidroxi-2-deoxi guanozina (8-OHdG) salivari, identificați la pacienți cu BPA. **Material și metode:** Grupul de studiu a fost constituit din 54 de subiecți, 17 fiind sănătoși clinic oro-dentar și 37 subiecți prezentând semne de BPA. Pentru identificările genetice am folosit kitul GenoType IL-1® care se bazează pe tehnologia ADNStrip; biomarkerii salivari au fost cuantificați prin tehnica ELISA. Analiza statistică s-a realizat prin testul ANOVA din SPSS 18. **Rezultate:** IL-1 și 8-OHdG cantitativ, ca markeri de stres oxidativ, se corelează cu statusul clinic (evaluat prin adâncimea pungii parodontale) ($p < 0,001$); există o corelație înaltă între IL-1 cantitativ și profilul genetic (prezența polimorfismului genei IL-1A, respectiv starea de homozigot și heterozigot) ($p < 0,001$). **Concluzii:** Putem concluziona că există o asociere între polimorfismul genetic al IL-1A și nivelul procesului inflamator, demonstrate prin valorile IL-1 și 8-OHdG în BPA; determinarea profilului genetic, alături de evaluarea cantitativă a acestor biomarkeri salivari pot fi folosiți în diagnosticul și monitorizarea BPA.

P12. SERUM OXIDATIVE STRESS BIOMARKERS IN PERIODONTAL DISEASE

Daniela Miricescu, Alexandra Totan, Bogdan Calenic, Maria Greabu

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

Introduction: The effect of oral health upon systemic health has been investigated for decades. In this context, there appears to be a clear relationship between deficient oral hygiene and different systemic disorders such as cardiovascular disease, metabolic syndrome, diabetes mellitus and cancer. A common link between general and oral health seems to be oxidative stress (OS). Reactive oxygen species (ROS) produced in oral cavity by periodontal disease can diffuse into systemic circulation.

The aim of this study is to investigate serum OS biomarkers in a group of patients with periodontal disease. **Material and Methods.** The study was carried out in 20 patients with chronic periodontitis *versus* 20 controls. OS biomarkers 8-hydroxydeoxyguanosine-8-OHdG, malondialdehyde - MDA, and antioxidants (uric acid and total antioxidant capacity - TAC) were detected. **Results and Discussions:** Serum 8-OHdG, MDA levels were significantly higher in chronic periodontitis group compared with the controls ($p < 0.05$). Serum uric acid and TAC levels were significantly lower in periodontitis patients compared with controls ($p < 0.05$). The results of our study reflect an involvement of OS in the progression of periodontal disease, which can effect general health. **Conclusions:** An increase in circulating OS caused by periodontal disease, may negatively affect general health. It is necessity to include oral health as part of routine health care for the population.

BIOMARKERI SERICI AI STRESULUI OXIDATIV ÎN BOALA PARODONTALĂ

Daniela Miricescu, Alexandra Totan, Bogdan Calenic, Maria Greabu

Universitatea de Medicină și Farmacie Carol Davila University, București, Disciplina de Biochimie

Introducere: Timp de multe decenii a fost investigat efectul afecțiunilor orale asupra celor sistemice. În prezent, există o relație directă între o igienă orală deficitară și diferite afecțiuni sistemice precum afecțiunile cardiovasculare, sindrom metabolic, diabet și cancer. Stresul oxidativ (SO) este considerat a fi un element de legătură între afecțiunile sistemice și cele orale, deoarece speciile reactive ale oxigenului (SRO) produse în cavitatea orală de către boala parodontală pot difuza în circulația sistemică. Scopul acestui studiu este de a investiga biomarkeri serici ai SO la pacienții cu boală parodontală. **Materiale și Metode:** În studiu au fost incluși 20 de pacienți diagnosticați cu boală parodontală și 20 de subiecți sănătoși. Au fost detectați biomarkeri ai SO, 8-hidroxidezoxiguanozina (8-OHdG), malondialdehida (MDA) și antioxidanți (acidul uric și capacitatea totală antioxidantă-TAC). **Rezultate și Discuții:** Am detectat nivele crescute statistic semnificative pentru 8-OHdG și MDA la pacienții cu boală parodontală *versus* lotul subiecților sănătoși ($p < 0.05$). Acidul uric și TAC au prezentat nivele scăzute statistic semnificative în boala parodontală comparativ cu lotul sănătoși. Rezultatele studiului nostru

evidențiază implicarea SO în progresia bolii parodontale, care poate afecta starea generală de sănătate. **Concluzii:** Existența unui SO sistemic crescut cauzat de boala parodontală poate afecta într-un mod negativ sănătatea organismului, fiind necesar a include în rutina zilnică și igiena cavității orale.

P13. GLUTATHIONE PEROXIDASE AND CATALASE GENE POLYMORPHISMS IN ROMANIAN POPULATION

George-Valeriu Moldovan, Andrei Crauciuc, Florin Tripon, Claudia Bănescu

Emergency County Hospital Târgu Mureș, University of Medicine and Pharmacy Târgu Mureș

Reactive oxygen species cause oxidation of DNA, lipid peroxidation and oxidation of amino acids in proteins, as a result of their high chemical reactivity. Antioxidant enzymes such as glutathione peroxidase (GPX) and catalase (CAT) are important components in cell defence against oxidative stress. **Material and method:** This study evaluates the distribution of glutathione peroxidase and catalase gene polymorphisms in Romanian general population. The study population was represented by 327 unrelated, healthy volunteers. Genotyping analysis of GPX-1 Pro198Leu and CAT C262T was conducted using PCR-RFLP assay, followed by gel electrophoresis. **Results:** Regarding GPX, the allele frequencies were 0.45 for allele C and 0.55 for allele T. The genotype frequencies were 8.57% homozygous for normal C allele (CC), 66.97% heterozygous CT and 24.46% homozygous for mutant T allele (TT). Allelic frequencies for CAT were 0.71 for C allele and 0.29 for T allele. Normal homozygous CC was found in 60.25% of study population, heterozygous CT in 34.55%, while mutant homozygous TT was identified in 5.2% of cases, consistent with Hardy-Weinberg equilibrium ($p=0.8790$, $X^2=0.0231$). **Conclusion:** Following exposure to oxidants CAT gene variants occurring in healthy population are potential risk factors in the development of various chronic diseases. This is the first study which evaluates the GPX-1 Pro198Leu and CAT C262T polymorphisms in Romanian general population.

Keywords glutathione peroxidase, catalase, Romanian population

POLIMORFISMUL GENETIC AL GLUTATION PEROXIDAZEI ȘI AL CATALAZEI ÎN POPULAȚIA DIN ROMÂNIA

George-Valeriu Moldovan, Andrei Crauciuc, Florin Tripon, Claudia Bănescu

Spitalul Clinic Județean De Urgență Târgu Mureș, Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu Mureș

Introducere: Speciile reactive de oxigen produc oxidarea ADN-ului, lipidelor și aminoacizilor din proteine, ca rezultat al reactivității chimice ridicate. Enzimele antioxidante, precum glutathion peroxidaza (GPX) și catalaza (CAT), sunt componente importante ale sistemului de apărare celulară împotriva stresului oxidativ. **Material și metodă:** Studiul evaluează distribuția polimorfismului genetic al glutathion peroxidazei și al catalazei în populația generală din România. Lotul inclus în studiu a cuprins 327 de voluntari sănătoși, neînruțiți. Pentru analiza genotipurilor GPX-1 Pro198Leu și CAT C262T a fost utilizată

metoda PCR-RFLP, urmată de electroforeză în gel de agaroză. **Rezultate:** Pentru gena GPX frecvența alelelor a fost de 0,45 pentru alela C, respectiv 0,55 pentru alela T. Frecvența genotipurilor a fost: 8,57% homozigoți pentru alela normală C (CC), 66,97% heterozigoți (CT) și 24,46 % homozigoți pentru alela T mutantă (TT). Frecvența alelică pentru CAT a fost 0,71 pentru alela C, respectiv 0,29 pentru alela T. Homozigotul normal CC a fost întâlnit în 60,25% din cazuri, 34,55% au fost heterozigoți CT, în timp ce homozigotul mutant TT a fost identificat în 5,2% din cazuri, rezultatele fiind în concordanță cu echilibrul Hardy-Weinberg ($p=0,8790$; $X^2=0,0231$). **Concluzie:** În urma expunerii la oxidanți, variantele genei CAT apărute în populația sănătoasă reprezintă un potențial factor de risc în apariția diferitelor boli cronice. Acesta este primul studiu care evaluează polimorfismul genetic al GPX-1 Pro198Leu și CAT C262T în populația generală din România.

Cuvinte cheie: Glutation peroxidază, catalază, populația generală din România

P14. DETECTION OF FRUCTOSE INTOLERANCE WITH FOOD DETECTIVE™ ASSAY IN DIABETES AND HYPERURICEMIA PATIENTS

Zita Fazakas, Victor Balogh-Sămărghișan, Eliza David, Cosmina Uzun, Zsuzsa Simó-Szabó, Enikő Nemes-Nagy

University of Medicine and Pharmacy Târgu Mureș, Biochemistry Department

Fructose intolerance can be hereditary (aldolase B deficiency) or acquired - absorption defects by abnormalities of fructose transport mechanisms in enterocytes. The metabolic consequences of aldolase deficiency is an accumulation of fructose-1-phosphate which inhibits glycolysis, gluconeogenesis and glycogenolysis with subsequent hypoglycemia, -as well as the accumulation of excess ADP and AMP which will accelerate the production of uric acid. Fructose intolerance was tested in patients with diabetes mellitus, hyperuricemia and both diseases with a Food Detective™ ELISA test. **Material and Methods:** the study involved 54 patients who were divided into 3 groups, 14 diabetes mellitus patients, 21 hyperuricemia patients and 19 diabetes and gout patients. Testing was done with the Food Detective™ test kit that detects food specific IgG antibodies. Testing was performed on 46 food groups, of which 9 were fruits. **Results:** Fructose intolerance was detected in 51 of the 54 patients (in 78.57% of diabetes mellitus patients, in 100% of hyperuricemia patients and in 100% of patients with both diseases). **Conclusions:** Detection of fructose intolerance could point to an aldolase B deficiency, which requires further confirmation by enzymatic testing performed on liver and intestinal biopsy samples and by genetic analysis.

DEPISTAREA INTOLERANȚEI LA FRUCTOZĂ PRIN TESTUL FOOD DETECTIVE™ LA PACIENȚI CU DIABET ȘI HIPERURICEMIE

Zita Fazakas, Victor Balogh-Sămărghișan, Eliza David, Cosmina Uzun, Zsuzsa Simó-Szabó, Enikő Nemes-Nagy

Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu Mureș

Intoleranța la fructoză poate fi ereditară (deficit de aldolază B) sau dobândită – defecte de absorbție prin anomalii ale mecanismelor transportoare ale fructozei din enterocite. Deficitul de aldolază are ca

și consecințe metabolice acumularea de fructozo-1-fosfat care inhibă glicoliza, gluconeogeneza și glicogenoliza cu producerea de hipoglicemie, precum și acumularea unui exces de ADP și de AMP care va accelera producția de acid uric. S-a testat prezența intoleranței la fructoză la pacienți diabetici, cu gută și cu ambele boli asociate cu un test Food-Detective™ având ca principiu metoda ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). **Material și metode:** în studiu au participat 54 de pacienți, care au fost împărțiți în 3 grupe, 14 bolnavi de diabetes mellitus, 21 bolnavi hiperuricemici și 19 bolnavi cu diabet și gută. Testarea s-a făcut cu kitul Food-Detective™ care identifică alimentele care determină apariția anticorpilor IgG, anticorpi care pot fi implicați în intoleranța alimentară. Testarea s-a efectuat la 46 grupe de alimente, dintre care 9 erau fructe. **Rezultate:** Din 54 de pacienți 51 au avut intoleranță la fructoză (78.57% dintre pacienții suferind de diabetes mellitus, 100% la pacienții hiperuricemici și 100% la pacienții cu ambele boli). **Concluzii.** Depistarea deficitului de fructoză ar putea fi un indiciu al deficitului de aldolază B, care se poate confirma prin analiza enzimatică a probelor de biopsie hepatică sau intestinală și prin teste genetice.

P15. THE LEVEL OF CYTOKINES IL-6, IL-10, IL-1B, TNF-A AND IZOPROSTAN IN SERUM IN CHRONIC CALCULOUS PYELONEPHRITIS

Vera Sali, Emil Ceban, Valentin Gudumac, Pavel Banov

University of Medicine and Pharmacy „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Moldova

Purpose: Assessment of levels of IL-6, IL-10, IL-1 β , TNF- α in serum and izoprostan in chronic calculous pyelonephritis. **Material and methods:** The study group included 33 patients with chronic pyelonephritis and the control group was 31 healthy subjects. Block indicators of inflammation parameters included: cytokines IL - 1 β , IL -6, IL -10, TNF - α and izoprostan in serum assessed by ELISA. **Results:** The initial values of IL - 1 β were 41.26 ± 4.93 pg / ml . TNF - α values were 14.40 ± 2.88 pg / ml. Changes in IL -6 were significant : mean 87.29 ± 27.18 pg / ml . IL -10 media was 19.67 ± 0.88 pg / ml. In the postoperative period these indicators were measured in 29 people. At the end of the monitoring period we found change in all parameters studied: mean values of IL- 1 β increased to 48.56 ± 7.19 pg / ml TNF - α media amounted to 17.62 ± 3.30 pg / ml concentration of IL -6 significantly decreased to 81.27 ± 16.20 pg/ml. IL -10 values have changed slightly, reaching 20.00 ± 0.62 pg / ml . Sign test and Wilcoxon analysis showed similar results in assessing changes in studied parameters : $p \approx 1.00$ (Sign test) / $p \approx 0.58$ (Wilcoxon test) for changing the concentration of IL- 1 β , $p \approx 0.14$ / $p \approx 0.09$ - for TNF - α concentration changes , $p \approx 0.01$ / $p \approx 0.02$ - for changes in serum levels of IIL -6 ≈ 0.71 p / $p \approx 0.67$ - for dynamic changes the concentration of IL -10. Continuing high levels of IL - 1 β , IL -10 and TNF - α in the early period after surgery is probably due to short time since surgery and reflects activation of reparative processes in the postoperative period.

NIVELUL CITOKINELOR IL-6, IL-10, IL-1 β , TNF-A ȘI A IZOPROSTANULUI ÎN SER ÎN PIELONEFRITELE CRONICE CALCULOASE

Vera Sali, Emil Ceban, Valentin Gudumac, Pavel Banov

Universitatea de Medicină și Farmacie „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Moldova

Obiectiv: Evaluarea nivelelor IL-6, IL-10, IL-1 β , TNF- α și a izoprostanului în ser în pielonefritele cronice calculoase. **Material și metode:** Lotul cercetat a inclus 33 pacienți cu pielonefrite cronice calculoase. Lotul martor a constituit 31 subiecți sănătoși. Blocul indicatorilor inflamației a inclus parametrii: nivelul citokinelor IL-1 β , IL-6, IL-10, TNF- α și izoprostanului în ser, apreciate prin metoda ELISA.

Rezultate: Valorile inițiale ale IL-1 β au fost $41,26 \pm 4,93$ pg/ml. Pentru TNF- α valorile medii au constituit $14,40 \pm 2,88$ pg/ml. Modificările IL-6 au fost mai semnificative: media $87,29 \pm 27,18$ pg/ml. Pentru IL-10 media a constituit $19,67 \pm 0,88$ pg/ml. În perioada postoperatorie acești indicatori au fost apreciați la 29 persoane. La sfârșitul perioadei de monitorizare am depistat modificarea tuturor parametrilor studiați: valorile medii ale IL-1 β au crescut până la $48,56 \pm 7,19$ pg/ml, media TNF- α s-a ridicat până la $17,62 \pm 3,30$ pg/ml, concentrația IL-6 a scăzut semnificativ până la $81,27 \pm 16,20$ pg/ml. Valorile IL-10 s-au modificat nesemnificativ, atingând nivelul de $20,00 \pm 0,62$ pg/ml. Analiza Wilcoxon și Sign test au demonstrat rezultatele similare în aprecierea modificărilor dinamice ale parametrilor studiați: $p \approx 1,00$ (Sign-test) / $p \approx 0,58$ (testul Wilcoxon) pentru schimbarea concentrației IL-1 β , $p \approx 0,14$ / $p \approx 0,09$ – pentru modificările concentrației TNF- α , $p \approx 0,01$ / $p \approx 0,02$ – pentru modificările nivelului seric al IL-6, $p \approx 0,71$ / $p \approx 0,67$ – pentru schimbările dinamice ale concentrației IL-10. Menținerea nivelului crescut al IL-1 β , IL-10 și TNF- α în perioada precoce după intervenție chirurgicală este probabil, legată de intervalul de timp prea mic, trecut din momentul intervenției chirurgicale și reflectă activarea proceselor reparative în perioada postoperatorie.

P16. OXIDATIVE STRESS IN CHRONIC CALCULOUS PYELONEPHRITIS

Emil Ceban, Pavel Banov, Valentin Gudumac, Vera Sali

University of Medicine and Pharmacy „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Moldova

Introduction: Urolithiasis plays a significant role in the structure of urological diseases, due to its high incidence, frequent relapses and adverse consequences that may result. There are many source that shows that urinary infection is an important etiological factor in kidney lithyasis (KL). Chronic pyelonephritis (CP) plays the most important etiologic and pathogenetic role in the development KL, but KL may occur in chronic inflammation of the upper and lower urinary tract as well as a complication. We aimed to study the indices of oxidative stress in chronic pyelonephritis with stones. **Material and methods:** The study included 37 patients with various forms of urolithiasis complicated with CP who have had surgery and the control group was 31 healthy individuals. The intensity of oxidative stress and antioxidant system

changes were examined by determination of biochemical indices as follows: level of malonic dialdehyde (MAD), the determination of advanced oxidation protein products (AOPP), advanced glycation end products, nitric oxide dosage, determination of glutathione reductase activity, determination glutathione peroxidase (GPO), glutathione-S-transferase activity, the activity of superoxide dismutase (SOD), catalase activity, assessing the level of ceruloplasmin (CP), the content of thiol groups of proteins. **Results:** Comparative analysis of indices prooxidant substances and antioxidant system activity in patients with KL and the control group showed the presence of statistically significant differences between the two groups studied. Kolmogorov-Smirnov method helped to substantiate the idea about increasing level of prooxidant substances and depleting antioxidant reserves in patients with KL. Repeated assessment of indices of oxidative stress and antioxidant system in patients with KL showed change of these parameters after surgical treatment.

STRESUL OXIDATIV ÎN PIELONEFRITA CRONICĂ CALCULOASĂ

Emil Ceban, Pavel Banov, Valentin Gudumac, Vera Sali

University of Medicine and Pharmacy „Nicolae Testemițanu”, Chișinău, Moldova

Introducere: Urolitiaza ocupă un loc primordial în structura maladiilor urologice datorită incidenței sale crescute, a recidivelor frecvente și a urmărilor nefaste pe care le poate provoca. Există multiple publicații științifice care denotă că infecția urinară este un factor etiologic important în litiaza renală (LR). În mare parte un rol etiologic și patogenetic în dezvoltarea LR îl are pielonefrita cronică (PC), însă ca și complicație, LR poate apărea și în inflamația cronică a căilor urinare superioare și inferioare. Ne-am propus să studiem indicii stresului oxidativ în pielonefrita cronică calculoasă. **Material și metode:** În studiu au fost incluși 37 pacienți cu diferite forme de urolitiază complicată cu PC, tratați chirurgical, lotul martor a fost constituit din 31 persoane sănătoase. Intensitatea stresului oxidativ și modificările sistemului antioxidant au fost examinate prin dozarea indicilor biochimici specifici: nivelul dialdehidei malonice (DAM), determinarea produșilor proteici de oxidare avansată (PPOA), produsele finale de glicare avansată, dozarea oxidului nitric, determinarea glutathione reductazei, dozarea activității glutathione peroxidazei (GPO), activitatea glutathione-S-transferazei, activitatea superoxid dismutazei (SOD), activitatea catalazei, evaluarea nivelului ceruloplasminei (CP), conținutul de grupări tiolice ale proteinelor. **Rezultate:** Analiza comparativă a indicilor activității sistemului antioxidant și substanțelor prooxidante la pacienții cu LR și grupul de control a demonstrat prezența diferențelor statistic veridice dintre ambele loturi studiate. Metoda Kolmogorov-Smirnov a contribuit la fundamentarea ideii generale privind creșterea nivelului de substanțe prooxidante la pacienții cu LR și în același timp micșorarea rezervelor antioxidante la acest lot. Evaluarea dinamică a stresului oxidativ și sistemului antioxidant la pacienții cu LR a demonstrat modificarea acestor parametri după tratamentul chirurgical exercitat.

P17. LEPTIN AND ADIPONECTIN AS MARKERS OF THERAPEUTIC EFFICIENCY IN METABOLIC SYNDROME IN PSORIASIS PATIENTS

Laura Gheuca Solovăstru^{1,2}, Dan Vata^{1,2}, Alina Stîncanu^{1,2}, Laura Stătescu^{1,2}, Elena Petrescu¹, Didona Ungureanu^{1,3}

1. "Gr. T. Popa" University of Medicine and Pharmacy, Iași, Romania, 2. Dermatology Clinic of "St. Spiridon" Emergency Clinical Hospital Iași, Romania, 3. Immunology Genetics Laboratory, "St. Spiridon" Emergency Clinical Hospital Iași, Romania

Introduction and Objectives: Multiple studies have demonstrated a relationship between psoriasis and the metabolic syndrome, which is more common in patients with this skin disease than in the general population. A high frequency of obesity, diabetes and cardiovascular disease was found among patients with psoriasis, these comorbidities increasing mortality especially among younger patients. Leptin is a hormone secreted by adipocytes, considered dual, with beneficial role in regulating appetite, but with negative role by stimulating inflammatory mechanisms. Adiponectin is an adipokine with beneficial role in protecting the cardiovascular system with antiatherogenic effects. Serum adiponectin is decreased in conditions of systemic inflammation. **Materials and Methods:** The study was conducted at the Dermatology Clinic of the Hospital of Saint Spiridon Iasi between September 2013 and February 2014. Studies enrolled a total of 78 patients diagnosed with psoriasis and the metabolic syndrome, divided into three groups, namely: group 1 - 26 patients who had only topical therapy, group 2 - 22 patients who received systemic therapy, except for biological therapy and group 3 - 30 patients who initiate various biological therapies. Evaluations were performed at weeks 0 (before starting treatment) and 24 weeks of treatment for each of the three groups. For psoriasis evaluation we used international PASI classification. **Results:** Serum leptin was related to BMI for both determinations, finding a high level for patients in group 1 even for those who achieved PASI 50. Lot 2 serum leptin level is reduced after 24 weeks from the initial determination, the difference between the two measurements is more pronounced in patients who achieved PASI 75. For those with PASI 50 value is slightly reduced compared to the original. For group 3, those treated with biological therapy, plasma leptin level is significantly reduced after 24 weeks of treatment, reaching biological menu items even in patients who achieved PASI 50. Adiponectin determined at baseline and at 24 weeks showed no change between the two assessments in patients in the first group, regardless of the clinical course of the disease. For group 2 were recorded favorable discrete growth its values in both group in patients with PASI 75 and PASI 50. In group 3 significant changes were observed in serum adiponectin present in all patients, noticing a significant increase in adiponectin compared to the initial determination. **Conclusions:** The need to establish a clear correlation between psoriasis and inflammatory phenomena controlling cardiovascular risk reduction and metabolic syndrome in patients with severe and moderate plaque psoriasis justify conducting further studies to establish a concrete relationship between serum levels of inflammatory markers, reducing the disease activity and reduced serum levels of adipokines involved in the maintenance of metabolic syndrome.

LEPTINA ȘI ADIPONECTINA MARKERI DE EFICIENȚĂ TERAPEUTICĂ ÎN SINDROMUL METABOLIC DIN PSORIAZIS

Laura Gheuca Solovăstru^{1,2}, Dan Vata^{1,2} Alina Stîncanu^{1,2}, Laura Stătescu^{1,2}, Elena Petrescu¹, Didona Ungureanu^{1,3}

1. Universitatea de Medicină și Farmacie "Gr.T.Popa" Iași; 2. Spitalul Clinic de Urgențe "Sf. Spiridon" Iași, Clinica de Dermatologie; 3. Spitalul Clinic de Urgențe "Sf.Spiridon" Iași, Laboratorul de Imunologie și Genetică

Introducere: În literatura de specialitate sunt multe studii care au demonstrat existența unei corelații între psoriazis și sindromul metabolic, acesta fiind mult mai frecvent întâlnit în rândul pacienților cu boli dermatologice decât în populația generală. De asemenea, s-a găsit o prevalență crescută a obezității, diabetului și bolilor cardiovasculare la pacienții cu psoriasis, aceste comorbidități fiind mai frecvente la tineri. Leptina este un hormon secretat de adipocit, cu efect dual - fiind benefică în scăderea apetitului dar are și rol negativ în stimularea mecanismelor inflamatorii. Adiponectina este de asemenea, o adipokină cu efect antiaterogen și în consecință, cu efect protector al aparatului cardiovascular. Adiponecina serică este scăzută în prezența unei inflamații cronice, sistemice. **Material și metode:** Studiul prezent a fost realizat pe un lot de 78 de pacienți diagnosticați cu psoriasis și sindrom metabolic în Clinica de Dermatologie, Spitalul "Sf. Spiridon", Iași, în perioada septembrie 2013 – februarie 2014. Pacienții au fost împărțiți în 3 loturi: lotul 1 – 26 de pacienți care au primit doar terapie topică, lotul 2 - 22 de pacienți care au primit terapie sistemică iar lotul 3 – 30 de pacienți care a primit terapie biologică diversă. Pentru fiecare lot evaluarea s-a realizat la început, înaintea inițierii tratamentului și apoi după 24 de săptămâni de tratament. Pentru evaluarea psoriazisului s-au folosit criteriile internaționale PASI. **Rezultate:** Valoarea serică a leptinei s-a corelat cu IMC (indicele de masă corporală) la ambele determinări, valoarea medie a lotului 1 fiind mai mare, chiar și la pacienții care au atins criteriul PASI 50. La lotul 2 valoarea serică a leptinei a scăzut după 24 de săptămâni de tratament, diferența dintre momentul inițial și final fiind mult mai mare la pacienții care au atins criteriul PASI 75. Pentru pacienții care au atins criteriul PASI 50, valoarea leptinei a scăzut foarte puțin sub tratament. Pentru lotul 3, la pacienții cu tratament biologic, valoarea leptinei a scăzut semnificativ după 24 de săptămâni de tratament, chiar și la pacienții care au atins criteriul PASI 50. Adiponectina nu s-a modificat sub tratament la pacienții lotului 1 și nu s-a corelat cu răspunsul la tratament. La lotul 2 s-a observat o creștere moderată a valorii sale serice atât la pacienții PASI 75 cât și la pacienții PASI 50. La pacienții din lotul 3 valorile adiponectinei au crescut semnificativ sub tratament. **Concluzii:** Sunt necesare noi studii pentru a evalua corelația dintre psoriazis și fenomenul inflamator sistemic cu scopul de-a reduce riscul de boli cardiovasculare și sindrom metabolic în rândul pacienților cu leziuni moderate și severe de psoriazis. De asemenea, este necesară stabilirea unor corelații certe între răspunsul pacienților la tratament și scăderea valorilor adipokinelor implicate în sindromul inflamator sistemic din sindromul metabolic.

P18. THE RELATIONSHIP BETWEEN SECRETORY IMMUNOGLOBULIN A AND CLINIC PERIODONTAL STATUS

Victoria Badea^{1*}, Cristina Nuca¹, Doina Paula Balaban¹, Mircea Grigorian¹, Dragoș Doicescu², Florin Ciprian Badea¹, Aureliana Caraiane¹

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

The research literature shows that immunoglobulin A (Ig A) is the first line of oral mucosal defense against bacterial invasion, including periodontitis. **Objective:** Our study proposes to investigate the correlation between periodontal status and salivary level Ig A. **Methods:** The study included 85 adults (47 female, 38 male; 30-45 years) randomly selected; clinical examination of periodontal status was made in the clinical department of the Faculty of Dentistry Constanta according to W.H.O. using: the depth of periodontal pockets, bleeding on probing, index plaque. After clinical exam, subjects were divided in 3 groups: 20 (23.5%) with gingivitis, 45 (53%) with chronic periodontitis and 20 (23.5%) healthy controls. Concentration of Ig A was determined from unstimulated whole saliva collected by passive drool technique (samples visibly contaminated with blood were rejected and recollected), using salivary secretory IgA kit (Salimetrics, USA), ELISA method.

Statistical analysis was made using t-test and Pearson correlation coefficient ($p < 0.05$). Ethical permission was approved by the Professional Committee of "Ovidius" University Constanta. **Results:** The mean value of salivary IgA ($\mu\text{g/mL}$) in chronic periodontitis group was 320 ± 44.60 , in gingivitis group 160 ± 34.23 and in healthy group 157.50 ± 30.60 ; our results showed that there are significant differences in the mean value of the IgA salivary levels in chronic periodontitis compared to gingivitis and the healthy controls ($p < 0.001$). In the same time, in the chronic periodontitis group, salivary IgA value was positively correlated with clinical periodontal parameters, mainly with bleeding on probing ($p < 0.001$). There are no significant differences between salivary level of IgA in gingivitis patients and healthy controls and also there were no significant differences between the gender and the levels of salivary IgA in all groups. **Conclusions:** On the basis of this results we conclude that the concentration of salivary IgA is connected with the level severity of periodontal inflammation, which allows us to say that salivary level IgA could be a marker used to assess periodontal status.

Keywords: IgA, saliva, periodontal status

STUDIUL PRIVIND RELAȚIA DINTRE IMUNOGLOBULINA A SECRETORIE ȘI STATUSUL PARODONTAL

Victoria Badea^{1*}, Cristina Nuca¹, Doina Paula Balaban¹, Mircea Grigorian¹, Dragoș Doicescu², Florin Ciprian Badea¹, Aureliana Caraiane¹

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

Obiectiv: Literatura de specialitate arată că imunoglobulina A (Ig A) este prima linie de apărare antibacteriană, inclusiv în cazul parodontitei. Studiul nostru își propune evaluarea corelației dintre statusul

parodontal și nivelul Ig A salivar. **Metoda:** Studiul a fost realizat pe un lot de 85 de adulți (47 femei, 38 barbati; 30-45 ani) selectați aleator; examinarea clinică parodontală s-a făcut în departamentul clinic al Facultății de Medicină Dentară Constanța respectând criteriile OMS: adâncimea pungilor parodontale, sângerarea la palpare, indexul de placă. După examinarea clinică, subiecții au fost împărțiți în 3 grupe: 20 (23.5%) cu gingivită, 45 (53%) cu parodontită cronică și 20 (23.5%) sănătoși. Determinarea concentrației Ig A s-a făcut din saliva recoltată fără stimulare (pentru probele vizibil contaminate cu sânge s-a repetat recoltarea) utilizând kitul IgA salivar (Salimetrics, USA), metoda ELISA. Analiza statistică s-a făcut folosind t-test și coeficientul de corelație Pearson ($p < 0.05$). Comitetul de etică al Universității „Ovidius” Constanța a dat acceptul pentru realizarea studiului. **Rezultate:** Media valorilor Ig A salivar ($\mu\text{g/mL}$) în grupul de pacienți cu parodontită cronică a fost 320 ± 44.60 , la pacienții cu gingivită 160 ± 34.23 , iar la subiecții sănătoși 157.50 ± 36.60 ; rezultatele obținute arată că există diferențe semnificative statistic între media valorilor Ig A salivar la pacienții cu parodontită cronică comparativ cu cei cu gingivită și cei sănătoși ($p < 0.001$). În același timp, nivelul Ig A salivar la pacienții cu parodontită cronică se corelează cu parametrii clinici, mai ales cu sângerarea la palpare ($p < 0.001$). Nu există diferențe semnificative statistic între valorile Ig A salivar la pacienții cu gingivită și cei sănătoși și nici între cele două sexe la toate grupele studiate. **Concluzii:** Rezultatele obținute demonstrează că, concentrația Ig A salivare este strâns legată de severitatea inflamației parodontale, ceea ce ne permite să estimăm că nivelul Ig A salivar poate fi folosit ca marker în aprecierea statusului parodontal. **Cuvinte cheie:** IgA, saliva, status parodontal

P19. DIAGNOSTIC POSSIBILITIES IN JUVENILE IDIOPATHIC ARTHRITIS

Maria Lucia Sur ¹, Carmen Abrudan ², Gabriel Samașcă ², Romulus Nechit ³, Emanuela Floca ¹, Genel Sur ^{1,2}

1 University of Medicine and Pharmacy, Iuliu Hatieganu, Cluj-Napoca, Romania, 2. Emergency Clinical Hospital for Children, Cluj-Napoca, Romania, 3. Diamedix

Introduction. Juvenile idiopathic arthritis (JIA) is a common disorder in children that can develop with remissions and exacerbations. **Objectives.** Assessment of current diagnostic possibilities in JIA. Determine the frequency of forms of JIA. Immunological involvement in the three forms of JIA. **Materials and methods.** The study group included 69 patients aged 2-18 years, admitted to Pediatric Clinic II Cluj-Napoca between 1 January 2009 and 31 December 2013. Laboratory data that we have used to support the diagnosis were: inflammatory syndrome sustained by values of ESR, C-reactive protein and fibrinogen. Immunological markers used were C3 complement, rheumatoid factor, antinuclear and anti-DNAs antibodies. **Results.** Oligoarticular forms are the most common (50 %), followed by polyarticular forms (30 %) and the systemic form (20 %). Diagnostic markers show that the ESR is increased in systemic forms, followed by polyarticular form. Rheumatoid factor was present in 50 % of polyarticular forms. ANA were positive in 30% of cases with polyarticular and oligoarticular form and in 25% of cases with systemic form. C3 was positive in 7% of cases, and anti-DNAs antibodies were positive in 10 %. **Conclusions.** Immunological markers are important in supporting the diagnosis of JIA, helping to framing clinical forms and also indicating the severity of the disease.

POSSIBILITĂȚI DIAGNOSTICE ÎN ARTRITA JUVENILĂ IDIOPATICĂ

Maria Lucia Sur¹, Carmen Abrudan², Gabriel Samașcă², Romulus Nechit³, Emanuela Floca¹, Genel Sur^{1,2}

1. Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu", Cluj Napoca, România, 2. Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii, Cluj Napoca, România, 3. Diamedix

Introducere. Artrita juvenilă idiopatică (AJI) reprezintă o patologie frecvent întâlnită la copil care poate evolua cu remisiuni și exacerbări, putând cauza și sechele. **Obiectivele studiului.** Evaluarea posibilităților actuale de diagnostic în AJI. Determinarea frecvenței formelor de AJI. Implicări imunologice în cele trei forme. **Material și metodă.** Am luat în studiu un număr de 69 de cazuri internate în Clinica Pediatrie II Cluj Napoca în perioada 2009-2013. Datele de laborator folosite pentru susținerea diagnosticului au fost: sindromul inflamator susținut de VSH, PCR și fibrinogen. Pentru markerii imunologici fracțiunea C3 a complementului, factorul reumatoid, anticorpii antinucleari, anti-ADNdc. **Rezultate.** Formele oligoarticulare sunt cele mai frecvente (50 %), urmate de formele poliarticulare (30 %) și de cele sistemice (20 %). Markerii diagnostici arată că VSH-ul cel mai crescut este în formele sistemice (>60mm/h în 66% din cazuri), urmată de forma poliarticulară (VSH: 50-70 mm/h în 50 % din cazuri). Factorul reumatoid a fost prezent în 50% din formele poliarticulare. AAN au fost pozitivi în peste 30 % din cazurile cu forma poliarticulară și oligoarticulară și în 25% din cazurile cu formă sistemică. Fracțiunea C3 a fost pozitivă la 7% din cazuri, iar anticorpii anti-ADNdc au fost pozitivi la 10%. **Concluzii.** Markerii imunologici sunt importanți în susținerea diagnosticului de AJI, ajutând la încadrarea în formele clinice și în același timp indicând și severitatea bolii.

P20. SERUM FIBRONECTIN IN PREDICTION OF PRETERM DELIVERY?

Cosmina Cristina Uzun¹, B.P.Uzun², V. Balogh-Sămărghitan¹, Fazakas Zita¹, Nemes-Nagy Enikő¹, David Eliza¹, Szabó Béla³

1. University of Medicine and Pharmacy Tg-Mures, Department of Medical Biochemistry, 2. Mures County Clinical Hospital Tg-Mures, Urology Clinic, 3. Emergency County Hospital Tg-Mures, Gynecology Clinic

Background: Preterm delivery represents worldwide the main important cause of perinatal mortality and morbidity. Identification and utilization of predictive factors for preterm delivery influences the diagnostic and therapeutic protocols in case of labor. Fibronectin is a glycoprotein with important role in embriogenesis and it has been intensely studied as predictive factor of preterm delivery by its dosage in amniotic fluid, cervicovaginal secretions, serum and urine. **Aim:** The aim of this study has been to evaluate serum fibronectin values and its role for prediction and diagnosis of preterm delivery. **Materials and Methods:** The study included 82 patients at 22-34 weeks of pregnancy, which addressed to the Gynecology Clinic of the Emergency Hospital in Tîrgu-Mures between January 2012 - December 2013: a control group without symptoms of imminent preterm delivery (30 pregnant women) and a group of pregnant

with symptoms of preterm delivery (52 pregnant women – with painful uterine contractions). The serum fibronectin was determined with an ELISA kit (IBL-International), the normal range is 24-124 µg/ml. The pregnant patients were selected after questioning them about different pathology with increased value of serum fibronectin: collagen diseases, vasculitis, dermatitis, diabetes mellitus and hypertension pre-existing pregnancy, tuberculosis, nephrotic syndrome, malignancy, late eclampsia. Statistical processing of the results was performed with GraphPad InStat. **Results:** The average age of pregnancy was almost identical in these two subgroups, 29.71 weeks $\pm$ 3.48 (SD) in those with preterm delivery after more than 7 days, and 29.78 weeks $\pm$ 3.30 (SD) in the subgroup with preterm birth in less than 7 days (>0.05). Mean value of serum fibronectin was 326.60 $\pm$ 68.81 µg/ml (SD) in case of the pregnant women with symptoms of imminent preterm delivery, while the average value was 324.16 µg/ml $\pm$ 65.58 (SD) in the control group, unpaired t test shows no significant difference between the two groups of patients. Significant difference was observed between serum fibronectin value of pregnant women with symptoms of imminent preterm delivery giving birth after more than 7 days from sampling, with average value 310.19 µg/ml $\pm$ 73.16 (SD), and the value of patients with symptoms of imminent preterm delivery giving birth in less than 7 days, the average being 352.61 µg/ml $\pm$ 417.41 (SD) ($p=0.0382$). **Conclusions:** Serum fibronectin level increases in pregnant women “prepared” for childbirth both in the study group and the control group. Following the evolution of pregnancy in patients with symptoms of imminent preterm delivery indicates that serum fibronectin dosage “gives us the time” necessary for tocolysis and interventions to improve the fetal prognosis.

Keywords: serum fibronectin, preterm delivery, pregnancy

FIBRONECTINA SERICĂ, FACTOR DE PREDICȚIE ÎN NAȘTEREA PREMATURĂ?

Cosmina Cristina Uzun¹, Nemes-Nagy Enikő, B.P.Uzun², V. Balogh-Sămărghișan¹, Fazakas Zita¹, Eliza David¹, Szabó Béla³

1. Universitatea de Medicină și Farmacie Tg-Mureș, Disciplina de Biochimie Medicală, 2. Spitalul Clinic Județean Mureș, Tg-Mureș, Clinica Urologie, 3. Spitalul Clinic Județean de Urgență Tg-Mureș, Clinica Ginecologie

Introducere: Nașterea prematură reprezintă principala cauză de mortalitate și morbiditate perinatală la nivel mondial. Cunoașterea și utilizarea factorilor predictivi în declanșarea nașterii premature determină conduita diagnostică și terapeutică a travaliului. Fibronectina este o glicoproteină cu rol important în embriogeneză intens studiată ca factor predictor al nașterii premature prin dozarea din lichidul amniotic, secrețiile cervicovaginale, ser și urină. **Scop:** În studiul de față ne-am propus determinarea rolului fibronectinei serice în predicția nașterii premature. **Metodă:** În studiu au fost incluse 82 paciente în 22-34 săptămâni de sarcină, care s-au adresat Clinicii Ginecologie a Spitalului Clinic Județean de Urgență Tg-Mureș în perioada 2012-2013: un lot martor (30 gravide) și un lot de gravide cu iminență de naștere prematură (52 gravide - cu contracții uterine dureroase). Dozarea fibronectinei serice s-a realizat cu un kit enzimatic prin metoda ELISA (IBL-International) cu valori normale 24-124 µg/ml. Pacientele au fost chestionate pentru excluderea eventualei patologii asociate cu valori crescute de fibronectină: colagenoză, vasculite, dermatite, diabet zaharat și hipertensiune arterială, obezitate, sindrom nefrotic, tuberculoză, anemii, tumori maligne, disgravidie tardivă. Prelucrarea statistică a rezultatelor s-a efectuat cu programul

GraphPad InStat. **Rezultate:** Vârsta medie a sarcinii a fost aproape identică la aceste două subloturi, 29,71 săptămâni $\pm$ 3,48 (SD) la sublotul cu naștere prematură peste 7 zile, și 29,78 săptămâni $\pm$ 3,30 (SD) la sublotul cu naștere prematură sub 7 zile ($p > 0,05$). Valoarea medie a fibronectinei serice la lotul cu iminență de naștere prematură a fost 326,60 $\pm$ 68,81 $\mu\text{g/ml}$ (SD), iar la lotul martor 324,16 $\mu\text{g/ml}$ $\pm$ 65,58 (SD), testul t nepereche pentru cele două loturi de pacienți arată diferență nesemnificativă. Există o diferență semnificativă între valoarea fibronectinei serice la lotul cu iminență de naștere prematură care au născut peste 7 zile de la testare, cu media fibronectinei serice de 310,19 $\mu\text{g/ml}$ $\pm$ 73,16 (SD), și valoarea la pacienții cu iminență de naștere prematură și naștere sub 7 zile de la testare, media lor fiind 352,61 $\mu\text{g/ml}$ $\pm$ 417,41 (SD) ($p = 0,0382$). **Concluzii:** Fibronectina serică crește în cazul gravidelor “pregătite” pentru naștere atât din lotul de studiu cât și din lotul martor. Urmărirea evoluției sarcinii la gravidele cu iminență de naștere prematură ne indică faptul că dozarea fibronectinei serice “ne acordă timpul” necesar pentru tocoliză și pentru intervențiile de îmbunătățire a prognosticului fetal. **Cuvinte-cheie:** naștere prematură, fibronectina serică, sarcină

P21. NEUTROPHIL-LYMPHOCYTE RATIO PREDICTS OUTCOMES IN LUNG CANCER PATIENTS

Elena Cojocaru, Cristian Cojocaru

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

Objectives: Previous studies have suggested that increased neutrophils-lymphocytes ratio (NLR) is associated with a poor prognosis in cancer patients. In this study we sought if there is a correlation between the neutrophil – lymphocyte ratio and time to progression in patients with lung cancer being treated with chemotherapy. **Methods:** We selected patients with lung cancer in stage IIIB/IV. The neutrophil and lymphocyte counts were recorded, and the NLR was calculated at enrollment and time to progression. All patients received the same oncology treatment at three weeks, at individualized doses. Progression was monitored clinically and radiologically (computed tomography scan). **Results:** Patients with a neutrophil / lymphocyte ratio at enrollment above 5 had the average time to progression at 8 weeks compared with the group with a neutrophil / lymphocyte ratio less than 5, were needed 25 weeks for progression. **Conclusion:** The present study suggests that a NLR above 5 is predictive for early progression of lung cancer.

RAPORTUL NEUTROFILE – LIMFOCITE IN DETERMINAREA PROGNOSTICULUI NEOPLASMULUI BRONHO-PULMONAR

Elena Cojocaru , Cristian Cojocaru

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

Obiective: Studii anterioare au sugerat că raportul crescut neutrofile/limfocite (RNL) se asociază cu un prognostic nefavorabil la pacienții cu cancer. În prezentul studiu am urmărit dacă există o corelație

între raportul neutrofile/limfocite și timpul până la apariția progresiei la pacienții cu cancer pulmonar aflați în tratament chimioterapic. **Material și metodă:** Au fost selectați pacienții cu cancer pulmonar în stadiile IIIB și IV la care s-a urmărit raportul neutrofile/limfocite la includerea în studiu și perioada de timp până la progresie. Toți pacienții au primit același tratament oncologic, la interval de trei săptămâni, în doze individualizate. Progresia a fost urmărită clinic și radiologic (computer tomografic). **Rezultate:** Pacienții la care la includerea în studiu raportul neutrofile/limfocite a fost peste 5, durata medie până la înregistrarea progresiei a fost de 8 săptămâni, comparativ cu grupul la care raportul neutrofile/limfocite a fost < 5 săptămâni, au fost necesare în medie 25 de săptămâni până la progresie. **Concluzii:** Studiul prezent sugerează că $RNL > 5$ este predictiv pentru progresia precoce a neoplasmului bronhopulmonar.

P22. DETECTION OF JAK2 V617F MUTATION IN CHRONIC MYELOPROLIFERATIVE DISORDERS USING DIFFERENT MOLECULAR METHODS

Mihaela Dragomir¹, Rodica Tălmaci², Adriana Vulpe¹, Dumitru Jardan³, Daniel Coriu^{1,2}

1. Fundeni Clinical Institute, Bucharest, Romania, 2. UMF Carol Davila, Bucharest, Romania hematology Department, 3. S.C.MedLife S.A.

In chronic myeloproliferative disorders V617F mutation in Jak2 gene is identified, in almost half of patients with PV, TE and idiopathic myelofibrosis.

Over the time a series of methods were implemented for rapid detection of this mutation. The mutation leads to auto inhibition of tyrosine-kinase activity in cytoplasm, activity which is important for signal transduction from chemical signals outside the cell to the nucleus in order to induce cell proliferation in hematopoietic cells and in peripheral blood.

For the detection of Jak2 V617F mutation, we used ARMS-PCR method described by Baxter et. al and optimized in our laboratory with a sensitivity of 1%.

A number of 435 samples were analyzed in the Molecular Biology Lab of Fundeni Clinical Institute. V617F mutation was identified in 40% of all samples. Half of positive samples had a low level positivity. The mutant load is expressed as a percentage ratio of Jak2 V617F/Jak2 wild type. A ratio of 1,5% or less than that is considered to be negative, a ratio between 1,5% and 5% is considered as equivocal and a ratio of 5% or more is reported as positive. It is possible that minor Jak2 V617F positive clones arise in some healthy individuals but remain as a subpopulation as they lack sufficient growth advantage to expand further.

These equivocal cases may be due to: prior treatment with cytoreductive therapy, the presence of two MPN clones in the patient, the presence of an alternative exon 14 mutations or an inherited polymorphism which affects primer binding. For these equivocal cases other clinical data must be taken into consideration.

In order to compare our ARMS-PCR results, some low level positive samples were analyzed by JAK2 ACE Genotyping kit (Seegene) with a sensitivity 10%. All tested samples were negative.

We used Next Generation Sequencing (with a sensitivity of 1-5%) to confirm the presence of the V617F

mutation in low level samples. Sequencing results confirm the presence of V617F mutation in exon 14 on Jak2 gene.

ARMS-PCR method optimized in our lab has a high sensibility that can detect minor Jak2 V617F positive clones that arise in some individuals which can remain as a subpopulation as they lack sufficient growth advantage to expand further.

DETECȚIA MUTAȚIEI V617F DIN GENA JAK2 ÎN DIAGNOSTICUL SINDROAMELOR MIELOPROLIFERATIVE CRONICE UTILIZÂND DIFERITE METODE MOLECULARE

Mihaela Dragomir¹, Rodica Talmaci², Adriana Vulpe¹, Dumitru Jordan³, Daniel Coriu^{1,2}

1. Laboratorul de Biologie Moleculară al Clinicii de Hematologie - I.C.Fundeni, 2. Catedra de Hematologie - U.M.F.Carol Davila Bucuresti, 3. S.C.MedLife S.A.

În sindroamele mieloproliferative cronice s-a identificat o mutație la nivelul genei JAK2-V617F, prezentă la mai mult de jumătate dintre pacienții cu Policitemia Vera, Trombocitemie Esențială și Mielofibroză Idiopatică.

Pe parcursul timpului au fost implementate o serie de metode pentru detecția rapidă a mutației V617F. Aceasta mutație duce la autoinhibarea activității tirozin kinazei JAK2 din citoplasmă cu rol important în transducția semnalului de la receptorii factorilor de creștere, având ca rezultat creșterea proliferării celulare în măduva osoasă hematopoietică și în sângele periferic.

Pentru detecția mutației V617F utilizăm metoda ARMS-PCR (Amplification-Refractory Mutation System) descrisă de Baxter et al. și optimizată în laboratorul nostru, având o sensibilitate de detecție de 1%. Un total de 435 de probe de sânge de la pacienți cu diagnostic sau suspiciune de SMPC au fost analizate în Laboratorul de Biologie Moleculară al Clinicii de Hematologie - I.C.Fundeni. Probele pozitive pentru mutația V617F reprezintă 40% din total. Jumătate dintre acestea au fost evaluate ca "pozitivitate slab detectabilă" (low level positive). Încărcătura alelei mutante este exprimată ca un raport între JAK2 V617F / JAK2 *wildtype*. Un raport de 1,5% sau mai mic este considerat a fi negativ; un raport între 1,5% și 5% este considerat ambiguu; un raport mai mare de 5% este considerat pozitiv. La unele persoane apar clone pozitive JAK2 V617F, dar rămân ca o subpopulație de celule; neavând suficiente avantaje pentru creștere nu se dezvoltă mai departe.

Asemenea cazuri cu rezultate ambigue pot fi date de: tratamentul anterior cu terapie citoreductivă, prezența a doua clone MPN la pacient, prezența unei mutații alternative în exonul 14, prezența unui polimorfism ereditar care afectează legarea primerilor ARMS. Aceste cazuri ar trebui interpretate în context clinic, ținând cont și de alte criterii de diagnostic.

Comparativ, pentru unele probe "low level positive", s-a realizat detecția mutației cu kit-ul commercial JAK2 ACE Genotyping (Seegene) (sensibilitate de până la 10%), rezultatele fiind "negative".

Pentru confirmare, câteva probe "low level positive" au fost secvențiate prin Next Generation Sequencing (sensibilitate de 1-5%). Rezultatele au confirmat prezența mutației V617F la nivelul exonului 14 din gena JAK2.

Metoda ARMS-PCR este o metoda cu sensibilitate crescută care poate detecta clone rare JAK2 V617F pozitive.

P23. HEMOGLOBIN O-ARAB IDENTIFIED IN A ROMANIAN FAMILY

Cristina Mambet, Ileana Apostolescu, Antoanela Curici, Alina Ganta, Carmen Dobreanu

SC Synevo Romania SRL

We report the case of a 47-year old woman from Craiova with moderate hypochromic microcytic anemia and slightly increased level of serum ferritin who was referred to Synevo Laboratory for hemoglobin electrophoresis. An unusual pattern was identified by capillary electrophoresis: low HbA (9.7%), small elevation in HbF (3.2%) and a very high percentage of HbA2 (87.1%) suggesting the presence of a hemoglobin variant that co-migrates with HbA2. Asking for a family study we managed to test the two offspring of the patient that had no anemia. Hemoglobin electrophoresis showed also abnormal percentages of HbA2: 36.1% and 35.7% respectively.

Subsequently, a full sequencing of HBB gene (β globin gene) was performed on mother's DNA sample. The result indicated that patient is a carrier of β -thalassemia due to the heterozygous mutation c.93-21 G>A and of a heterozygous hemoglobin O variant (c.364G>A) in the HBB gene. Although no genetic test was done in the two offspring, it is very likely that they inherited from their mother only HbO variant. HbO variant reported in the literature with several names (Hb-O Arab, Hb-O Thrace, Hb Egypt) occurs more commonly in the Balkan region and Middle East. It has no clinical relevance; however when it associates with HbS or β^+ -thalassemia a significant hematological disease may occur.

HEMOGLOBINA O-ARAB IDENTIFICATĂ ÎNTR-O FAMILIE DIN ROMÂNIA

Cristina Mambet, Ileana Apostolescu, Antoanela Curici, Alina Ganta, Carmen Dobreanu

SC Synevo România SRL

Prezentăm cazul unei paciente de 47 ani din Craiova, cu anemie microcitară hipocromă moderată și valoare ușor crescută a feritinei serice, care a fost îndrumată către Laboratorul Synevo în vederea efectuării electroforezei de hemoglobină. La electroforeza capilară a fost identificat un aspect neobișnuit: valoare HbA scăzută (9.7%), creștere ușoară HbF și un procent foarte ridicat de HbA2 (87.1%), sugerând prezența unei variante de hemoglobină care co-migrează cu HbA2. În vederea unei analize familiale am reușit să-i testăm pe cei doi copii ai pacientei care nu prezentau anemie. Electroforeza capilară a indicat de asemenea procente HbA2 anormale: 36.1% și respectiv 35.7%.

Ulterior s-a efectuat o secvențiere completă a genei HBB (gena β -globinei) în proba de ADN a mamei. Rezultatul a arătat faptul că pacienta este purtătoare de β -talasemie ca urmare a mutației heterozigote c.93-21 G>A și a variantei heterozigote de hemoglobină O, având mutația c.364G>A în gena β -globinei. Deși nu s-a efectuat testarea genetică la cei doi copii aceștia au moștenit de la mamă, cel mai mai probabil, doar varianta HbO.

Varianta HbO, raportată în literatură sub diferite nume (Hb-O Arab, Hb-O Thrace, Hb Egypt) este întâlnită mai frecvent în regiunea balcanică și Orientul Mijlociu. Nu prezintă relevanță clinică; totuși atunci când se asociază cu HbS sau β^+ -talasemia se poate dezvolta o boală hematologică semnificativă.

P24. GLUTATHIONE PEROXIDASE, RISK FACTOR FOR CHRONIC MYELOID LEUKEMIA

George-Valeriu Moldovan, Andrei Crauciuc, Florin Tripon, Claudia Bănescu

Emergency County Hospital, University of Medicine and Pharmacy Târgu Mureș

Background: Free radicals are known contributory agents in a number of diseases, including cancer and leukemia. These free radicals result as a by-product of normal metabolic processes or they can have an exogenous origin. Antioxidant enzymes such as glutathione peroxidase (GPX) are a major line of defense in regulating the balance of reactive oxygen species and can directly counter the oxidants, therefore protecting cells against oxidative stress. **Material and method:** The present study evaluates the influence of glutathione peroxidase (GPX) as a risk factor for Chronic Myeloid Leukemia (CML) development. We performed a case-control study which included 72 CML patients and same number of healthy controls, with no history of malignancy. The genetic polymorphism of GPX-1 Pro198Leu was assessed by RFLP-PCR followed by gel electrophoresis. **Results:** Molecular analysis of GPX gene polymorphism identified normal homozygous Pro/Pro allele in 11.11% in both CML patients and control group. 31.94% ($p=0.1459$, $OR=0.418$, $95\%CI=0.14-1.249$) of CML patients were found heterozygous for Pro/Leu allele, while for 12.5% of control cases and 56.95% ($p=0.0195$, $OR=4.556$, $95\%CI=1.349-15.388$) of CML patients, mutant homozygous allele Leu/Leu was identified. **Conclusion:** Our results showed that GPX-1 Pro198Leu genetic polymorphism is highly associated with CML development. **Acknowledgement:** This work was supported by Internal Research Grants of the University of Medicine and Pharmacy Târgu Mureș, România. Project No. 19/11.12.2013.

Keywords Glutathione peroxidase, Chronic Myeloid Leukemia

GLUTATION PEROXIDAZA, FACTOR DE RISC ÎN APARIȚIA LEUCEMIEI MIELOIDE CRONICE

George-Valeriu Moldovan, Andrei Crauciuc, Florin Tripon, Claudia Bănescu

Spital Clinic Judetean de Urgență Tîrgu-Mureș, Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș

Introducere: Radicalii liberi sunt cunoscuți ca și agenți etiologici a numeroase patologii, precum cancerul și leucemiile. Aceștia rezultă în urma proceselor metabolice normale sau pot fi de origine exogenă. Enzimele antioxidante, precum glutathion peroxidaza (GPX), reprezintă principala cale de reglare a balanței prooxidant/antioxidant, protejând celulele împotriva stresului oxidativ prin contracararea directă a oxidanților. **Material și metodă:** Prezentul studiu evaluează influența glutathion peroxidazei (GPX), ca factor de risc implicat în apariția Leucemiei Mieloide Cronice (LMC). Studiul efectuat este unul caz-control, care a inclus 72 de pacienți cu LMC și același număr de persoane sănătoase, fără patologie malignă, ca și lot martor. Polimorfismul genetic al GPX-1 Pro198Leu a fost evaluat prin PCR-RFLP, urmat de electroforeză în gel de agaroză. **Rezultate:** Analiza moleculară a polimorfismului genei GPX

a identificat alela normală Pro/Pro în 11,11% din cazuri, atât la pacienții cu LMC, cât și la lotul martor. 31,94% ($p=0,1459$; $OR=0,418$; $95\%CI=0,14-1,249$) dintre pacienții cu LMC au fost identificați ca fiind heterozigoți, prezentând alela Pro/Leu. 56,95% ($p=0,0195$; $OR=4,556$; $95\%CI=1,349-15,388$) dintre pacienții cu LMC au prezentat alela mutantă Leu/Leu, în timp ce la nivelul lotului control a fost identificată la 12,5% din cazuri. **Concluzie:** Rezultatele obținute demonstrează că polimorfismul genetic GPX-1 Pro198Leu reprezintă un risc semnificativ statistic în apariția LMC. **Mulțumiri:** Studiul a fost parțial susținut de Grantul de Cercetare Internă al Universității de Medicină și Farmacie Tîrgu-Mureș, România. Contract nr. 19/11.12.2013.

Cuvinte cheie: glutatation peroxidază , leucemie mieloidă cronică

P25. ARE PLATELET INDICES- MPV, PDW,P-LCR- MARKERS FOR PLATELET ACTIVATION IN MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASMS Ph- ?

Ariela Ligia Olteanu ¹, Manuela Mihalache ², Alina Camelia Catană ³, Ofelia Flucuş ³, Cristina Buş ³, Doris Lienerth ³, Romeo Gabriel Mihăilă ²

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

Introduction: Myeloproliferative neoplasms (MPN) Philadelphia chromosome negative (Ph-): polycythemia vera (PV), essential thrombocythemia (ET), and primary myelofibrosis (PMF) are characterized by an increased rate of thrombosis complications partly due to platelet activation. Large platelets are more active, have enhanced their procoagulant function and have a pathogenic role in arterial and venous thrombosis. The **aim** of this study was to establish if platelet indices (MPV, PDW, P-LCR) issued from blood counts are significantly different in MPNs patients in comparison with healthy subjects. **Methods:** Fasting venous blood samples were collected from 102 patients and from 69 healthy subjects into sterile tubes with K2EDTA. Blood cell counts including platelet indices were assessed by the impedance method on Sysmex XS 1000i during the first hour after blood collection. **Results:** As we expected the platelet counts were different in the two groups. The platelet indices weren't significantly higher in MPNs patients. **Conclusion:** We failed to demonstrate that platelet indices are significantly different in MPNs patients versus healthy subjects using our impedance count method and assess platelet indices as platelet activation markers in MPNs patients.

Keywords: myeloproliferative neoplasms, platelet activation, platelet indices, thrombosis.

POT FI CONSIDERAȚI INDICII TROMBOCITARI – MPV, PDW, P-LCR-MARKERI DE ACTIVARE TROMBOCITARĂ ÎN NEOPLASMELE MIELOPROLIFERATIVE Ph-?

Ariela Ligia Olteanu¹, Manuela Mihalache², Alina Camelia Catană³, Ofelia Flucuş³, Cristina Buş³, Doris Lienerth³, Romeo Gabriel Mihăilă²

1. Spitalul Clinic Județean de Urgență Sibiu, Laboratorul de Analize Medicale; 2. Universitatea "Lucian Blaga", Facultatea de Medicină "Victor Papilian" Sibiu; 3. Spitalul Clinic Județean de Urgență Sibiu, Clinica de Hematologie

Introducere : Neoplasmele mieloproliferative (MPN) cromozom Philadelphia negative (Ph-): policitemia vera (PV), trombocitemia esențială (TE) și mielofibroza primară (MP) sunt caracterizate de o rată mare de complicații trombotice, parțial date de activarea trombocitară. Trombocitele mari sunt mai active, cu o funcție procoagulantă crescută și au rol patogen demonstrat în tromboza arterială și venoasă.

Obiectivul acestui studiu a fost să stabilim dacă indicii trombocitari (MPV, PDW, P-LCR), furnizați de analizoarele de hematologie în hemoleucograma completă, sunt semnificativ crescuți la pacienții cu neoplasme mieloproliferative Ph- comparativ cu subiecții sănătoși. **Metodă:** Sângele venos a fost colectat de la 102 pacienți cu neoplasme mieloproliferative Ph- și de la 69 subiecți sănătoși, în tuburi sterile, conținând K2EDTA. Hemoleucograma, ce a inclus și indicii trombocitari, a fost determinată cu ajutorul analizorului de hematologie Sysmex XS 1000i (metoda impedanței), în prima oră de la recoltarea sângelui. **Rezultate:** Așa cum ne-am așteptat, numărul trombocitelor a fost diferit în cele două grupuri de studiu. Indicii trombocitari nu au fost semnificativ crescuți la pacienții cu neoplasme mieloproliferative Ph- comparativ cu cei ai subiecților sănătoși. **Concluzii:** Folosind metoda impedanței în determinarea indicilor trombocitari nu am reușit să demonstrăm o diferență semnificativă între valorile indicilor trombocitari la pacienții cu neoplasme mieloproliferative Ph- versus subiecții sănătoși și astfel să demonstrăm utilitatea indicilor trombocitari ca markeri de activare trombocitară la pacienții cu neoplasme mieloproliferative Ph-.

Cuvinte cheie: neoplasme mieloproliferative, activare trombocitară, indici trombocitari, tromboza.

P26. DIFFICULT DIAGNOSIS IN A CASE OF LARGE GRANULAR LYMPHOCYTE LEUKEMIA

Mihnea Zdrengea^{1,2}, Cristina Băgăcean^{1,2}, Mariana Pațiu^{1,2}, Horia Bumbea³, Bogdan Fetica^{1,2}, Jean-Michel Picquenot⁴, Mihaela Groșan¹,

1. Ion Chiricuță Oncology Institute, 2. Iuliu Hațieganu University of Medicine and Pharmacy Cluj-Napoca, Romania, 3. University Hospital Bucharest, Romania and Carol Davila University of Medicine and Pharmacy Bucharest, Romania, 4. Centre Henri Becquerel, Rouen, France

Large granular lymphocyte leukemia (LGLL) is a rare lymphoproliferative disorder thought to arise from transformed NK or T cells and is one example of chronic exposure to a pro- inflammatory cytokine,

IL-15, being clearly implicated in cancerogenesis. This pathogenetic feature explains why treatment of T-LGLL is based on immunosuppressive therapy. However, the pathways of cytokine signals fitting into the bigger picture of malignant transformation are unclear. Molecular pathways that co-operate for malignant transformation downstream of prolonged IL-15 receptor signaling have been recently described. Proteasome inhibitor bortezomib is known to target some of these pathways and has been proposed as therapy in LGLL.

Diagnosis of the majority of T-LGLL is established by documentation of increased numbers of clonal large granular lymphocytes in peripheral blood by specific morphology and phenotype.

We report the case of a 60-year-old patient with a history of chronic neutropenia of unknown origin since 2007, investigated in several hematology departments without the establishment of a diagnosis, referred to us in 2013 because of recurrent respiratory infections with severe neutropenia. The patient underwent a full diagnostic checkup including cytological and histological examination of bone marrow, which were at first attempt inconclusive, but cytology pointed towards the presence of unidentified nuclei infiltrating the marrow and led to bone marrow flow cytometric analysis, which finally allowed for the establishment of diagnosis. The patient was treated in first line with bortezomib, with inconclusive results, but responded to a second line of methotrexate in immunosuppressive doses.

DIAGNOSTIC DIFICIL ÎNTR-UN CAZ DE LEUCEMIE CU CELULE MARI GRANULARE

Mihnea Zdrengea^{1,2}, Cristina Băgăcean^{1,2}, Mariana Pațiu^{1,2,1}, Horia Bumbea³ Bogdan Fetica^{1,2}, Jean-Michel Picquenot⁴, Mihaela Groșan¹

1. Institutul Oncologic Ion Chiricuță, 2. UMF Iuliu Hațieganu, Cluj-Napoca, Romania, 3. Spitalul Universitar de Urgență și UMF Carol Davila, București, Romania, 4. Centre Henri Becquerel, Rouen, France

Leucemia cu celule mari granulare (LGLL) este o limfoproliferare rară, cu origine în celule T sau NK transformate, și este un exemplu în care stimularea cronică de către o citokină proinflamatorie, IL-15, este implicată în cancerogeneză. Aceasta particularitate patogenetică explică utilizarea terapiei imunosupresoare în LGLL. Căile prin care semnalizarea citokinică se integrează în tabloul global al transformării maligne sunt necunoscute. Mecanisme moleculare care cooperează în transformarea malignă, în aval de stimularea persistentă a receptorilor IL-15, au fost descrise recent. Inhibitorul de proteazom bortezomib, cunoscut ca interferând cu unele dintre aceste mecanisme a fost propus ca tratament în LGLL.

Diagnosticul majorității LGLL se stabilește prin punerea în evidență a limfocitelor mari granulare clonale în sângele periferic prin morfologie și fenotipare.

Prezentăm cazul unei paciente de 60 de ani cu istoric de neutropenie cronică din 2007, investigată în timp în mai multe servicii de hematologie, fără elucidarea diagnosticului, adresată noua în 2013 pentru infecții respiratorii recurente pe fond de neutropenie severă. Un bilanț diagnostic incluzând citologie și biopsie medulare a fost în prima intenție neconcludent, însă citologia a descris prezența de nuclei neidentificabili morfologic atribuibili unei infiltrări medulare clonale, conducând la examinarea prin citometrie de flux a măduvei și stabilirea diagnosticului de LGLL. Pacienta a fost tratată în prima linie cu bortezomib, cu rezultate inconsistente, dar a răspuns la o a doua abordare terapeutică cu metotrexat în doze imunosupresoare.

P27. LOSS OF TUMORAL CD20 EXPRESSION AFTER RITUXIMAB AND CHEMOTHERAPY IN A NODULAR FOLLICULAR LYMPHOMA

Cristina Băgăcean¹, Adrian Tempescul², Mihnea Zdrengea¹

1. Ion Chiricuță Oncology Institute and Iuliu Hațieganu University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca, Romania, 2. Institute of Cancerology and Hematology, Brest University Medical School, France

A humanized chimaeric antibody targeting CD20, rituximab is the first monoclonal antibody approved in cancer treatment, and is currently used in practically all B cell malignancies. Expression of CD20 is limited to mature and precursor B cells, and the histological and/or immunophenotypic demonstration of its presence in a tumor warrants the inclusion of rituximab in its therapy. However, repeated administration of rituximab can lead to the disappearance of CD20 molecule expression at B cell surface, rendering the drug useless. Despite this phenomenon being reported in B cell lymphoma since the advent of the drug, awareness among hematology practitioners is still limited. We here present a case of nodular follicular lymphoma, treated with four courses of chemoimmunotherapy or immunotherapy with rituximab alone, showing CD20 expression loss at relapse. Our report emphasizes the importance of re-biopsy and CD20 expression assessment at relapse/progression.

PIERDEREA EXPRESIEI CD20 ÎNTR-UN CAZ DE LIMFOM FOLICULAR NODULAR TRATAT CU RITUXIMAB ȘI CHIMIOTERAPIE

Cristina Băgăcean¹, Adrian Tempescul², Mihnea Zdrengea¹

1. Institutul Oncologic Ion Chiricuță și UMF Iuliu Hațieganu, Cluj-Napoca, Romania, 2. Institutul de Cancerologie și Hematologie, Universitatea din Brest, Franța

Rituximab, un anticorp himeric murin umanizat anti CD20, este primul anticorp autorizat în terapia oncologică, fiind, în zilele noastre, utilizat în practică toate malignitățile de linie B. Expresia CD20 este limitată la celulele B mature și precursori, iar demonstrarea histologică și/sau imunofenotipică a prezenței sale într-o tumoră susține includerea rituximabului în terapia acesteia. Administrarea repetată de rituximab poate conduce la pierderea expresiei tumorale de CD20, făcând inutilă administrarea în continuare a imunoterapiei cu rituximab. În ciuda descrierii acestui fenomen încă de la debutul clinic al rituximabului, el este în continuare trecut cu vederea de o parte a practicienilor hematologi. Prezentăm un caz de limfom folicular nodular, tratat cu patru linii de chimioimunoterapie sau doar imunoterapie cu rituximab, arătând pierderea expresiei CD20 la recădere. Acest caz ilustrează și susține importanța re-biopsiei și a analizei pozitivității pentru CD20 la recădere sau progresie.

P28. ACINETOBACTER BAUMANII, A PERMANENT THREAT TO IMMUNOCOMPROMISED PATIENTS

Adina Barbu, Victoria Braga

Faculty of Medicine Constanța, Romania

Acinetobacter baumannii is an aerobic gram-negative bacillus who has emerged as one of the most troublesome pathogens for health care institutions all around the world. **Objective.** The aim of this study was to investigate the presence of multidrug resistant strains of *Acinetobacter baumannii* in isolates from hospitalized patients in Emergency Clinical Hospital Constanta. **Material and method.** Biological specimens were obtained during six months period, since May to October 2009, from different hospital departments and were cultured on conventional media. The identification of species and sensitivity tests were performed on Vitek 2 system version 03.01 from Bio-Merieux. **Results.** In these six months we isolated 68 strains of *Acinetobacter baumannii*, 44 of positive samples were from Intensive Care Unit, 14 from General Surgery, 6 from Gynecology and Pneumology, 4 from Pediatric Department. The isolated strains can be divided into 4 groups: **a.** 6 sensitive strains at Cefepime, Imipenem, Amikacin, Gentamicin, Ciprofloxacin, Norfloxacin; **b.** 18 sensitive strains at Amikacin, Imipenem, Tetracyclin; **c.** 24 sensitive strains at Amikacin, Imipenem; **d.** 20 resistant strains at all used antibiotics on Vitek, card AST-GN27(Intensive Care Unit). **Conclusions.** Is very important to notice that the most strains from Intensive Care Unit were multidrug resistant. The multiple resistance of *Acinetobacter baumannii* to antibiotics is due to prolonged hospitalization, failed immune system, invasive devices and extensive use of antibiotics.

ACINETOBACTER BAUMANII, O AMENINȚARE PERMANENTĂ A PACIENȚILOR IMUNOCOMPROMIȘI

Adina Barbu, Victoria Braga

Facultatea de Medicină Constanța

Acinetobacter baumannii este un bacil gram-negativ ce a devenit unul dintre cei mai temuți patogeni pentru instituțiile de sănătate de pe glob. **Obiectivul** acestui studiu este de a investiga prezența și procentul tulpinilor rezistente de *Acinetobacter baumannii* în produse patologice provenite de la pacienții internați în Spitalul Clinic de Urgență Constanța. **Material și metodă.** Probele biologice au fost recoltate de la pacienți din diferite secții, pe parcursul a șase luni, din mai până în octombrie 2009; după recoltare, produsele patologice au fost însămânșate pe medii uzuale. Identificarea speciilor și antibiogramele au fost obținute cu ajutorul aparatului Vitek 2 de la Bio-Merieux. **Rezultate.** În aceste șase luni am izolat 68 de tulpini, 44 provenite de la Terapie Intensivă, 14 din Chirurgie, 6 din Ginecologie și Pneumologie, 4 din Pediatrie. Tulpinile izolate se pot clasifica în 4 grupuri după sensibilitatea la antibiotic: **a)** 6 tulpini de *Acinetobacter baumannii* cu sensibilitate la Cefepim, Imipenem, Amikacina, Gentamicina,

Ciprofloxacina, Norfloxacina. **b)** 18 tulpini cu sensibilitate la : Amikacina, Imipenem , Tetraciclina; **c)** 24 tulpini cu sensibilitate la : Amikacina, Imipenem; **d)** 20 tulpini izolate din STI cu rezistența la toată gama de antibiotice incluse în setul Vitek, card AST-GN27. **Concluzii.** Este foarte important de observat că tulpinile provenite din Terapie Intensivă au fost rezistente la toate antibioticele testate, rezistența mare fiind dată de perioada îndelungată de spitalizare, sistemul imunitar compromis și a utilizării excesive a antibioticelor.

P29. INTESTINAL PARASITIC INFECTIONS IN OUTPATIENTS

Cecilia Boboș¹, Nicoleta Delia Botezan², Daniela Moga², Lia Monica Junie¹, Lucia Feticu Simonca², Ana-Maria Bîlc², Corina Alexandra Todor², Aurelia Doina Terec², Claudia Sorina Marc², Cristina Cotul²

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

2. Integrated outpatient facility, Clinical Hospital for Infectious Diseases, Cluj-Napoca

Objectives: The investigation was pursued on subjects presented in the ambulatory with an acute diarrheal disease, all those being suspected for an intestinal parasitosis. **Material and methods:** In the period 01.01.2008-31.12.2013, in the 7111 subjects, the parasitological examination of faeces was made, the native preparations being examined with the optical microscope. **Results:** Of the 7111 subjects (60% female subjects and 40% male subjects), 4245 were children and teenagers aged 0-17 years old (54.7% girls and 45.3% boys) and 2866 subjects aged 18 to 104 years old (67.9% women and 32.1% men). Of those 7111 subjects, in the 141 (1.9%) subjects the intestinal parasites were detected, such as: *Blastocystis hominis* (49%), *Giardia intestinalis* (38.3%), *Entamoeba coli* (6.4%), *Ascaris lumbricoides* (2.8%), *Enterobius vermicularis* (1.4%), *Strongyloides stercoralis* (1.4%), *Trichuris trichiura* associated with *Giardia intestinalis* (0.7%). Of those 141 subjects with intestinal parasites, at the age group 0-17 years old, 60 (42.6%) subjects (34 girls and 26 boys) were detected and at the age group 18-104 years old: 81 (57.4%) subjects (53 women and 28 men). At the age group 0-17 years old were detected: *Giardia intestinalis* (35 subjects – 58.3%: 16 boys and 19 girls), *Blastocystis hominis* (19 subjects: 31.7%), *Entamoeba coli* (3 girls: 0.5%), *Ascaris lumbricoides* (2 girls: 0.3%) and *Trichuris trichiura* associated with *Giardia intestinalis* (one girl: 0.2%). At the age group 18-104 years old, were detected: *Blastocystis hominis* (50 subjects – 61.7%: 35 women and 15 men), *Giardia intestinalis* (19 subjects: 23.4%), *Entamoeba coli* (6 subjects: 7.4%) and all on 2 subjects *Ascaris lumbricoides* (2.5%), *Enterobius vermicularis* (2.5%), *Strongyloides stercoralis* (2.5%). **Conclusions:** 1) Of the 7111 tested subjects, the intestinal parasites were revealed in a small number (1.9%). 2) At the age group 0-17 years old, 60 subjects showed intestinal parasitic infections and of those, 58.3% presented *Giardia intestinalis*. 3) At the age group 18-104 years old, 81 subjects revealed intestinal parasites, the most common being *Blastocystis hominis* (61.7%). **Key words:** diarrhea, faeces, helminths, protozoa.

INFECȚIILE PARAZITARE INTESTINALE LA SUBIECȚII DIN AMBULATOR

Cecilia Boboș¹, Nicoleta Delia Botezan², Daniela Moga², Lia Monica Junie¹, Lucia Feticu Simonca², Ana-Maria Bîlc², Corina Alexandra Todor², Aurelia Doina Terec², Claudia Sorina Marc², Cristina Cotul²

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

Obiective: S-a urmărit investigarea subiecților care s-au prezentat în ambulator cu boală diareică acută, aceștia fiind suspecți de o parazitoză intestinală. **Material și metode:** În perioada 01.01.2008-31.12.2013, la 7111 subiecți a fost efectuat examenul coproparazitologic, preparatele native fiind examinate la microscopul optic. **Rezultate:** Din 7111 subiecți (60% subiecți de gen feminin și 40% subiecți de gen masculin), 4245 au fost copii și tineri cu vârsta de 0-17 ani (54,7% fete și 45,3% băieți) și 2866 subiecți au avut vârsta cuprinsă între 18 și 104 ani (67,9% femei și 32,1% bărbați). Din cei 7111 subiecți, la 141 subiecți (1,9%) au fost depistați paraziți intestinali, cum sunt: *Blastocystis hominis* (49%), *Giardia intestinalis* (38,3%), *Entamoeba coli* (6,4%), *Ascaris lumbricoides* (2,8%), *Enterobius vermicularis* (1,4%), *Strongyloides stercoralis* (1,4%), *Trichuris trichiura* asociat cu *Giardia intestinalis* (0,7%). Din cei 141 subiecți cu paraziți intestinali, la grupa de vârstă 0-17 ani au fost depistați 60 subiecți (42,6%) (34 fete și 26 băieți) și la grupa de vârstă 18-104 ani: 81 subiecți (57,4%) (53 femei și 28 bărbați). La grupa de vârstă 0-17 ani, au fost evidențiați: *Giardia intestinalis* (35 subiecți - 58,3%: 16 băieți și 19 fete), *Blastocystis hominis* (19 subiecți: 31,7%), *Entamoeba coli* (3 fete: 0,5%), *Ascaris lumbricoides* (2 fete: 0,3%) și *Trichuris trichiura* asociat cu *Giardia intestinalis* (o fată: 0,2%). La grupa de vârstă 18-104 ani s-au detectat: *Blastocystis hominis* (50 subiecți - 61,7%: 35 femei și 15 bărbați), *Giardia intestinalis* (19 subiecți: 23,4%), *Entamoeba coli* (6 subiecți: 7,4%) și la câte 2 subiecți *Ascaris lumbricoides* (2,5%), *Enterobius vermicularis* (2,5%), *Strongyloides stercoralis* (2,5%). **Concluzii:** 1) Din 7111 subiecți testați, la un număr mic (1,9%) s-au evidențiat paraziți intestinali. 2) La grupa de vârstă 0-17 ani, 60 subiecți au fost depistați cu infecții parazitare intestinale, din care 58,3% au prezentat *Giardia intestinalis*. 3) La grupa de vârstă 18-104 ani, la 81 subiecți s-au evidențiat paraziți intestinali, cel mai frecvent fiind *Blastocystis hominis* (61,7%).

Cuvinte cheie: diaree, materii fecale, helminți, protozoare.

P30. SUSCEPTIBILITY TO ANTIBIOTICS OF BACTERIAL SPECIES ISOLATED FROM URINARY TRACT INFECTIONS

Cecilia Boboș¹, Aurelia Doina Terec², Daniela Moga², Lia Monica Junie¹, Corina Alexandra Todor², Nicoleta Delia Botezan², Ana-Maria Bîlc², Claudia Sorina Marc², Cristina Cotul², Maria Borca²

1. Department of Microbiology, "Iuliu Hațieganu" University of Medicine and Pharmacy, Cluj-Napoca, 2. Integrated outpatient facility, Clinical Hospital for Infectious Diseases, Cluj-Napoca

Objectives: This study analyses the susceptibility to antibiotics of some bacterial strains isolated from urinary tract infections (UTI) in outpatients in order to initiate an adequate therapy. **Material and meth-**

ods: In the period 01.01.2012-31.12.2013, the bacterial strains were isolated from UTI in the 447 subjects aged 18 to 90 years: 270 (60%) women and 177 (40%) men. The standard disc-diffusion method was performed for testing the bacterial susceptibility to antibiotics. Of the 447 subjects, in the 194 (43.4%) the complete examination of urine was carried out. **Results:** The bacterial strains identified in the 447 subjects were: *Escherichia coli* 339 (75.8%) strains, *Enterococcus spp.* 44 (9.84%) strains, *Klebsiella spp.* 36 (8.1%) strains, *Proteus spp.* 15 (3.4%) strains, *Enterobacter spp.* 6 (1.3%) strains, *Staphylococcus aureus* 5 (1.11%) strains and *Pseudomonas aeruginosa* 2 (0.45%) strains. *Escherichia coli* strains were frequently susceptible to ceftazidime (95%), nitrofurantoin (94.1%), ceftibuten (91.4%), amoxicillin-clavulanate (86.8%), cefuroxime (84.3%), levofloxacin (77.2%), norfloxacin (75.5%) and 100% strains were susceptible to colistin. *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.* and *Enterobacter spp.* were 100% susceptible to levofloxacin and the most strains were susceptible to ceftazidime and ceftibuten. Beta-lactamase with extended spectrum was detected in the 3 strains of *Escherichia coli* and in the 2 strains of *Klebsiella pneumoniae*. *Pseudomonas aeruginosa* strains were susceptible to imipenem and colistin. *Enterococcus spp.* and *Staphylococcus aureus* were often susceptible to norfloxacin, levofloxacin, nitrofurantoin. Two strains of *Staphylococcus aureus* presented resistance to cefoxitin. In the 194 subjects of those 447, the complete examination of urine revealed the bacterial abundant flora and leukocytes and/or erythrocytes. **Conclusions:** 1) UTI was frequent in women (60%). 2) *Escherichia coli* was the main bacterial species identified (75.8%). 3) Fluoroquinolones are still useful and take an important place in the treatment of UTI. 4) The 194 subjects presented leukocytes and/or erythrocytes at the complete examination of urine. **Keywords:** bacteria, UTI, antibiotics, examination of urine.

SENSIBILITATEA FAȚĂ DE ANTIBIOTICE A SPECIILOR BACTERIENE IZOLATE DIN INFECȚIILE TRACTULUI URINAR

Cecilia Boboș¹, Aurelia Doina Terec², Daniela Moga², Lia Monica Junie¹, Corina Alexandra Todor², Nicoleta Delia Botezan², Ana-Maria Bîlc², Claudia Sorina Marc², Cristina Cotul², Maria Borca²

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

2. Ambulator integrat, Spitalul Clinic de Boli Infecțioase, Cluj-Napoca

Obiective: Acest studiu analizează sensibilitatea față de antibiotice ale unor tulpini bacteriene izolate din infecțiile tractului urinar (ITU) de la pacienții din ambulator, în scopul inițierii conduitei de tratament. **Material și metode:** În perioada 01.01.2012–31.12.2013, de la 447 subiecți cu vârsta cuprinsă între 18 și 90 ani: 270 femei (60%) și 177 bărbați (40%) au fost izolate tulpini bacteriene din ITU. Pentru testarea sensibilității bacteriene la antibiotice s-a utilizat antibiograma prin metoda difuzimetrică. Din 447 subiecți, la 194 (43,4%) a fost efectuat examenul complet de urină. **Rezultate:** Tulpinile bacteriene identificate la cei 447 subiecți au fost: *Escherichia coli* 339 tulpini (75,8%), *Enterococcus spp.* 44 tulpini (9,84%), *Klebsiella spp.* 36 tulpini (8,1%), *Proteus spp.* 15 tulpini (3,4%), *Enterobacter spp.* 6 tulpini (1,3%), *Staphylococcus aureus* 5 tulpini (1,11%) și *Pseudomonas aeruginosa* 2 tulpini (0,45%). Tulpinile de *Escherichia coli* au fost frecvent sensibile la ceftazidim (95%), nitrofurantoin (94,1%), ceftibuten

(91,4%), amoxicilină-acid clavulanic (86,8%), cefuroxim (84,3%), levofloxacin (77,2%), norfloxacin (75,5%) și 100% tulpini au fost sensibile la colistin. *Klebsiella spp.*, *Proteus spp.* și *Enterobacter spp.* au fost 100% sensibile la levofloxacin și cele mai multe au fost sensibile la ceftazidim și ceftibuten. Beta-lactamază cu spectru extins au prezentat 3 tulpini de *Escherichia coli* și 2 tulpini de *Klebsiella pneumoniae*. Tulpinile de *Pseudomonas aeruginosa* au fost sensibile la imipenem și colistin. *Enterococcus spp.* și *Staphylococcus aureus* au fost frecvent sensibile la norfloxacin, levofloxacin, nitrofurantoin. Două tulpini de *Staphylococcus aureus* au prezentat rezistență la cefoxitin. La 194 subiecți din cei 447, examenul complet de urină a evidențiat floră bacteriană abundentă și leucocite și/sau hematii. **Concluzii:** 1) ITU au fost frecvente la femei (60%). 2) *Escherichia coli* a fost principala specie bacteriană identificată (75,8%). 3) Fluoroquinolonele sunt în continuare utile și ocupă un loc important în tratamentul ITU. 4) 194 subiecți au prezentat leucocite și/sau hematii la examenul complet de urină.

Cuvinte cheie: bacterii, ITU, antibiotice, examen de urină.

P31. INTESTINAL COLONIZATION WITH EXTENDED-SPECTRUM B-LACTAMASE PRODUCING BACTERIA IN CHILDREN

Mihaela Botnarcu, Irina Stan, Claudia Cambrea

University Ovidius Constanța, County Emergency Hospital Constanța

Importance of the issue Correct detection of strains producing ESBL remains a challenge for the microbiology lab and is very important to avoid clinical failure due to inadequate antibiotic therapy. The aim of this study is to estimate the rate of intestinal colonization with ESBL bacteria in children. **Materials and methods:** There were investigated a number of 110 children. The study was conducted from October 2012 - July 2013. Cultivation in selective and differential media, biochemical identification, Microgen M44 E coli 0157 latex agglutination test were used. For the occurrence of ESBL phenotype we used the combined diffusion test (CDT) according to EUCAST recommendations. **Results:** We have identified the presence of the following microorganisms: E. coli 98 cases, 12 cases agglutinated with E coli 0157 latex test, Klebsiella pure or predominant, 9 cases Pseudomonas aeruginosa pure culture or predominant 8 cases, Acinetobacter baumannii 2 cases. E. Coli strains were 21.36% ESBL-producing (beta-lactamase producers group 2BE (ESBL), capable of inactivating third-generation cephalosporins (ceftazidime, cefotaxime, and cefpodoxime) and 3,41% had resistance against third-generation cephalosporins associated with Clavulanate (beta-lactamase producing 2BR ESBL). Klebsiella, Pseudomonas and Acinetobacter showed multiple resistance and ESBL production in significant number of cases. **Conclusions:** The use of antibiotics in children is recommended if a bacterial causative agent is suspected and isolated. As the epidemiology of ESBL strains is dynamic, beta-lactams must be indicated after sensitivity tests.

COLONIZAREA INTESTINALĂ CU BACTERII PRODUCĂTOARE DE B-LACTAMAZE CU SPECTRU EXTINS LA COPII

Mihaela Botnarcu, Irina Stan, Claudia Cambrea

Universitatea Ovidius Constanța, Spitalul Județean de Urgență Constanța

Importanța problemei: Detectarea tulpinilor producătoare de ESBL rămâne o provocare pentru laboratorul de microbiologie și este foarte important să se evite eșecul clinic urmare a tratamentului cu antibiotice inadecvate. Scopul lucrării a fost estimarea ratei colonizării intestinale cu bacterii ESBL la copii. **Material și metode:** Au fost investigați un număr de 110 de copii. Studiul a fost realizat în perioada octombrie 2012 - iulie 2013. Cultivarea s-a făcut pe medii selective și diferențiale, identificarea biochimică și test de latex aglutinare Microgen M44 pentru E coli 0157. Pentru detecția ESBL am folosit testul de difuzie combinat (CDT), conform recomandărilor EUCAST. **Rezultate:** Am identificat prezența următoarelor microorganisme: E. coli 98 de cazuri, dintr care 12 tulpini au prezentat aglutinare pentru E coli 0157, Klebsiella 9 cazuri, Pseudomonas aeruginosa cultură pură sau predominant 8 cazuri, Acinetobacter baumannii 2 cazuri. Pentru E.coli 21,36% dintre tulpini au fost producătoare de beta-lactamaze clasa 2BE, capabile de inactivarea cefalosporinelor de generația a treia (cefazidim, cefotaxim, și cefpodoxime), iar 3,41 % au prezentat rezistență față de cefalosporinele asociate cu clavulanat: producătoare de beta - lactamaze clasa 2BR. Un număr important de tulpini de Klebsiella, Pseudomonas și Acinetobacter au prezentat multiplă rezistență și producere de ESBL. **Concluzii:** Folosirea antibioticelor la copii este recomandată în cazul în care este suspectat și izolat un agent etiologic bacterian. Epidemiologia tulpinilor producătoare de ESBL fiind dinamică, beta-lactamicele trebuie indicate conform testelor de sensibilitate.

P32. THE ROLE OF INFECTED PET CATS IN DETERMINISM OF *TOXOPLASMA GONDII* ACUTE INFECTION IN PREGNANT AND NON-PREGNANT WOMEN

Andrei Csep ¹, Radu Spineanu ¹, Cristian Sava ¹, Simona Cheregi ¹

1. University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy

Background. Toxoplasmosis is a parasitic zoonosis, caused by the *Toxoplasma gondii* protozoan. Nearly one third of world population is infected with this parasite, the incidence varying with the geographic area. **Objectives.** Detection of Toxoplasma IgM and IgG antibodies in the cats population owned by pregnant and non-pregnant women with acute toxoplasmosis and negative serology, respectively, correlations related with cats age, sex, race and environment and assessment of the risk of acute toxoplasmosis in women. **Material and method.** The study included a cohort of 64 cats owned by women with

acute toxoplasmosis, compared to a group of 67 cats belonging to women with negative serology for toxoplasmosis. The serological profile (IgM and IgG antibodies) of the cats, was assessed using ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) method, dividing the cats in infected and non-infected groups. Results. 26,5% of the women with acute toxoplasmosis could be infected by their own pet cats. No correlations between cats' sex and acute toxoplasmosis in female owner could be established ($p=0,9011$). Infected pet cats from individual houses transmit acute infection 2,17 more frequently compared with the cats living in blocks of flats ($p=0,0110$, $rr=2,1702$, IC: 95%, 1,17-4,00). Cats aged between 37 and 48 months and common breeds transmit more currently acute infection ($p=0,0065$), ($p=0,0353$). **Conclusions.** Only 25,6% of women detected with acute toxoplasmosis could have been infected by their own pet cats. Cats from individual houses, those aged between 37 and 48 months and those belonging to common breeds, as well, represented an increased risk as source for acute infection with *Toxoplasma gondii*.

ROLUL PISICILOR PROPRII INFECTATE ÎN DETERMINISMUL INFECȚIEI ACUTE CU *TOXOPLASMA GONDII* LA FEMEILE GRAVIDE ȘI NEGRAVIDE

Andrei Csep ¹, Radu Spineanu ¹, Cristian Sava ¹, Simona Cheregi ¹

1. Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie

Introducere: Toxoplasmoza este o zoonoză parazitară, a cărei agent etiologic este protozoarul *Toxoplasma gondii*. Aproximativ o treime din populația globului este infectată cu acest parazit, cu variații importante în funcție de regiunea geografică. **Obiectiv:** Determinarea anticorpilor IgM și IgG toxoplasma la pisicile femeilor gravide și negravide cu toxoplasmoză acută și cu serologie negativă, precum și corelațiile dintre sex, vârstă, rasă și mediul de proveniență al pisicii și riscul de apariție al toxoplasmozei acute la femei. **Material și metodă:** Studiul a inclus 64 de pisici aparținând femeilor cu toxoplasmoză acută, respectiv 67 de pisici aparținând celor cu serologie negativă pentru *Toxoplasma gondii*. Prin metoda ELISA (Enzyme-linked Immunosorbent Assay) s-a determinat profilul serologic al acestora (anticorpii IgM și IgG), încadrându-se ulterior în pisici infectate (acute și cu infecție acută în antecedente) și neinfectate. **Rezultate:** Rezultatele investigațiilor au arătat faptul că 26,5% din femeile cu toxoplasmoză acută au putut fi infectate de propria pisică. Nu există corelație între sexul pisicii infectate și apariția toxoplasmozei acute în rândul femeilor studiate ($p=0,9011$). Pisicile infectate, din gospodăriile individuale, transmit de 2,17 ori mai frecvent infecția, comparativ cu pisicile din blocurile de locuințe ($p=0,0110$, risc relativ = 2,1702, IC:95% 1,17-4,00). Pisicile cu vârsta între 37-48 de luni și cele din rasa comună, transmit mai frecvent infecția ($p=0,0065$), ($p=0,0353$). **Concluzii:** Doar 25,6% din femeile cu toxoplasmoză acută au putut fi infectate de propria pisică. Pisicile din gospodăriile individuale, în vârstă de 37-48 de luni și din rasa comună, au reprezentat un risc mai mare ca sursă de infecție.

P33. RELATIONSHIP BETWEEN TOXOPLASMIC CHORIORETINITIS IN IMMUNOCOMPROMISED AND IMMUNOCOMPETENT INDIVIDUALS

Andrei Csep

University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy

Background. Toxoplasmic chorioretinitis occurs after acute infection with *Toxoplasma gondii*, or after reactivation of chronic infection. **Objectives.** To determine the frequency of toxoplasmic chorioretinitis occurrence in immunocompromised compared to immunocompetent hosts, and also to establish the correlations between the two groups. **Material and method.** IgM, IgG and IgA *T. gondii* antibodies were tested in a group of 607 pregnant and non-pregnant women. From the studied women 299 were infected with toxoplasma. Levels of IgM and IgG antibodies against *T. gondii* were ascertained using CLIA method in 30 HIV positive patients recorded in Bihor county; in the same group, using EIA method, levels of *T. gondii* IgA antibodies were measured. Twelve patients were found positive with toxoplasmosis. All infected patients underwent ophthalmologic examination in order to assess the presence of chorioretinitis. **Results.** Of the 299 immunocompetent women infected with toxoplasma, only 7 (2,3%) were diagnosed with chorioretinitis. Contrariwise, of the 12 immunocompromised HIV patients associating toxoplasmosis, 3 individuals (25%) were identified with chorioretinitis. Differences between the two groups were statistically significant ($p=0,0004$, $rr=10,6786$, IC: 95% 3,14-36,28). **Conclusions.** Immunocompromised patients have significantly increased risk for toxoplasmic chorioretinitis compared to the immunocompetent group ($rr=10,6786$).

CORELAȚIA DINTRE CHORIORETINITA TOXOPLASMICĂ LA PACIENȚII IMUNOCOMPETENȚI ȘI IMUNODEPRIMAȚI

Andrei Csep

Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie

Introducere. Chorioretinita toxoplasmică apare în urma infecției acute cu *Toxoplasma gondii*, sau prin reactivarea infecției cronice. **Obiective:** Determinarea frecvenței apariției chorioretinitei toxoplasmice la pacienții imunodeprimați și imunocompetenți, precum și corelațiile existente între cele două loturi. **Material și metodă:** Prin metoda MEIA (Microparticle Enzyme Immunoassay), CLIA (Chemiluminescence Immunoassay) și EIA (Enzyme Immunoassay), am determinat anticorpii de tip IgM, IgG respectiv IgA toxoplasma, în rândul celor 607 negravidе și gravide luate în studiu, dintre care 299 femei s-au dovedit a fi infectate. În rândul celor 30 de pacienți infectați HIV din județul Bihor, prin metoda CLIA am determinat anticorpii de tip IgM și IgA toxoplasma iar prin metoda EIA pe cei de tip IgA toxoplasma, 12 dintre aceștia fiind infectați cu *Toxoplasma gondii*. Toți bolnavii infectați au fost examinați oftalmologic pentru stabilirea modificărilor de chorioretinită. **Rezultate:** Din cele 299 femei imunocompetente infectate cu *Toxoplasma gondii*, doar 7 (2,3%) au prezentat chorioretinită. Dintre cei 12 pacienți imunodeprimați prin HIV, infectați cu *Toxoplasma gondii*, 3 (25%) au prezentat chorioretinită. Diferența dintre cele două

categorii de bolnavi este semnificativă statistic ($p = 0,0004$, risc relativ = 10,6786 IC: 95% 3,14-36,28). **Concluzii:** Pacienții imunodeprimați ,au un risc mult mai mare de a prezenta coriretinită toxoplasmică față de cei imunocompetenți ($rr = 10,6786$).

P34. DETECTION OF EXTENDED-SPECTRUM BETA-LACTAMASES PRODUCING-ENTEROBACTERIACEAE IN CLINICAL ISOLATES

Lavinia Daba, Victoria Braga, Mihaela Botnarcu, Adina Barbu

„Ovidius” University, Constanța

The presence of an extended-spectrum beta-lactamases (ESBL)-producing organism in a clinical infection can result in treatment failure if one of the beta-lactams (except carbapenems and cephamycins) is used. We performed a retrospective study of ESBL-producing enterobacteria in order to compare different strains. We included 180 strains isolated from various biological samples in our study. Identification of species and sensitivity test was performed on card GN-ID and AST-GN 27 with Vitek 2 systems, version 02.01n. During the one month period we found 100 strains of *Escherichia coli* and 80 strains of *Klebsiella pneumoniae* out of 1600 samples. From 100 strains of *Escherichia coli* 18 were ESBL positive (18%) and 14 was isolated from uroculture. 10 patients with urinary tract infections were from Nephrology department. ESBL-positive *Escherichia coli* has also an extended resistance to other antibiotics such as fluoroquinolones, aminoglycosides and sulfonamides. From 80 strains of *Klebsiella pneumoniae* 44 were ESBL positive (55%). Most of them were isolated from urine (26) and second from respiratory tract infections (10). From ESBL-negative strains of *Klebsiella pneumoniae* (36) only 26 were sensitive also to different groups of antibiotics. In conclusion, we report a significantly high resistance to common antibiotics among the enterobacteria in the present study. Furthermore, the very high rate of ESBL-positive is of concern, and monitoring for the same is necessary to prevent treatment failure and increased morbidity. Increased prevalence of Enterobacteriaceae resistant to extended spectrum beta-lactamases has been reported all over Europe, albeit with a great variability in the occurrence and distribution of ESBL associated enzymes.

DETECȚIA ENTEROBACTERIILOR PRODUCĂTOARE DE BETA-LACTAMAZE CU SPECTRU EXTINS ÎN DIFERITE PRODUSE BIOLOGICE

Lavinia Daba, Victoria Braga, Mihaela Botnarcu, Adina Barbu

Universitatea „Ovidius”, Constanța

Introducere: Izolarea microorganismelor producătoare de beta-lactamaze cu spectru extins (ESBL) în infecțiile clinice poate indica eșecul tratamentului cu beta-lactaminele (cu excepția carbapenemelor și a cefamicinelor) care se utilizează. Obiectiv: Am realizat un studiu retrospectiv pe enterobacterii pro-

ducătoare de ESBL care a inclus 180 de tulpini izolate din diferite produse biologice. Studiul a urmarit comparativ diferite specii de enterobacterii. Material și metodă: Identificarea și testarea sensibilității s-a realizat pe sistemul Vitek 2, versiunea 02.01n, cu ajutorul cardurilor GN-ID și AST-GN 27. Pe o perioadă de o lună am identificat 100 de tulpini de *Escherichia coli* și 80 tulpini de *Klebsiella pneumoniae* în 1600 de produse prelucrate. Rezultate: Din cele 100 de tulpini de *Escherichia coli* 18 au fost ESBL-pozitive (18%) și 14 au fost izolate din uroculturi. Dintre pacienții cu infecții urinare, 10 au provenit din secția de Nefrologie. Tulpinile de *Escherichia coli* ESBL-pozitive au prezentat de asemenea rezistență la fluoroquinolone, aminoglicozide sau sulfamide. Din cele 80 de tulpini de *Klebsiella pneumoniae*, 44 au fost ESBL-pozitive (55%). Majoritatea au fost izolate din urină (26) și pe locul doi din infecții respiratorii (10). Dintre tulpinile de *Klebsiella pneumoniae* ESBL-negative (36) numai 26 au fost sensibile și la alte clase de antibiotice. Concluzii: S-a observat în studiul de față o rezistență crescută a tulpinilor izolate la antibioticele cele mai utilizate. Mai mult, este îngrijorătoare rata crescută de bacterii ESBL-pozitive și ar trebui monitorizată în scopul prevenirii unei creșteri a morbidității pe seama tratamentului inefficient. S-a raportat în toată Europa o creștere a prevalenței enterobacteriilor ESBL-pozitive, cu toate că există o variabilitate deosebită a apariției și a distribuției enzimelor asociate.

P35. SCREENING FOR HIGH-RISK HPV TYPES IN WOMEN WITH ASC-US CERVICAL CYTOLOGY

Lavinia Daba, Adina Barbu, Mihaela Botnarcu, Alina Martinescu, Victoria Braga

“Ovidius” University, Constanța

Early diagnosis is possible when high risk HPV-16 and 18, associated with 70% of cervical cancers are diagnosed by an innovative HPV detection/genotyping assay which amplifies only specific targets without any cross reactivity.

In our study we try to evaluate of methods of molecular biology prevalence for high risk HPV strains compared with Pap smear testing in women with ASC-US positive.

We used Seeplex® HPV4A ACE Screening to assess the presence or absence of high-risk HPV types in 20 women under 30 years and 20 women older than 30 years with ASC-US (atypical squamous cells of undetermined significance) positive, compared with a group of 10 women with smear negative for intraepithelial lesion or malignancy.

The Seeplex® HPV4A ACE Screening is designed to simultaneously genotype (HPV-16 and 18) and screen for 16 high-risk HPV types (26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82) / HPV-6/11. The Seeplex® HPV4A ACE Screening is based on three major processes: nucleic acid isolation; PCR amplification of target DNA using DPOTM primers; detection on agarose gel electrophoresis.

For women under 30 years with ASCUS cytology positivity for HPV16/18 and HPV 45, considered the most dangerous, was 12.5% and 20.5% in women over 30 years.

Use of Seeplex® HPV4A ACE Screening provides the possibility to determine simultaneously the most important high-risk HPV types, but must be used in combination with cytology and colposcopy. The younger age of women with invasive cervical cancers indicates the importance of screening programs.

SCREENING-UL PENTRU INFECTIA CU GENOTIPURILE HPV CU RISC ONCOGEN CRESCUT LA FEMEII CU CITOLOGIE CERVICALA ASC-US

Lavinia Daba, Adina Barbu, Mihaela Botnarcu, Alina Martinescu, Victoria Braga

Universitatea "Ovidius", Constanța

Diagnosticul precoce al infecției cu tipurilor 16 și 18 de HPV cu risc crescut pentru cancer cervical este posibil prin metode de genotipare. Au fost amplificate numai ținte specifice și nu s-au raportat reacții încrucișate.

Obiectivul lucrării a fost evaluarea prin metode de biologie moleculară a prevalenței pentru tulpinile HPV cu risc crescut comparativ cu testul Babeș-Papanicolau, la femeile cu ASC-US (atypical squamous cells of undetermined significance) pozitiv.

Am folosit o trusă de screening Seeplex® HPV4A ACE pentru detecția tipurilor de HPV cu risc crescut la 20 paciente sub și respectiv peste 30 de ani cu ASC-US la citologia vaginală, comparativ cu un lot de 10 femei cu rezultat negativ pentru leziuni intraepiteliale sau maligne. Seeplex® HPV4A ACE Screening detectează simultan genotipul (16 și 18) și screeningul pentru HPV16 (26, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 53, 56, 58, 59, 66, 68, 73, 82) / HPV-6/11. Metoda are trei etape principale: izolarea acizilor nucleici, amplificarea prin tehnica PCR a țintei de ADN folosind primeri DPOTM și detecția prin electroforeză pe gel de agaroză.

Dintre femeile cu ASC-US pozitiv sub 30 de ani 12,5% au avut prezent HPV 16/18 sau HPV 45, considerate cele mai periculoase. În cazul femeilor de peste 30 de ani s-au identificat probe pozitive la 20,5%.

Utilizarea trusei de screening Seeplex® HPV4A ACE oferă posibilitatea determinării simultane a tipurilor de HPV cu risc crescut de determinare a cancerului cervical, dar aceasta trebuie folosită în paralel cu citologia și colposcopia. Scăderea vârstei de apariție a cancerului cervical subliniază importanța programelor de screening.

P36. URINARY TRACT INFECTIONS IN THE PEDIATRIC POPULATION OF GALAȚI COUNTY

Michaela Dobre, Gabriela Gurău, Dana Tutunaru

"Dunarea de Jos" University of Galati, Faculty of Medicine and Pharmacy

This study aims to determine the prevalence and the etiology of urinary tract infections in children from Galati County, specifying the antibiotic resistance of isolates from urine. **Materials and methods:** The study assessed a group of 5510 patients, aged from 0-18 years (2227 boys, 3283 girls) admitted to the Clinical Emergency Hospital for Children from Galati between January-December 2012, who was recommended urine microbiological investigation. **Results:** Considering the cultures performed, 5.34% were positive, showing the presence, as pathogenic germ, of *Escherichia coli* (62%), *Klebsiella spp.* (10%), *Proteus spp.* (8%), *Staphylococcus spp.* (6%), *Streptococcus spp.* (4%), *Enterobacter spp.* (4%),

Enterococcus (2%), *Pseudomonas* (2%) or other germs (2%). Urinary infection was more common in female patients (69%). Antibiograms revealed an increased sensitivity of *E. coli* strains to ciprofloxacin (88% strains) and gentamicin (78% strains), a significant resistance to ampicillin (68% strains) and an increased resistance to cotrimoxazole (56% strains) when compared to previous years. *Klebsiella spp* exhibits sensitivity to ciprofloxacin (64% strains), gentamicin (53% strains), and resistance to ampicillin (all strains). **Conclusions:** *Escherichia coli* is the main pathogen causative of urinary tract infection in the pediatric population of Galați. Laboratory investigations direct to a personalized treatment in response to bacterial versatility and effective health recovery.

INFECȚIA DE TRACT URINAR ÎN POPULAȚIA PEDIATRICĂ A JUDEȚULUI GALAȚI

Michaela Dobre, Gabriela Gurău, Dana Tutunaru

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

Obiectivul studiului constă în determinarea prevalenței și etiologiei infecțiilor de tract urinar la copiii din teritoriul județului Galați, precum și determinarea rezistenței la antibiotice a tulpinilor izolate. **Material și metode:** Studiul a fost efectuat pe un lot format din 5510 pacienți cu vârsta cuprinsă între 0-18 ani (2227 băieți, 3283 fete), internați în Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii din Galați în perioada 1.01.2012-31.12.2012, cărora li s-a recomandat investigarea microbiologică a urinii. **Rezultate:** Din totalul uroculturilor efectuate, 5.34% au fost pozitive ca urmare a prezenței următorilor agenți patogeni: *Escherichia coli* (62%), *Klebsiella spp.* (10%), *Proteus spp.* (8%), *Staphylococcus spp.* (6%), *Streptococcus spp.* (4%), *Enterobacter spp.* (4%), *Enterococcus* (2%), *Pseudomonas* (2%), alți germeni (2%). Infecția urinară a fost mai frecventă la pacienții de sex feminin (69%). Antibiogramele efectuate au relevat o sensibilitate crescută a tulpinilor de *Escherichia coli* la ciprofloxacin (88% tulpini) și gentamicină (78% tulpini), o rezistență semnificativă la ampicilină (68% tulpini) și o accentuare a rezistenței la cotrimoxazol (56% tulpini), comparativ cu anii precedenți. *Klebsiella spp.* a manifestat sensibilitate la ciprofloxacin (64% tulpini), la gentamicină (53% tulpini) și rezistență la ampicilină (toate tulpinile). **Concluzii:** *Escherichia coli* și *Klebsiella spp* reprezintă agenții patogeni cei mai frecvent întâlniți în etiologia infecției de tract urinar la populația pediatrică a județului Galați. Investigațiile de laborator susțin abordarea personalizată a tratamentului ca răspuns la versatilitatea bacteriană, cu obținerea eficientă a recuperării stării de sănătate.

P37. TOXOPLASMA GONDII INFECTION IN PEDIATRIC PATHOLOGY

Gheorghe Enache, Gabriela Gurău, Michaela Dobre, Dana Tutunaru

"Dunărea de Jos" University of Galați, Faculty of Medicine and Pharmacy

This study aims to determine the incidence of acute toxoplasmosis, clinical features and laboratory findings in children. **Material and methods:** The retrospective study (January 2011 – March 2014) was conducted on a group of 393 children aged 6 months to 18 years, admitted in the Clinical Emergency Hospital for Children from Galați. *IgG* and *IgM* anti-*Toxoplasma* antibodies titres were measured by chemiluminescence (*Immulate* analyzer). **Results:** The incidence of acute toxoplasmosis was 1.02% (pres-

ence of both IgM and IgG anti-*Toxoplasma* antibodies). IgG anti-*Toxoplasma* antibodies were present in significant concentrations in 6.62% of patients. Lymphadenopathy was the most common symptom (50%), followed by hepatomegaly with hepatic cytolysis (40%). We found etiological association (toxoplasmosis, CMV) in 40% of cases. The treatment was indicated only for patients IgM anti-*Toxoplasma* antibodies positive or lasting symptomatology and IgG anti-*Toxoplasma* antibodies titers over 100 IU / ml. **Conclusions:** *Toxoplasma gondii* should be considered when establishing the etiology of adenopathies that last for over 4 weeks. Determination of specific antibody titer is essential for diagnosis and their quantitative determination is useful for health assessing and therapeutic management.

INFECȚIA CU *TOXOPLASMA GONDII* ÎN PATOLOGIA PEDIATRICĂ

Gheorghe Enache, Gabriela Gurău, Michaela Dobre, Dana Tutunaru

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

Scopul studiului constă determinarea incidenței toxoplasmozei acute și a caracteristicilor clinice și paraclinice la copii. **Material și metodă:** Studiu retrospectiv (ianuarie 2011 - martie 2014) a fost efectuat pe un lot de 393 copii, cu vârstă cuprinsă între 6 luni și 18 ani, internați în secțiile Spitalului Clinic de Urgență pentru Copii „Sfântul Ioan” din Galați. Titrul anticorpilor anti-*Toxoplasma gondii* de tip IgG și IgM s-a determinat prin chemiluminescență (analizor *Immulate*). **Rezultate:** Incidența toxoplasmozei acute a fost de 1.02% (anticorpilor anti-*Toxoplasma* IgM și IgG prezenți). Anticorpilor anti-*Toxoplasma gondii* IgG au fost prezenți în concentrații semnificative la 6,62% din pacienți. Adenopatia a fost cea mai frecventă simptomatologie (50%), urmată de hepatomegalie cu hepatocitoliză (40%). În 40% din cazuri au existat asocieri etiologice (toxoplasmoză, CMV). Tratamentul a fost indicat doar pacienților cu anticorpi anti-*Toxoplasma* IgM prezenți sau cu simptomatologie trenantă și titruri de anticorpi IgG anti-*Toxoplasma* peste 100 UI/ml. **Concluzii:** *Toxoplasma gondii* trebuie avută în vedere la stabilirea etiologiei adenopatiilor trenante de peste 4 săptămâni. Determinarea titrului de anticorpi specifici este indispensabilă pentru stabilirea diagnosticului iar determinarea lor cantitativă este utilă pentru aprecierea evoluției stării de sănătate și a conduitei terapeutice.

P38. POTENTIAL UNDERESTIMATED RISK OF INFESTATION WITH *STRONGYLOIDES STERCORALIS* WITHIN MEDICAL PERSONNEL

Piotr Brzezinski¹, Anca Chiriac², Vasilica Toma³, Liliana Foia³

1. Department of Dermatology, 6th Military Support Unit, Ustka, Poland; 2. Department of Dermatology and Physiology, Apollonia University, Iasi, Romania; 3. Department of Surgery, University of Medicine and Pharmacy "Gr. T. Popa" Iasi

Introduction. *Strongyloides stercoralis* (SS) is a widely distributed nematode or roundworm belonging to genus *Strongyloides*, living in soil rich in organic material, frequently in tropical or subtropical areas. Strongyloidiasis caused by this nematode appears to have a high prevalence in some areas of Brazil and

Central America, representing a rare infection in developed countries. The infection with SS has been barely reported in Poland during the last decades. **Objectives.** Presentation of the routine laboratory investigation result for gastrointestinal parasitic diseases of the medical staff, from a medical unit in Poland. **Material and methods.** During our investigation, 14 persons have been tested. The diagnosis of SS infection was performed by identification of parasite larvae in the stool. **Results.** Of the 14 persons investigated, 5 recorded positive results with rhabditiform SS larvae, representing 35,71%, while only one subject presented symptoms (pruritus ani, periodic diarrhea, fatigue). Our reports included a case with infestation of 4 relatives of one member of the medical personnel. For positive subjects, treatment with albendazole - for 3 days and 10 days after the replay was recommended. **Conclusions.** Examination of stool proved to have quite a low sensitivity, which could partly explain the underestimation of the parasitic infestation among general population. Fecal-based diagnosis of infection with SS is not sufficient to appreciate the therapeutic benefit, serology being potentially of great value in these cases. Medical personnel are considered high-risk group population, and careful measures must be followed.

SUBESTIMAREA RISCULUI DE INFESTARE CU *STRONGYLOIDES STERCORALIS* ÎN RÂNDUL PERSONALULUI DIN INSTITUȚIILE MEDICALE

Piotr Brzezinski ¹, Anca Chiriac ², Vasilica Toma ³, Liliana Foia ³

1. *Departmentul de Dermatologie, 6th Military Support Unit, Ustka, Poland;* 2. *Departmentul de Dermatologie și Fiziologie, Universitatea Apollonia, Iasi, Romania;* 3. *Departmentul de Chirurgie, Universitatea de Medicină și Farmacie "Gr. T. Popa" Iasi*

Introducere. *Strongyloides stercoralis* (SS) este un nematod larg distribuit aparținând genului Strongyloides, care trăiește în soluri bogate în materii organice, frecvent în zonele tropicale și subtropicale. Strongiloidiaza cauzată de acest nematod pare să aibă o prevalență ridicată în unele zone din Brazilia și America Centrală, reprezentând o infecție rară în țările dezvoltate. Infecția cu SS a fost rareori raportată în Polonia în ultimele decenii. **Obiective.** Prezentarea rezultatului investigării de laborator de rutină pentru boli parazitare gastro-intestinale a personalului medical dintr-o unitate spitalicească din Polonia. **Material și metodă.** Au fost investigate 14 persoane. Infecția cu SS a fost diagnosticată prin identificarea în materiile fecale a larvei sau parazitului SS. **Rezultate.** Din cei 14 subiecți investigați, 5 au fost depistați pozitiv, cu forme rhabditiforme de SS, reprezentând un procent de 35,71%, un singur subiect prezentând simptomatologie (pruritus ani, diaree ocazional, oboseală). S-a constatat infestarea într-un caz a 4 membrii ai familiei. Tratamentul recomandat în cazul persoanelor cu infestare cu SS a constat în administrarea de albendazol. **Concluzii.** Examinarea materiilor fecale are o sensibilitate relativ mică, ceea ce ar explica în parte, subestimarea infecției cu acest parazit în populație. Diagnosticul fecal al infecției cu SS nu este întotdeauna suficient în aprecierea eficienței terapeutice, serologia putând avea o contribuție semnificativă în acest sens. Personalul medical poate constitui grup de risc pentru acest tip de infestare, impunându-se măsuri corespunzătoare de identificare și terapie.

P39. CUTANEOUS LEISHMANIASIS AND WEGENER'S GRANULOMATOSIS IN NON-ENDEMIC AREAS—DIAGNOSTIC TOOLS

Liliana Foia ¹, Anca Chiriac ², Mioara Trandafirescu ¹, Petru Cioloca ¹, Piotr Brzezinski ³

1. University of Medicine and Pharmacy "Gr. T. Popa" Iasi, Romania; 2. Department of Dermatology and Physiology, Apollonia University, Iasi, Romania; 3. Department of Dermatology, 6th Military Support Unit, Ustka, Poland

Case report. Cutaneous Leishmaniasis is a parasitic disease due to *Leishmania major* and *L. tropica*, spread by the bite of infected sand flies. The disease is found in parts of about 88 countries on 4 continents. It is not reported in Central and Nordic Europe other than accidental. A 27-year-old woman referred to dermatology department for chronic evolution of deep ulcerations on her right arm appeared one year before the present examination. In May 2012 she was in a trip to Guatemala and she enjoyed a walking through the jungle. A few months later she noticed an erythematous plaque with progression to ulcerations on the right arm. In May 2013 deep ulcers were observed and a first biopsy was performed in July 2013 concluding Wegener's granulomatosis. At that moment only few lab parameters draw attention: CRP=15.35 (N: 0-5), rheumatoid factor - 31.40 (N: 0-15). Serum markers of the disease c-ANCA and pANCA were negative. Second biopsy done in September 2013 revealed necrotizing granulomatous inflammation with numerous multinucleated giant cells. Cultures were all negative; no microorganisms were evidenced on Ziehl-Neelsen, Giemsa or mucicarmine stains. Third biopsy in October 2013 described perivascular and interstitial infiltrate with lymphocytes, plasma cells, eosinophil, neutrophils and necrotizing histocytic granulomas. We concluded possible cutaneous Leishmaniasis with Wegener's granulomatosis based on the clinical aspect correlated with histopathological reports. Various laboratory methods can be used to diagnose leishmaniasis, based on impression smears and histopathology (Giemsa and hematoxylin eosin stain) from biopsy specimens and culture and PCR from aspirates.

LEISHMANIAZĂ CUTANATĂ ȘI GRANULOMATOZĂ WEGENER ÎN ZONE NON-ENDEMICE – METODE DE DIAGNOSTIC

Liliana Foia ¹, Anca Chiriac ², Mioara Trandafirescu ¹, Petru Cioloca ¹, Piotr Brzezinski ³

1. Universitatea de Medicină și Farmacie "Gr. T. Popa" Iași, Romania; 2. Departamentul de Dermatologie și Fiziologie, Universitatea Apollonia, Iași; 3. Departamentul de Dermatologie, 6th Military Support Unit, Ustka, Poland

Raport de caz. Leishmaniaza cutanată este o boală parazitară datorată *Leishmania major* și *L. Tropica*, răspândită prin înțepătura muștelor de nisip infectate. Boala se regăsește în zone din 88 de țări de pe 4 continente, nefiind raportată în zonele centrale sau nordice ale Europei decât accidental. Cazul nostru prezintă o femeie în vârstă de 27 de ani care s-a prezentat la departamentul de dermatologie pentru ulceratii profunde cu evoluție cronică pe brațul dreapt, apărute cu un an înainte de momentul examinării. La câteva luni după o plimbare prin junglă în cadrul unei călătorii în Guatemala, pe brațul drept a observat o placă eritematoasă cu progresie spre ulceratie. În mai 2013 s-au observat ulcere profunde

iar o primă biopsie în iulie 2013 a diagnosticat granulomatoză Wegener. La acel moment, doar câțiva parametri de laborator atrăgeau atenția: CRP = 15.35 (N: 0-5), factor reumatoid - 31.40 (N: 0-15). Markerii serici de boală c-ANCA și pANCA au fost negativi. A doua biopsie efectuată în septembrie 2013 a relevat inflamație granulomatoasă necrotică cu numeroase celule gigante multinucleate. Culturile au fost toate negative, colorațiile Ziehl-Neelsen, Giemsa sau mucicarmin ne-evidențiind prezența microorganismelor. Cea de-a treia biopsie efectuată în octombrie 2013 a descris infiltrat interstițial, perivascular cu limfocite, celule plasmatic, eozinofile, neutrofile și granuloame histocitare necrozante. Corelând aspectul clinic cu rapoartele histopatologice, s-a diagnosticat Leishmaniază cutanată cu granulomatoză Wegener. Metodele de laborator în diagnosticul leishmaniozei sunt multiple, având la bază evaluarea histopatologică din biopsie, precum și cultura și PCR din aspiratul celular obținut fie din leziunile cutanate, măduva osoasă sau noduli limfatici.

P40. THE IDENTIFICATION OF *PREVOTELLA INTERMEDIA* IN THE AGGRESSIVE PERIODONTITIS BY POLYMERASE CHAIN REACTION

Mircea Grigorian¹, Cristina Nuca¹, Victoria Badea¹, Alina Martinescu², Lucian Petcu¹, Andrei Dan Branza³, Alin Odor¹, Anca Pavalache², Aureliana Caraiane¹

1. Ovidius University Constanța, 1. Faculty of Dental Medicine, 2. Faculty of Medicine, 3. Faculty of Pharmacy

Introduction Aggressive periodontitis (AgP) is an inflammatory disease of the periodontium, being caused by a variety of facultative aerobic and anaerobic bacteria. AgP occurs in young adults and leads to rapid and irreversible loss of permanent teeth. From the established periodontal bacterial species we have chosen *Prevotella intermedia* (Pi) species, given that in the speciality literature is noted the link between its presence and AgP onset. **Objective** The purpose of this study is to establish a possible link between the presence of species *Prevotella intermedia*, and the presence of BPA, by using for identification the polymerase chain reaction (PCR), a very specific and highly sensitive method. **Material and methods** In the study we clinically evaluated 41 subjects, from which 10 were the control group, being oro-dental clinically healthy and 31 were diagnosed with AgP by using periodontal pocket depth (PPD). We sampled periodontal gingival fluid and pus samples, which were analyzed by DNAStrip technology (MicroIDent® test). The results were statistically interpreted using SPSS 18. **Results** The AgP group was divided into group A - 20 patients with PPD between 4 and 5 and group B - 11 patients with PPD between 6 and 9. There are highly significant differences ($p = 0.0001$) among the three groups regarding the presence of *Pi* species; there is also a high correlation ($p = 0.0061$) between the presence of *Pi* species identified in the two groups with AgP. **Conclusions** Our study clearly demonstrates that by using the PCR method for identifying the *Pi* species we can make a fair assessment of oro-dental status in AgP.

IDENTIFICAREA *PREVOTELLA INTERMEDIA* ÎN BOALA PARODONTALĂ AGRESIVĂ PRIN REACȚIA DE POLIMERIZARE ÎN LANȚ

Mircea Grigorian¹, Cristina Nuca¹, Victoria Badea¹, Alina Martinescu², Lucian Petcu¹, Andrei Dan Branza³, Alin Odor¹, Anca Pavalache², Aureliana Caraiane¹

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

Introducere Boala parodontală agresivă (BPA) este o boală inflamatorie a parodontiului, fiind cauzată de o gamă variată de bacterii facultativ aerobe și anaerobe. BPA apare la adulții tineri și duce la pierderea rapidă și ireversibilă a dinților permanenți. Dintre speciile bacteriene consacrate parodontopatogene am ales specia *Prevotella intermedia* (*Pi*) dat fiind faptul că în literatura de specialitate este notată legătura dintre prezența ei și debutul BPA. **Obiectiv** Scopul acestui studiu este stabilirea unei posibile corelații între prezența speciei *Prevotella intermedia* și instalarea BPA, folosind pentru identificare reacția de polimerizare în lanț (PCR), o metodă foarte specifică și foarte sensibilă. **Material și metode** În studiu au fost evaluați clinic 41 de subiecți, din care 10 au reprezentat grupul de control, fiind sănătoși clinic orodentar și 31 au fost diagnosticați cu BPA, utilizând adâncimea pungii parodontale (APP). Am prelevat lichid gingival și puroi parodontal, probele fiind analizate prin tehnologia StripADN (MicroIDent® test). Rezultatele au fost interpretate statistic folosind SPSS 18. **Rezultate** Grupul BPA a fost împărțit în grupul A – 20 de pacienți cu APP între 4 și 5 și grupul B – 11 pacienți cu APP între 6 și 9. Există diferențe înalt semnificativ statistice ($p=0.0001$) între cele trei grupuri privind prezența speciei *Pi*; există deasemenea o corelație înaltă ($p=0.0061$) între prezența speciei *Pi* identificată la cele două grupuri cu BPA. **Concluzii** Studiul nostru demonstrează clar faptul că folosind metoda PCR pentru identificarea speciei *Pi* se poate face o evaluare corectă a statusului oro-dentar în BPA.

P41. METHODS FOR NOSOCOMIAL INFECTION CONTROL IN PRIVATE DENTISTRY FROM CONSTANTA

C.Nuca, V Badea, D.F Petrovici, A.C Nuca, F.C Badea, C Pușcasu, M Grigorian, A.Caraiane

Faculty of Dentistry, Ovidius University, Constanța

Introduction: Nosocomial infection control is an important part of practice in dentistry. **Objective:** Evaluation of the methods used for nosocomial infection control in dentists from Constanta. **Material and methods:** The study was made on an initial sample of 243 dentists (95% confidence level, 7% sampling error), using a self-administered questionnaire, piloted before this study. Ethical permission and written informed consents were obtained. Statistics used SPSS 19. **Results:** The response rate was 93.82% and final sample comprised 228 subjects; $kappa$ value for test-retest of the questionnaire was very good; 88.6% of respondents are always using all protection barriers; 99.1% always wash their hands before applying gloves and after degloving; 98.2% are always disinfecting critical surfaces and 37.7%

are always heat-sterilize handpieces after each patient; 90.4% are always using suction and 69.3% are always working at four hands, for limiting the autogenous and cross-infection; 100% use puncture-proof containers for collection/disposal the used sharps; in 88.6% of cases all office personnel is specifically immunized against HBV; 76.3% reported regular testing of clinical staff for major diseases transmitted by blood; 72.8% displays the post-exposure protocol for accidental exposure at VHB and HIV, but only 93.9% are following this protocol after each exposure; 96.5% of subjects use dry heat and 75.4% use wet heat sterilization. **Conclusion:** The study showed that a high, but not a hundred percent of dentists are always using the universal precautions, regardless of labor; continuing education is required to update their knowledge regarding the potential for nosocomial infections in private practice.

METODELE UTILIZATE PENTRU PREVENIREA INFECȚIILOR NOSOCOMIALE ÎN MEDICINA DENTARĂ DIN CONSTANȚA

C.Nuca, V Badea, D.F Petrovici, A.C Nuca, F.C Badea, C Pușcasu, M Grigorian, A.Caraiane

Facultatea de Medicină Dentară, Universitatea Ovidius Constanța

Introducere: Controlul infecțiilor nosocomiale reprezintă un element important în medicina dentară. Obiectiv: Evaluarea metodelor utilizate pentru prevenirea infecțiilor nosocomiale de către medicii dentiști din Constanța. **Material si metode:** Studiul a fost realizat pe un lot inițial de 243 medici dentiști (95% nivel de confidență, 7% eroare de eșantionare), utilizand un chestionar auto-administrat, testat înaintea studiului. Au fost obținute avizul etic și consimțămintele scrise și informate ale subiecților. Statistica a utilizat *SPSS 19*. **Rezultate:** Rata de răspuns a fost de 93.82%, lotul final cuprinzând 228 subiecți; valoarea coeficientului *kappa* al testării-retestării chestionarului a fost foarte bună; 88.6% dintre repondenți utilizează întotdeauna toate barierele de protecție individuală; 99.1% își spală întotdeauna mâinile înainte de aplicarea/după înlăturarea mănușilor; 98.2% dezinfectează suprafețele critice și 37.7% sterilizează piesele de mână după fiecare pacient; 90.4% utilizează permanent aspirația și 69.3% lucrează la patru mâini, pentru limitarea infecției autogene și încrucișate; 100% utilizează containere speciale pentru colectarea/eliminarea instrumentelor ascuțite utilizate; în 88.6% din cazuri tot personalul cabinetelor este imunizat specific împotriva HBV; 76.3% raportează testarea periodică a personalului privind principalele boli cu transmitere sangvină; 72.8% afișează protocolul specific post-expunere accidentală la VHB și HIV, dar numai 93.9% urmează întocmai acest protocol după expuneri; 96.5% dintre subiecți utilizează caldura uscată și 75.4% utilizează caldura umedă pentru sterilizare. **Concluzie:** Studiul a demonstrat un procent ridicat, dar nu de 100%, al medicilor dentiști care utilizează permanent precauțiile universale, indiferent de manopera efectuată; educația medicală continuă este necesară pentru actualizarea permanentă a cunoștințelor acestora privind prevenția infecțiilor nosocomiale în medicina dentară.

Cuvinte cheie: chestionar, sterilizare, dezinfecție, medicină dentară

P42. PANTOEAE AGGLOMERANS IN URINARY TRACT INFECTIONS

Ciprian Olteanu, Vlad Ercuță

Carpe Diem Clinic Sibiu

Infections with new microorganisms which are opportunistic, are becoming more and more common. One of them is *Pantoea agglomerans*, recently separated from *Enterobacteriaceae* family i.e. from the genus *Enterobacter*. We report a case of a 66 year old man, M.C. with urinary symptoms and positive urine culture with *Pantoea agglomerans*. Colonies on blood agar are rough, cauliflower-like, pale - beige color, grown at 30 – 37°C. The colonies are difficult to differentiate from other members of the *Enterobacteriaceae* family. The bacteria are Gram negative, catalase positive, oxidase negative, mobile, ferment sugars without gas production, the only one not using lysine, arginine, ornithine. Identification was made through the Api 20 E multitest system. Diffusion antibiogram showed multiple resistance to various antibiotics; the microorganism was sensitive only to piperacillin/tazobactam.

Pantoea agglomerans is widespread in nature (water, soil, plants), the intestinal tract of humans and animals. It is an opportunistic pathogen causing opportunistic infections especially in immunocompromised patients. *Pantoea agglomerans* infections are usually associated with an identifiable external factor. In the case of urinary tract infections, your doctor should remember the emergence of new opportunistic pathogens, especially in case of non-targeted therapy without DST.

PANTOEAE AGGLOMERANS ÎN INFECȚIILE DE TRACT URINAR

Ciprian Olteanu, Vlad Ercuță

Clinica Carpe Diem Sibiu

Infecțiile cu microorganisme noi, oportuniste sunt pe zi ce trece tot mai frecvente. Unul din acestea este și *Pantoea agglomerans*, din familia *Enterobacteriaceae*, recent separată din genul *Enterobacter*.

Prezentăm cazul unui bărbat în vârstă de 66 ani, M.C., cu simptomatologie urinară și urocultură pozitivă cu *Pantoea agglomerans*. Coloniile pe agar sânge sunt rugoase, conopidiforme, de culoare pal-bej, care cresc la temperatura de 30-37°C. Este dificil de diferențiat de ceilalți membri ai familiei *Enterobacteriaceae*; sunt bacili Gram negativi, catalază pozitiv, oxidază negativ, mobili, fermentează zaharurile fără producere de gaz, fiind singura care nu utilizează lizina, arginina, ornitina. Identificarea s-a făcut prin sistemul multitest Api 20 E. Antibiograma difuzimetrică a evidențiat rezistență multiplă la diverse antibiotice, piperacilina/tazobactam fiind singurul la care microorganismul a prezentat sensibilitate.

Pantoea agglomerans este larg răspândită în natură (apă, sol, plante), tractul intestinal al oamenilor și animalelor. Este patogen oportunist, cauzând infecții oportuniste și la pacienții imunocompromiși.

Infecțiile cu *Pantoea agglomerans* sunt de obicei asociate cu un factor extern identificabil. În cazul unor infecții urinare, medicul curant trebuie să nu ignore apariția noilor agenți patogeni oportuniști, mai ales în cazul terapiei nețintite, fără antibiogramă.

P43. SUBGINGIVAL MICROBIAL PROFILES IN PATIENTS WITH AGGRESSIVE PERIODONTITIS

Cristina Gabriela Pușcașu, Cristina Nuca, Cristina Nicolae, Aureliana Caraiane

Ovidius University Constanta, Faculty of Dental Medicine

Aim: The purpose of the present investigation was to examine subgingival microbial profiles associated with aggressive periodontitis. **Methods:** subjects were defined as aggressive periodontitis (AP) on the basis of further attachment loss and age. A total of 40 subgingival plaque samples (mean/subject 4) were taken from the most affected teeth in each subject and individually processed for their content of 20 subgingival species using a total bacterial count by Real-Time PCR. Periodontitis subjects were 20-40 years of age, had at least 20 teeth and 10% of sites with pocket depth ≥ 4 mm. The microbial profiles of the AP subjects were compared with those of 5 patients with chronic periodontitis (CP). The profile I was characterized by high proportion of “yellow” and “purple” complex species, associated with low proportions of “red” and “orange” complex species; profile II by low proportions of “yellow” and “purple” species and low proportions of “red” and “orange” complex species, profile III low proportions of “yellow” and “purple” complex species and high proportions of “red” and “orange” complex species, profile IV high proportions of “yellow” and “purple” complex species and high proportions of “red” and “orange” complex species. **Results:** differences were found among the microbial profiles of patients with AP and also as compared with patients with CP. Profile I was found in 2 CP, profile II was found in one AP patients and 2 CP, profile III in 5 AP patients, profile IV in 3 patients with AP and one CP. Profile of one AP subject did not match to others, exhibiting increased levels of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and very high levels of “yellow” and “purple” complex. **Conclusion:** Different subgingival microbial profiles were found in AP subjects, most of them had a generally and similar microbiota with high amounts of red-orange complexes (profile III and IV), comparable with CP patients.

PROFILUL MICROBIAN SUBGINGIVAL AL UNOR PACIENȚI CU PARODONTITĂ AGRESIVĂ

Cristina Gabriela Pușcașu, Cristina Nuca, Cristina Nicolae, Aureliana Caraiane

Universitatea Ovidius din Constanta, Facultatea de Medicină Dentară

Scop: evaluarea componenței florei microbiene subgingivale a pacienților cu parodontită agresivă. **Material și metodă:** participanții au fost diagnosticați cu parodontită agresivă (PA) în urma examinării parodontale ținând cont și de vârstă. Un număr de 40 probe de placă bacteriană subgingivală au fost testate (o medie de 4/pacient). S-a folosit metoda RT-PCR pentru determinarea cantitativă și calitativă a 20 de specii bacteriene. Toți pacienții au între 20-40 ani, minim 20 dinți prezenți, din care minim 10% cu punji parodontale ≥ 4 mm adâncime. Componența calitativă și cantitativă a florei subgingivale a pacienților cu PA a fost comparată cu cea a unui lot de 5 pacienți diagnosticați cu parodontită cronică (PC). Profilul I a fost asociat unei proporții ridicate a complexelor microbiene galben și mov, asociat cu proporții reduse ale complexelor roșu-oranj; profilul II proporții reduse ale complexelor galben-mov, precum și al celor roșu-oranj; profilul III proporții reduse ale germenilor aparținând complexelor galben-mov asociat cu

proporții crescute ale celor roșu-oranj; profilul IV proporții ridicate ale complexelor galben-mov, precum și roșu-oranj. **Rezultate:** Au fost remarcate diferențe între profilele microbiene ale pacienților cu PA, precum și între aceștia și pacienții cu PC; astfel profilul I a fost identificat în 2 cazuri de PC, profilul II a fost identificat la un subiect cu PA și 2 subiecți cu PC, profilul III la 5 subiecți cu PA, iar profilul IV la 3 subiecți cu PA și unul cu PC. Un pacient cu PA nu s-a încadrat în nici una din categorii, fiind detectat un nivel ridicat al speciei *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* asociat cu nivele ridicate ale speciilor din complexe galben-mov. **Concluzie:** Pacienții cu PA au avut profile microbiene diferite, prezentând în special valori crescute ale complexelor roșu-oranj (profilele III și IV), rezultatele nefiind total diferite cu cele înregistrate la pacienții cu PC.

P44. RELATION BETWEEN GINGIVAL INFLAMMATION AND BACTERIAL TOXICITY ASSESSED BY BIOCHEMICAL METHODS

Cristina Gabriela Pușcașu, Aureliana Caraiane, Elena Dămășaru, Cristina Nucă

Ovidius University Constanta, Faculty of Dental Medicine

This presentation is aimed to assess the toxin concentration in the crevicular fluid of patients with chronic periodontitis, in order to evaluate the results of the therapy. **Method:** A group of 30 patients diagnosed with chronic periodontitis were selected for the study. Different degrees of inflammation were found, Papilla Bleeding Index being used for the clinical evaluation. Samples of gingival crevicular fluid (GCF) were collected from the most affected sites in all subjects (2 samples/subject) before and after treatment. The biochemical TOPAS test (Toxicity Prescreening Assay) was aimed to detect the concentration of bacterial toxins and bacterial, human inflammatory and serum proteins from GCF samples. The approach used in TOPAS test is to react the toxins and proteins samples with reagents to produce chromophores compounds. In case of toxins, chromophores will absorb visible light in the yellow (420nm) region, in case of proteins will absorb visible light in blue (600nm) region. A result chart will help to evaluate the color intensity, which will be associated with severity grading. **Results:** Significant correlation was found between the gingival inflammation and bacterial toxins ($p < 0.0001$), between inflammation and total protein load ($p = 0.0075$). Two weeks after periodontal therapy was found a significant reduction of the bacterial toxins concentration ($p < 0.0001$) and a less significant reduction of the total protein load ($p = 0,05$) in all samples, although the gingival inflammation was still present clinically in 30% of the sites. **Conclusion:** The biochemical evaluation of the GCF components can be used for long-term monitoring the results of the therapy in patients with chronic periodontitis.

LEGĂTURA INFLAMAȚIE GINGIVALĂ-TOXICITATE BACTERIANĂ EVALUATĂ PRIN METODE BIOCHIMICE

Cristina Gabriela Pușcașu, Aureliana Caraiane, Elena Dămășaru, Cristina Nucă

Ovidius University Constanta, Faculty of Dental Medicine

Scopul lucrării este acela de a evalua concentrația toxinelor bacteriene la nivelul fluidului crevicular al pacienților cu parodontită cronică, pentru a obține o imagine obiectivă a rezultatelor terapiei. **Material**

și metodă: A fost ales un lot de 30 pacienți diagnosticați în urma examinării clinice cu parodontită cronică. Indicele de sângerare papilară a fost utilizat pentru evaluarea clinică a inflamației gingivale. Au fost colectate mostre de fluid crevicular înainte și după tratament din zonele cu inflamație evidentă clinic (2 mostre/pacient). Analiza biochimică a fluidului crevicular recoltat s-a făcut utilizând testul TOPAS, cu ajutorul căruia se poate determina concentrația toxinelor bacteriene și a proteinelor inflamatorii și proprii organismului. Acest test se bazează pe reacția dintre toxinele bacteriene și proteine cu reactivi care are ca rezultat apariția de compuși colorați. În cazul toxinelor bacteriene se obțin nuanțe de culoare galbenă (în spectrul 420nm), iar în prezența proteinelor inflamatorii culoarea virează spre nuanțe de albastru (în spectrul 600nm). Intensitatea culorii, corespunzătoare severității inflamației gingivale este evaluată cu ajutorul unei scale colorimetrice. **Rezultate:** Corelații semnificative statistic s-au găsit între gradul inflamației gingivale evaluat clinic înainte de tratament și concentrația toxinelor bacteriene ($p < 0.0001$), precum și între severitatea inflamației gingivale și concentrația proteinelor totale ($p = 0.0075$). Evaluarea efectuată la două săptămâni după tratament arată o reducere semnificativă a concentrației toxinelor bacteriene ($p < 0.0001$), precum și scăderea concentrației proteinelor totale, mai puțin semnificativă ($p = 0,05$) comparativ cu severitatea inflamației gingivale, care a fost dovedită clinic în 30% din zonele evaluate. **Concluzie:** Evaluarea biochimică a compoziției fluidului crevicular poate fi utilizată pentru a monitoriza în mod obiectiv rezultatele terapiei parodontale în cazul pacienților cu parodontită cronică.

P45. PLASMA VITAMIN D LEVELS IN PATIENTS WITH HIV/AIDS INFECTION

Márta Andrea Fodor^{1,2}, Iringó Erzsébet Zaharia-Kezdi¹, Brîndușa Tilea¹, Anca Georgescu¹, Cristina Gîrbovan¹, Andrea Incze¹, Nina Șincu¹, Adina Huțanu², Carmen Chiriac¹

1. University of Medicine and Pharmacy Tîrgu Mureș, Clinic of Infectious Diseases, Romania,

2. Emergency Clinical County Hospital Tîrgu Mureș, Romania.

Introduction: Besides his essential role in regulating the calcium and bone metabolism, vitamin D (25[OH]D) has a potential effect of improvement the function of innate and adaptative immunity. The **aim** of our study was to determine plasma levels of 25[OH]D in a group of patients with HIV / AIDS infection from Regional HIV/AIDS Centre Mureș and to establish some correlations between plasma vitamin D level and HIV / AIDS associated pathology. **Material and methods:** We determined the plasma 25(OH)D levels of 68 HIV infected patients and 10 healthy volunteers. We correlated 25(OH)D levels with CD4+/CD8+ lymphocyte count, HIV-RNA plasma viral load and associated pathology. **Results:** The average of 25[OH]D levels in HIV infected patients was at the lower limit of the reference range. Healthy subjects showed higher value, without statistically significant differences between the two groups. 50% of patients with HIV-tuberculosis coinfection showed deficiency (below 20 ng /ml) or insufficiency (20-30 ng/ml) for 25(OH)D. We recorded statistically significant difference between the 25(OH)D level in patients with HIV-tuberculosis coinfection and HIV -positive patients without tuberculosis. We did not find statistically significant differences between the 25(OH)D levels and CD4+ cell count , HIV-RNA viral load and PI (Protease Inhibitor) therapy. **Conclusions:** Patients with HIV/AIDS infection presents lower levels of 25(OH)D compared to the healthy population.

STUDIUL NIVELULUI PLASMATIC AL VITAMINEI D LA PACIENȚI CU INFECȚIE HIV/SIDA

Márta Andrea Fodor^{1,2}, Iringó Erzsébet Zaharia-Kezdi¹, Brîndușa Țile¹, Anca Georgescu¹, Cristina Gîrbovan¹, Andrea Incze¹, Nina Șincu¹, Adina Huțanu², Carmen Chiriac¹

1. Clinica de Boli Infecțioase I, Târgu Mureș, 2. Spitalul Clinic Județean de Urgență Târgu Mureș

Introducere: pe lângă rolul fundamental deținut în reglarea metabolismului osteo-calcic, vitamina D are și un potențial efect de susținere a răspunsului imun nespecific și specific. **Scopul** lucrării a fost determinarea nivelului plasmatic al vitaminei D (25[OH]D) la un lot de bolnavi cu infecție HIV/SIDA din Centrul Regional de Monitorizare al Infecției HIV/SIDA Mureș și de a stabili anumite corelații între acesta și patologia asociată infecției HIV/SIDA. **Material:** am determinat nivelul 25(OH)D la 68 pacienți și la 10 voluntari sănătoși. **Metodă:** La pacienții cu infecție HIV/SIDA am urmărit numărul limfocitelor CD4+/CD8+, încărcătura virală HIV-ARN și prezența diferitelor patologii asociate. **Rezultate:** Pacienții cu infecție HIV/SIDA au prezentat în medie nivele ale vitaminei D la limita inferioară a intervalului de referință. Subiecții sănătoși au prezentat valori mai ridicate, dar nu am evidențiat diferență semnificativă statistic. 50% dintre pacienții cu coinfecție HIV/TBC au prezentat deficiență (sub 20 ng/ml) sau insuficiență (20-30 ng/ml) de 25(OH)D. Am înregistrat diferență semnificativă statistic între nivelul 25(OH)D la pacienții cu coinfecție HIV/TBC și bolnavii HIV-pozitivi, fără infecție TBC. Nu am găsit diferențe semnificative statistic între nivelul 25(OH)D și numărul de limfocite CD4+, încărcătura virală HIV-ARN și terapia cu IP (inhibitori de protează). **Concluzii:** pacienții cu infecție HIV/SIDA prezintă nivele mai scăzute ale 25(OH)D față de populația sănătoasă.

R3. THE ASSOCIATION OF BONE MARROW MESENCHIMAL STEM CELLS INFUSIONS WITH THE TRANSPLANTS OF THE HEMATOPOIETIC STEM CELLS AT THE ADULT PEOPLE

Dan Coliță, Alina Tănase, Adriana Coliță

Centre of Hematology and Bone Marrow Transplantation – Fundeni Clinical Institute, Bucharest

In the human bone marrow cohabit 2 families of adult stem cells: the hematopoietic stem cells (HSC) which provide for the continuous regeneration of the functional blood cells and the mesenchimal stem cells (MSC) which differentiate in stromal cells which support the hematopoiesis. The dowry of the medullary MSC is around 0,001-0,01%. Their immunophenotypic profile is CD73+, CD90+, CD105+ (>95%) in the absence of the specific markers for the HSC (CD34, CD45, CD3, CD14). After the i.v. infusion, HSC target the inflamed tissues, the tumoral tissues and the bone marrow. The medullary homing, the quality to hurry the repopulation of the BM postgrafting, the promotion to healing the toxic lesions provoked by the conditioning regimens, the suppression of the immunocompetent cells involved in the starting and maintaining of the graft-versus-host (GvHD) reaction are the convincing arguments

for the association of the MSC to the HSC transplants. The procedure is devoid of major incidents. Good results were observed in the GvHD acute refractory at corticosteroids $\pm$ of the immunosuppressive agents and in the severe cutaneous damages from the chronic GvHD (overall responses in 73% cases).

ASOCIEREA ADMINISTRĂRII CELULELOR STEM (CS) MEZENCHIMALE CU TRANSPLANTURILE DE CS HEMATOPOIETICE LA ADULȚI.

Dan Coliță, Alina Tănase, Adriana Coliță

Centrul de Hematologie si Transplant Medular – Institutul Clinic Fundeni, Bucuresti

În măduva osoasă (MO) coabitează 2 familii de celule stem (CS): celulele stem hematopoietice (CSH) și celulele stem mezenchimale (CSM). Primele asigură regenerarea continuă a celulelor hematopoietice mature și funcționale care se uzează fiziologic ($\sim 5 \times 10^{11}$ celule/zi). La nivelul MO, CSM s-ar diferenția în celule stromale cu rol în susținerea hematopoiezei. Zestrea de CSM medulare s-ar cifra la 0,001 – 0,01% elemente. Sunt identificate după profilul imunofenotipic: exprimă CD73, CD90, CD105, (>95%) în absența markerilor specifici CSH: CD34, CD45, CD3, CD14. După administrarea i.v. CSM țintesc cu predilecție țesuturile inflamate, cele tumorale și MO. Homingul medular este mediat de receptorul CXCR4. Homingul medular, proprietatea de a grăbi repopularea MO postgrefă cu CSH, promovarea vindecării leziunilor toxice provocate de regimurile de condiționare, supresia celulelor imunocompetente implicate în instalarea și întreținerea reacției de grefă-contra-gazdă, au fost considerate ca argumente convingătoare în favoarea includerii administrării CSM în strategia transplanturilor allogeneice cu CSH. Administrarea este lipsită de incidente majore și poate fi repetată la nevoie. Cotransplantările CSH + CSM în allogrefe au inclus CSM în doze cuprinse între $0,9 \times 10^6/\text{kg}$ și $5 \times 10^6/\text{kg}$ (de primitor). S-au notat rezultate în GvHD ac. refractară la corticosteroizi $\pm$ alte imunosupresoare. În formele cronice de GvHD cu manifestări sclerodermice severe rezistente la tratament, administrarea CSM a fost urmată de răspunsuri globale sustinute în cca. 73% din cazuri. Studiile dedicate acestor aspecte sunt încă limitate. Există însă premisele evidențierii unor noi aplicații ale acestor tehnologii.

C4. CHRONIC MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASMS – CLASIFICATION; NEW TENDENCIES IN PATHOLOGIC CRITERIA OF DIAGNOSIS

Camelia Dobrea ^{1,2}, Emilia Niculescu-Mizil ², Daniel Coriu ^{1,2}

1. "Carol Davila" University of Medicine, "Fundeni" Department of Hematology, Bucharest

2. "St Berceanu" Centre of Hematology and Marrow Transplantation, "Fundeni" Clinical Institute, Bucharest

Chronic Myeloproliferative Neoplasms (CMN) is a heterogeneous group of myeloid stem cell neoplasms. The 2008 WHO Classification category of CMN comprise diseases from Chronic Myelogenous Leukemia (CML) BCR-ABL1 positive, typical CMN Ph1 negative (Essential Thrombocythemia - ET, Polycythemia Vera - PV and Primary Myelofibrosis - PM) to atypical Ph1 negative CMN, like Mastocytosis. If cytogenetic (presence of translocation t(9;22), Ph1 chromosome) and molecular (presence of

BCR-ABL1 transcript) are essential for the diagnosis of CML, the pathology of bone marrow biopsy (BMB) are important for Ph1 negative CMN diagnostic. Pathologic criteria comprise some parameters: marrow cellularity, cytology and distribution of megakaryocytes, fibrosis, etc. BMB pathology represent a major criteria for PM and ET diagnosis (JAK2 V617F gene mutation is present only in 40-50% cases) and also for systemic mastocytosis diagnosis, but, for the moment, a minor criteria for PV (more than 95% PV cases present JAK2 V617F gene mutation); BMB pathology maybe in the future a major criteria for early PV diagnosis. The CMN diagnosis is complex, and BMB pathology had a key place in some cases.

NEOPLAZIILE MIELOPROLIFERATIVE CRONICE – CLASIFICARE; TENDINȚE ACTUALE ÎN CRITERIILE PATOLOGICE DE DIAGNOSTIC

Camelia Dobrea 1,2, Emilia Niculescu-Mizil 2, Daniel Coriu 1,2

1. Catedra de Hematologie "Fundeni", Universitatea de Medicină "Carol Davila", București;

2. Centrul de Hematologie și Transplant Medular "Șt Berceanu", Institutul Clinic "Fundeni", București;

Neoplaziile mieloproliferative cronice (NMC) reprezintă un grup heterogen de neoplazii ale celulei stem mioide. In Clasificarea OMS din 2008, categoria NMC include boli de la Leucemia Mieloidă Cronică (LMC) BCR-ABL1 pozitivă, la NMC tipice PH1 negative (Trombocitemia Esențială – TE, Policitemia Vera – PV și Mielofibroza Primară – MP) la NMC atipice Ph1 negative, cum ar fi Mastocitozele. Dacă examenul citogenetic (prezența translocatiei t(9;22), cromozom Ph1) și cel molecular (prezența transcriptului BCR-ABL1) sunt esențiale pentru diagnosticul de LMC, examenul patologic al Biopsiei de Maduva Osoasa (BMO) este important în diagnosticarea NMC PH1 negative. Criteriile patologice se referă la o serie de parametri, cum ar fi: celularitatea medulară, aspectul citologic și distribuția megakariocitelor, fibroza, etc. Patologia BOM reprezintă un criteriu major pentru diagnosticarea TE și a MP (mutația la nivelul genei JAK2 V617F este prezentă doar în 40-50% dintre cazuri), precum și în Mastocitozele sistemice, dar, pentru moment, doar un criteriu minor pentru diagnosticarea cazurilor de PV (peste 95% dintre cazurile de PV prezentând mutații ale genei JAK2 V617F); patologia BOM ar putea deveni în scurt timp un criteriu major pentru diagnosticarea cazurilor incipiente de PV. Diagnosticul NMC este un diagnostic complex, patologia BOM reprezentând un element cheie în diagnosticarea unor cazuri.

R4. DETECTION OF MINIMAL RESIDUAL DISEASE IN CHILDHOOD ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA

Renate Panzer-Grümayer

Children's Cancer Research Institute, Vienna, Austria

Acute lymphoblastic leukemia (ALL) is the most common cancer in children and adolescents. With current treatment protocols almost 80% of affected individuals can be cured. This success, however, comes

at a cost, i.e. in the form of treatment related toxicity and late effects. Therefore, individualization of treatment is urgently required to reduce undesirable side effects while at the same time maintaining high cure rates. In children with a good response, intensity of treatment might be reduced, while in those with a poor response and dismal outcome, therapy might be modified. Since treatment response by morphological means could not be used to differentiate between these two distinct groups, we tested, already 20 years ago, whether the molecular detection of residual disease (i.e. minimal residual disease, MRD) could fulfill these requirements. The concept behind this approach was that assessment of the individual treatment response at the sub-microscopical level would reflect both the biology of the leukemia and the particular genetic make-up of the patient. In fact, we showed with this collaborative study that the individual response to chemotherapy at early time points clearly varies among these two patient groups. Consequently, MRD stratification has been used in the following protocols to tailor treatment of all patients with ALL and is currently an integral risk parameter in all major therapies for childhood ALL. The developments and current status of respective methods in the context of large childhood ALL treatment protocols will be presented.

R5. RECENT ADVANCES IN DIAGNOSIS, MOLECULAR PATHOLOGY AND THERAPY OF CHRONIC MYELOMONOCYTIC LEUKEMIA (CMML).

Adriana Coliță, Didona Vasilache, Violeta Moraru, Anca Gheorghe, Camelia Dobrea, Cerasela Jardan, Rodica Tălmaci, Mihaela Dragomir, Dan Coliță, Daniel Coriu

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

CMML is a clonal hematopoietic stem cell disorder that is classified as a myelodysplastic/myeloproliferative neoplasm by the 2008 WHO classification of hematopoietic tumors. The diagnostic criteria are: 1) persistent peripheral blood monocytosis ($>1 \times 10^9/L$); 2) no Philadelphia chromosome or BCR-ABL1 fusion gene; 3) no arrangement of PDGFRA or PDGFRB (should be excluded in cases with eosinophilia); 4) $<20\%$ blast (myeloblasts, monoblasts and promonocytes) in the peripheral blood and bone marrow (BM); 5) at least one of the following: a) dysplasia in one or more cell lines; b) an acquired clonal cytogenetic abnormality or molecular genetic abnormality present in hematopoietic cells or c) persistence of monocytosis for at least 3 months and no evidence of other causes of monocytosis (infection, inflammation, malignancy). CMML is divided in two prognostic categories: CMML-1 (blasts $<5\%$ in blood and $<10\%$ in BM) and CMML-2 (blasts 5-19% in blood and 10-19% in BM). The old distinction of CMML into myelodysplastic (MD-CMML) and myeloproliferative (MP-CMML) should be maintained since it retains importance for therapeutic options. Various novel mutations have been detected in CMML: JAK2, TET2, ASXL1, CBL, IDH, RUNX1, RAS genes. The prognostic impact of these remain to be defined. The use of CMML specific risk-oriented scores is recommended. Patients with MD-CMML should be managed with supportive therapy but patients with $>10\%$ blasts in BM should receive 5-azacytidine. Patients with MP-CMML and $<10\%$ blasts should be treated with Hydroxiurea and patients with $>10\%$ blasts in BM should receive polychemotherapy. Allogeneic hematopoietic stem cell transplantation with RIC is a viable option for a subset of patients.

PROGRESE RECENTE IN DIAGNOSTICUL, PATOLOGIA MOLECULARĂ ȘI TRATAMENTUL LEUCEMIEI MIELOMONOCITARE CRONICE (LMMC).

Adriana Coliță, Didona Vasilache, Violeta Moraru, Anca Gheorghe, Camelia Dobrea, Cerasela Jardan, Rodica Tălmaci, Mihaela Dragomir, Dan Coliță, Daniel Coriu

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

LMMC este o afecțiune clonală a celulei stem hematopoietice care este în prezent clasificată ca un neoplasm mielodisplazic/mieloproliferativ (WHO 2008). Criteriile de diagnostic sunt: 1) monocitoză ($>1 \times 10^9/L$) persistentă în sânge; 2) absența cromozomului Philadelphia sau a genei de fuziune BCR-ABL1; 3) absența PDGFRA sau PDGFRB (trebuie exclusă în cazurile cu eozinofilie); 4) $<20\%$ blaști (mieloblaști, monoblaști, promonocite) în sânge și măduva osoasă (MO); 5) cel puțin una din următoarele: a) displazie în una sau mai multe linii celulare; b) prezența unei anomalii citogenetice clonale câștigate sau a unei anomalii de genetică moleculară în celulele hematopoietice; c) monocitoză persistentă (>3 luni) și absența altor cauze de monocitoză: infecție, inflamație, malignitate. LMMC a fost divizată în două categorii prognostice: LMMC-1 (blaști $<5\%$ în sânge și $<10\%$ în MO) și LMMC-2 (blaști 5-19% în sânge și 10-19% în MO). Vechea împărțire a LMMC în varianta mielodisplazică (LMMC-MD) și varianta mieloproliferativă (LMMC-MP) trebuie menținută având importanță pentru opțiunea terapeutică. Numeroase mutații au fost identificate recent în mai multe gene: JAK2, TET2, ASXL1, CBL, IDH, RUNX1, RAS. Valoarea prognostică a acestor mutații nu este încă definitiv stabilită. Stabilirea grupei de risc în LMMC se bazează pe scoruri specifice de prognostic. Pacienții cu LMMC-MD trebuie tratați cu terapie de susținere dar la cei cu $>10\%$ blaști în MO se indică 5-azacitidină. Pacienții cu LMMC-MP și $<10\%$ blaști în MO au indicație de Hydroxiuree iar cei cu $>10\%$ blaști în MO, de polichimioterapie. Transplantul de celule stem hematopoietice cu RIC este o opțiune pentru un subset de pacienți.

C5. DIAGNOSTIC APPROACH OF ESSENTIAL THROMBOCYTEMIA IN CHILDREN

Anca Coliță, Mihaela Dragomir, Rodica Tălmaci, Mirela Asan, Anca Gheorghe, Camelia Dobrea, Cerasela Jardan, Andrei Coliță, Constantin Arion, Daniel Coriu

I.C. Fundeni, UMF Carol Davila Bucharest, Romania

Background. Essential thrombocytemia (ET) is an extremely rare disease in children, with an incidence of 1-4 cases/10 million people/year. ET can be present as sporadic or familial disease and exclusion of secondary thrombocytemia is mandatory. There are few data about ET in children. Some studies showed a lower incidence of JAK2 mutation in children compared to adults. **Aim.** The purpose of this study is to evaluate the clinical manifestations and follow-up of children with ET. **Material and methods.** We performed a retrospective study of 5 children with ET, followed between 2008-2014 in the Fundeni Clinical Institute, Bucharest. Diagnosis consisted of: a) tests to exclude secondary thrombocytosis; b) tests to exclude other malignant thrombocytosis and c) specific tests: JAK 2 V617 PCR analysis, bone marrow examination, cytogenetic analysis. **Results.** Five patients, 4F/1M were diagnosed with ET at ages 7 - 15

years (median 8 years). One case was familial ET and 4 were sporadic ET. Clinical manifestations at diagnosis: 3 cases had cephalaea, 1 with cerebral thrombotic event and hemiparesis and 1 asymptomatic case. The platelet count at diagnosis was $700 - 2500 \times 10^9/L$. Three out of 5 cases were JAK2 positive. Treatment: α -Interferon followed by anagrelide in 1 JAK2 negative case, first-line anagrelide in all 3 JAK2 positive cases and hematologic monitoring in the familial case. **Discussion.** Some pediatric studies suggested that JAK2 positive cases have a severe course and could be considered distinct disorders. It is necessary to assess which child with ET really needs cytoreductive therapy, as already defined for adults.

PROBLEME DE DIAGNOSTIC ÎN TROMBOCITEMIA ESENȚIALĂ LA COPIL

Anca Colita, Mihaela Dragomir, Rodica Tălmaci, Mirela Asan, Anca Gheorghe, Camelia Dobrea, Cerasela Jardan, Andrei Colita, Constantin Arion, Daniel Coriu

I.C. Fundeni, UMF Carol Davila București

Introducere. Trombocitemia esențială (TE) este o boală foarte rară la copil, cu o incidență de 1-4/10 milioane/an. TE poate fi sporadică sau familială. Excluderea cauzelor secundare este obligatorie. Există puține date despre TE la copii. Unele studii au raportat o incidență scăzută a mutației JAK2 comparativ cu adulții. **Obiectiv.** Evaluarea manifestărilor clinice și evoluției cazurilor cu TE pediatrică. **Material și metodă.** Am analizat retrospectiv 5 cazuri de TE la copii, urmărite între 2008-2014 în Institutul Clinic Fundeni. Diagnosticul a cuprins: a) excluderea trombocitozei secundare b) excluderea trombocitozei din neoplazii c) teste specifice – analiza PCR pentru JAK2 (V617F), examinarea măduvei osoase, analiza citogenetică. **Rezultate.** Pacienții (4F/1M) au fost diagnosticați la vârsta de 7-15 ani (mediana 8 ani). Un caz a fost de TE familială, iar 4 cu TE sporadică. Manifestări clinice la diagnostic: cefalee în 3 cazuri, 1 caz cu hemipareză asociată unei tromboze intracerebrale și 1 caz asimptomatic. Numarul de trombocite a fost de $700 - 2500 \times 10^9/L$. Trei cazuri au fost JAK2 pozitive. Tratament: α -Interferon urmat de anagrelid – 1 caz, anagrelid de prima linie -3 cazuri JAK2 pozitive, monitorizare în cazul de TE familial. **Discuții.** Unele studii pediatrice au sugerat ca pacienții JAK2 pozitivi au evoluție severă și trebuie considerați ca o entitate clinică separată. Este necesară standardizarea indicațiilor terapiei citoreductoare la copii așa cum s-a realizat deja la adulți.

R6. MOLECULAR BASIS OF MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASMS: IMPLICATIONS FOR PATHOGENESIS AND DIAGNOSIS

Daniel Coriu, Rodica Tălmaci, Mihaela Dragomir, Dumitru Jardan

Center of Hematology and Bone Marrow Transplantation, Fundeni Clinical Institute, Bucharest, Romania, University of Medicine and Pharmacy Carol Davila, Bucharest, Romania

In recent years molecular biology in the myeloproliferative neoplasms (MPNs) has experienced unprecedented progress. This allowed a better understanding of the molecular pathogenesis of MPNs, but equally allowed the development of very important diagnostic tools (PCR, RFLP, gene sequencing Sanger, next generation sequencing). The target of these analyzes is certain genes involved in myelopoiesis (receptor activity, epigenetic regulators of DNA methylation / chromatin structure):

JAK2, MPL, CBL, SH2B3, TET2, IDH1/2, ASXL1, EZH2, DNMT3a, IKZF1. Identification of somatic mutations in these genes is used in routine clinical practice for the differential diagnosis of MPNs with certain reactive conditions. Also, these molecular tests, along with information provided by clinical and laboratory allow better framing of MPNs on specific subtypes: polycythemia vera, essential thrombocythemia and primary myelofibrosis.

BAZELE MOLECULARE ALE NEOPLASMELOR MIELOPROLIFERATIVE: IMPLICAȚII ÎN PATOGENEZĂ ȘI DIAGNOSTIC

Daniel Coriu, Rodica Tălmaci, Mihaela Dragomir, Dumitru Jordan

Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București, Centrul de Hematologie și Transplant Medular Fundeni

În ultimii ani biologia moleculară în domeniul neoplaziilor mieloproliferative (NMP) a cunoscut progrese fără precedent. Aceasta a permis o mai bună înțelegere a patogenezei moleculare a NMP, dar în aceeași măsură a permis dezvoltarea unor instrumente de diagnostic foarte importante (PCR, RFLP, secvențiere genică Sanger, next generation sequencing). Ținta acestor analize este reprezentată de anumite gene implicate în mielopoieză (activatori de receptori, regulatori epigenetici ai metilării ADN / structurii cromatinice): JAK2, MPL, CBL, SH2B3, TET2, IDH1/2, ASXL1, EZH2, DNMT3a, IKZF1. Identificarea mutațiilor somatice în aceste gene este folosită în practica clinică de rutină pentru diagnosticul diferențial al NMP față de anumite condiții reactive. De asemenea, aceste teste moleculare, împreună cu informațiile oferite de tabloul clinic și de laborator, permit o mai bună încadrare a NMP pe subtipuri specifice: policitemia vera, trombocitemia esențială și mielofibroza primară. Recent în NMP negative pentru mutațiile JAK2 s-au identificat mutații în exonul 9 al genei calreticulinei (CALR). Este foarte interesant deoarece pentru prima dată se găsește o legătură între această genă și o boală neoplazică.

Biologia moleculară, alături de citologie, citogenetică, hemopatologie, a devenit un instrument obligatoriu în practica de rutină care trebuie să fie la îndemana medicului hematolog pentru diagnosticul corect și monitorizarea bolilor mieloproliferative cronice.

C6. THE ROLE OF CYTOGENETICS IN THE DIAGNOSIS OF PATIENTS WITH CHRONIC MYELOPROLIFERATIVE DISORDERS

Cerasela Jordan^{1,2}, Dumitru Jordan¹, Anca Colita^{1,2}, Daniel Coriu^{1,2}

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

Chronic myeloproliferative disorders (CMPD) in forthcoming WHO nomenclature, represent a heterogeneous range of clonal hematopoietic stem cell diseases which include chronic myeloid leukemia (CML); three major non-CML categories: polycythemia vera (PV); essential thrombocythemia (ET), and chronic idiopathic myelofibrosis (CIMF); and several less common entities: chronic neutrophilic leuke-

mia and chronic eosinophilic leukemia/hypereosinophilic syndrome. The most common chromosomal anomalies among CMPD are: t(9;22)(q34;q11.2), -Y, +8, +9, -7, del(20) (q11q13), del(13)(q12q14), del(5)(q13q33), and del(12)(p12). All the myeloproliferative disorders which present t(9, 22) are classified as CML, other disorders requiring additional investigations. CML is a disorder characterized by a proliferation of myeloid cells and has as a marker Philadelphia chromosome. Cytogenetics in CML has an important role in the diagnosis but also in monitoring of patients with CML. The detection of additional cytogenetic abnormalities in any moment of TKI treatment, including additional abnormalities in the BCR-ABL1 negative cells, provides useful prognostic information for assessing the progression or loss of response. **Materials and Methods:** In this study, 132 samples collected from patients with CMPD referred to Fundeni Clinical Institute between 2009 and 2013 were analysed: 101 samples from patients with CML at diagnosis and 31 samples from patients with PV and ET. The bone marrow specimens were analyzed using conventional cytogenetic techniques. **Results:** Of the 132 samples analyzed, 101 were CML with t(9, 22), the rest of the cases being classified as PV or TE with normal karyotype. From 101 samples collected at diagnosis, 68 samples were positive only for Ph chromosome, 14 samples were positive for Ph chromosome and additional cytogenetic abnormalities and 1 sample was Ph chromosome negative on standard cytogenetic analysis but it was confirmed by FISH and RT-PCR analysis. In the diagnosis group, 18 samples had no analysable metaphases and presence of BCR-ABL-1 fusion gene was detected using FISH analysis. **Conclusion:** Cytogenetic examination is very important because it allows differentiation between CML and other cases of CMPD. In CML, cytogenetics allows identification of additional prognostic markers important for disease progression. In case of PV and ET patients on our study lot no cytogenetic abnormalities were identified, but literature cites a lot of possible abnormalities in these diseases.

ROLUL CITOGENETICII ÎN DIAGNOSTICUL PACIENȚILOR CU SINDROM MIELOPROLIFERATIV CRONIC

Cerasela Jardan^{1,2}, Dumitru Jardan¹, Anca Colita^{1,2}, Daniel Coriu^{1,2}

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

Sindroamele mieloproliferative cronice conform clasificării OMS reprezintă un grup heterogen de boli care include leucemia mieloidă cronică (LMC) și alte 3 categorii majore non-LMC: policitemia vera (PV), trombocitemia esențială (TE) și mielofibroza idiopatică cronică (MIC) precum și câteva entități mai puțin comune: leucemia neutrofilică cronică și leucemia eozinofilică cronică/sindrom hipereozinofilic. Cele mai comune anomalii citogenetice întâlnite în cadrul sindroamelor mieloproliferative cronice sunt: t(9;22)(q34;q11.2), -Y, +8, +9, -7, del(20) (q11q13), del(13)(q12q14), del(5)(q13q33), și del(12) (p12). Toate sindroamele mieloproliferative la care s-a pus în evidență t(9;22) sunt încadrate ca LMC, restul necesitând alte investigații. LMC este o boală mieloproliferativă cronică care are ca marker apariția cromozomului Philadelphia. Citogenetica în LMC are un rol important în punerea diagnosticului dar și în urmărirea pacienților cu LMC. De asemenea, apariția anomaliilor citogenetice adiționale (ACA) în orice moment în timpul tratamentului, inclusiv anomaliile apărute în celule Ph negative, permite evaluarea prognosticului și stratificarea pe grupe de risc a pacienților cu LMC. **Materiale și metode:** Au fost analizate 132 probe provenite de la pacienți cu SMPC internați în Institutul Clinic Fundeni în perioada

2009-2013 – din care 101 de probe au fost de LMC și 31 de probe de la pacienții cu PV și TE. Probele de măduvă osoasă au fost analizate prin citogenetică convențională. **Rezultate:** Din cele 132 probe analizate, la 101 a fost pusă în evidență t(9;22) restul fiind încadrate ca PV sau TE prezentând cariotip normal. Din cei 101 pacienți cu LMC la diagnostic – 68 au prezentat cromozomul Ph fără anomalii citogenetice adiționale (ACA); 14 au prezentat pe lângă cromozomul Ph și ACA; și un pacient a fost Ph negativ la examenul citogenetic standard, dar a fost confirmată prezența genei de fuziune BCR-ABL1 prin tehnica FISH și RT-PCR. În 18 cazuri nu au putut fi obținute metafaze, iar diagnosticul a fost confirmat prin tehnica FISH. **Concluzie:** Examenul citogenetic este foarte important pentru ca permite diferențierea cazurilor de LMC de celelalte mieloproliferari cronice. În cazul LMC, citogenetica permite identificarea unor markeri adiționali de prognostic și progresie a bolii. În cazul pacienților cu TE și PV pe lotul nostru nu au putut fi identificate anomalii cromozomale, dar literatura de specialitate menționează o serie întreagă de aberații posibile.

C7. CHALLENGES AND PERSPECTIVES IN MOLECULAR DIAGNOSTICS, MONITORING AND STANDARDIZATION PROCESS FOR CHRONIC MYELOID LEUKEMIA IN ROMANIA

Rodica Tălmaci¹, Adriana Vulpe², Mihaela Dragomir², Daniel Coriu^{1,2}

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

Advances in chronic myeloid leukemia (CML) treatment have brought new challenges and mandate regular updating of concepts and management. These include optimizing disease monitoring and use of novel, more potent tyrosine kinase inhibitors (TKI). To ensure the best possible duration and quality of life for patients, and to avoid unnecessary complications and potentially achieve a cure, must understand the proper use of available drugs, the significance of disease end points and the critical importance of monitoring. Thus, for this need to establish new best practices for CML management we set up EUTOS Reference Laboratory and here we report our results.

The molecular analysis process for BCR-ABL detection and quantification was set up according to the European LeukemiaNet protocol and used a CF=0.8461 for International Scale conversion. The Multiplex PCR has been applied to detect different types of BCR-ABL transcripts and quantified by Real Time Quantitative PCR (RQ-PCR) using LightCycler® technology. The results are expressed as BCR-ABL/ABL ratio and are validated for Deep Molecular Response detection – MR 4.5.

A total of 1290 peripheral blood samples collected from 800 patients with positive BCR-ABL transcript at diagnosis and follow-up has been processed. Multiplex PCR revealed b3a2 and b2a2 BCR-ABL transcripts in 58% and 39% of cases respectively. In 3% of cases a dual b3a2+b2a2 BCR-ABL type was identified.

Molecular monitoring is the most important tool for assessing deep molecular response and represents a preliminary step to stop therapy and cure CML.

PROVOCĂRI ȘI PERSPECTIVE DE DIAGNOSTIC MOLECULAR, MONITORIZARE ȘI STANDARDIZARE PENTRU LEUCEMIA MIELOIDĂ CRONICĂ

Rodica Talmaci¹, Adriana Vulpe², Mihaela Dragomir², Daniel Coriu^{1,2}

1. Departamentul de Hematologie-I.C.Fundeni, Universitatea de Medicina și Farmacie “Carol Davila”, București, 2. Centrul de Hematologie și Transplant Medular, Institutul Clinic Fundeni, București

Progresele remarcabile în terapia Leucemiei Mieloidice Cronice (LMC) prin descoperirea de noi molecule inhibitoare tirozin kinazice (TK) a adus noi provocări privind dezvoltarea metodelor de monitorizare a bolii. Pentru a asigura cea mai bună durată și calitate a vieții pentru pacienții cu LMC, pentru a evita eventuale complicații și pentru a atinge posibilitatea de vindecare, este necesară înțelegerea utilizării adecvate a medicamentelor disponibile și importanța critică de monitorizare a tratamentului adecvat. Astfel, necesitatea stabilirii unor practici performante de gestionare a LMC a determinat înființarea Laboratorului de Referință EUTOS pentru Monitorizarea Moleculară a LMC.

Procesul de analiză moleculară pentru detectarea și cuantificarea transcripților BCR-ABL a fost implementat în conformitate cu protocolul European LeukemiaNet și utilizează un factor de conversie la Scala Internațională (CF=0.8461). Pentru detecția tipurilor de transcripți BCR-ABL se aplică Multiplex PCR, iar cuantificarea se realizează prin Real Time PCR cantitativ. Rezultatele sunt exprimate ca raport BCR-ABL/ABL și sunt validate pentru detecția răspunsului molecular profund – MR 4.5.

Până în prezent au fost procesate 1290 probe de sânge de la 800 pacienți cu transcript BCR-ABL aflați la diagnostic și în urmărirea terapiei. Prin Multiplex PCR s-au identificat 58% pacienți cu BCR-ABL b3a2 și 39% pacienți cu b2a2. În 3% din cazuri s-a identificat b3a2+b2a2. Din totalul cazurilor investigate 60% dintre pacienți urmează investigație periodică pentru monitorizarea bolii minime reziduale, conform ghidurilor ELN.

Monitorizarea moleculară este cel mai important instrument de evaluare a răspunsului molecular profund și un pas premergător către oprirea terapiei și vindecarea LMC.

C8. MORPHOLOGICAL AND CYTOGENETIC MYELOYDYSPLASIA RELATED CHANGES IN A SERIES OF ACUTE MYELOID LEUKEMIA CASES

Elena-Cristina Selicean¹, Mariana Pațiu¹, Minodora Dobreanu²

1. Oncology Institute “Prof. Dr. I. Chiricuță” Cluj Napoca, 2. University of Medicine and Pharmacy Tîrgu Mureș

The **aim** of the study was to evaluate the role of cytogenetic and morphological myelodysplasia related changes (MRC) in the diagnosis and classification of acute myeloid leukemia (AML) and to establish correlations with hematological parameters at diagnosis. **Material and method:** The study comprised

79 cases of AML admitted in the Hematology Unit of the Oncology Institute Cluj-Napoca, during 2006-2010. All cases had a karyotype analysis; morphologic dysplasia was assessed and graded on bone marrow aspirates. **Results:** We identified 21 cases with cytogenetic MRC and 16 cases with multilineage dysplasia. We compared hematological parameters at diagnosis and identified significant differences for leukocyte counts and blast percentage, which were lower for the MRC class than for other AML cases. We also assigned the cases into prognostic groups in order to see whether they somehow correlate with morphologic dysplastic changes but this could not be demonstrated. All cases initially classified as AML6 (n=7) fitted after reevaluation in the MRC class. **Discussions and conclusions:** Quantification of dysplasia according to WHO criteria is a process subjected to a high degree of subjectivism and to a series of technical impediments. When compared to the other cases, MRC cases showed differences regarding blast percentage and leukocyte counts at diagnosis, which are parameters recognized as prognostic factors, even if not as independent ones. Up to date the significance of dysplasia has not yet been demonstrated, but abandoning these criteria would shift a great number of cases in the not-other-wise-specified group of AML.

MODIFICĂRI MORFOLOGICE ȘI CITOGENETICE LEGATE DE MIELODISPLAZIE PE O SERIE CAZURI CU LEUCEMIE ACUTĂ MIELOIDĂ

Elena-Cristina Selicean¹, Mariana Pațiu¹, Minodora Dobreanu²

1. Institutul Oncologic „Prof. Dr. I. Chiricuță”, 2. Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș

Obiectivul studiului a fost evaluarea rolului modificărilor citogenetice și morfologice legate de mielodisplazie în diagnosticul și clasificarea leucemiilor acute mieloide (LAM) și stabilirea de corelații cu parametrii hematologici la diagnostic. **Material și metodă:** Studiul a inclus 79 de pacienți internați cu diagnosticul de LAM în Secția de Hematologie a Institutului Oncologic Cluj-Napoca, în perioada 2006-2010. Toate cazurile au beneficiat de cariotipare; prezența și gradul displaziei morfologice au fost evaluate pe lame de aspirat medular. **Rezultate:** Am identificat 21 de cazuri cu modificări citogenetice legate de mielodisplazie și 16 cazuri cu displazie trilineară. Am comparat parametrii hematologici la diagnostic: grupul de LAM cu modificări legate de displazie a prezentat un număr semnificativ mai mic de leucocite și un procent mai redus de blaști, față de celelalte cazuri de LAM. Includerea cazurilor în clase de prognostic nu a relevat corelație cu displazia morfologică. Toate cazurile clasificate inițial ca și LAM6 au fost atribuite după reevaluare clasei cu modificări legate de displazie. **Discuții și concluzii:** Cuantificarea displaziei conform criteriilor OMS este un proces supus unui înalt grad de subiectivism și unor impedimente tehnice. Cazurile cu modificări legate de mielodisplazie au prezentat diferențe semnificative față de celelalte cazuri de LAM, în ceea ce privește procentul de blaști și numărul de leucocite, aceștia fiind factori de prognostic recunoscuți, chiar dacă nu independenți. Deși semnificația prognostică a displaziei nu a fost încă demonstrată, renunțarea la acest criteriu ar menține prea multe cazuri în categoria de LAM neclasificate.

C9. CYTOLOGICAL EXAMINATION - METHOD OF INVESTIGATION

Ariadna Rădulescu

Cytological examination of various biological products (sputum, bronchial lavage and aspiration, pleural or ascitic fluid, joint fluid, urine, cerebrospinal fluid, tumor puncture aspiration, etc.) is an important method of investigation because it is fast, relatively less painful and less expensive.

The biological material is concentrated by centrifugation, is displayed on slides and stained with Giemsa solution.

The main problem is the differentiation of benign from malignant smears. Microscopically, in the benign smears can be found: cellular blood components, inflammatory and epithelial cells specific to the region that is analyzed, elements which can be isolated or grouped with normal or atypical benign aspect.

Inflammatory cytology is not certainly benign, because inflammatory process may mask a proliferating process. If the tumor does not break into the cavity from which the sample was taken, the result of the cytology is negative.

In malignant smears, outside the cell groups listed above, also appear isolated and grouped cells with malignancy characteristics. The presence of these neoplastic cells in liquid can not specify the primitive origin of tumor, but can indicate epithelial or glandular variety.

Cytodiagnosis raises a problematic differentiation between a malignant cytology and a reactionary one, but together with biopsy, it remains a valuable method of investigation.

EXAMENUL CITOLOGIC – METODĂ DE INVESTIGARE

Ariadna Rădulescu

Examenul citologic din diferite produse biologice (spută, lavaj sau aspirat bronșic, lichid pleural sau ascitic, lichid articular, urină, lichid cefalorahidian, sau puncție aspirativă în tumoră, etc.) este o metodă importantă de investigare pentru că este rapidă, relativ puțin dureroasă și puțin costisitoare.

Materialul biologic se concentrează prin centrifugare, se etalează pe lame și se colorează cu soluție Giemsa. Problema principală este diferențierea frotiurilor benigne de cele maligne. Microscopic, în frotiurile benigne se pot găsi: elemente celulare sanguine, inflamatorii și celule de tip epitelial, specifice zonei analizate, care pot fi izolate sau grupate, cu aspect normal sau cu atipii benigne. Citologia inflamatorie nu este cert benignă, pentru ca procesul inflamator poate masca un proces proliferativ. Dacă tumora nu face efracție în cavitatea din care s-a prelevat proba, examenul citologic este negativ.

În frotiurile maligne în afară de grupele celulare enumerate anterior, apar și celule izolate și grupate cu caractere de malignitate. Prezența celulelor neoplazice în lichide nu poate preciza originea primitivă a tumorii, dar poate aprecia varietatea epitelială sau glandulară. Citodiagnosticul ridică probleme de diferențiere între o citologie reacțională și una malignă, dar alături de biopsie, rămâne o metodă valoroasă de investigație.

R7. NOVEL DIAGNOSTIC ASPECTS OF COAGULATION FACTOR XIII DEFICIENCY

Laszlo Muszbek

University of Debrecen Hungary, Clinical Research Centre

Coagulation factor XIII (FXIII) is a zymogen consisting of two catalytic A and two carrier/inhibitory B subunits (FXIII-A₂B₂). It becomes converted into an active transglutaminase (FXIIIa) in the last phase of coagulation cascade by thrombin and Ca²⁺. The main function of FXIIIa is to strengthen fibrin by cross-linking its chains and to protect it against fibrinolysis by covalently attaching α_2 plasmin inhibitor to fibrin. FXIII is also involved in wound healing, and in maintaining pregnancy. Inherited FXIII deficiencies are classified as FXIII-A and FXIII-B deficiency. The former is usually a very severe bleeding diathesis and due to the high frequency of intracranial bleeding, it needs life-long substitution therapy, preferably with virus inactivated plasma derived FXIII concentrate or recombinant FXIII-A₂. Auto, or alloantibodies against one of the FXIII subunits usually result in very severe acquired FXIII deficiency. Milder deficiencies might be due to consumption coagulopathy or to decreased synthesis.

The aim of FXIII determination is: 1/ to diagnose inherited or acquired FXIII deficiency, 2/ to establish the severity of deficiency and indicate if there is a need for substitution, 3/ to monitor the effectiveness of prophylaxis or therapy, 4/ to detect and measure neutralizing autoantibody.

FXIII determination is indicated: 1/ in the case of bleeding when coagulation and platelet function screening tests are normal or, if abnormal, but do not explain the bleeding. Delayed umbilical bleeding in infants and intracranial bleeding in children represent strong suspicion. 2/ when bleeding diathesis and habitual abortions are combined, 3/ when bleeding is associated with extracorporeal circulation or major surgery, 4/ to monitor the efficiency of FXIII supplementation.

Reported guidelines for FXIII determination emphasize the following points: 1/ neither clot solubility test nor FXIII antigen assay is recommended for screening FXIII deficiency; a quantitative functional assay based on ammonia release or on amine incorporation into a protein should be the first-line test, 2/ in the case of ammonia release assays a plasma blank is to be measured and subtracted from the results, otherwise in the low activity range FXIII activity is overestimated, 3/ the results of amine incorporation assays might be influenced by FXIII-A Val34Leu polymorphism, 4/ To detect neutralizing anti-FXIII-A antibody a mixing study and to measure its titer a Bethesda type assay should be used, 5/ The detection of a non-neutralizing antibody directed against either of the FXIII subunits binding assay needs a binding assay, preferably with the patients isolated IgG or IgM.

R8. PLATELET FUNCTIONS BEYOND HEMOSTASIS

Simon Panzer

Department for Blood Group Serology And Transfusion Medicine , Medical University Vienna, Vienna General Hospital

This presentation will comprise selected topics showing platelets' function beyond haemostasis, with emphasis on the interaction of platelets with leukocytes. Data will be provided showing how platelets

bridge innate and adaptive immune response. The interaction between platelets with bacteria via platelets' Toll-like receptors shall illustrate why infections and inflammation can be associated with a risk for thromboembolic disease. Unpublished data from our own research group will complement these presentations. Further, the presentation will illustrate platelets as a killing machinery of bacteria, suggesting the importance to provide sufficient platelet transfusions not only for the reconstitution of haemostasis, but also to enhance immune response.

R9. DOES ASPIRIN RESISTANCE EXIST AT ALL?

Laszlo Muszbek

University of Debrecen Hungary, Clinical Research Centre

Aspirin (acetylsalicylic acid) is widely used in the prevention of atherothrombotic diseases. Its antiplatelet effect is exerted by irreversible acetylation of Ser529 residue in cyclooxygenase (COX)-1, which prevents the binding of arachidonic acid (AA) to the catalytic site and thereby inhibits the production of thromboxane (TX)A₂. Different laboratory methods used to detect the antiplatelet effect of Aspirin resulted in conflicting results and, using these methods, the frequency of Aspirin resistance varied in a wide range (1-45%). Our aim was to develop reference methods which directly or indirectly detect the acetylation state of COX-1 Ser529 and compare them with methods routinely used in clinical practice. Monoclonal antibodies were produced against peptides corresponding to the sequence around the acetylated or non-acetylated Ser529 residues of human COX-1. In Western blotting these antibodies directly detected acetylated and non-acetylated form COX-1 in platelet lysate. The other, indirect method measured AA induced TXB₂ formation in diluted platelet rich plasma. Using these reference methods the effectiveness of Aspirin was tested on 108 healthy volunteers ingesting 100 mg/day Aspirin for a week and on 144 patients with coronary artery disease being on long-term Aspirin therapy. Results obtained with the reference methods were compared with results obtained with methods generally used for the detection of Aspirin resistance.

If non-compliance was eliminated Aspirin resistance could not be demonstrated in any of the healthy volunteers and cardiovascular patients. As detected by Western blotting, COX-1 became fully acetylated in both groups. AA induced TXB₂ production decreased from the range of 10.1-64.7 ng/mL to 0.1-0.9 ng/mL after one week of Aspirin treatment. In Aspirin treated patients with coronary artery disease TXB₂ production was also in this very low range. Among routinely used methods only AA induced aggregation/secretion and Verify Now Aspirin gave comparable results. 10-37% of the results of collagen, ADP, epinephrine induced aggregation/secretion and PFA-100 closure time were false positive.

Results obtained by the reference methods suggest that ASA resistance, if it exists at all, must be a rarity. The detection of non-compliance should be the main aim of testing the effect of Aspirin on platelets. Only reliable tests, like AA induced platelet aggregation/secretion and Verify Now Aspirin should be used for this purpose

R10. LABORATORY MONITORING IN ANTICOAGULANT TREATMENT WITH HEPARINS AND WITH NEW ORAL ANTICOAGULANTS

Ioana Brudașcă

University of Medicine and Pharmacy "Iuliu Hațieganu" Cluj Napoca

Anticoagulant treatment includes vitamin K antagonists, heparins and the new oral anticoagulants. Because of the hemorrhagic risk, this treatment requires laboratory monitoring. This article discusses laboratory monitoring of the treatment with unfractionated heparins (having an equivalent anti II-a and anti-Xa activity) and of low molecular weight heparins (LMWH), whose anti-Xa activity is 2-4 fold the anti-IIa activity. Fondaparinux, a FXa selective inhibitor, as well as the new oral anticoagulants (Dabigatran and Rivaroxaban) theoretically do not require laboratory testing. However, the degree of anticoagulation produced by these molecules must be assessed in case of overdose, emergency surgical procedures or presence of additional risk factors for bleeding.

MONITORIZAREA DE LABORATOR ÎN TRATAMENTUL CU HEPARINE ȘI CU NOILE ANTICOAGULANTE ORALE

Ioana Brudașcă

Universitatea de Medicină și Farmacie „Iuliu Hațieganu” Cluj Napoca

Tratamentul anticoagulant include antagoniști ai vitaminei K, heparine, precum și noile anticoagulante orale. Utilizarea anticoagulantelor este asociată cu un risc hemoragic ridicat, ceea ce ridică problema monitorizării de laborator a tratamentului. În lucrarea de față se discută monitorizarea de laborator în tratamentul cu heparine standard (nefracționate), având activitate echivalentă anti-IIa și anti-Xa, heparine cu masă moleculară joasă (fracționate), având o activitate anti-Xa de 2-4 ori mai mare decât cea anti-IIa. Fondaparinux, un inhibitor selectiv de factor Xa, precum și noile anticoagulante orale (Dabigatran și Rivaroxaban), deși teoretic nu necesită supraveghere de laborator, pot ridica totuși probleme de evaluare a gradului de anticoagulare în caz de supradozaj, intervenții chirurgicale de urgență sau asocierea unor factori de risc adiționali pentru sângerări.

C10. THE IMPLICATION OF METHYLENTETRAHYDROFOLATE REDUCTASE (MTHFR) GENE MUTATION IN SPONTANEOUS ABORTIONS PATHOGENESIS IN PATIENTS WITH HEREDITARY THROMBOPHILIA

Oana Bădulescu¹, Magda Bădescu¹, Cristina Tărniceriu¹, Cristina Dimitriu¹, Gabriela Bordeianu¹, Daniela Jitaru², Didona Ungureanu¹

1. "Gr.T. Popa" University of Medicine and Pharmacy, Iași, 2. Romania, Regional Oncological Institute, Iași, Romania

Thrombophilia includes congenital or acquired anomalies associated with an individual predisposition to thrombotic events. An important clinical manifestation of the thrombophilic status is represented by the occurrence of recurrent miscarriages in this group of patients. The objective of this study was to assess the frequency of the mutation of the methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene comparing with the Factor V Leiden and G20210A prothrombin mutations in the pathogenesis of recurrent miscarriages in patients with hereditary thrombophilia, who did not present any relevant gynecological/ non - gynecological evidence. **Material and Method:** A group of 20 pregnant patients with a previous history of recurrent miscarriages, monitored in the Department of Hematology of the "Sf. Spiridon" Hospital in Iași, was investigated. The evaluation of parameters of interest was carried out by PCR (for G20210A prothrombin mutation and factor V Leiden) and by PCR followed by restriction enzyme digestion, and migration in agarose (for MTHFR). **Results:** In the group of patients investigated the presence of all three mutations was detected, with a higher frequency of the MTHFR mutation (18 cases, 90%), followed by G20210A prothrombin mutation (13 cases, 65%), both mutations showing statistic significance; in some patients the Factor V Leiden mutation appeared (7 cases), but their small number was not statistically significant. **Conclusions:** Given the high prevalence of the miscarriages, our improved knowledge into the area of hemostatic and genetic abnormalities provides the theoretical basis for improving the management of hereditary thrombophilia in pregnant patients; the therapeutical conduct should consider the imbalances between the prothrombotic and antithrombotic processes in order to increase the chances for obtaining viable and healthy fetuses.

IMPLICAREA MUTAȚIEI GENEI METILENTETRAHIDROFOLAT REDUCTAZEI (MTHFR) ÎN PATOGENIA AVORTURILOR SPONTANE LA PACIENTELE CU TROMBOFILIE EREDITARĂ

Oana Bădulescu¹, Magda Bădescu¹, Cristina Tărniceriu¹, Cristina Dimitriu¹, Gabriela Bordeianu¹, Daniela Jitaru², Didona Ungureanu¹

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

Introducere. Trombofilia este o afecțiune congenitală sau câștigată care predispune la tromboză. La femeile cu trombofilie, o manifestare clinică frecvent întâlnită este avortul recurent. Obiectivul acestui studiu este de a evalua frecvența mutației genei metilentetrahidrofolat reductaza (MTHFR) comparativ cu a mutației G20210A a protrombinei și a factorului V Leiden la un grup de paciente cu avort spontan recurent, care nu a fost de cauză ginecologică. **Material și metode.** La studiu au participat 20 de paciente

gravide, care în antecedente au prezentat avorturi recurente de cauză non-ginecologică. Gravidele au fost monitorizate în Clinica de Hematologie, Spitalul Clinic de Urgență Sf. Spiridon, Iași. Identificarea mutațiilor s-a realizat prin tehnica PCR (pentru mutația G20210A a protrombinei și factorul V Leiden) iar pentru MTHFR s-a folosit tehnica de amplificare PCR, produsul de amplificare fiind apoi supus acțiunii unei enzime de restricție iar produșii de digestie au fost vizualizați prin migrare în gel de agaroză.

Rezultate. În grupul de paciente studiat s-a constatat cea mai mare prevalență a mutației MTHFR (18 paciente, 90%), urmată de mutația G20210A a protrombinei (13 paciente, 65%). Prevalența mutației factorului V Leiden a fost mică (7 cazuri), fără semnificație statistică. **Concluzii.** Cunoșcând anomaliile de hemostază de cauză congenitală și asocierea acestora cu avorturile spontane, se va îmbunătăți managementul trombofiliei ereditare la femei, în perioada gravidității, în încercarea de a normaliza raportul coagulare-fibrinoliză, scopul final fiind o sarcină normală, cu un făt viabil și sănătos.

C11. GLOBAL HEMOSTASIS TESTING: THROMBIN GENERATION ASSAYS (TGA), TECHNOTHROMBIN TGA ON CEVERON ALPHA

Ariela Ligia Olteanu ¹, Manuela Mihalache ², Alina Camelia Catană ³, Ofelia Flucuş ³, Cristina Buş ³, Cosmin Mihalache ², Romeo Gabriel Mihăilă ²

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

The coagulation system involves inter-related procoagulant and anticoagulant pathways. Given to its complexity, traditional coagulation tests, the prothrombin time and activated thromboplastin time do not assess the whole coagulation system and they correlate badly with the clinic.

Thrombin is the central enzyme in the coagulation cascade and the estimation of an individual's potential to generate thrombin may correlate better with the tendency of bleeding or thrombosis than traditional coagulation tests.

The magnitude of thrombin generation is determined by the concentration of all clotting factors and inhibitors together with some plasma proteins that modulate the response.

Thrombin generation assays (TGA) measure the ability of a plasma sample to generate thrombin following in vitro activation of coagulation with tissue factor or another trigger.

There is a growing interest in the use of thrombin generation testing, as a functional test, reflecting the clinical phenotype of patients with high risk of bleeding or thrombosis. The measurement of thrombin generation can also become very useful in monitoring anticoagulant agents.

There are 2 fluorogenic thrombin-generation assays that are commercially available: the Calibrated Automated Thrombogram developed by Hemker et al and marketed by Thrombinoscorp, Maastricht, The Netherlands, and the Technothrombin TGA method marketed by Technoclone, Vienna, Austria.

This paper provides an overview of the thrombin generation assays (TGA), measurement and utility in clinical practice with an emphasis on Technothrombin TGA on Ceveron alpha, used in the haemostasis research laboratory at the "Lucian Blaga" University in Sibiu.

Key words: coagulation system, thrombin, thrombin generation assays.

TESTE GLOBALE ÎN HEMOSTAZĂ : TESTUL DE GENERARE A TROMBINEI, TECHNOThROMBINE TGA, EFECTUAT PE ANALIZORUL CEVERON ALPHA

Ariela Ligia Olteanu ¹, Manuela Mihalache ², Alina Camelia Catană ³, Ofelia Flucuș ³, Cristina Buș ³, Cosmin Mihalache ², Romeo Gabriel Mihăilă ²

1. Spitalul Clinic Județean de Urgență Sibiu, Laboratorul de Analize Medicale; 2. Universitatea "Lucian Blaga", Facultatea de Medicină "Victor Papilian" Sibiu; 3. Spitalul Clinic Județean de Urgență Sibiu, Clinica de Hematologie;

Sistemul complex al coagulării presupune întrepătrunderea căilor procoagulante și a celor anticoagulante. Testele clasice de coagulare, timpul de protrombină și timpul de tromboplastină parțial activat nu evaluează întregul sistem al coagulării și nu se corelează întotdeauna bine cu evoluția clinică.

Trombina este enzima cheie în cascada coagulării și estimarea capacității individuale de generare a acesteia s-ar putea corela mai bine cu tendința de sângerare sau de tromboză decât testele de coagulare clasice. Nivelul de trombină generată este determinat de concentrația tuturor factorilor de coagulare și a inhibitorilor acestora împreună cu anumite proteine plasmatică care modulează răspunsul.

Testele de generare a trombinei măsoară abilitatea plasmei de a genera trombina după activarea, în vitro, a coagulării cu factor tisular sau alt trigger.

Există un interes crescut pentru folosirea testului de generare a trombinei ca test funcțional ce reflectă mai fidel fenotipul pacienților cu risc crescut de sângerare sau tromboză. Acest test poate deveni foarte util în monitorizarea tratamentului anticoagulant.

În prezent sunt disponibile două tehnici de măsurare a generării trombinei: Calibrated Automated Thrombogram, dezvoltat de Hemker & co., comercializat de Thrombinoscop, Maastricht, Olanda și Technothrombin TGA comercializat de Technoclone, Viena, Austria.

În această lucrare vom prezenta testul de generare a trombinei, măsurarea și utilitatea clinică, cu emfaza pe tehnica Technothrombin TGA efectuată pe aparatul Ceveron alpha, ce se utilizează în laboratorul de hemostază al Universității "Lucian Blaga" din Sibiu.

Cuvinte cheie: coagulare, trombina, teste de generare a trombinei.

R11. MECHANISMS BY WHICH SOME BACTERIA CAUSE URINARY TRACT INFECTIONS

Olga Mihaela Dorobăț

National Institute for Infectious Diseases "Prof. Dr. Matei Balș"

Urinary tract infections (UTI) are one of the most frequent infectious diseases. It is estimated that 40-50% of woman and 5% of men develop a UTI in their lifetime. Uropathogenic *E.coli* (UPEC) is the most common etiological agents responsible for UTI. Many virulence factors contribute to the pathogenesis of UPEC. Adhesins, type 1, P, S/Fic, M, G, curli fimbriae, Afa/Dr. adhesins, are the most important determi-

nant of the pathogenicity for UPEC. A prototype RTX pore forming toxin α hemolysin (HlyA) is secreted by UPEC. Cytotoxic necrotizing factor 1 (CNF1) is a toxin that is expressed by 40% of UPEC which causes changes of urothelial cells, decreased polymorphonuclear leukocyte phagocytic capacity. Other virulence factors are siderophores, lipopolysaccharide (LPS), secreted proteins, capsules. *E.coli* can invade and replicate within the uroepithelial cells forming intracellular bacterial communities, a quiescent intracellular reservoirs for recurrent UTI. To the pathogenesis of infection with *K.pneumoniae* contribute type 1,3 and ECP pili, adhesin, siderophores, extracellular polysaccharide and lipopolysaccharide. A role in virulence of *Proteus mirabilis* play: fimbriae (manose-resistant *Proteus* like, *P.mirabilis* fimbriae), flagella, toxins, proteases autotransporter and urease activity followed by the formation of urinary stones. Interaction between enterococci and uroepithelial tissue is complex, involving adhesion factors such as aggregation substance, extracellular surface protein (*Enterococcus faecalis* antigen A, adhesin of collagen from *E. faecalis*, cytolysin, gelatinase and hyaluronidase. *Staphylococcus saprophyticus*, the only species of *Staphylococcus* typically uropathogenic, possesses some virulence factors such as: D-serine-deaminase and urease activity, three cell wall anchored proteins implicated in adhesion and non-covalently surface-associated Aas and Ssp proteins.

MECANISME PRIN CARE UNELE BACTERII PRODUC INFECȚII URINARE

Olga Mihaela Dorobăț

INBI Prof Dr Matei Balș

Infecțiile tractului urinar (UTI) sunt printre cele mai frecvente boli infecțioase. Se estimează că 40-50% dintre femei și 5% dintre bărbați pot face o infecție urinară în cursul vieții. *E.coli* uropatogen (UPEC) este cel mai obișnuit agent etiologic al UTI. O multitudine de factori de virulență contribuie la patogenia UTI. Adezinele, precum fimbriile de tip 1, P, S/Fic, M, G, curli fimbriae, Afa/Dr.adhesin, sunt printre cele mai importante în patogenitatea *E.coli*. UPEC secretă o toxină RTX α hemolizina (HlyA) formatoare de pori. Factorul citotoxic necrozant 1(CFI1), toxină prezentă la 40% dintre UPEC, produce schimbări ale celulelor epiteliului urinar și scade capacitatea fagocitară a polimorfonuclearelor. Alți factori de virulență ai *E.coli* sunt sideroforii, lipopolizaharidul, proteinele secretate și capsula. *E.coli* poate invada și se poate replica în celulele uroepiteliului formând comunități bacteriene intracelulare, rezervoare pentru infecțiile recurente UTI. La patogenia infecțiilor cu *K.pneumoniae* contribuie tipul 1, 3 și ECP pili, adezinele, sideroforii, polizaharidul extracapsular și lipopolizaharidul. Rol în virulența *Proteus mirabilis* au: fimbriile (manose-resistent *Proteus* like, *P.mirabilis* fimbriae), flagelii, toxinele, proteazele, autotransportorii și ureaza care duce la formarea de calculi urinari. Interacțiunea între enterococi și țesutul uroepitelial este complexă implicând adezinele dintre care substanțele de agregare, proteina de suprafață (*Enterococcus faecalis* antigen A), adezina colagenului, precum și citolizina, gelatinaza și hialuronidaza. *Staphylococcus saprophyticus*, singura specie de stafilococ tipic uropatogenă posedă unii factori de virulență printre care D-serin-deaminaza și ureaza, trei proteine ale peretelui implicate în aderare și proteine non-covalente Aas și Ssp asociate suprafeței.

R12. TRENDS IN DIAGNOSIS, SURVEILLANCE AND TREATMENT OF NEISSERIA GONORRHOEAE INFECTIONS

Gabriel Ionescu, Adrian Băncescu, Dan Ionescu

Cantacuzino NIRDMI; "Carol Davila" UMPH

From an easily treatable disease, *Neisseria gonorrhoeae* infection has now evolved into a challenging disease and a potential public health problem.

Over the last two decades, the number of gonorrhoea cases has increased regularly in many developed European countries, while in Romania and other East European countries the trend was opposite. The decline has accelerated during last year, Romania reporting only 314 cases in 2012.

Microscopy and culture-based identification from common samples (urethral, endocervical and vaginal swabs) was complemented in many countries by nucleic acid testing to increase the detection rate, mainly from unusual sites (rectal, pharyngeal) and for asymptomatic cases.

Although the phenotypic methods (auxotyping, serotyping, antibiotic susceptibility) showed high discrimination when used in combination, the current method proposed for surveillance is *Neisseria gonorrhoeae*-Multi Antigenic Sequence Typing. A recent pilot study revealed Sequence Type 1407 as the most prevalent European lineage (including for Romania). However, for a real public health benefit the molecular typing should address the gonococcal isolates from the antimicrobial surveillance studies and be combined with the epidemiological data collected through TESSy.

The trend in the pattern of antimicrobial susceptibility of *Neisseria gonorrhoeae* strains from the last decade imposed the changes of treatment guidelines (Ceftriaxone as monotherapy or in association with Azithromycin or Doxycycline).

There is a need of closer collaborations between microbiologists, epidemiologists and clinicians in order to solve all these new challenges posed by *Neisseria gonorrhoeae* spreading and antimicrobial resistance.

TENDINȚE ÎN DIAGNOSTICUL, SUPRAVEGHEREA ȘI TRATAMENTUL INFECȚIILOR CU NEISSERIA GONORRHOEAE

Gabriel Ionescu, Adrian Băncescu, Dan Ionescu

INCMI Cantacuzino, UMF "Carol Davila" București

Dintr-o boală ușor tratabilă, infecția cu *Neisseria gonorrhoeae* a devenit una care generează multe probleme, inclusiv pentru sănătatea publică.

În ultimele două decenii, numărul de cazuri de gonoree a crescut constant în multe țări europene dezvoltate în timp ce în România și în alte țări est-europene tendința a fost contrară. Declinul s-a accentuat în ultimul an, România raportând în 2012 numai 314 cazuri.

Pentru creșterea ratei de detecție, identificarea prin microscopie și cultura din prelevatele obișnuite (tampon uretral, endocervical sau vaginal) a fost completată, în multe țări europene, cu detecția acizilor

nucleici, în principal pentru prelevatele din siturile atipice (rect, faringe) și în cazurile asimptomatice.

Deși metodele fenotipice (auxanograma, serotipia, sensibilitatea la antibiotice) au aratat o înaltă capacitate de discriminare când sunt utilizate în combinație, metoda actuală propusă pentru supraveghere este *Neisseria gonorrhoeae*–Multi Antigenic Sequence Typing. Un studiu pilot recent a arătat că linia ST1407 este prevalentă în Europa, inclusiv în România. Cu toate acestea, pentru un beneficiu real în sănătatea publică, tipizarea moleculară ar trebui efectuată pe tulpinile izolate în cadrul studiilor de supraveghere a rezistenței la antibiotice și combinată cu datele epidemiologice colectate în cadrul TESSy.

Evoluția pattern-urilor de sensibilitate la antimicrobiene a tulpinilor de *N. gonorrhoeae* observată în ultimul deceniu a impus și modificarea ghidurilor terapeutice (ceftriaxona - monoterapie sau în asociere cu Azitromicina sau Doxiciclina).

Pentru a face față acestor noi provocări cauzate de răspândirea *N. gonorrhoeae* și a rezistenței la antibiotice este nevoie de o mai strânsă colaborare între microbiologi, epidemiologi și clinicieni.

C12. URINARY PATHOGEN'S PROFILE AND DRUG RESISTANCE PATTERN OF GRAM NEGATIVE BACILLI

Mariana Buzea, Marilena Filipov, Rodica Rotaru, Roxana Bunghez

SUU Elias, Bucharest

Purpose: The purpose is to evaluate the incidence of positive urine cultures and the resistance of Gram negative bacilli isolated strains, in SUUElias, in 2012-2013. **Methods:** A total of 2186 positive urine cultures in 2012 and 2479 in 2013 were investigated in this study; the isolated strains were identified and tested for antimicrobial susceptibility in automatic systems Vitek 2C/Phoenix BD and by E test, according to CLSI. **Results:** During 2012-2013, similar percents of bacterial species were isolated : *E.coli* (57,54% - 51,02%), *Klebsiella pneumoniae* (15,5% -16,2%), *Enterococcus* sp. (9,3% -6,7%), *Streptococcus agalactiae* (5,7% - 3,9%), *Proteus mirabilis*(3,5% -2,9%), *Pseudomonas aeruginosa* (2,1%-3,2%), *Candida* sp (2,7% -3,4%). Prevalence of ESBL producing strains was increasing in both *E. coli* (16,13%-19,6%), and *K. pneumoniae* (49,75% -51,6%). For betalactam/inhibitors combinations, *K. pneumoniae* strains showed a higher resistance than *E.coli* (69% compared to 27%). At norfloxacin, the resistance level increased only for *E coli* (28,6%-31,6%),while *K. pneumoniae* remained at the same rate (~64%). The susceptibility for aminoglycosides, tetracyclines and cotrimoxazol was relatively constant during these two years of study. 2013 was characterized by a triple frequency of carbapenem resistant *K pneumoniae* strains isolation (16,8% compared to 5,5%). Among another Enterobacteriaceae, Enterobacter spp. exhibited 25% carbapenem resistance level. All isolated strains of *P.aeruginosa* and *A. baumannii* were sensitive to colistin. **Conclusion:** the increasing resistance is noticed and generates severe problems regarding the choice of patient's treatment.

SPECII BACTERIENE IZOLATE DIN UROCULTURI: PROFIL GENERAL ȘI DE EVALUARE A REZISTENȚEI BACILILOR GRAM NEGATIVI

Mariana Buzea, Marilena Filipov, Rodica Rotaru, Roxana Bunghez

SUU Elias București

Obiectiv: identificarea speciilor bacteriene și evaluarea rezistenței bacililor Gram negativ izolați din uroculturi în SUU Elias, în 2012-2013. **Metode:** au fost investigate 2186 uroculturi pozitive în 2012, respectiv 2479 în 2013; tulpinile izolate au fost identificate și testate în sistemele automate Vitek2C/Phoenix BD și prin E-test. Interpretarea antibiogramelor a fost conforma CLSI. **Rezultate:** Pe parcursul anilor 2012-2013 s-au izolat în procente similare aceleași specii bacteriene: E.coli (57,54% - 51,02%), Klebsiella pneumoniae (15,5% -16,2%), Enterococcus sp. (9,3% -6,7%), Streptococcus agalactiae (5,7% - 3,9%), Proteus mirabilis (3,5% -2,9%), Pseudomonas aeruginosa (2,1%-3,2%), Candida sp. (2,7% -3,4%). Analizând fenotipurile de rezistență pentru bacilii Gram negativi izolați s-a remarcat prevalența în creștere a tulpinilor ESBL atât pentru E. coli (16,13%-19,6%), cât și pentru K. pneumoniae (49,75% -51,6%). La combinația betalactamine/inhibitori, tulpinile de K. pneumoniae prezintă rezistență superioară celor de E. coli (69% față de 27%). La norfloxacină nivelul de rezistență a crescut pentru E. coli (28,6% -31,6%), rămânând constant pentru K. pneumoniae (~64%). Sensibilitatea la aminoglicozide, tetraciline și cotrimoxazol s-a menținut la un nivel relativ constant pe perioada investigată. Anul 2013 a fost caracterizat de o frecvență triplă a izolării de tulpini de K.pneumoniae rezistente la carbapeneme (16,8% fata de 5,5%). Dintre alți bacili Gram negativi, Enterobacter sp. a prezentat un nivel ridicat de rezistență la carbapeneme (~25%), iar pentru P. aeruginosa și A. baumannii s-a remarcat tendința de creștere a rezistenței la toate antibioticele testate, exceptând colistinul, pentru care nu s-au înregistrat tulpini rezistente. **Concluzie:** tendința evidentă de creștere a rezistenței reduce dramatic opțiunile terapeutice în infecțiile urinare.

C13. GENOTYPING OF PNPLA3 POLYMORPHISM RS738409 IN CHRONIC HEPATITIS C PATIENTS BY HIGH RESOLUTION MELTING ANALYSIS

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

1. University of Medicine and Pharmacy Tîrgu Mures, 2. Emergency Clinical Hospital Tîrgu Mures

Liver cirrhosis develops in about 20% of patients with chronic hepatitis C (CHC), the evolution of liver fibrosis being highly unpredictable. A recent genome-wide association study identified a genetic variant of the patatin-like phospholipase-3 (PNPLA3) gene (rs738409 C>G) associated with steatosis. Later, this polymorphism was also associated with severity and progression of liver fibrosis in CHC patients. We designed a real-time PCR assay for the genotyping of this polymorphism, based on high resolution

melting analysis. The assay was able to differentiate among all the variants (rs738409 CC, CG si GG), across a DNA concentration range of at least 3 orders of magnitude. Intraassay repeatability was verified in a single run by testing 10 replicates of 3 biological samples belonging to the 3 possible genotypes. Assay reproducibility was verified by assessing, in 3 different days, 11 samples covering all genotypes. Both intraassay and interassay concordance of the results was 100%. As an application of the method, we assessed 136 samples from CHC patients for rs738409 genotype. Genotype distribution was 4 (3%) CC, 72 (53%) GG si 60 (44%) CG, similar to that previously described for European population. Our results were confirmed by allele-specific real-time PCR.

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.

ANALIZA DE DISOCIERE DE ÎNALTĂ REZOLUȚIE PENTRU GENOTIPAREA POLIMORFISMULUI RS738409 ÎN GENA PNPLA3 LA PACIENȚII CU HEPATITĂ CRONICĂ C

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

1. Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș, 2. Spitalul Clinic Județean de Urgență Tîrgu Mureș

Pacienții cu hepatită cronică de tip C dezvoltă ciroză în aproximativ 20% din cazuri, progresia fibrozei hepatice fiind imprezvizibilă. Un studiu recent de asociere genomică a identificat o variantă a genei adiponutrinei (patatin-like phospholipase-3, PNPLA3), rs738409 C>G, asociată cu steatoză hepatică. Ulterior, acest polimorfism genic a fost asociat și cu severitatea și rata progresiei fibrozei la pacienții cu hepatită cronică de tip C. În acest studiu, am realizat designul unui test de real-time PCR pentru identificarea acestui polimorfism. Testul se bazează pe analiza de înaltă rezoluție a curbei de disociere a ampliconilor (HRM). Testul poate diferenția toate variantele polimorfismului (rs738409 CC, CG si GG), de-a lungul unui interval concentrație a ADN de cel puțin 3 ordine de mărime. Repetabilitatea metodei, verificată într-o serie analitică prin testarea, în 10 replicate, a trei probe biologice aparținând genotipurilor posibile, a fost de 100%. Reproducibilitatea, testată în 3 zile diferite, pe probe de la 11 pacienți, cuprinzând toate genotipurile, a arătat o concordanță a rezultatelor de 100%. Ca aplicație a metodei, am testat 136 probe de la pacienți cu hepatită cronică C pentru genotipul rs738409. Distribuția genotipurilor a fost: 4 (3%) CC, 72 (53%) GG si 60 (44%) CG, similară cu cea descrisă pentru populația europeană, în bazele de date de specialitate. Rezultatele au fost concordante cu cele oferite de metoda PCR cu primeri alele-specifici. Acest studiu a fost parțial sprijinit prin Programul Operational Sectorial Dezvoltarea Resurselor Umane, finanțat de către Fondul Social European si Guvernul Romaniei, în baza contractelor POSDRU/89/1.5/S/64331 si POSDRU 6/1.5/17.

R13. CLINICAL GOVERNANCE AND ITS RELEVANCE TO ACCREDITATION AND ISO15189

Janet Smith

Chair of the IFCC Education and Management Division (EMD)

For a clinical laboratory service to attain accreditation by an authoritative body which uses ISO15189 as its Standard, it must demonstrate that it functions within a quality management system in which to embed the standard components defined in the ISO standard itself. A quality management system incorporates the management of performance in all aspects of the service and requires assessment of competence for all processes, to ensure continuous improvement of service quality.

Clinical Governance is a system, usually adopted on an institutional basis, for improving the standards of clinical practice and is a comprehensive mechanism to ensure that high standards of clinical care are maintained and that continuous quality improvement is promoted.

This talk will describe the components of clinical governance and the steps that the clinical laboratory can take in these areas to contribute to the quality of the overall service of the organisation and to comply with the requirements of ISO15189 and the accreditation body.

R14. LABORATORY ERRORS AND PATIENT SAFETY

Janet Smith

Chair of the IFCC Education and Management Division (EMD)

It is a fundamental tenet of healthcare provision that those caring for patients do them no harm. There are numerous components to the healthcare pathway and the opportunity for errors, both in judgement and in actions, to occur at any stage and in any area is an issue of which we must always be aware.

Laboratory medicine is an integral part of diagnostic, prognostic and management procedures for the vast majority of patients and it is essential that we recognise the implications of laboratory errors on their safety and seek to prevent them occurring. Errors can occur at any stage of the journey of a specimen through the clinical laboratory, from the initiation of the request to the receipt of the results by the requesting clinician. It is essential that steps are taken to ensure errors are minimised at each stage of the laboratory process. Such steps are fundamental to the quality system of the department, the aim of which is to produce the correct result on the correct patient in a timely fashion.

This talk will describe some of the techniques which can be used to monitor laboratory performance and error rate, resultant changes to practice to reduce error occurrence and will provide examples of the impact of laboratory errors in specific clinical scenarios.

R15. REFERENCE INTERVALS IN MEDICAL LABORATORIES – AN OLD BUT STILL CURRENT CHALLENGE

Minodora Dobreanu

University of Medicine and Pharmacy Tîrgu Mureş, Laboratory Medicine Department

Results of laboratory investigations have an important impact on medical decisions. Without reference intervals any obtained value has limited meaning for clinicians, especially if these values fall in "grey-zone". The majority of medical laboratories adopt intervals recommended by manufacturers or by scientific literature, but they have to take assurance that adopted intervals are proper for clinical use and compatible with its own population. Almost none of laboratories spend time and resources to establish intervals themselves due to difficulties in selection of reference group (definition of *healthy* status is questionable). Selection criteria assume exclusion of individuals with risk factors (i.e diabetes, hypertension, obesity, genetic diseases), specific physiological states (i.e pregnancy), drug users or chronic medications (i.e alcohol, tobacco, contraceptives, antiinflammatory or immunosuppressives), but also stratification on subgroups of reference intervals according to gender, age, race, environmental factors. Characterisation of reference intervals requires careful monitoring of variables in pre-analytical and analytical phases. The current way for establishing reference intervals use statistical techniques (*robust method* after eliminating outliers and *longitudinal comparison of laboratory results* are frequently used) but aspects like analytical and intra-individual biological variability have to be carefully documented.

INTERVALE DE REFERINȚĂ ÎN LABORATOARELE MEDICALE – O PROVOCARE VECHĂ ȘI TOTUȘI ACTUALĂ

Minodora Dobreanu

Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureş, Medicină de Laborator

Rezultatele analizelor de laborator au un impact important în decizia medicală. Valoarea acestora este însă limitată pentru clinician, fără cunoașterea intervalelor de referință, mai ales dacă rezultatele se situează în așa numita "zonă gri". Majoritatea laboratoarelor medicale adoptă intervalele de referință recomandate de producătorii de reactivi sau de literatura de specialitate, trebuie însă să verifice dacă sunt adecvate scopului medical și compatibile cu populația deservită. Puține laboratoare consumă resurse pentru a-și stabili propriile intervale de referință, probabil și datorită dificultăților întâmpinate în selectarea grupului de referință (definirea stării de sănătate este încă problematică). Criteriile de selecție presupun excluderea indivizilor cu factori de risc (cum ar fi diabetul, hipertensiunea arterială, obezitatea, bolile genetice, etc), dar și a acelor cu stări fiziologice particulare (cum ar fi sarcina), utilizatorii de droguri sau tratamente cronice (alcool, tutun, contraceptive, antiinflamatoare sau imunosupresoare), precum și selectarea subgrupurilor corespunzătoare sexului, vârstei, rasei, factorilor de mediu semnificativi. Pentru obținerea intervalelor de referință se presupune că variabilele preanalitice și analitice sunt atent monitorizate. Practicile actuale de stabilire a intervalelor de referință se bazează pe metode statistice

complexe (frecvent utilizate sunt metoda robustă după eliminarea valorilor extreme și compararea longitudinală a rezultatelor de laborator), dar acestea presupun o foarte atentă supraveghere a variabilității analitice și biologice.

C14. SETTING REFERENCE INTERVALS, AN UNRESOLVED REQUIREMENT IN ROUTINE MEDICAL LABORATORY PRACTICE.

Crezante Lazăr

RoEQALM

The purpose of all measurements performed in medical laboratory is the clinical utility of the measurement test results. The results have diagnostic value only by comparison with the reference interval (RI) or clinical decision limits of the measured analyte. So, the reference intervals are essential for medical interpretation of results and are mandatory information included in the reporting of the results. Establishment of reference intervals for all analytes measured in the laboratory is a difficult approach, assuming, beside specific knowledge and significant material cost, the possibility to select statistically significant population of reference subjects. But there is a more accessible procedure for routine medical laboratory, a procedure for transfer of RIs. Clinical and Laboratory Standard Institute has developed a guide that contains details of both procedures. In practice, medical laboratories adopt RIs that have been reported by the manufacturers, without making a verification study. Thus, even for measurands that can provide metrological traceability to the SI units, the reported reference intervals vary from lab to lab. The paper presents selected examples of RoEQALM external quality control data, obtained at the national level, which shows that, for the same measurand and the same method/procedure, the RIs reported by laboratories are different.

The conclusion of the presentation lies in the need to verify RIs through transferability method or through an alternative approach, an indirect so-called „a posteriori study” of the patient data already collected and stored in the laboratory database or to establish RIs through multicenter studies.

STABILIREA INTERVALELOR DE REFERINȚĂ, O CERINȚĂ NEREZOLVATĂ ÎN PRACTICA LABORATOARELOR DE RUTINĂ

Crezante Lazăr

RoEQALM

Finalitatea tuturor măsurărilor efectuate în laboratorul medical este utilitatea clinică a rezultatelor testelor respective. Rezultatele obținute au valoare diagnostică numai prin comparare cu intervalul de referință (IR) sau cu limitele de decizie clinică ale analitului măsurat. Astfel, intervalele de referință sunt

esențiale pentru interpretarea clinică a rezultatelor și reprezintă o informație obligatorie a buletinelor de analiză.

Stabilirea intervalelor de referință pentru toți analiții mășurați în laborator este o procedură dificilă, necesitând, pe lângă cunoștințe specifice și cheltuieli materiale importante, precum și posibilitatea selectării unor populații semnificative statistic de subiecți de referință. Există însă și o procedură de transfer a IR, procedură mai accesibilă laboratorului medical de rutină. Clinical and Laboratory Standard Institute a elaborat un ghid care conține descrierea ambelor proceduri.

În practică, laboratoarele medicale adoptă intervalele de referință declarate de producătorul de reactivi, fără a face un studiu de verificare al acestora. Se ajunge astfel încât, chiar și pentru masuranzii la care se poate asigura trasabilitate metrologică la unitati SI, intervalele de referință declarate de laboratoare să fie diferite, deși folosesc aceeași metodă de măsurare.

Lucrarea prezintă exemple concrete referitoare la IR ale unor analiți de chimie clinică, analiți cu sau fără trasabilitate metrologică la unitati SI, exemple selectate din datele deținute de fundația RoEQALM, date ce provin din schemele de control extern al calității efectuate de fundație la nivel național.

Concluzia prezentării rezidă în necesitatea efectuării fie a unor studii de verificare a intervalelor de referință prin metoda transferabilității sau printr-o altă metodă indirectă, de tip a posteriori, folosind datele pacienților deja existente și păstrate în laborator, fie a unor studii multicentrice comune de stabilire a IR.

C15. METHODOLOGY FOR DETERMINING REFERENCE INTERVALS FOR BIOMEDICAL PARAMETERS

Vladimir Bacărea¹, Anca Bacărea^{2*}, Marian Pop³, Minodora Dobreanu⁴

University of Medicine and Pharmacy Tirgu Mures, 1. Medical Research Department, 2. Pathophysiology Department, 4. Laboratory Medicine Department, 3. Institute of Cardiovascular Diseases and Transplantation Tirgu Mures

Introduction. Establishment of reference intervals for biomedical parameters is an important aspect regarding the correct interpretation of medical tests results. **Purpose.** We aimed to establish the methodology for statistically significant calculation of reference intervals. **Material and methods.** Data collection was exhaustive. All patients investigated in Clinical Laboratory of Tirgu Mures County Emergency Hospital between 2010 and 2013 are included in the study. The data collected are patient's values for biochemical, immunological and haematological parameters. We applied the indirect Hoffmann method for calculating reference intervals from 2.5 to 97.5 percentile. To detect outliers we applied tests for outliers, which were excluded from the study. We used SPSS 12 for achieving the goal. **Results.** The methodology for establishing reference intervals for biomedical parameters involved data collection, data processing by eliminating outliers, calculating percentiles 2.5 and 97.5 and histogram plotting with cumulative percentages. The obtained range was evaluated in comparison to the ranges indicated by the manufacturers and between different manufacturers. **Conclusions.** The methodology for establishing reference intervals for biomedical analysis was developed and applied by indirect visual method Hoffmann. A multicenter evaluation of these intervals is very useful and necessary in Romania.

METODOLOGIE DE CALCUL PENTRU STABILIREA INTERVALELOR DE REFERINȚA PENTRU VALORILE BIOMEDICALE

Vladimir Bacărea¹, Anca Bacărea^{2*}, Marian Pop³, Minodora Dobreanu⁴

Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș, 1. Metodologia Cercetării Științifice; 2. Fiziopatologie, 4. Medicină de Laborator; 3. Institutul de Boli Cardiovasculare și Transplant Tîrgu Mureș

Introducere. Stabilirea intervalelor de referință pentru parametrii biomedicali este un aspect important în intenția de a interpreta corect rezultatele analizelor medicale. **Scop.** Propunem stabilirea metodologiei de lucru care să permită, statistic semnificativ, calcularea intervalelor de referință. **Material și metodă.** Culegerea datelor a fost exhaustivă. Toți pacienții investigați în Laboratorul Clinic al Spitalului Județean de Urgență Tîrgu Mureș în intervalul 2010 - 2013 sunt incluși în studiu. Datele colectate sunt rezultatele acestora pentru diversi parametri biochimici, imuni, hematologici. Am aplicat metoda indirectă Hoffmann calculând intervale de referință de la percentila 2,5 la 97,5. Pentru detectarea valorilor extreme s-au aplicat teste pentru valori aberante, acestea fiind excluse din studiu. Am utilizat SPSS 12 pentru atingerea scopului propus. **Rezultate.** Metodologia de stabilire a intervalelor de referință pentru valorile biomedicale implică culegerea datelor, prelucrarea datelor prin eliminarea valorilor aberante, calcularea percentilelor 2,5 și 97,5 și reprezentarea grafică tip histogramă cu procente cumulative. Se evaluează apoi intervalul obținut în comparație cu intervalele indicate de producători, precum și între producători diferiți. **Concluzii.** Metodologia de stabilire a intervalelor de referință pentru analize biomedicale a fost dezvoltată și este aplicabilă prin metoda vizuală indirectă Hoffmann. O evaluare multicentrică a acestor intervale, prin prisma valorilor obținute, este de mare utilitate și necesitate în România.

C16. CLASSIC OR AUTOMATE IN ESR DETERMINATION ?

Marian Ciorea¹, Andreea Truța¹, Monica Badiu¹, Septimiu Voidăzan^{1,2*}, Minodora Dobreanu^{1,2}

1. Nova Vita Hospital Tîrgu Mures, 2. University of Medicine and Pharmacy Tîrgu Mures

**Corresponding author e-mail: septi_26_07@yahoo.com*

Erythrocyte sedimentation rate (ESR) is one of the basic routine blood tests performed in all laboratories, as a non-specific marker of inflammation and as marker of anemia (in the past). Automatisatization of this test is tend in some laboratories in order to decrease human errors and to increase work efficiency. The comparison of new introduced method with a reference one (or the previous used one) is an important aspect in medical laboratories for determination of the systematic difference between the values generated, for better interpretation of patient data, in order to avoid wrong decisions. The aim of our study was to compare an automatic microphotometric method with the classic Westergren sedimentation rate and to establish the reference ranges on the automated system. **Material and methods:** Linear samples consecutively collected from 261 patients (127 males and 134 women, mean age of 45, range

1-90 years) investigated in Nova Vita Hospital laboratory were analysed comparatively by sedimentation (Sediplast LP ITALIANA SPA) and microphotometric aggregation method (on Roller 20 ALIFAX). Passing-Bablok (x-y plot presentation of the pair results obtained from compared methods) and Bland Altman (relative bias-plot interpretation) regression analysis were used to determine method performances. Influence of hematocrit, hemoglobin, fibrinogen and C reactive protein (CRP) concentrations on method performances, were analysed. For calculating reference intervals, 25 to 75 percentiles method was used. For statistical analysis SPSS software was used. **Results:** Automated method is fast and inexpensive (no reagents required, use EDTA tubes from the complete blood count). Method agreement was good: nice correlation ($r=0.8881$) and good statistical data were obtained for two sets of results. We found significant ($p<0.0001$) negativ correlations with hematocrit and hemoglobin levels in both methods and significant positive correlations with CRP and fibrinogen, without differences between methods for the same age or sex group. Multiple regression analysis demonstrated influence of hematocrit and fibrinogen levels on Sediplast method, and only of fibrinogen on ALIFAX method. Bland Altman analysis suggest that performance of automated photometric method is better, especially at pathologic results. Range of values obtained are similar on Sediplast / ALIFAX. Reference values are different for males ($M < 13 / 15$ mm/hrs) and women ($W < 30/23$ mm/hrs), but also for age, without significant differences between methods in the same group. **Conclusion:** Microphotometric aggregation method is in agreement with sedimentation test and is less influenced by hematocrit variation. Reference intervals of ALIFAX photometric method are quite similar with Sediplast sedimentation method, but automatic method performs better at pathologic values.

CLASIC SAU AUTOMAT ÎN DETERMINAREA VSH?

Marian Ciorea¹, Andreea Truța¹, Monica Badiu¹, Septimiu Voidăzan^{1,2*}, Minodora Dobreanu^{1,2}

1. Nova Vita Hospital Tîrgu Mureș, 2. Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș

*Corresponding author e-mail: septi_26_07@yahoo.com

Viteza de sedimentare a hematiilor (VSH) este una dintre analizele de rutină efectuate în toate laboratoarele medicale, utilizat ca și marker nespecific de inflamație și anemie (în trecut). Automatizarea acestui test este intenționată în unele laboratoare pentru a diminua erorile și pentru a crește eficiența activității. Un aspect important în laboratoarele medicale este acela al comparării metodelor nou introduse cu metode de referință sau cu metodele anterior folosite, în sensul determinării diferențelor sistematice între rezultatele generate, pentru o interpretare mai corectă a rezultatelor pacienților și evitarea deciziilor eronate. Scopul studiului nostru a fost acela de a compara o micrometodă fotometrică automată cu testul clasic de sedimentare Westergren și de a stabili domeniile de referință pe sistemul automat. **Material și metodă:** Probe de sânge consecutive recoltate de la 261 pacienți (127 bărbați și 134 femei, cu vârstă medie de 45 ani, interval 1-90 ani) investigați în Laboratorul Nova Vita Hospital, au fost analizate comparativ prin metoda sedimentării (Sediplast LP ITALIANA SPA) și prin micrometoda de identificare fotometrică a agregării hematiilor (pe Roller 20 ALIFAX). Metoda Passing-Bablok (reprezentarea într-un sistem de coordonate x-y a perechilor de rezultate obținute cu cele două metode comparate) și metoda de analiză de regresie Bland Altman (interpretare de tip bias-relativ) au fost utilizate pentru a determina performanțele celor două metode. S-a analizat de asemenea influența hematocritului, precum și a concentrațiilor hemoglobinei, fibrinogenului și proteinei C reactive (PCR) asupra performanței

metodelor. Pentru calcularea intervalelor de referință s-a utilizat metoda centilelor 25-75. Analiza statistică s-a efectuat cu soft-ul SPSS. **Rezultate:** Metoda automată este rapidă și necostisitoare (nu necesită reactivi, utilizează tuburile recoltate pe EDTA pentru hemogramă). Corespondența celor două metode a fost bună: cele două seturi de valori s-au obținut într-o corelație corespunzătoare ($r=0.8881$). Am găsit corelații negative semnificative ($p<0.0001$) cu hematocritul și hemoglobina la ambele metode și corelații pozitive semnificative cu PCR și fibrinogenul, fără diferențe între cele două metode în cadrul aceluiași sex sau grup de vârstă. Metoda de analiză a regresiei multiple a demonstrat influența hematocritului și a concentrației fibrinogenului asupra rezultatelor metodei Sedioplast și doar a fibrinogenului pentru metoda automată ALIFAX. Analiza de tip Bland Altman sugerează o performanță superioară a metodei automate fotometrice, în special la valori patologice. Valorile de referință obținute sunt similare pentru cele două metode Sedioplast / ALIFAX, mai mici la bărbați ($< 13 / < 15$ mm/oră) comparativ cu femeile ($< 30 / < 23$ mm/oră), precum și pentru grupele de vârstă. **Concluzii:** Micrometoda fotometrică automată dă rezultate similare metodei clasice de sedimentare, fiind mai puțin influențată de variația hematocritului. Intervalele de referință pe sistemul automat sunt similare cu acelea prin metoda clasică, dar metoda automată dă rezultate mai de încredere la valori patologice.

R16. CLINICAL TOXICOLOGY ASSESSMENT OF ALCOHOLIC AND NON-ALCOHOLIC STEATOHEPATITIS LEADING TO HEPATOCELLULAR CARCINOMA

Manuela G. Neuman, M.Sc. Ph.D., FCACC

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

Alcohol use has been shown to cause large health burden, which have been growing at the global level. The current presentation will systematically summarize and quantify the relationship between alcohol consumption patterns and several chronic diseases gastro-intestinal diseases. Liver cirrhosis is one the most important alcohol-attributable disease outcomes. Risk of metabolic syndrome is significantly increased among episodic heavy drinkers compared to moderate alcohol drinkers at comparable average alcohol intake. The relationship between average alcohol consumption, drinking patterns and liver cirrhosis is demonstrated by clinical, laboratory and translational research. Diet plays also an important role in severity of liver injury. The presentation will bring clinical biochemistry, clinical toxicology, molecular biology, pathology and immunology assessment of alcoholic and non-alcoholic steatohepatitis.

R17. THE PROTEOME AND THE CANCER

Ileana Funduc

The proteome represents all the proteins produced by the organism or a cellular system. The proteome methodology is vast, the central place being occupied by mass spectroscopy with its variants. The purpose of the proteome's study is the detection of the biomarkers which are extremely useful to

identify malignant diseases. New approaches involve the coupling of the genome, nanobiotechnology, bioinformatics and biobanking with clinical laboratory and the clinician.

More sensitive and specific for cancer biomarkers, ones that could detect the disease before the stage of metastasis, would significantly reduce the number of deaths.

PROTEOMUL ȘI CANCERUL

Ileana Funduc

Proteomul reprezintă totalitatea proteinelor produse de organism sau de un sistem celular.

Metodologia proteomului este vastă, locul central ocupându-l spectroscopia de masă cu variantele sale.

Rolul studierii proteomului este detectarea de biomarkeri, extrem de utili identificării bolilor maligne. Noile abordări în acest scop implică cuplarea genomului, nanobiotehnologiei, bioinformaticii și a biobăncii cu laboratorul clinic și cu clinicianul.

Descoperirea unor biomarkeri cât mai sensibili și specifici pentru cancer, care ar putea detecta boala înainte de metastazare, ar reduce semnificativ decesele.

C17. THE CIRCADIAN CLOCK IN ORAL HEALTH AND DISEASE: STATE OF THE ART

Maria Greabu¹, Alexandra Totan¹, Daniela Miricescu¹, Maria Mohora², Bogdan Calenic¹

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

There is increasing evidence linking circadian rhythms to systemic and oral health and diseases. Circadian rhythms are endogenous self-sustained oscillations with 24-hour period that regulate diverse physiological and metabolic processes at the molecular level through complex gene regulation by 20 transcription factors called clock genes. There is a central clock in the brain and several peripheral clocks that can also act independently of the central clock. This complex regulatory network provides an important communication link between our brain and several peripheral organs and tissues. Very recently, clock genes have begun to be discovered as key regulators of several diverse systemic disease (cancer, diabetes, metabolic syndrome, cardiovascular, renal and gastrointestinal disease, rheumatoid arthritis) and showed that the circadian clock affects tooth development, salivary gland and oral epithelium homeostasis, and saliva production. The aim of this review is to summarize current knowledge of the roles of clock genes in the formation and maintenance of oral tissues and discusses potential links between oral clocks and disease such as head and neck cancer and Sjögren's syndrome.

RITMUL CIRCADIAN IN PROCESELE NORMALE ȘI PATOLOGICE LA NIVELUL CAVITĂȚII BUCALE

Maria Greabu¹, Alexandra Totan¹, Daniela Miricescu¹, Maria Mohora², Bogdan Calenic¹

1. Universitatea de Medicina si Farmacie Carol Davila, Facultatea de Medicină Dentară, Catedra Biochimie, 2. Universitatea de Medicină și Farmacie Carol Davila, Facultatea de Medicină, Catedra Biochimie

Relația ritmului circadian cu procesele normale și patologice la nivel sistemic și oral este tot mai evidentă. Acțiunea ritmului circadian la nivel molecular se realizează prin așa-numitele gene ceas. Ceasul biologic central este în creier și controlează ceasurile biologice din țesuturile periferice, care pot funcționa și independent. Se realizează astfel o rețea complexă de reglare și comunicare între creierul nostru și țesuturile sau organele periferice. Foarte recent s-a descoperit că genele ceas sunt implicate în afecțiuni sistemice (cancer, diabet, sindrom metabolic, afecțiuni cardiovasculare, renale și gastrointestinale, artrita reumatoidă), reglează procesul de formare a dinților și salivei, homeostazia glandelor salivare și a epitelului oral. Scopul acestei lucrări este prezentarea datelor actuale referitoare la rolurile genelor ceas în formarea și menținerea integrității țesuturilor orale și discutarea posibilei legături între ceasul biologic oral și unele afecțiuni orale cum sunt cancerul oral și sindromul Sjögren.

Cuvinte cheie: gene ceas, boli autoimune, glande salivare, dinți, cancer oral

C18. POSSIBILITIES OF EARLY DIAGNOSIS IN HYPERTENSIVE NEPHROPATHY

Enikő Nemes-Nagy¹, Imola Vass¹, Dóra Simó-Cojoc², Mihály László², Előd-Ernő Nagy³, Zoltán Preg⁴, Márta Salló Germán¹, Pál Kikeli²

University of Medicine and Pharmacy, Tîrgu Mureș, 1. Medical Biochemistry Department, 3. Pharmaceutical Biochemistry Department, Family Medicine Department, 2. Procardia Medical Outpatient, Tîrgu Mureș

The incidence of hypertension increases with age. In many patients it doesn't cause symptoms, therefore in the moment of diagnosis might exist complications, such as nephropathy. The **aim** was to assess renal function in hypertensive patients, for early diagnosis of nephropathy. **Method:** At the Procardia Medical Outpatient we studied 82 patients with grade II and III hypertension during October 2013-March 2014. We determined body mass index (BMI), lipid profile, serum glucose, urea, creatinine and glomerular filtration rate. Laboratory tests were carried out on the Konelab 20XTi analyzer. The derived values were calculated using two formulas: MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) and eGFR (Cockcroft-Gault). In patients with serum creatinine close to maximum normal value, serum cystatin C was determined. Statistical processing was performed by GraphPad InStat. **Results and discussion:** The av-

average age of the patients is 60.88 years $\pm$ 11.304(SD), 48% are men, 29% present grade III hypertension. The average BMI is 31,43 $\pm$ 6,60(SD), the average serum creatinine is 0.93 mgdl $\pm$ 0.19(SD). We found positive correlation between MDRD and eGFR values ($r=0.6922$, $p<0.0001$), negative correlation between serum creatinine and MDRD ($r=-0.6962$, $p<0.0001$). MDRD value was pathologic in 76.54% of the patients, and creatinine was increased in 13.75%. **Conclusions:** The existence of nephropathy could be revealed in more than three quarters of the patients. Formulas for assessment of glomerular filtration are useful in establishing this diagnosis, but renal impairment may be better objectified by serum cystatin C dosage. We found statistical correlation between the results obtained with the two formulas, respectively with serum creatinine.

POSSIBILITĂȚI DE DIAGNOSTIC PRECOCE ÎN NEFROPATIA HIPERTENSIVĂ

Enikő Nemes-Nagy¹, Imola Vass¹, Dóra Simó-Cojoc², Mihály László², Előd-Ernő Nagy³, Zoltán Preg⁴, Márta Salló Germán¹, Pál Kikeli²

1. Universitatea de Medicină și Farmacie, Tîrgu Mureș, 2. Policlinica Procardia Tîrgu Mureș

Incidența hipertensiunii crește paralel cu vârsta. La mulți pacienți nu provoacă simptome, așadar în momentul diagnosticului pot exista complicații, cum ar fi nefropatia hipertensivă. **Scopul** studiului a fost evaluarea funcției renale la pacienți hipertensivi, în vederea diagnosticării precoce a nefropatiei hipertensive. **Metodă:** În cadrul Policlinicii Procardia s-au luat în studiu 82 de pacienți cu hipertensiune grad II și III în perioada octombrie 2013-martie 2014. Am determinat indicele de masă corporală (BMI), profilul lipidic, glicemia, ureea, creatinina serică, și rata filtrării glomerulare. Analizele de laborator s-au efectuat pe aparatul Konelab 20XTi. Valorile derivate au fost calculate cu formulele MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) și eGFR (Cockcroft-Gault), iar la pacienții cu creatinină apropiată de valoarea maximă normală s-a determinat cistatina C serică. Prelucrarea statistică s-a efectuat cu programul GraphPad InStat. **Rezultate și discuții:** Media de vârstă a pacienților este 60,88 ani $\pm$ 11,30(SD), 48% sunt bărbați, 29% prezintă hipertensiune grad III. Media BMI este 31,43 $\pm$ 6,60(SD), iar media creatininei serice 0,93 mgdl $\pm$ 0,19(SD). Am găsit corelație pozitivă între valorile MDRD și eGFR ($r=0,6922$, $p<0,0001$), și corelație negativă între valorile creatininei și MDRD ($r=-0,6962$, $p<0,0001$). Valoarea MDRD a fost patologică la 76,54% dintre pacienți, iar creatinina a fost crescută la 13,75%. **Concluzii:** La peste trei sferturi dintre pacienți s-a putut evidenția existența nefropatiei. În stabilirea acestui diagnostic sunt utile formulele de evaluare a filtrării glomerulare, afectarea renală putând să fie obiectivizată mai bine prin dozarea cistatinei C. Am găsit corelație statistică între rezultatele celor două formule, respectiv cu valoarea creatininei.

C19. STUDY ON URINARY STONES, URINE ANALYSIS AND EVALUATION OF LIFESTYLE HABITS THAT FAVOR STONES

Enikő Nemes-Nagy, Adrian Maier, Adrian Man, Sándor Pál, Al-Aisa Abtessam Nariman, Zsuzsánna Simon-Szabó, Victor Balogh-Sămărghișan, Zita Fazakas, Orsolya Mártha

University of Medicine and Pharmacy, Tîrgu Mureș

Recurrent urinary lithiasis affects many patients. Its appearance depends on diet, predisposition, urinary infections. The **aim** was to chemically analyze urinary stones, perform urine analysis and assessment of dietary habits in patients using a questionnaire, compared with a control group. **Method:** We studied 126 patients with lithiasis of the Marmed outpatient and the Clinic of Urology in Tîrgu Mureș, between September 2009–March 2014. After microscopic examination we performed chemical analysis of the stones, processed the data of urine analysis and of the questionnaires, comparing them with the data of the control group (35 individuals). Statistical processing was performed by GraphPad InStat. **Results and discussion:** The average age of the patients is 49.06 years $\pm$ 16.14(SD), 57% are men. We've found calcium oxalate in 96% of the cases, phosphate in 65%, xanthine/uric acid in 18%, cysteine in 3%, carbonate in 1%, the composition is mixed in 78%. Average age of control group is 47.51 years $\pm$ 15.65(SD), the patients consume fewer liquids ($p<0.05$) compared to control group, incidence of urinary infection in the patients is 3.6 times higher. Average urinary pH is 5.49 $\pm$ 0.73(SD) in the patients and 5.82 $\pm$ 0.98(SD) in the control group ($p<0.05$). **Conclusions:** The most commonly found composition was calcium oxalate, followed by phosphate, in the majority of patients is mixed composition. In the patients we've met several factors favoring lithiasis compared to the control group: low urinary pH, few liquid ingestion, high frequency of urinary infections. Proper diet, adequate liquid intake and treatment of urinary infections may reduce the recurrence of lithiasis.

STUDIUL CALCULILOR URINARI, ANALIZA URINII ȘI EVALUAREA OBICEIURILOR DE VIAȚĂ CARE FAVORIZEAZĂ LITIAZA

Enikő Nemes-Nagy, Adrian Maier, Adrian Man, Sándor Pál, Al-Aisa Abtessam Nariman, Zsuzsánna Simon-Szabó, Victor Balogh-Sămărghișan, Zita Fazakas, Orsolya Mártha

Universitatea de Medicină și Farmacie, Tîrgu Mureș

Litiaza urinară este adesea recidivantă, afectează un număr mare de pacienți. Apariția ei depinde de alimentație, predispoziția genetică, infecțiile urinare. **Scopul** studiului a fost analiza chimică a calculilor urinari, analiza urinii și evaluarea obiceiurilor alimentare cu un chestionar la pacienții afectați comparativ cu lotul control. **Metodă:** Am studiat 126 de pacienți cu litiază aparținând Policlinicii Marmed și Clinicii de Urologie din Tîrgu Mureș în perioada septembrie 2009–martie 2014. După examenul microscopic am efectuat analiza chimică a calculilor, am prelucrat datele analizei urinii și ale chestionarelor, comparându-le cu datele lotului control (35 persoane). Prelucrarea statistică s-a efectuat cu programul GraphPad InStat. **Rezultate și discuții:** Media de vârstă a pacienților este 49,06 ani $\pm$ 16,14(SD), 57%

sunt bărbați. Am găsit oxalat de calciu la 96% dintre cazuri, 65% fosfat, 18% xantină/acid uric, 3% cistină, 1% carbonat, fiind compoziție mixtă la 78%. Media de vârstă la lotul control este 47,51 ani $\pm$ 15,65(SD). comparativ cu lotul de control pacienții consumă semnificativ mai puține lichide ($p<0,05$), și incidența infecției urinare este de 3,6 ori mai mare. Media pH-ului urinar a fost 5,49 $\pm$ 0,73(SD) la lotul cu litiază și 5,82 $\pm$ 0,98(SD) la lotul control ($p<0,05$). **Concluzii:** Cel mai frecvent am găsit calculi de oxalat de calciu, urmat de fosfat, la majoritatea pacienților există compoziție mixtă. La pacienții studiați am întâlnit mai mulți factori care favorizează litiaza comparativ cu lotul control: pH-ul urinar scăzut, consumul redus de lichide, frecvența mare a infecțiilor urinare. Înlăturarea factorilor favorizanți prin dietă corespunzătoare, consumul suficient de lichide și tratamentul infecțiilor pot duce la scăderea recidivelor.

C20. URIC ACID – HERO OF A PARADOX

Alexandra Totan, Daniela Miricescu, Bogdan Calenic, Maria Greabu

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

Humans excrete uric acid as the final breakdown product of unwanted purine nucleotides. Urate acts either as an antioxidant or prooxidant depending on its location. During evolution, loss of ascorbate synthetase and uricase led to higher serum levels of uric acid and to a decreased antioxidant potential (caused by low serum ascorbate) in humans, comparing with inferior species. Blood levels of urate are maintained by the balance between generation and excretion. Excretion requires specialized transporters located in renal proximal tubule cells, intestinal epithelial cells, vascular smooth muscle cells, salivary glands cells. In conjunction with genetic or environmental (especially dietary) factors, urate may cause gout, nephrolithiasis, hypertension, and vascular disease. This is the reason why recently identified human urate transporters URAT1, MRP4, OAT1, and OAT3 are considered as future targets for metabolic syndrome, hypertension and gout treatment.

ACIDUL URIC- EROUL UNUI PARADOX

Alexandra Totan, Daniela Miricescu, Bogdan Calenic, Maria Greabu

Disciplina de Biochimie, Facultatea de Medicină Dentară, Universitatea de Medicină și Farmacie “Carol Davila”, București

Acidul uric reprezintă produsul final al degradării bazelor purinice, care nu trebuie privit ca un banal produs de excreție. Acest compus poate acționa ca un antioxidant sau, dimpotrivă, ca un prooxidant în funcție de localizare. În cursul evoluției, pierderea activității ascorbat sintetazei și uricazei au condus la creșterea nivelului seric de acid uric și la reducerea potențialului antioxidant (prin scăderea ascorbatului circulant) la primatele superioare comparativ cu speciile inferioare. Nivelul seric al acidului uric are la bază menținerea unui echilibru între procesele de formare și cele de excreție. În procesele de excreție un

rol esențial îl au transportorii specializați (URAT1, MRP4, OAT1, OAT3) localizați la nivelul tubilor renali proximali, celulelor epiteliale intestinale, celulelor muscular vasculare, celulelor glandelor salivare. În asociere cu factori genetici și de mediu (mai ales legați de dietă), nivelele serice crescute ale acidului uric intervin în patogeneza gutei, nefrolitiazii și hipertensiunii arteriale. Ca urmare, transportorii acidului uric pot fi priviți ca viitoare ținte în elaborarea tratamentelor pentru sindromul metabolic, hipertensiunea arterială și guta.

C21. COULD SALIVA BE A SOURCE OF ORAL CANCER BIOMARKERS?

Alexandra Totan, Radu Rădulescu, Maria Greabu

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

Introduction: Oral cancer is a quite common and lethal form of malignancy. Saliva could become an attractive alternative to serum testing because its direct contact with cancer lesions. Ki67 is a nuclear protein encoded by the MKI67 gene. This protein is used as a marker for cell proliferation. Under normal conditions, metalloproteinase 9 (MMP-9) is implicated in both tissue regeneration and wound repair. MMP-9 may also be involved in several steps of cancer development, including cancer cell growth, differentiation, apoptosis, migration, invasion, and metastasis. **Material and methods:** Our study groups included 30 patients diagnosed with tongue cancer (range of age 40 – 75) and 30 controls with comparable range of age. We have measured saliva levels of Ki 67 and MMP-9 using ELISA kits. **Results:** Our results showed that salivary levels of Ki67 and MMP-9 in cancer patients were increased by 112% and 25% respectively ($P < 0.01$). **Conclusion:** The highly significant increase, showed by our results for both Ki 67 and MMP-9 in the cancer patients group, is really encouraging for developing saliva analysing kits for tumor markers.

SALIVA – O NOUĂ SURSĂ DE BIOMARKERI PENTRU CANCERUL ORAL?

Alexandra Totan, Radu Rădulescu, Maria Greabu

Disciplina de Biochimie, Facultatea de Medicină Dentară, Universitatea de Medicină și Farmacie “Carol Davila”, București

Introducere: Cancerul oral este o formă destul de des întâlnită și agresivă de cancer. Saliva poate deveni în viitor o alternativă atractivă a determinărilor serice în cancerul oral, datorită contactului direct cu formațiunile tumorale. Ki 67 este o proteină nucleară codificată de gena MKI67. Această proteină este utilizată ca marker de proliferare celulară. În condiții normale metaloproteaza 9 (MMP-9) este implicată în procesele de regenerare tisulară și de vindecare a plăgilor. MMP-9 este de asemenea implicată și în diferitele etape de dezvoltare a tumorii maligne: creșterea celulelor canceroase, procese de diferențiere, apoptoză, migrare celulară, invazie celulară și metastazare. **Materiale și metode:** au fost luate în studiu 2 grupuri: un grup de 30 de pacienți diagnosticați cu cancer de limbă, cu vârste cuprinse între 40-75 de ani

si un al doilea grup de voluntari clinic sănătoși cu vârste cuprinse între 40-75 ani, care a constituit grupul control. Au fost determinați în salivă, utilizând tehnica ELISA, următorii parametri: Ki67 și MMP-9. **Rezultate:** rezultatele obținute arată în cadrul grupului de pacienți cu cancer creșteri semnificative pentru Ki67 (cu 112%; $P<0.01$) și MMP-9 (cu 25%; $P<0.01$), comparativ cu grupul control. **Concluzii:** Creșterile semnificative ale concentrațiilor salivare ale celor doi parametri studiați pot fi considerate încurajatoare pentru dezvoltarea unor kituri pentru dozarea în salivă a markerilor tumorali la pacienții cu cancer oral.

AUTHORS INDEX**Index de autori**

Abrudan Carmen	P19	Brzezinski Piotr	P38,P39
Al-Aisa Abtessam	C19	Bumbea Horia	P26
Nariman		Bunghez Roxana	C12
Apostolescu Ileana	P23	Buş Cristina	C11
Arion Constantin	C5	Buzea Mariana	C12
Asan Mirela	C5	Calenic Bogdan	C2,C17,C20
Atanasiu Valeriu	P9	Cambrea Claudia	P31
Bacârea Anca	C15	Caraiane Aureliana	P2,P11,P18, P40,P43, P41,P44
Bacârea Vladimir	C15	Carasevici Eugen	C1
Badea Florin Ciprian	P11,P18,P41	Catană Alina Camelia	C11,P25
Badea Victoria	P2, P11,P18,P40,P41	Căşăriu Elena Daniela	P3,P4
Badiu Monica	C16	Ceban Emil	P15,P16
Balaban Doina Paula	P2	Cheregi Simona	P32
Balogh-Sămărghiţan Victor	C19,P14,P20	Chiriac Anca	P38
Bancu Ligia	C13	Chiriac Carmen	P45
Banov Pavel	P15,P16	Cioloa Petru	P39
Barbu Adina	P28,P34,P35	Ciorea Marian	C16
Basa Norina	P8	Cojocar Cristian	P21
Bataga Simona	C13	Cojocar Elena	P21
Bădescu Magda	C10	Coliţă Adriana	R3,R5
Bădulescu Oana	C10	Coliţă Anca	C5
Băgăcean Cristina	P26,P27	Coliţă Andrei	C5,C6
Băncescu Adrian	R12	Coliţă Dan	R3,R5
Bănescu Claudia	P13	Comăndaşu Diana-Elena	P5
Bârsan Liliana	W5	Constantin Dina	P2
Bîlc Ana-Maria	P29,P30	Coriu Daniel	C4,C5,C6,P22,R6
Boboş Cecilia	P29	Cotul Cristina	P29,P30
Borca Maria	P30	Crauciuc Andrei	P13
Bordeianu Gabriela	C10,P1	Creţu O.	P8
Botezan Nicoleta Delia	P29,P30	Croitoru Camelia	C1
Botnariuc Mihaela	P31,P34	Csep Andrei	P32
Braga Victoria	P34,P35	Curici Antoanela	P23
Branza Andrei Dan	P40	Daba Lavinia	P34
Brudaşcă Ioana	R10		

David Eliza	P14,P20	Gheuca Solovăstru Laura	P17
Dămășaru Elena	P44	Gîrbovan Cristina	P45
Debita Mihaela	P10	Greabu Maria	C2, C17, C20,C21
Dimitriu Cristina	C10	Grigorian Mircea	P2,P11,P18,P41
Dinisov Mihaela	P2	Groșan Mihaela	P26
Dobre Michaela	P10, P36,P37	Gudumac Valentin	P15
Dobrea Camelia	C4,C5,R5	Gunescu Cristina Daniela	W4
Dobreanu Carmen	P23	Gurău Gabriela	P10,P36,P37
Dobreanu Minodora	C8,C13,C15,C16,R15	Haisan Anca	C1
Doicescu Dragos	P18	Hatescu Suzana	W2
Dorobăț Olga Mihaela	R11	Huțanu Adina	P45
Dragomir Mihaela	C5,C7, P22,R5	Incze Andrea	P45
Dragoș Totolici	P2	Ioanițescu Monica	W1
Drăgan Ana-Maria	P7	Ion Mariana	P2
Enache Elena L.	C13	Ionescu Dan	R12
Enache Gheorghe	P37	Ionescu Gabriel	R12
Enache Liviu S.	C13	Ionescu Răzvan	W4
Ercuță Vlad	P42	Jardan Cerasela	C5,C6,R5
Faur Alexandra	P8	Jardan Dumitru	C6,P22
Fazakas Zita	C19,P14,P20	Jitaru Daniela	C1,C10
Ferrari Maurizio	R1, R2	Junie Lia Monica	P29
Fetica Bogdan	P26	Kikeli Pál	C18
Feticu Simonca Lucia	P29	László Mihály	C18
Filipov Marilena	C12	Lazăr Crezante	C14
Floca Emanuela	P19	Lienerth Doris	P25
Flucuș Ofelia	C11	Lighezan Rodica	P8
Fodor Márta Andrea	P45	Lupescu Doriana	C2
Foia Liliana	P38,P39	Maier Adrian	C19
Funduc Ileana	R17	Man Adrian	C19
Gabriel Mihăilă Romeo	C11	Mambet Cristina	P23
Gaman Laura	P9	Marc Claudia Sorina	P29,P30
Ganta Alina	P23	Marginean Oana	C13
Gegiu Gabriela	P11	Mártha Orsolya	C19
Georgescu Anca	P45	Martinescu Alina	P11,P35
Georgescu Dan	C13	Mihailescu Carmen	C3
Germán-Salló Márta	C18	Mihalache Cosmin	C11
Gheorghe Anca	C5,R5	Mihalache Manuela	C11

Mihalașcu Gabriela	W4	Rogojanu Radu	C1
Mihăilă Romeo Gabriel	P25	Rotaru Rodica	C12
Miricescu Daniela	C2,C17,C20,P12	Sali Vera	P15,P16
Moga Daniela	P29	Samasca Gabriel	P19
Mohora Maria	C17,P3,P9	Sava Cristian	P32
Moise Florin	W3	Savin Mihaela	C3
Moldovan George-Valeriu	P13	Selicean Elena-Cristina	C8
Moraru Violeta	R5	Simion Monica	C3
Muscurel Corina	P9	Simó-Cojoc Dóra	C18
Muszbek Laszlo	R7	Simon-Szabó Zsuzsánna	C19, P14
Nagy Előd-Ernő	C18	Smith Janet	R13
Nechit Romulus	P19	Spineanu Radu	P32
Nemes-Nagy Enikő	C18,C19,P14,P20	Stan Dana	C3
Neuman Manuela	R16	Stan Irina	P31
Nicolae Cristina	P43	Stănescu Raluca	P1
Niculescu-Mizil Emilia	C4	Stătescu Laura	P17
Nucă Cristina	P11,P18,P40, P41,P43,P44	Stîncanu Alina	P17
Odor Alin	P40	Stoian Irina	P9
Olteanu Ariela Ligia	C11	Stoica Bogdan	P1
Olteanu Ciprian	P42	Sur Genel	P19
Pál Sándor	C19	Sur Maria Lucia	P19
Panzer Simon	R8	Szabo Bela	P20
Panzer-Grümayer Renate	R4	Șincu Nina	P45
Pațiu Mariana	C8,P26	Talmaci Rodica	C7,P22
Paula Balaban Doina	P18	Tarniceriu Cristina	C1
Pavalache Anca	P11,P40	Tălmaci Rodica	C5,R5,R6
Petcu Lucian	P11,P40	Tănase Alina	R3
Petrescu Elena	P1,P17	Tărniceriu Cristina	C10
Petrovici D.F.	P41	Tempescul Adrian	P27
Picquenot Jean-Michel	P26	Terec Aurelia Doina	P29,P30
Pop Marian	C15	Timnea Olivia	P6
Popescu Laura Anca	P5	Tîrziu R.	P8
Preg Zoltán	C18	Todor Corina Alexandra	P29,P30
Pușcasu C.	P41	Toma Vasilica	P38
Pușcasu Cristina Gabriela	P43	Totan Alexandra	C2,C17,C20
Rădulescu Ariadna	C9	Trandafirescu Mioara	P39
Rădulescu Radu	C21	Tripon Florin	P13

Truța Andreea	C16	Victoria Braga	P28
Tutunaru Dana	P10,P36,P37	Vidiță Gurban Camelia	P8
Țileă Brîndușa	P45	Vîrgolici Bogdana	P3,P5
Ungureanu Didona	C10,P1	Vîrgolici Horia	P3,P5
Uzun B.P.	P20	Voidăzan Septimiu	C16
Uzun Cosmina Cristina	P14,P20	Vulpe Adriana	C7,P22
Varlan Iustina	C2	Zaharia-Kezdi Iringó	P45
Vasilache Didona	R5	Erzsébet	
Vass Imola	C18	Zaporojan Natalia	P7
Vata Dan	P17	Zdrenghea Mihnea	P26,P27

Information and Guidelines for authors

Manuscript submission

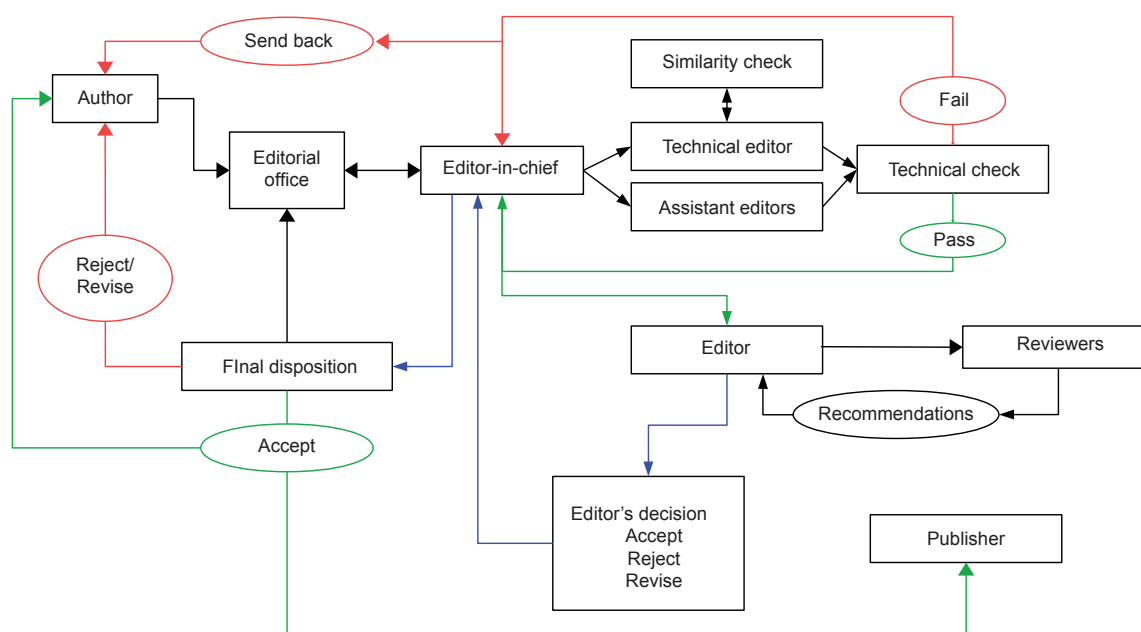
Manuscripts and all attached files (tables and illustrations) should be submitted in electronic form, using the on-line manuscript submission system Editorial Manager available for Romanian Review of Laboratory Medicine at <http://www.editorialmanager.com/rrlm>.

Please note that general reviews and course notes are invited by the editor. Questions may be directed to Editor of this Journal at minodora.dobreanu@rrml.ro.

Submission documents

At the time of submission, the *Romanian Review of Laboratory Medicine* requires an explicit statement (**License to publish**) by the corresponding author warranting that the manuscript, as submitted, has been reviewed by and approved

by all named authors; that the corresponding author is empowered by all of the authors to act on their behalf with respect to the submission of the manuscript; that the article does not infringe upon any copyright or other proprietary right of any third party; that neither the text nor the data have been published previously (abstracts excepted); and that the article or a substantially similar article is not under consideration by another journal at that time. Upon submission of the manuscript, the corresponding author must provide the Editorial Board with documents proving that all those quoted for personal communications or listed in the *Acknowledgement* section have agreed to their inclusion. 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.



Workflow of the editorial process

Each author must provide a clear **statement on potential conflicts of interest** in which he or she may be involved. The statement should include sources of funding, including internal support or grants from non - commercial institutions. The absence of funding should also be declared. The statement on conflicts of interest will be published at the end of the paper. Scanned copies sent electronically and fax submissions are not acceptable.

Authorship

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

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

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

The *Romanian 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 by e-mail (office@rrml.ro) together with the **”License to publish”** form, as soon as possible.

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

should be acknowledged, but are not considered authors.

Research involving human subjects or experimental animals

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

Manuscript preparation

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

Authors should consult someone proficient in the English language, if they feel it is necessary. If the manuscript is not conform to accepted standards of English usage, the manuscript will be rejected.

Articles must be written in Microsoft Word, Style: Normal + Justified, Font: Times New Roman, font size 12. All manuscripts must be typed double-spaced. Original source files, not PDF files, are required. In text editing, authors should not use spacing with spacebar, tab or paragraph

mark, but use the indentation and spacing options in Format → Paragraph. Automatic paging is preferred.

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

Charts and tables should be designed in black and white or in greyscale, unless color reproduction is essential for the understanding of the message.

The preferred format for all digital image files is TIFF (Tagged Image File Format). PNG format is also acceptable. Resolution of images must be at least 300 dpi at the size they will appear in the print. Any special instructions regarding sizing should be clearly noted. Scanned images should be free of technical faults (e.g. shadows, wrong orientation). Authors should state the coloration technique and the magnification factor of all images of microscopic samples. Test your figures by sizing them to their intended dimensions and then printing them on your personal printer. The result should not look fuzzy, jagged, pixelated, or grainy.

Manuscript organization

The text of original papers will be organized in one document, in a so-called "IMRAD" structure: introduction (no more than 25% of the text), material and methods, results, comments or discussions and acknowledgements. **The manuscript should not include any self-revealing information.** All information about the author(s), affiliation, contact, as well as the abstract and keywords, will be provided only within the online submission process.

Material and methods have to be described in enough detail to permit reproduction by other teams. The same product names should be used throughout the text (with the brand name in parentheses at the first use). **Results** should be presented concisely. Tables and figures should not duplicate text. The **discussion** should set the results in context and set forth the major conclusions of the authors. Information from the Introduction or Results should not be repeated unless necessary for clarity. The discussion should also include a comparison among the obtained results and other studies from the literature, with explanations or hypothesis on the observed differences, comments on the importance of the study and the actual status of the investigated subject, unsolved problems, and questions to be answered in the future. In addition to the customary recognition of non-authors who have been helpful to the work described, the **acknowledgements** section must disclose any substantive conflicts of interest.

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

Separate documents: tables, graphics, pictures and schemes will appear on separate documents. Tables will have a reasonable number of rows and columns. The tables, charts, schemes etc. should be sent in their original file format (for example, XLS files if they were created in Microsoft Excel), together with the main manuscript, via on line system (<http://www.editorial-manager.com/rrlm>).

References should be numbered consecutively in the order in which they are first mentioned in the text. Identify references in text, tables, and legends by Arabic numerals in 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. We recommend to automatically insert the references using dedicated reference management solutions (e.g. Zotero, Microsoft word bibliography, Endnote web), according to **Vancouver citation style**.

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

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

Editorial process and peer review

The whole peer-review workflow is performed in the Editorial Manager online system. Manuscript submitted should contain original work, focused on the aims of this journal, should be clearly and correctly written in English, and should contain all essential features of a scientific publication. Submitted manuscripts are screened

for completeness and quality of files and will not enter the review process until all files are satisfactory. In order to evaluate similarities with scientific literature, specialized text-matching software is used to screen all manuscripts accepted for scientific evaluation. The Secretariat will announce the corresponding author about the receipt and the status of the manuscript.

Authors may suggest reviewers for their manuscript, whether invited to do so by the Editor or not. The Editor may choose to use one or more of these reviewers, but is under no obligation to do so. Authors may ask that certain people not be asked to review their manuscript, but Editors are not held to accept these requests either. The articles are sent to reviewers with expertise in the laboratory medicine area, without revealing the authors' names and positions. Also, the reviewers' identities are not known by the authors. Following the reviewers' recommendations, the Editors decide if a paper is published or not. Submissions may be declined without external review as deemed appropriate by the Editor-in-Chief and the members of the Editorial Board. The authors of the manuscripts that have been rejected or need revision will be announced. Revised manuscripts should be resubmitted as soon as possible, but not later than 6 weeks. Although unusual, a resubmission may be rejected after revision if the response to suggestions and requests is considered inadequate.

Authors will receive a pdf file with the edited version of their manuscript for final proofreading. This is the last opportunity to view an article before its publication. The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness and accuracy of the text, tables and figures. Substantial changes in content are not allowed without the approval of the Editor. After online publication, further changes can only be made in the form of an Erratum, which will be hyperlinked to the article.

Scientific misconduct / Corrections / Retraction Policy

Scientific fraud are rare events; however, they have a very serious impact on the integrity of the scientific community. Scientific misconduct is defined by the Office of Research Integrity as “fabrication, falsification, plagiarism, or other practices that seriously deviate from those that are commonly accepted within the academic community for proposing, conducting, or reporting research”. In cases where there is a suspicion or allegation of scientific misconduct or fraudulent research in manuscripts submitted or published, the Editors reserve the right to impose sanctions on the authors, such as: immediate rejection of the manuscript, banning author(s) from submitting manuscripts to the journal for a certain period of time, retracting the manuscript, bringing the concerns to the authors’ sponsoring or funding institution or other appropriate authority for investigation

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

Serious errors in a published manuscript and infringements of professional ethical codes will result in an article being retracted. This will occur where the article is clearly defamatory, or infringes others’ legal rights, or where the article

is, or there is good reason to expect it will be, the subject of a court order, or where the article, if acted upon, might pose a serious health risk. In any of these cases all coauthors will be informed about a retraction. A Retraction Note detailing the reason for retraction will be linked to the original article.

Publication fee

A publication fee of 100 EUR will have to be paid for articles accepted for evaluation by editorial board of Romanian Review of Laboratory Medicine (invited contributions excepted). The fee will be paid when the manuscript acceptance for scientific evaluation is prompted by the Editorial Office. The author will bear the cost of publication for color illustrations, if their number exceeds two color figures (invited contributions excepted). The charge is 25 EUR (or equivalent in RON) for each color figure, starting with the third color illustration). The authors will also bear the cost of English supervision (if the manuscript needs assistance). If reasonable corrections are necessary the charge is 10 EUR (or equivalent in RON)/ supervised page.

The total charge for color figures and English supervision will be communicated by the Editorial Secretariat upon acceptance of the manuscript for publication.

All payments will be operated in RO56BRDE270SV16682302700 bank account open for Romanian Association of Medical Laboratories – CF 17383407 – at BRD-Groupe Société Générale SA, Agenția Petru Maior, Str. Mihai Viteazu 31, Tîrgu Mureș, Romania. Please e-mail (office@rrml.ro) or fax a copy of the bank draft at the Editorial Secretariat (+40 265 217 425).

