

**REVISTA ROMÂNĂ DE
MEDICINĂ DE LABORATOR**

Supliment la Vol. 25, Nr. 2, Aprilie, 2017

ASOCIAȚIA DE MEDICINĂ DE LABORATOR DIN ROMÂNIA
CCAMF - UMF Tirgu Mures
Str. Gh.Marinescu 38, Et 3, Cam. 107,
Tirgu Mureș, 540139
Tel/fax 40 265 20 89 42/40 265 20 89 52
www.rrml.ro, www.almr.ro, www.raml-conference.ro



REVISTA ROMÂNĂ DE MEDICINĂ DE LABORATOR

Romanian Journal of Laboratory Medicine

Publicație Oficială a ASOCIAȚIEI DE MEDICINĂ DE LABORATOR DIN ROMÂNIA
Supliment la Vol. 25, Nr. 2, Aprilie, 2017

Comitetul de redacție

Redactor șef
Minodora Dobreanu

Redactor adjunct
Adrian Man

Secretariat redacție
Floredana Șular

Redactori de specialitate

Claudia Bănescu
Simona Cernea
Carmen Duicu
Adela Boilă
Doina Ramona Manu
Cristina Elena Selicean
Edit Szekely

Redactori tehnici

Adrian Man
Mihaela Iancu
Adrian Năznea
Aurora Pașcan
Anișoara Pop
Emanuela Tegla
Septimiu Voidăzan

Creditări RRML

Thomson Reuters Scientific - ISI Web of Knowledge - Începând cu anul 2008, RRML este indexată în ISI Web of Knowledge - Web of Science - Science Citation Index Expanded (Thomson Reuters Scientific). Factor impact 2014: 0.239
Elsevier Bibliographic Databases - RRML este indexată în bazele de date SCOPUS și EMCARE, începând cu anul 2008.
Index Copernicus Master journal List - din anul 2009.
CNCSIS - Din anul 2008, RRML este inclusă în categoria A de publicații a CNCSIS, cu codul CNCSIS 739.
CM R - 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.
OBBCSS R - Începând cu anul 2007, OBBCSSR a creditat RRML cu 7 credite EMC.
Directory of Open Access Journals (DOAJ) - Începând cu 2016 RRML este indexată în DOAJ.

Table of contents

2nd Conference of the Romanian Association of Laboratory Medicine with international participation	S7
Organizers	S8
Rezumat[*]	S9
Authors Index / Index de autori	S133
Information and Guidelines for Authors	S137

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



2nd Conference of the Romanian Association of Laboratory Medicine with international participation

Under IFCC and EFLM auspices



ABSTRACT BOOK

10-13 May 2017, Timișoara, Romania

Organizers

Asociația de Medicină de Laborator din România
Universitatea de Medicină și Farmacie *Victor Babes* din Timișoara
Universitatea de Medicină și Farmacie *Iuliu Hațieganu* Cluj Napoca
Universitatea de Medicină și Farmacie Târgu Mureș
Universitatea de Medicină și Farmacie *Carol Davila* București
Universitatea de Medicină și Farmacie *Grigore T. Popa* Iași

Partners

Romanian Society of Hematology
Romanian Society of Microbiology

Organizing Committee

Timișoara

Monica LICKER
Camelia VIDIȚĂ-GURBAN
Raluca DUMACHE

Cluj Napoca

Ioana BRUDAȘCĂ (President)
Mariana PAȚIU
Cristina SELICEAN

Bucharest

Constanța POPA (vice-president)
Ariadna RĂDULESCU (RALM treasurer)
Daniela MIRICESCU (RALM secretary)

Târgu Mureș

Minodora DOBREANU (vice-president)
Floredana ȘULAR
Adina HUȚANU
Eliza DAVID
Ștefan BARBU

Scientific Committee and Reviewers

Assoc Prof. Dr. Ioana BRUDAȘCĂ
Prof. Dr. Claudia BĂNESCU
Prof. Dr. Eugen CARASEVICI
Prof. Dr. Dan COLIȚĂ
Prof. Dr. Daniel CORIU
Prof. Dr. Mircea CUCUIANU

Prof. Dr. Olga DOROBĂȚ
Prof. Dr. Minodora DOBREANU
Prof. Dr. Maria GREABU
Assoc Prof. Dr. Adrian MAN
Prof. Dr. Maria MOHORA
Assoc. Prof. Dr. Mariana PAȚIU
Cristina SELICEAN MD PhD

PLENARY LECTURES – MICROBIOLOGY

R1. PEPTIDELE ANTIMICROBIENE – O SPERANȚA CA AGENȚI TERAPEUTICI ÎN INFECȚIILE BACTERIENE

Olga Mihaela DOROBĂȚ

INBI “Prof. Dr. Matei Balș” București, Romania

Apariția rezistenței la antibiotice a crescut interesul pentru noi compuși. Peptidele antimicrobiene (AMPs) sunt molecule de apărare ale imunității înăscute la toate formele de viață. Baza de date AMPs include 2619 AMPs -de la bacterii, Archaea, Protista, fungi, plante și animale. AMPs sunt capabile să controleze infecțiile cu bacterii, virusuri, ciuperci și paraziți. Unele AMPs posedă alte proprietăți, cum ar fi imunomodularea, vindecarea rănilor, antioxidante. AMPs se consideră că distrug bacteriile prin lezarea membranei și/sau prin translocarea membranei în citoplasmă cu acțiune pe ținte intracelulare. Adsorbția AMPs la nivelul peretelui bacterian este în principal electrostatică între peptidele cationice și peretele încărcat negativ –acidul lipoteichoic la Gram-pozitivi și lipopolizaharidele la Gram-negativi. Mai multe tipuri AMPs sunt capabile de distrugerea bacteriilor din biofilme, perturbarea producerii și stabilității matricei extracelulare, interferarea cu comunicarea microbială și astfel au început să fie recunoscute pentru potențialul lor ca agent antimicrobial antibiofilm. Utilizarea AMPs împreună cu antibioticele tradiționale are adesea activitate aditivă sau sinergică. Există numeroase AMPs în curs de dezvoltare clinică –majoritatea ca medicamente topice (infecția ulcerului piciorului diabetic, infecții de cateter, infecții cutanate necomplicate cu Gram-pozitivi, colonizarea nazală cu *S.aureus*). Un fragment cationic al lactoferricinei umane este preconizat pentru tratamentul pe cale intravenoasă a infecțiilor bacteriene și fungice care pun viața în pericol la pacienții imunocompromiși cu transplant de celule stem. Cantitatea de AMPs care poate fi extrasă din surse naturale este prea mică, iar procesul este neprofitabil, dar o serie de AMPs au fost sintetizate chimic. AMPs reprezintă o alternativă a antibioticelor clasice.

Cuvinte cheie: peptide antimicrobiene, activitate antibacteriană

ANTIMICROBIAL PEPTIDES - A HOPE AS THERAPEUTIC AGENTS IN BACTERIAL INFECTIONS

The emergence of resistance to antibiotics increased interest for new compounds. Antimicrobial peptides (AMPs) are host defense molecule of innate immunity of all life forms. The AMPs database includes a total of 2619 AMPs - from bacteria, Archaea, Protista, fungi, plants and animals. AMPs are able to control invading pathogenic bacteria, viruses, fungi and parasites. Some AMPs possess other functional properties such as immune modulation, wound healing, antioxidant. AMPs is considered to kill bacteria via membrane damaging and/or by translocation the membrane into cytoplasm to act on intracellular targets. Adsorption of AMPs on bacterial wall is mainly electrostatically between the cationic peptides and negatively charged cell wall-lipoteichoic acid of Gram-positive and lipopolisaccharides of Gram-negative bacteria. Several AMPs are able to kill cells in biofilms, disrupting extracellular matrix production and stability, interfering with microbial communication and as such have begun to be more recognized for their potential as antibiofilm antimicrobial agent. Utilize AMPs together with traditional antibiotics often result in additive or synergistic activity. There are numerous AMPs under clinical development for

the treatment –majority as topical drugs (infected diabetic foot ulcer, catheter infections, uncomplicated Gram positive skin infections, nasal colonization with *S.aureus*). A cationic fragment of human lactoferricin is developed for intravenous treatment of life-threatening bacterial and fungal infections in immunocompromised stem cell transplant recipients. The amount of AMPs that can be extracted from natural sources is too small and the process is unprofitable, but a series of AMPs were chemically synthesized. AMPs represent an alternative to classical antibiotics.

Keywords: antimicrobial peptides, antibacterial activity

R2. CORELAȚIA DINTRE CONSUMUL DE ANTIBIOTICE ȘI PATERNELE DE REZISTENȚĂ ÎNTR-O SECȚIE DE TERAPIE INTENSIVĂ

Monica LICKER^{1,2}, Carmen AXENTE¹, Luminita BĂDIȚOIU^{1,3}, Delia MUNTEAN^{1,2}, Florin HORHAT^{1,2}, Roxana MOLDOVAN^{1,3}, Elena HOGEA^{1,4}, Ovidiu BEDREAG^{1,2}, Dorel SANDESC^{1,2}, Luminita BADITOIU^{1,3}

1, „Victor Babes” University of Medicine and Pharmacy Timișoara

2 “Pius Branzu” Timișoara Emergency Clinical County Hospital

3 Regional Center of Public Health Timișoara

4 Dr. Victor Babeș Clinical Hospital for Infectious Diseases and Pneumo-Phthiziology Timișoara

Introducere: În ultimele decenii s-a observat o creștere dramatică a infecțiilor cauzate de germeni multirezistenți (MDR). Secția de terapie intensivă (ATI) reprezintă epicentrul urgenței și răspândirii acestor tulpini. Scopul studiului nostru a constat în investigarea relației existente între paternele locale de rezistență și consumul de antibiotice în secția de ATI a Spitalului Clinic Județean de Urgență “Pius Branzu” Timișoara.

Metodă: Studiul prospectiv a fost condus în perioada cuprinsă între 1 ianuarie 2012-31 decembrie 2013. Identificarea bacteriilor și testele de sensibilitate la antibiotice s-au realizat cu ajutorul sistemului automat Vitek 2C (bio-Mérieux). Interpretarea fenotipurilor de rezistență s-a realizat conform standardelor CLSI 2012. Consumul a fost cuantificat strict pentru perioada spitalizării în secția de ATI, în Defined Daily Dose (DDD) /1000 pacienți-zile, în concordanță cu metoda WHO (WHO ATC/DDD Index 2015).

Rezultate: Prescrierea de cefalosporine, fluoroquinolone și aminoglicozide a ramas constant, în timp ce consumul de peniciline, carbapeneme și alte clase de antibiotice (aminopenoli, derivați de imidazol, glycyglycine, glycopeptide, lincosamide, monobactami, macrolide, preparate anti-Mycobacterium, polymyxine, oxazolidinone, tetracycline și sulphonamide) a crescut. În timp ce incidența densității tulpinilor de *S.aureus* metilino-rezistent (MRSA), a tulpinilor de *E.coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* secretoare de beta-lactamaze cu spectru extins (BLSE) și *Acinetobacter baumannii* carbapenem rezistent a ramas constantă, tulpinile BLSE de *P.aeruginosa* (gradient=0.78, $R^2=0.707$, $p=0.009$), precum și cele carbapenem-rezistente de *P.aeruginosa* (gradient=0.74, $R^2=0.666$, $p=0.013$) au fost izolate mult mai frecvent.

Concluzii: Incidența tulpinilor BLSE și carbapenem-rezistente de *P.aeruginosa* a crescut semnificativ, în paralel cu creșterea consumului de beta-lactamine cu inhibitori de beta-lactamază (Piperacilină/Tazobactam) și carbapeneme (Meropenem).

Cuvinte cheie: consum de antibiotice, fenotipuri de rezistență, incidența densității

CORRELATION BETWEEN ANTIBIOTIC CONSUMPTION AND RESISTANCE PATTERNS WITHIN AN INTENSIVE CARE UNIT

Introduction: During the last decades, a dramatic increase of infections caused by multidrug-resistant (MDR) pathogens has been observed worldwide. In a tertiary medical unit, intensive care units (ICU) represent the epicentre for emergence and spread of MDR strains. The purpose of our study was to investigate the relationship between local resistance bacterial patterns and antibiotic consumption in “Pius Brnzeu” Timisoara Emergency Clinical County Hospital ICU.

Method: A prospective study was conducted during the period between January the 1st 2012 and December the 31st 2013. Bacterial identification and antimicrobial sensitivity test (AST) were performed using the Vitek 2C automated system (bio-Mérieux). Susceptibility categories were designed according to the CLSI 2012. Consumption was strictly quantified for the period of ICU stay, in Defined Daily Dose (DDD) /1000 patients-days, according to the method established by the WHO Collaborating Centre for Statistical Pharmacologic Methodologies (WHO ATC/DDD Index 2015).

Results: Prescription of cephalosporins, fluoroquinolones and aminoglycosides remained constant, while the consumption of penicillins, carbapenems and other antibiotic classes (aminophenols, imidazole derivatives, glycyglycine, glycopeptides, lincosamides, monobactams, macrolides, anti-Mycobacterium substances, polymyxins, oxazolidinones, tetracyclines, and sulphonamides) increased. While the incidence density of methicillin resistant *S.aureus* (MRSA), extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *E.coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis* and carbapenem-resistant *A. baumannii* strains remains constant, strains of ESBL *P.aeruginosa* (gradient=0.78, $R^2=0.707$, $p=0.009$) and carbapenem-resistant *P.aeruginosa* (gradient=0.74, $R^2=0.666$, $p=0.013$) were isolated significantly more frequently.

Conclusion: The incidence of ESBL producing and carbapenem-resistant *P.aeruginosa* strains increased significantly, paralleling the increase in consumption of β -lactams with β -lactamase inhibitors (Piperacillin/Tazobactam) and carbapenems (Meropenem).

Keywords: antibiotic consumption, resistance phenotypes, density incidence

C1. PROFILUL DE ANTIBIOREZISTENȚĂ AL TULPINILOR IZOLATE DIN HEMOCULTURI ÎN SUU ELIAS ÎN 2016

Mariana BUZEA, Roxana BUNGHEZ, Cristiana CAȘOTĂ, Marilena FILIPOV

SUU Elias, București, România

Scop: studiu retrospectiv de evaluare a profilului de rezistență al tulpinilor izolate din hemoculturi în SUU Elias în 2016.

Material și metodă: 1776 hemoculturi au fost procesate în sistemul BacT/ALERT3D. Au fost izolate 161 tulpini de interes, ulterior identificate și testate în sistemele automate Vitek, Phoenix și prin E-teste, conform standardului EUCAST.

Rezultate: din probele pozitive s-au izolat: *S. aureus* (22,98%), *Enterococcus* spp. (5,59%), *E. coli* (14,28%), *K. pneumoniae* (24,22%), *A. baumannii* (14,28%), *P.aeruginosa* (5,59%). Principalele mențiuni legate de rezistența la antibiotice: 56,75% tulpini *S.aureus* metilino-rezistente, cu sensibilitate integrală păzervată pentru glicopeptide, linezolid; 33,3% tulpini *Enterococcus* cu rezistență la glicopeptide. Prevalența producerii de ESBL la *E. coli*: 21,73%, cu rezistență asociată la aminoglicozide (8,69%) și ciprofloxacina (17,39%). Particularitatea tulpinilor de *K. pneumoniae*: 56,41% izolate producătoare

de carbapenemaze (95% oxa 48), rezistența la carbapeneme variind între 2,58% (imipenem) și 7,69% (meropenem), la colistin fiind 33%. *P. aeruginosa* și *A. baumannii* s-au remarcat prin nivele înalte de rezistență, între 33%-95%, pentru toate antibioticele testate, exceptând colistinul. Trebuie menționat că 35,40% dintre infecțiile invazive generate de aceste tulpini au fost documentate ca infecții asociate asistentei medicale.

Concluzii: tulpinile prezentând rezistență multiplă la antibiotice au constituit 47,82% din etiologia sepsisului investigat în spitalul nostru, incidența crescută a infecțiilor asociate asistentei medicale fiind o realitate pe care ne-o asumăm și a cărei rezolvare ne preocupă. În laborator, identificarea și caracterizarea completă și corectă a acestor izolate se impune ca o condiție esențială și obligatorie pentru instituirea unui tratament eficient al infecțiilor cauzate de aceste tulpini.

ANTIBIOTIC RESISTANCE PATTERN OF BACTERIA ISOLATED FROM BLOOD CULTURES IN SUU ELIAS IN 2016

Purpose: This retrospective study was performed to survey antibiotic resistance pattern of bacteria isolated from blood cultures in 2016 in Elias Hospital.

Methods: A total of 1176 blood cultures have been investigated by BacT/ALERT3D. Identification and antimicrobial susceptibility of 161 strains of interest, isolated from positive cultures, have been executed by Vitek 2C, PhoenixBD and E-test, following EUCAST standard.

Results: *S. aureus* accounted for 22,98% of all strains, while *Enterococcus* spp. was isolated in 5,59%. Among Gram negative bacilli, *E. coli* and *K. pneumoniae* were the most frequent (38,50%), followed by nonfermentors, mainly *A. Baumannii* (14,28%) and *P. aeruginosa* (5,59%). Regarding the resistance spectrum: 56,75% of *S. aureus* was methicillin-resistant, fully susceptible to glycopeptides and linezolid; 33,3% of *Enterococcus* spp. was resistant to vancomycin and teicoplanin. Prevalance of ESBL - producing strains was 21,73% for *E. coli*, with 8,69% associated resistance to aminoglycosides and 17,39% to ciprofloxacin. Particullary, *K. pneumonia* showed resistance to imipenem(2,58%), meropenem (7,69%) and colistin (33%), 56,41% being carbapenemase –producing (95% oxa 48). Except colistin, *P. aeruginosa* and *A.baumannii* were high resistant to all antibiotic tested: carbapenems, aminoglycosides and quinolones (from 33% to 95%). 35,40% of this bloodstream infections were declared nosocomial, (infection appeared >48h and there was no sign of infection at admission).

Conclusions: Multidrug resistant bacteria were involved in 47,82% of septic syndromes. The rate of nosocomial bloodstream infection is high in our hospital and of concern in particular trends towards increasing antibiotic resistance, which has a great impact on morbidity, mortality and health care infection.

R3. DIAGNOSTICUL DE LABORATOR AL BOLII INVAZIVE PNEUMOCOCICE – O PERFORMANȚĂ ÎN DECLIN?

Irina CODIȚĂ^{1,2}, Marina PANĂ¹

1 Institutul Național de Cercetare Cantacuzino

2 Universitatea de Medicină și Farmacie Carol Davila București

Dupa estimările Organizației Mondiale a Sănătății, boala invazivă pneumococică este cea mai importantă cauza de deces dintre infecțiile prevenibile prin vaccinare: aproximativ 1,6 milioane de decese anual, dintre care 1 milion în rândul copiilor din categoria de vârstă 1-5 ani.

România participă prin laboratorul de referință din INC Cantacuzino la un proiect european de evaluare a impactului vaccinării antipneumococice asupra circulației tulpinilor de *Streptococcus pneumoniae*.

În ciuda progreselor înregistrate în dezvoltarea prevenției prin vaccinare, diagnosticul de laborator rămâne o problemă încă nesatisfăcătoare rezolvată, atât în țara noastră cât și la nivel european și global.

Există aprecieri după care în ciuda progreselor tehnologice remarcabile, performanța laboratoarelor de microbiologie este mai slabă decât cu 70 de ani în urmă (Bartlett JG. Decline in microbial studies for patients with pulmonary infections. Clin Infect Dis 2004; 39:170–2).

Printre cauzele care contribuie la aceasta realitate au fost identificate în special deficiențele apărute în faza preanalitică, în care se acordă o importanță redusă obținerii unor prelevate de calitate. Creșterea frecvenței tulpinilor rezistente la antibiotice contribuie, de asemenea, la reducerea șanselor de izolare a tulpinilor de *Streptococcus pneumoniae*.

De aceea, considerăm utilă trecerea în revistă a principalelor etape de diagnostic, cu accent asupra unor elemente critice și/sau de noutate, în vederea creșterii șanselor de izolare și/sau detectare direct în prelevat a *Streptococcus pneumoniae* și/sau a serotipului incriminat în etiologia bolii pneumococice invazive.

Cuvinte cheie: *Streptococcus pneumoniae*, diagnostic, boală invazivă pneumococică

LABORATORY DIAGNOSTIC OF PNEUMOCOCCAL INVASIVE DISEASE – A PERFORMANCE DECLINE?

According to World Health Organization estimates, pneumococcal invasive disease is the most important cause of death among vaccine preventable diseases: approx. 1,6 million deaths annually, including 1 million children up to 5 years.

Romania is participating through the reference laboratory functioning in Cantacuzino NIR in an EU project aiming at evaluating the impact of pneumococcal vaccination on circulation of *Streptococcus pneumoniae* strains.

Despite progress registered in developing prevention through vaccination, laboratory diagnostic remains a problem which is still unresolved, not only in our country, but also in Europe and worldwide.

There are opinions claiming that despite remarkable technological progress, microbiology laboratories performance is weaker than 70 years ago (Bartlett JG. Decline in microbial studies for patients with pulmonary infections. Clin Infect Dis 2004; 39:170–2).

Among causes contributing to this reality, deficiencies in preanalytical phase, especially a reduced importance paid to obtain high quality samples have been identified. Increase in antimicrobial resistant strains frequency is also contributing to reducing the chances to isolate *Streptococcus pneumoniae* strains.

Therefore, we considered useful to review the main steps of microbiological diagnostic, focusing on some critical and / or novelty elements, in order to increase the chances of isolation and / or direct detection of and / or serotypes incriminated in the etiology of pneumococcal invasive disease. *Streptococcus pneumoniae*

Keywords: *Streptococcus pneumoniae*, diagnostic, pneumococcal invasive disease

R4. DIAGNOSTICUL DE LABORATOR ÎN TOXOPLASMOZA CONGENITALĂ

Tudor Rareș OLARIU

Universitatea de Medicină și Farmacie „Victor Babeș” Timișoara, România
Spitalul Clinic Municipal de Urgență Timișoara, România

Toxoplasma gondii infectează o gamă largă de mamifere, inclusiv omul. Infecția primară dobândită în timpul sarcinii expune fătul unui risc de toxoplasmoză congenitală prin transmiterea transplacentară a parazitului. Incidența și severitatea toxoplasmozei congenitale depind de vârsta gestațională la care se produce infecția maternă. La începutul sarcinii, infecția congenitală este rară, dar poate determina avorturi spontane, copii născuți morți sau nașterea unor copii care prezintă semne clinice de afectare a sistemului nervos central. Acești copii, născuți din mame care se infectează la începutul sarcinii, pot prezenta manifestări clinice de toxoplasmoză congenitală, corioretinită, calcificările cerebrale și hidrocefalia fiind cele mai frecvente. Dacă infecția maternă primară este dobândită în a doua jumătate a sarcinii, toxoplasmoza congenitală este mult mai frecventă dar simptomatologia este mai puțin severă în cazul majorității nou-născuților infectați.

Studiile noastre au aratat ca seroprevalența *T. gondii* la femeile aflate la vârsta procreerii și în populația generală din Vestul României a fost ridicată, fiind de 57,6%, respectiv 64,8%. Transmiterea congenitală a *T. gondii* reprezintă un risc în zone ca România, unde toxoplasmoza este endemică.

Screeningul și tratamentul pentru toxoplasmoză în timpul sarcinii pot conduce la o scădere a transmiterii verticale și o diminuare a prezentei semnelor clinice la copiii infectați. Prin urmare, metodele de laborator ar trebui să vizeze identificarea precoce a copiilor cu toxoplasmoza congenitală. Diagnosticul trebuie să includă detectarea anticorpilor anti-*T. gondii* IgG, IgM, IgA și o revizuire completă a istoricului mamei, inclusiv tratamentul și vârsta gestațională în momentul infectării materne. Principalele metode de laborator cu accent pe determinările serologice vor fi prezentate.

Cuvinte cheie: toxoplasmoză congenitală, parazit, serologie

C2. TRICHINELOZA – O PROBLEMĂ DE SĂNĂTATE PUBLICĂ ÎN VESTUL ROMÂNIEI

Maria Alina LUPU^{1,2}, Angela DRAGOMIR², Rodica LIGHEZAN^{1,2}, Ionuț Dragoș CĂPRARIU¹,
Livius Octavian ȚÎRNEA¹, Tudor Rareș OLARIU^{1,3}

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

2 Institutul de Boli Cardiovasculare Timișoara

3 Spitalul Clinic Municipal de Urgență Timișoara, România

Introducere: Trichineloză este o zoonoză produsă de specii de *Trichinella*, nematod care infectează animale domestice și sălbatice. Infecția umană se produce prin consumul de carne crudă sau insuficient preparată termic care conține larve de *Trichinella* închistate în țesutul muscular al animalelor infectate. Simptomatologia este direct influențată de numărul de larve ingerate. Studiul evaluează prevalența și factorii de risc ai trichinelozei umane în vestul României în perioada 2012-2016.

Material și metodă: Acest studiu retrospectiv cuprinde 65 pacienți consecutivi internați și diagnosticați cu trichineloză în spitalele din 3 județe din vestul României (Timiș, Arad, Hunedoara) în

perioada 01.01.2012 – 31.12.2016. Datele clinice, paraclinice, epidemiologice și medicația utilizată au fost colectate din foile de observație.

Rezultate: Pacienții au avut vârsta cuprinsă în intervalul 2-68 ani (vârsta medie = 36.15). Dintre aceștia 36 (55.4%) au fost de sex masculin și 23 (35.4%) au provenit din mediul urban. Sursa de infecție a fost carnea de mistreț pentru 4 (6.2%) pacienți și carnea de porc pentru 61 (93.8 %). Cele mai frecvente simptome au fost mialgiile (81.3%), febra (56.9%), edemele palpebrale (52.3%), astenia (47.7%). Treizeci și patru de pacienți (52.3%) au prezentat leucocitoză și 61(93.8%) eozinofilie. Tratamentul cu Albendazol a fost administrat în 90.8 % din cazuri.

Concluzii: Trichineloză este o importantă problemă de sănătate publică în vestul României, implementarea programelor de educație sanitară în rândul crescătorilor de animale și a populației fiind imperios necesară.

Cuvinte cheie: *Trichinella* spp., trichineloză, sănătate publică

TRICHINELLOSIS – A PUBLIC HEALTH PROBLEM IN WESTERN ROMANIA

Introduction: Trichinellosis is a zoonosis caused by *Trichinella* species, a nematode that infects domestic and wild animals. Human trichinellosis occurs through consumption of raw or undercooked meat with *Trichinella* larvae encysted in muscle tissues of animals. Symptoms are related to the number of larvae consumed in the meat. This study assesses the prevalence and risk factors of human trichinellosis in Western Romania between 2012-2016.

Material and methods: This retrospective study included 65 consecutive patients from three counties in western Romania (Timis, Arad, Hunedoara) who were diagnosed with trichinellosis and hospitalized between 01.01.2012 – 31.12.2016. Clinical, laboratory, epidemiological and therapeutic data were collected from the medical records.

Results: Patients were aged between 2-68 years (mean age = 36.15). 36 (55.4%) were males and 23 (35.4%) came from urban area. The source of infection was wild boar meat in 4 (6.2%) patients and pork meat in 61 (93.8%). The most frequent symptoms were myalgia (81.3%), fever (56.9%), eyelid edema (52.3%) and asthenia (47.7%). Thirty-four (52.3%) patients had leukocytosis and 61 (93.8%) eosinophilia. Albendazole was used in 59 (90.8%) cases.

Conclusions: Trichinellosis is an important public health problem in Western Romania and implementation of sanitary education programmes for both swine breeders and consumers is imperative.

Keywords: *Trichinella* spp., trichinellosis, public health

C3. METODE DE DIAGNOSTIC ÎN BOALA LYME TRANSMISĂ DE CĂPUȘE

Rodica LIGHEZAN, Alina Maria LUPU, Livius TIRNEA, Ionut CAPRARU, Cristina SORICĂ,
Diana Luisa LIGHEZAN, Tudor Rares OLARIU

Universitatea de Medicină și Farmacie Victor Babes Timișoara

Introducere: În Europa, agentul etiologic al bolii Lyme (LD) este complexul *Borrelia burgdorferi* sensu lato, transmis prin mușcătura căpușelor *Ixodes ricinus*.

În acest studiu am realizat o estimare a prevalenței infecțiilor cu *Borrelia* în rândul pacienților cu suspiciune clinică de boală Lyme.

Material și metodă: În perioada ianuarie 2016-ianuarie 2017 au fost investigate 1123 de probe de sânge, recoltate de la pacienți suspecți de boală Lyme.

Investigațiile de laborator au inclus o metoda imunologică de screening, reprezentată de enzyme linked fluorescent assay – ELFA (Vidas Lyme IgM and IgG, bioMerrieux, Franța) urmată de o metodă de confirmare a rezultatelor pozitive, folosind metoda Western blot (WB).

Rezultate: Anticorpilor specifici IgM și IgG au fost demonstrați la 7% ($n=79/1123$), respectiv 7, 6% ($n=80/1041$) dintre serurile testate prin metoda ELFA. La un număr de 18 pacienți au fost detectați atât IgM cât și IgG. Metoda WB a fost aplicată la 33 dintre serurile pozitive și a confirmat prezența anticorpilor specifici anti-*Borrelia* în 84% ($n=16/19$) din serurile testate pentru demonstrarea IgM, la 25% ($n=2/8$) din serurile testate pentru IgG și respectiv la 83% ($n=5/6$) din serurile în care au fost demonstrate ambele imunoglobuline IgM și IgG.

Concluzii: În vederea stabilirii diagnosticului de boala Lyme, se recomandă ca investigațiile de laborator să fie realizate în 2 etape: serurile cu anticorpi detectați prin metode imunologice precum ELFA vor fi testate și prin tehnica WB. Aceasta are rolul de a confirma prezența anticorpilor specifici anti-*Borrelia* în serul pacienților cu suspiciune de boală Lyme.

Cuvinte cheie: boala Lyme, serologie

DIAGNOSTIC METHODS IN THE TICK TRANSMITTED LYME DISEASE

Introduction: In Europe, the etiological agent of Lyme disease (LD) is the *Borrelia burgdorferi* sensu lato complex, transmitted in humans by *Ixodes ricinus* ticks. The aim of this study was to estimate the prevalence of *Borrelia* infections among patients suspected of having LD.

Material and method: We investigated 1123 serum samples from patients suspected with LD. Samples were collected between January 2016 and January 2017. Laboratory tests included an enzyme linked fluorescent assay – ELFA (Vidas Lyme IgM and IgG, bioMerrieux, France) and the Western blot (WB) method as a confirmatory test.

Results: Of the samples tested with ELFA, specific IgM and IgG antibodies were demonstrated in 7% ($79/1123$), and 7.6% ($80/1041$), respectively. Both IgM and IgG were detected in 18 patients.

WB was performed in 33 of the sera tested positive with ELFA and confirmed the demonstration of specific anti-*Borrelia* antibodies in 84% ($16/19$) of serum tested for the detection of IgM, in 25% ($2/8$) of serum tested for the detection of IgG and in 83% ($5/6$) of serum where both IgM and IgG were detected.

Conclusion: In patients suspected of having LD, laboratory investigations should be performed in 2 steps: first, serum samples should be screened to demonstrate specific antibodies using ELFA method and second, WB technique should be also performed when results with ELFA demonstrate specific antibodies. The WB method is recommended to confirm the presence of specific anti-*Borrelia* antibodies in sera of patients suspected of having LD.

Keywords: Lyme disease, serology

PLENARY LECTURES: MISCELLANEA

R5. APPLICATION OF HIGH-THROUGHPUT, AUTOMATION AND ARTIFICIAL INTELLIGENCE IN LABORATORY MEDICINE PRACTICES

William W. AU

University of Medicine and Pharmacy, Tirgu Mures, Romania; Shantou University Medical College, Shantou, China; Princess Chulabhorn Research Institute, Bangkok, Thailand; and University of Texas Medical Branch, Texas, USA

It is universally desirable to do tasks “better, faster and cheaper”. With technology, such goals can be achieved. Take car manufacturing as an example. Cars were initially made individually by a team of workers until assembly line manufacturing was introduced. Then, robotic was integrated into the assembly line. Eventually, self-driving cars using artificial intelligence are being produced!

The process was made possible via application of high-throughput, automation and artificial intelligence technology.

Similar process has been occurring in laboratory medicine practices, e.g. in hematology and in imaging. This presentation will be made to reveal some examples of the applications and to provide the topic for further discussion.

Keywords: automation, artificial intelligence, laboratory medicine

R6. LABORATORY AND QUALITY VALUES IN HEART FAILURE MANAGEMENT

Gábor L. KOVÁCS

Szentágothai Research Centre and Department of Laboratory Medicine, University of Pécs, Hungary

Current challenges in heart failure management are related to the fact that traditional parameters are not always reliable, the patient follow-up is not necessarily done by heart failure specialist (cardiologist), high rehospitalization and mortality rates, the patient compliance and that a more objective and reliable therapy follow-up is needed. Cardiac natriuretic peptides (BNP, NT-proBNP) play a pivotal role in cardiovascular homeostasis, mainly due to their roles in vasodilatation, natriuresis, diuresis and due to their antiproliferative properties. Proper measurement of the natriuretic peptide levels may help differentiate between respiratory and cardiac forms of dyspnea, diagnose early forms of heart failure, evaluate severity of heart failure (prognosis) and monitor the efficacy of therapy. In many countries natriuretic peptide levels are being used as one of the earliest diagnostics tools to evaluate the involvement of the heart. Current theoretical and clinical data confirm the importance of natriuretic peptides in routine healthcare. These roles are clearly described in international recommendations and guidelines. In the current review the authors discuss the problems of the measurement of natriuretic peptides, including several aspects related to laboratory medicine, cardiology and health economy.

Keywords: natriuretic peptides (BNP and NT-proBNP) in heart failure

R7. FEMALE INFERTILITY: PERSONALISED DIAGNOSTICS DURING THE IVF PROCESS

Gábor L. KOVÁCS

*Szentágothai Research Centre and Department of Laboratory Medicine,
University of Pécs, Hungary*

Infertility in recent years is a growing public health issue throughout the developed world. Assisted reproductive techniques, especially *in vitro* fertilization, have the potential to partially overcome the low natural reproductive ratio. Nowadays, the single embryo transfer gains grounds in clinical practice, urging the development of more reliable methods for selecting the best embryo. In general, however, the success rate of *in vitro* fertilization does not exceed 30%. In the traditional clinical practice, embryos are selected for transfer based on morphological evaluation. *In vitro* culturing of embryos also provides a very important material for further non-invasive evaluation, the spent embryo culture medium (SEC) remaining after the transfer. Methods concentrate on the metabolomic activity of the developing embryos complemented by new methods concentrating on secreted compounds. These studies are mainly utilizing the tools of modern analytics and proteomics. In a paper published by the authors in 2015 the alpha-1 chain of the human haptoglobin molecule was described as a quantitative biomarker of embryo viability. In a series of retrospective, blind experiments a success rate above 50% was achievable. The lecture summarizes the currently available metabolomic and proteomic approaches for the non-invasive molecular assessment of embryo viability.

Keywords: female infertility, *in vitro* fertilization, embryo viability

C4. IMUNOANALIZA PRL: CONCORDANȚA DINTRE DOUĂ METODE ȘI IMPACTUL ASUPRA DECIZIEI MEDICALE

Andra CARAGHEORGHEOPOL, Liliana PÂRVU, Adriana PADURE, Cătălina PICU, Sorina SCHIPOR

Institutul Național de Endocrinologie "C.I.Parhon", București, Romania

Introducere: Disponibilitatea unui mare număr de tehnici de imunoanaliză pentru cuantificarea prolactinei (PRL) implică dificultăți de transfer al rezultatelor între metode.

Obiectiv: Evaluarea concordanței între valorile PRL obținute cu două analizoare diferite.

Materiale și metode: A fost măsurată PRL în 40 de probe serice cu analizoarele Cobas e601 (Roche, PRL-C) și Access2 (Beckman-Coulter, PRL-A2), simultan. Au fost evaluate și 47 de rezultate obținute la schema de control extern (QCEXT), din perioada 2013-2016. Reactivii folosiți pentru ambele analizoare sunt calibrați cu WHO 3rdIS-PRL 84/500. Sensibilitatea analitică este 0.047ng/ml pentru PRL-C și 0.25 ng/ml pentru PRL-A2. Intervalele de referință pentru PRL sunt 4.04-23.3ng/ml (PRL-C) și 2.64-26.72 ng/ml (PRL-A2). Producătorii declară minimă reactivitatea încrucișată cu macroprolactina. Statistica a fost efectuată cu MedCalc v.14.

Rezultate: Nivelele măsurate ale PRL serice au fost: 27.11-249.9ng/ml, mediană 42.35ng/ml (95%CI 33.82-44.10) pentru PRL-C, respectiv 17.26-159.02ng/ml, mediană 29.47ng/ml (95%CI 24.61-31.60) pentru PRL-A2. Analiza QCEXT identifică mediana PRL-C =32.19ng/ml (95%CI 19.29-36.54), $z=0.13$, $cv=4.43\%$ și mediana PRL-A2 =22.91ng/ml (95%CI 13.78-28.72), $z=-0.14$, $cv=6.09\%$. Deși coeficienții

de corelație ai regresiei liniare sunt 0.973 pentru ser și 0.939 pentru QCEXT, analiza Bland-Altman pentru concordanța metodelor arată un bias important între PRL-C și PRL-A2, atât în ser cât și în QCEXT, respectiv: 34.3% (95%CI 14.8-53.7) pentru PRL serică și 25.5% (95%CI 12.6-63.6) pentru QCEXT.

Concluzii: Rezultatele obținute prin utilizarea celor două analizoare nu sunt interschimbabile, valorile PRL-C fiind de aproximativ 1.4 ori mai mari decât PRL-A2. Laboratoarele ar trebui să evalueze concordanța metodelor utilizând metode statistice adecvate, precum și impactul clinic al rezultatelor.

Cuvinte cheie: prolactină, concordanța metodelor

PROLACTIN IMMUNOASSAYS: THE AGREEMENT BETWEEN TWO METHODS AND THE IMPACT UPON CLINICAL DECISIONS

Introduction: The wide availability of immunoassays for prolactin (PRL) quantification raises the question of results portability from one method to another.

Objectives: We aimed to evaluate the agreement between PRL results obtained with two different immunoanalysers.

Materials and methods: We measured PRL in 40 serum samples with Cobas e601 (Roche, PRL-C) and Access2 (Beckman-Coulter, PRL-A2), simultaneously. We also evaluated 47 results from the external quality control scheme (QCEXT), from 2013 to 2016. Both reagents were calibrated against WHO 3rdIS-PRL 84/500. Analytical sensitivity is 0.047ng/ml for C and 0.25ng/ml for A2, respectively. Serum PRL reference intervals range between 4.04-23.3ng/ml (C) and 2.64-26.72ng/ml (A2). The producers declare minimum cross-reaction for macroprolactin. Statistics was performed with MedCalc v.14.

Results: Serum PRL levels ranged between 27.11-249.9ng/ml, median 42.35ng/ml (95%CI 33.82-44.10) and 17.26-159.02ng/ml, median 29.47ng/ml (95%CI 24.61-31.60), for PRL-C and PRL-A2, respectively. QCEXT analysis showed a median PRL of 32.19ng/ml (95%CI 19.29-36.54), mean $z=0.13$, $cv=4.43\%$ (PRL-C) and a median PRL of 22.91ng/ml (95%CI 13.78-28.72), mean $z=-0.14$, $cv=6.09\%$ (PRL-A2). Despite the regression correlation coefficients were 0.973 for serum samples and 0.939 for QCEXT, Bland-Altman analysis for agreements showed an important bias between PRL-C and PRL-A2, both in sera and in QCEXT samples, as follows: 34.3% (95%CI 14.8-53.7) for serum PRL, and 25.5% (95%CI 12.6-63.6) for QCEXT.

Conclusions: The results obtained with the two analysers are not interchangeable, PRL-C values being about 1.4 higher than PRL-A2. Laboratories should evaluate the agreement of their methods using appropriate statistic approaches, as well as the impact upon clinical outcome.

Keywords: prolactin, methods agreement

C5. C1IMPORTANȚA PROFILULUI ADN ÎN CAZUL IDENTIFICĂRII UNEI VICTIME CARBONIZATE

Raluca DUMACHE^{1,2}, Camelia MUREȘAN^{1,2}, Veronica CIOCAN^{1,2}, Alexandra ENACHE^{1,2}

1 Universitatea de Medicină și Farmacie Victor Babeș Timisoara, Romania

2 Institutul de Medicină Legală Timișoara, Romania

Introducere: În medicina legală, identificarea corpurilor carbonizate, victime ale expunerilor la temperaturi foarte înalte, reprezintă o ramură mai deosebită datorită stării avansate de degradare a probelor biologice respective.

În acest studiu vom prezenta identificarea unui cadavru carbonizat, prin compararea profilului ADN al acestuia cu profilele genetice ale presupușilor părinți biologici.

Material și metode: Pentru identificarea genotipului cadavrului carbonizat am folosit ca produs biologic sânge prelevat de la nivelul cordului în timpul autopsiei. Pentru stabilirea profilurilor genetice în cazul presupușilor părinți biologici, s-au prelevat de la nivelul cavității orale celule epiteliale prin raclaj bucal. După extracția ADN, cuantificarea acestuia s-a făcut folosind un sistem ABI 7500 real-time PCR, fiind urmată de amplificarea fragmentelor de ADN pe un sistem ProFlex PCR System, folosind kitul de amplificare AmpFISTR Identifiler Plus PCR kit. Apoi, produșii PCR au fost separați electroforetic folosind un analizor genetic ABI 3500. Pentru vizualizarea și identificarea profilelor genetice s-a folosit programul GeneMapper ID-X ver.1.4.

Rezultate: În urma testelor de paternitate și maternitate efectuate s-a observat faptul că profilul genetic al victimei a fost compatibil cu profilele genetice al presupușilor părinți biologici, obținându-se o probabilitate de maternitate (PM), respectiv o probabilitate de paternitate (PP) în proporție de 99,99999% în fiecare situație.

Concluzii: Profilul ADN reprezintă un instrument important în identificările medico-legale, chiar în cazul probelor foarte degradate.

Cuvinte cheie: profil ADN; markeri genetici; identificări umane; probabilitate de maternitate (PM); probabilitate de paternitate (PP)

IMPORTANCE OF DNA PROFILING IN THE IDENTIFICATION OF A CARBONIZED BODY

Introduction: In forensic medicine, the identification of burnt bodies that are victims of exposure to very high temperatures represents a difficult area of the field due to the advanced state of decomposition.

In our current study we present the identification of a carbonized victim by comparing the victims' DNA genotype with his parents' genotypes.

Materials and methods For the identification of the carbonized body's genotype we used blood obtained from the heart chambers during the autopsy. From his presumptive parents we obtained biological samples by buccal swabs. After DNA isolation and quantification on an ABI 7500 real-time PCR system, we proceeded to short tandem repeats amplification (STR) on a ProFlex PCR System, using the AmpF/STR Identifiler Plus PCR kit. DNA products were separated on an ABI 3500 genetic analyser. For the visualization and identification of the genetic profiles we used GeneMapper ID-X ver.1.4 software.

Results: We established through maternity/paternity DNA testing that the victim's genetic profile was compatible with the DNA profiles of his biological parents. The probability of maternity (PM) and the probability of paternity (PP) were calculated using Romanian allele frequencies and was 99.99999% for each of the parents.

Conclusions: DNA profiling represents an important tool in forensic human identification, even from very degraded samples.

Keywords: DNA profiling; short tandem repeats (STR); human identification; genetic markers; probability of maternity (PM); probability of paternity(PP)

PLENARY LECTURES - QUALITY MANAGEMENT

R8. UNDERSTANDING QUALITY MANAGEMENT SYSTEM: ESSENTIAL STRATEGIES TO IMPROVE LABORATORY PERFORMANCE

Sedef YENICE

*Committee on Clinical Laboratory Management (C-CLM) IFCC,
Gayrettepe Florence Nightingale Hospital Istanbul, Turkey*

The foundation of any Quality Management System (QMS) is a framework of quality system essentials (CLSI and ISO 15189) or quality system elements (SLIPTA or WHO LQMS). Those internationally well-known frameworks can be used to organize logically and help the laboratories adapt easily for implementing based on their individual needs, achieving and maintaining compliance at a minimum level. Next, in the QMS level of the hierarchy, the laboratory should formalize a systematic, process-oriented approach to and framework for the quality programs to meet quality objectives. For over a decade, managerial and technical requirements for clinical labs and blood banks have been categorized into laboratory QSEs. (CLSI. Quality Management System: A Model for Laboratory Services; Approved Guideline—Fourth Edition. CLSI document QMS01-A4. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2011). For laboratory scientists, it's a challenge to integrate all these programs, guidelines, standards, and tools into a cohesive QMS, whose purpose is to define the organizational structure and essential activities that are necessary to achieve quality in routine clinical laboratory services.

Therefore, establishing and maintaining laboratory QMS are essential and some laboratories are at different levels with respect to implementation. For the clinical laboratories, having no guidance on how to perform, should decide which tools and methods to employ, as well as how to reconcile the differences between the different standards and guidelines. Some of the existing schemes do not include a roadmap that informs the laboratory manager in which order compliance to the standards should be achieved. It was found that the twelve elements are not structured in a way that could be useful for laboratory managers just beginning with establishing a QMS. Therefore a logical order for implementing a QMS step-by-step is suggested.

Comprehensive clinical laboratory QMS are unregulated and, in many cases, are non-existent. Along with the growing availability of POCT, Direct –To – Consumer tests, Physician Office test systems comes the reduction in quality and regulatory oversight. However, as the clinical laboratory environment changes to encompass an increasing variety of test methods, it is becoming clear that there is a need to address and regulate technical and non-technical factors that impact quality and that lead to medical errors and diminished patient care outcomes. Total elimination of medical errors is nearly impossible; however, the sources of preventable errors are typically identifiable and associated with systemic errors that can be reduced with the implementation of a robust quality system.

While the ISO 15189 standard catches quality issues that are often responsible for a significant number of clinical laboratory errors, it requires a higher degree of quality management, the establishment of continual quality improvement, and true audit-based monitoring. Pre- and post-analytical phase errors are preventable with systemic quality indicators. Integrating existing quality measures with a sound

QMS will create a cultural shift in laboratory quality that is already prevalent in some parts of the world. When laboratories comply with quality standards and ISO 15189 requirements, they are committing to increased laboratory quality and improved patient outcomes.

Changing an entrenched culture of any kind is a daunting task, yet changing the culture of laboratory medicine for the good of patient care is warranted by the ongoing incidence of laboratory errors. Applying both the country specific or national and ISO 15189 standards, with an understanding of the way in which they complement one another, can increase overall laboratory quality, reduce systemic errors that are associated with adverse patient outcomes, and transform laboratory quality to accomplish any laboratory's goals: accuracy, reliability, and timeliness of patient results. The ISO 15189 standard also contains two annexes, one with recommendations for laboratory information systems (LIS) and one for ethics in clinical laboratory practice. Most national and international quality management standards lack requirements and recommendations on ethics. Guidance documents exist for clinical laboratories that include ethical principles, collaboration, patient rights, internal procedures, and confidentiality. This approach likewise requires a cultural shift toward becoming a learning organization and embracing deficiencies as opportunities for improvement.

The goal of this talk is to call laboratory professionals' attention to the management challenges and encourage them to fix those unproductive situations. A flexible systematic and logical approach in association with practical tools and requirements are necessary for providing quality laboratory services that support patient care. The key concept is to incorporate quality approaches and processes into lab's day-to-day work, rather than enforcing the QMS requirements as rules that must be followed to achieve accreditation. Consequently, not only would this improve patient safety, but it would make clinical laboratories a more energizing, productive place to work for all of the staff.

Keywords: Quality Management System (QMS), ISO 15189, Culture of Quality, Ethics

C6. FOLOSIREA INDICATORILOR DE CALITATE ȘI INFLUENȚA ASUPRA COSTURILOR CALITĂȚII ÎNTR-UN LABORATOR CLINIC

Remona Eliza DAVID^{1,2}, Minodora DOBREANU²

1 Clinica Sante Tîrgu Mureș

2 Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș

Introducere: Scopul studiului a fost atât de a analiza evoluția indicatorilor de calitate selectați cât și de a evalua costurile de calitate pentru erorile interne, astfel eliminându-se cheltuielile inutile din procesul preanalitic.

Material și metodă: Lotul de studiu a fost constituit din toate cererile de analiză primite de laborator (117.938), în perioada 2015-2016, în Departamentul de Biochimie. În prima etapă a studiului, perioada 01.01.2015-31.12.2015, am selectat indicatorii de calitate folosind FMEA – Failure Modes and Effects Analysis (specimene hemolizate și lipemice); am stabilit, respectiv implementat strategia de colectare și analiză a datelor, identificarea specimenelor neconforme făcându-se prin inspecție vizuală după centrifugarea eprubetelor. În a doua etapă a studiului, perioada 01.01.2016-31.12.2016, s-a continuat colectarea datelor pentru a evalua tendința schimbărilor și gradul de control asupra procesului, și s-au stabilit elementele implicate în calculul costurilor de eroare asociate cu o nouă recoltare pentru un specimen neconform. Au fost incluse doar costurile directe (materiale și personal); costurile indirecte vor fi aceleași pentru laborator, chiar dacă un specimen este recoltat o dată sau de mai multe ori.

Rezultate și concluzii: Procentul specimenelor neconforme a fost 3,31%, valoarea Six Sigma 3,4. În 2015, cele mai mari procente au fost găsite pentru indicatorii: „specimenelor hemolizate” și „specimene lipemice” (0,99% respectiv 1,41%). În 2016, procentul specimenelor hemolizate a fost 1,42%; procentul specimenelor lipemice a fost 2,35%. De fiecare dată când un specimen nu întrunește criteriile de acceptare pentru examinare, laboratorul a suportat costurile recoltării și nu poate efectua examinările solicitate. Informațiile derivate din utilizarea și monitorizarea indicatorilor de calitate pot constitui o metodă de evaluare a costurilor de calitate.

Cuvinte cheie: indicatori de calitate, costuri de calitate

THE USE OF QUALITY INDICATORS AND THE INFLUENCE ON QUALITY COSTS IN A CLINICAL LABORATORY

Introduction: The aim of our study was to analyze the evolution of selected quality indicators, and to assess the quality costs for the intern errors, thus the waste expenses have been eliminated from the preanalytical process.

Materials and methods: The study group included all the analysis received by the laboratory, during 01.01.2015-31.12.2016, for the Biochemistry Department. The first stage of the study, 01.01.2015-31.12.2015, the quality indicators have been selected using FMEA – Failure Modes and Effects Analysis (hemolized and lipemic specimens), the collecting and analyzing of data strategy has been established and implemented; identifying of nonconform specimens being done by visual inspection after centrifugation tubes. In the second stage of the study, 01.01.2016-31.12.2016, the data collecting was continued to assess the changing trend and the degree of process control; and the elements involved in the calculation of the error cost associated with a new recollection for a nonconform specimen have been established. Only the direct costs were included (material and personal); the indirect costs would be the same for the laboratory, even if a specimen is collected once or several times.

Results and conclusions: The percentage of nonconform specimens was 3.11%, Six Sigma value 3.4. In 2015, the highest percentages were found for the following indicators: “hemolized specimens” and “lipemic specimens” (0.99% respectively 1.41%). In 2016, the percentages was: 1.42% for the hemolized specimens and 2.35% for the lipemic specimens. Every time a specimen does not meet the acceptance criteria for examination, the laboratory paid for the collecting expenses and cannot perform the examination demands. The information derived from performing and monitoring of the quality indicators can represent an assessment approach of the quality costs.

Keywords: quality indicators, quality costs

C7. INDICATORII DE CALITATE ÎN FAZA ANALITICĂ-HEMATOLOGIE

Roxana FILIP^{1,2} Anca Mariana CIOBANU¹, Monica TERTELIU³

1 Laborator Hipocrat, Suceava, Romania

2 Universitatea Ștefan cel Mare, Suceava, Romania

3 Spitalul Județean de Urgență “Sf. Ioan cel Nou de la Suceava”

Introducere: Standardul SR EN ISO 15189-2013 precizează în capitolul 4.14.7: ”Laboratorul trebuie să stabilească indicatorii calității pentru a monitoriza și evalua performanța pe tot parcursul aspectelor

critice ale proceselor de pre- examinare, examinare și post examinare”. Scopul studiului: calcularea indicatorilor de calitate- sigmometrics- în faza analitică pentru un laborator ambulatoriu, sectorul hematologie.

Material și metodă: În perioada ianuarie-decembrie 2016 am utilizat doi indicatori pentru faza analitică în sectorul de hematologie: unul din controlul intern și celălalt din rezultatele controlului extern. Parametrii analizați: hemoglobina (Hb), hematocrit (Ht), număr leucocite (WBC), număr hematii (RBC, număr trombocite (Plt), volum corpuscular mediu (MCV), volum plachetar mediu (MPV), rata distribuției eritrocitare (RDW). Datele colectate din controlul intern au fost: deviația standard, coeficientul de variație (CV). Din raportul de control extern am folosit rezultatul de consens al grupului; eroarea totală admisă (TEA) am folosit-o din literatura de specialitate. Pentru fiecare parametru am calculat : bias(B): rezultatul raportat de laborator-valoarea de consens; bias % (B%): B/rezultatul de consens x100; sigmometrics: TEA %- B%/ Cv.

Rezultate: Pentru perioada studiată, rezultatele obținute pentru sigmometrics arată o bună performanță a valorilor obținute pentru Hb, RBC, WBC, Plt, RDW: 3.70, 2.51, 4.35, 4.17, 2.30 respectiv pentru ultimul trimestru. Comparativ cu primele trimestre este o tendință de creștere. Pentru ceilalți parametri: Ht, MCV, MPV valorile sunt < 3 în ultimul trimestru.

Concluzii: Indicatorii de calitate folosiți- sigmometrics- sunt o metodă bună de monitorizare a performanței laboratorului și arată în ce măsură laboratorul oferă servicii de calitate. În condițiile bugetului diminuat, metoda nu presupune investiții sau costuri suplimentare, doar calcularea și urmărirea indicatorilor de către directorul de laborator.

Cuvinte cheie: sigmometrics, indicatori de calitate

QUALITY INDICATORS IN ANALYTICAL PHASE - HEMATOLOGY

Introduction: The currently used standard SR EN ISO 15189/2013 requires in the chapter 4.14.7 :“ The laboratory must establish quality indicators to follow up and assess performance during the whole sample analyzing process: preexamination, examination, and post examination”. **Purpose:** to calculate the quality indicators-sigmometrics -for the analytical phase in an outpatient clinical laboratory, hematology section.

Material and methods: During January-December 2016 we used two indicators of the analytical phase for hematology: one from internal control and other from external control results. Analysed parameters were: hemoglobin (Hb), hematocrit (Ht), white blood cells count (WBC), red blood cells (RBC), platelets (Plt), mean corpuscular volume (MCV, mean platelet volume (MPV), rate distribution width (RDW). Data collected from the internal control were: standard deviation, variation coefficient (VC), mean value. From the external control reports we used: consensus result of the comparison group; the total admitted error (TEA) was used from known references. For each studied parameter we calculated: bias (B) : laboratory result reported in external quality control - consensus result; B %: B/consensus result x 100, Sigma: TEA % – B / Vc.

Results: The results obtained for sigmometrics showed a good laboratorz performance for Hb, Rbc, Wbc, Plt, Rdw, being: 3.70, 2.51, 4.35, 4.17, 2.30 , respectively , in the last trimester. Compared to the first trimester of the year, there is an increase for the mentioned parameters. For other studied parameters: Ht, Mcv, Mpv the values for sigmometrics are lower (less than 3) 1.68, 1.87, 1.36 in the last trimester of 2016.

Conclusion: Quality indicators used –sigmometrics- are a good tool to monitor performance, and also show in what degree the laboratory performs well for patient satisfaction.

Keywords: sigmometrics, quality indicators

R9. ROLE OF PROACTIVE MEASURES IN THE CLINICAL LABORATORY PRACTICE

Sedef YENICE

*Committee on Clinical Laboratory Management (C-CLM) IFCC,
Gayrettepe Florence Nightingale Hospital Istanbul, Turkey*

A Quality Management System (QMS) provides the laboratory with the tools and resources to proactively identify opportunities for improvement, continually respond to nonconforming events affecting customers, and prevent recurrences of identified inefficiencies in its processes. QMS must be a process that can be integrated and repeated in daily work plans. The main challenge is the adoption of “closed-loop quality management” processes or having a defined, continual approach to improving performance which is so called “Quality Management Maturity”. Clinical laboratories recognize continual improvement (CI) as an integral step in quality performance. It is one of 12 quality system essentials (QSEs) in a QMS identified by Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI) and ISO 15189 which includes 23 QSEs. A further standard, ISO 22367 specifies techniques for the reduction of error through risk management and continual improvement.

To be truly effective, a quality control plan (QCP) for testing based on risk management principles needs to be streamlined and systemized. Functionalities like audit management, risk management, compliance management, change management and others are connected with one another in some way. Risk and “Corrective and Preventive actions” (CAPA) processes should be connected, as in many instances proactive tools could be beneficial in determining which CAPA processes to prioritize. Clinical laboratories should map their testing process to identify weaknesses and hazards at each testing step. As risks are identified in the complete path of workflow, the laboratory selects appropriate control processes to detect and prevent errors before they affect test results.

Since 2011, shifting to a proactive quality management model for clinical laboratories prevailed by integrating with existing risk assessment methods. This development was associated with establishing an appropriate QC design that fits the testing process. They all directly relate to reducing patient risk or optimizing the cost of rework. Consecutively, “Individualized Quality Control Plan (IQCP)” was introduced in 2013 as a quality control option based on risk management. IQCP was devised, in part, to resolve the External or (Equivalent) Quality Control (EQC) problem by offering a risk assessment approach and has been promoted as “The Right QC” for the lab referring to the CLSI guidelines.

Accordingly, implementation and sustainment of a more proactive and systematic quality management approach are promising to ensure that important operational functionality occurs, including coordination of activities and processes, continuity in the flow of information, timely decision making, and mitigation of risk.

Keywords: Quality Control Plan (QCP), Risk Management, Corrective and Preventive Actions (CAPA)

C8. IDENTIFICAREA UNOR POSIBILE ERORI DIN LABORATOARELE DE ANALIZE MEDICALE UTILIZÂND CONTROLUL EXTERN AL CALITĂȚII

Alexandra CÎRSTEA^{1,2}, Georgeta SORESCU¹, Constanța POPA¹, Tatiana VASSU²

1 Asociația pentru calitate în laboratoarele medicale (CALILAB)

2 Facultatea de Biologie, Universitatea din București, Splaiul Independenței 91-95, București, R-050095, România

Introducere: Diagnosticile medicale se bazează în proporție de 70-80% pe rezultatele furnizate de laboratoarele de analize medicale, de aceea este foarte importantă identificarea erorilor care pot influența un diagnostic medical corect.

Material și metodă: Am studiat datele puse la dispoziție de un furnizor național de control extern al calității pentru participarea a 230 de laboratoare de analize medicale în anul 2016.

Rezultate: Din analiza datelor raportate de laboratoarele de analize medicale participante la controlul extern al calității și rapoartelor de evaluare a performanței, a reieșit că există erori care pot avea un impact major asupra diagnosticului medical, acestea referindu-se la valorile aberante raportate de către participanți.

Concluzii: Valorile aberante identificate trimestrial în anul 2016, în urma participării laboratoarelor de analize medicale la controlul extern al calității sunt datorate: greșelilor de raportare a rezultatelor (34 de cazuri); utilizării incorecte a formulelor de calcul în cazul rezultatelor care se obțin prin calcul (1 caz); utilizării incorecte a factorilor de conversie la unitățile de măsură în SI (9 cazuri). Identificarea rezultatelor aberante raportate participanții la controlul extern al calității, a cauzelor lor și măsurile de corectare, sunt importante datorită impactului major al acestor greșeli asupra diagnosticului medical.

Cuvinte cheie: erori, control extern al calității, laboratoare de analize medicale

IDENTIFYING THE POSSIBLE ERRORS IN MEDICAL LABORATORIES USING THE EXTERNAL QUALITY ASSESSMENT

Introduction: In 70-80% of cases, medical diagnosis is based on the results provided by the medical laboratories, therefore it is essential to identify the errors that could affect achieving a correct medical diagnosis.

Material and methods: We studied the data from 230 laboratories participating in 2016 at the external quality assessment programs, provided by a national EQA (External Quality Assessment) organizer.

Results: The study of the EQA results of the laboratories and their performance evaluation reports revealed that there are some errors with a major impact on the medical diagnosis, those related to the outliers reported by the laboratories.

Conclusions: In 2016, the outliers identified quarterly by analyzing the EQA results of the participating laboratories appear due to several causes: errors when introducing results in the online platform (34 cases); incorrect use of calculation formulas, when the results are obtained by calculation (1 case); incorrect use of the converting factors, when converting to The International System of Units (9 cases).

It is very important to identify the outliers from the EQA results reported by the laboratories, and also their causes and their corrective measures, since they have a major impact on medical diagnosis.

Keywords: errors, external quality assessment, medical laboratories

C9. PROVOCĂRI ȘI REALIZĂRI ÎN ORGANIZAREA UNEI SCHEME DE EQA A FAZEI DE PREEXAMINARE DE CĂTRE ROEQALM

Gabriel IONESCU^{1,2,3}, Lazăr CREZANTE¹, Ioana CULEA¹, Simona BERBECAR^{1,4}

1. RoEQALM, 2. INC Cantacuzino¹, 3. UMF Carol Davila București, 4. INMAS București

Introducere: RoEQALM a propus și desfășurat în 2016 o schemă de control extern al calității (EQA) cu o singură rundă, centrată pe faza de preexaminare deoarece această fază este mai puțin evaluată în schemele actuale de control extern al calității Procesului Total de Testare. Principalul obiectiv al schemei a fost cel educativ.

Material și metodă: Schema a fost proiectată sub forma unui chestionar cu 40 întrebări și răspunsuri de tip DA/NU (câte 10 întrebări/domeniu) pentru patru din domeniile medicinei de laborator: Chimie clinică, Hematologie, Coagulare și Bacteriologie. Răspunsurile corecte au fost notate cu 1 punct rezultând un scor maxim de 10 pentru fiecare domeniu și pentru media generală. Selecția întrebărilor și conceperea celor 4 cazuri ipotetice au fost extrem de provocatoare pentru membrii comitetului științific implicați în acest proces.

Rezultate: Răspunsurile participanților au arătat discrepanțe mari între aceștia (între 5.5 și 9.0 puncte). Scorurile medii pentru fiecare domeniu au fost: 8.07 – Chimie clinică, 9.07 – Hematologie, 8.15 Coagulare și 6.67 – Bacteriologie evidențiind diferențe notabile între unele domenii.

Concluzie: Performanțele înregistrate subliniază încă o dată necesitatea evaluării cu regularitate a fazei de preexaminare printr-o astfel de schemă de EQA, acordând atenție acelor subprocese care nu se află sub controlul direct al laboratorului dar ținând cont de specificul fiecărui domeniu.

Cuvinte cheie: Control extern al calității, faza de pre-examinare, chestionar

CHALLENGES AND ACHIEVEMENTS IN THE ORGANIZING OF A PRE-EXAMINATION EQA SCHEME BY ROEQALM

Introduction: RoEQALM proposed and developed in 2016 an external quality assessment scheme (EQA) with one single round, focused on Pre-examination phase because this is one of the less assessed in the current EQA schemes of the Total Testing Process. The main objective of the scheme was the educational.

Material and methods: The scheme was designed as a questionnaire comprising 40 questions with Yes/No answers that covered equally (10 questions) the four selected domains of laboratory medicine: Clinical chemistry, Haematology, Coagulation and Bacteriology. The correct answers were noted with one point, which resulted in a maximum score of 10 for each domain and for the general average. The selection of the questions and the design of the four hypothetical cases were very challenging for the members of the scientific board involved in this process.

Results: The results from the participants showed large discrepancies between them (between 5.5 and 9.0 points). The average scores for each domain were: 8.07- Clinical chemistry, 9.07- Haematology, 8.15- Coagulation and 6.67- Bacteriology, pointing out the marked difference between some domains.

Conclusion: The recorded performances underline once again the need for regularly assessment of Pre-examination phase by such EQA scheme, paying particular attention to those sub-processes that are not under the direct control of the laboratory but taking into account the specificities of each domain.

Keywords: External Quality Assessment, Pre-examination phase, Questionnaire

PLENARY LECTURES - HEMATOLOGY

R10. THROMBOSIS AND HEREDITARY THROMBOPHILIA - THE ROLE OF MOLECULAR GENETICS IN CLINICAL PRACTICE: WHEN MANY TESTS ARE TOO MANY TESTS ?

Daniel CORIU

University of Medicine and Pharmacy "Carol Davila", Fundeni Clinical Institute, Bucharest, Romania

Thrombophilia is defined as an acquired or inherited predisposition to thrombosis. A clinical suspicion of an hereditary thrombophilia should be considered for patients with venous thromboembolic disease onset before the age of 50 years, recurrent thrombotic events, a family history of thromboembolic disease, multiple (more than 3) adverse pregnancy outcomes or venous thromboembolism at unusual anatomic sites. The most common types of hereditary thrombophilia are: antithrombin deficiency, Protein C deficiency, Protein S deficiency, Factor V Leiden G1691A (FVL), Prothrombin (PT) G20210A mutation and two polymorphisms of the Methylenetetrahydrofolate reductase (MTHFR) gene: C677T and A1298C. Although all the specialized guidelines indicate, for diagnosis, only these tests, in Romania most laboratories carry out a much larger number of genetic tests (up to 20 polymorphisms). The motivation for performing this testing panel is strictly commercial because there is no scientific evidence about the role of these polymorphisms in the pathogenesis of thrombosis.

Another problem is an insufficient knowledge of physicians, who recommend these tests, for the meanings of these molecular changes, confusion between the notion of genetic mutation and polymorphisms. The result of this testing excess is negative from both psychologically patient (anxieties related mutation diagnosis), but also in terms of the risk for overtreatment. The target population are patients with thrombosis, and pregnant women, ie a vulnerable population.

We recommend that these tests be carried out only in situations with clinical suspicion of thrombophilia, only if the test result can be understood by the prescribing physician and also the test result change the treatment decisions.

This work was supported by the grant PN 42-099 from the Romanian Ministry of Research and Technology.

Keywords: hereditary thrombophilia, mutations, polymorphisms

C10. RISCUL GENETIC DE TROMBOFILIE – ANALIZA POLIMORFISMULUI FACTORULUI V LEIDEN

Roxana ZUGRAVU, Anca Elena VESA, Diana Lucia CALOTĂ, Lorena DEGAN

SC Bioclinica SA, Timișoara

Introducere: Trombofilia poate fi definită ca fiind un grup de tulburări moștenite sau dobândite, care cresc riscul de tromboză venoasă sau arterială. Trombofilia moștenită se datorează anomaliilor unor gene cu rol în sinteza unor proteine implicate în coagulare.

Obiective: În prezentul studiu ne-am propus să analizăm analiza polimorfismului factorului V Leiden în cadrul populației generale, precum și asocierea acestora cu alți factori de risc genetici pentru trombofilie, cum ar fi factorul V R₂ și polimorfismul genei protrombinei.

Material și metodă: În perioada 01.01.2016 – 01.01.2017 am analizat un număr de 3047 de pacienți, la care am evaluat polimorfismul factorului V Leiden, factorului V R₂, factorului II, ale genei MTHFR, factorului XIII, genei PAI-1 precum și ale genei EPCR, prin tehnici de biologie moleculară.

Rezultate: Din totalul de 3047 de pacienți investigați, 98,2 % (n=2992) au avut cel puțin o variantă din cadrul celor investigate ca fiind cu risc genetic pentru trombofilie. Dintre aceștia, 8,99% (n=269) au prezentat factorul V Leiden varianta: homozigotă (1,9%, n=5), sau heterozigotă (98,1%, n=264). Asocierea factorului V Leiden cu gena protrombinei a fost evidențiată în 10 cazuri iar asocierea cu factorul V R₂ – în 32 de cazuri.

Concluzii: Deși prezentă la un procent mic din populația investigată, determinarea polimorfismului factorului V Leiden în evaluarea pacienților cu risc genetic de trombofilie este importantă, deoarece pacienții homozigoți au risc de tromboză de 50-100 de ori mai mare comparativ cu populația generală, iar heterozigoții – de 5-10 ori mai mare.

Cuvinte cheie: trombofilie, factor V Leiden, polimorfism

GENETIC RISK OF THROMBOPHILIA – FACTOR V LEIDEN POLYMORPHISM ANALYSIS

Introduction: Thrombophilia can be defined as a group of inherited or acquired disorders that increase the risk of arterial or venous thrombosis. Inherited thrombophilia is due to abnormalities of some genes involved in the synthesis of coagulation proteins.

Objectives: In this study we analyzed the prevalence of factor V Leiden polymorphism in the general population and the association with other genetic risk factors for thrombophilia, such as factor V R2 and prothrombin gene.

Material and methods: During 01.01.2016 - 01.01.2017 we analyzed a total of 3,047 patients that we evaluated for factor V Leiden, factor V R2, factor II, MTHFR gene, factor XIII, PAI-1 gene and EPCR gene polymorphism by molecular biology techniques.

Results: Of the 3,047 patients investigated, 98.2% (n = 2992) had at least one variant within the investigated as genetic risk for thrombophilia. Of these, 8.99% (n = 269) had the factor V Leiden variant: homozygous (1.9%, n = 5) or heterozygous (98.1%, n = 264). Factor V Leiden polymorphism in association with prothrombin gene was detected in 10 cases and in association with factor V R2 - 32 cases.

Conclusions: Although present in a small percentage of the investigated population, determining factor V Leiden polymorphism in genetic risk assessment of patients with thrombophilia is important as homozygous patients have a risk of thrombosis 50-100 times higher than the general population, and heterozygotes - 5-10 times higher.

Keywords: thrombophilia, factor V Leiden, polymorphism

C11. POLIMORFISMUL TGF- β 1 T869C ESTE ASOCIAT CU MUTAȚIA FLT3 LA PACIENȚII CU LAM

Claudia BĂNESCU¹, Andrei CRAUCIUC², Valeriu MOLDOVAN¹, Alina BOGLIȘ², Florin TRIPON², Smaranda DEMIAN², Carmen DUICU²

¹*Laboratorul de genetică, Centrul avansat de cercetări medicale și farmaceutice, Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș, Romania*

²*Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș, Romania*

Recent s-a raportat asocierea între polimorfismele TGF- β 1 T869C, IFN- γ T+874A și riscul de leucemie mieloidă cronică (LMC), fără date referitoare la relația acestora cu leucemia acută mieloidă (LAM). Ne-am propus să evaluăm efectul polimorfismelor TGF- β 1 T869C și IFN- γ T + 874A privind susceptibilitatea la LAM și să investigăm relația dintre polimorfismele menționate și mutațiile somatice FLT3/DNMT3A.

Studiul a inclus 107 cazuri cu LAM și 128 subiecți sănătoși, fără antecedente de afecțiuni maligne. Genotipurile au fost determinate din sange integral prin metoda PCR-RFLP (reacția polimerazei în lanț-polimorfismul lungimii fragmentelor de restricție).

Rezultate: Frecvența genotipurilor pentru T869C TGF- β 1 a fost de 44% pentru TT, 52,3% pentru TC, și 3,7% pentru CC în LAM și 11,7%, 76,6% și 11,7%, respectiv, în lotul control. Frecvența genotipurilor TT, AT și AA IFN- γ T + 874A a fost 24,3%, 43%, 32,7% în LAM și 10,9%, 68%, 21,1% în lotul control, fără diferențe semnificative. Am observat o creștere semnificativă a frecvenței genotipului variant TGF- β 1 T869C la pacienții cu LAM cu mutația FLT3, comparativ cu cei fără mutație FLT3 ($p < 0.0001$, OR=12.1, 95%CI=2.7-54.9). Nu au fost observate diferențe între cazurile LAM cu sau fără mutație FLT3 pentru IFN- γ T + 874A. Mutația genei DNMT3A nu a fost asociată cu genotipul variant pentru polimorfismele investigate.

Datele noastre sugerează că genotipul variant TGF- β 1 T869C este asociat cu mutația FLT3 în cazurile cu LAM.

Mulțumiri: Această lucrare este susținută de proiectul finanțat de Autoritatea Națională pentru Cercetare Științifică și Inovare, CNCS/CCCDI-UEFISCDI, proiect PN-III-P2-2.1-PED-2016-1076 în cadrul PNCDI III, contract nr.147 PED/2017.

Cuvinte cheie: leucemia acută mieloidă, mutațiile somatice FLT3 și DNMT3A, polimorfismele TGF- β 1 T869C, IFN- γ T+874A

ASSOCIATION OF TGF- β 1 T869C POLYMORPHISM WITH FLT3 MUTATION IN AML PATIENTS

Recently, it was reported that TGF- β 1 T869C and IFN- γ T+874A gene polymorphisms are related to chronic myeloid leukemia (CML) risk, but there is no data regarding the association with acute myeloid leukemia (AML) risk. We aimed to assess the effect of TGF- β 1 T869C and IFN- γ T+874A polymorphisms on AML susceptibility and to investigate the association between previously mentioned polymorphisms and FLT3/DNMT3A somatic mutations.

The study included 107 AML and 128 healthy subjects with no history of malignancy. Genotypes were determined by PCR-RFLP (polymerase chain reaction restriction fragment length polymorphism) method from whole blood samples.

Results: TGF- β 1 T869C genotype frequencies were 44% TT, 52.3% TC, and 3.7% CC in AML cases and 11.7%, 76.6%, and 11.7%, respectively, in controls. The TT, AT and AA IFN- γ T+874A genotype frequencies were 24.3%, 43%, 32.7% in AML and 10.9%, 68%, 21.1% in controls, with no significant difference between the two groups. We observed a significant increase in the TGF- β 1 T869C variant genotype frequency in AML patients with FLT3 mutation compared to AML without FLT3 mutation ($p < 0.0001$, OR=12.1, 95%CI=2.7-54.9). No differences were observed between AML cases with/without FLT3 mutation for IFN- γ T+874A. No association was found between DNMT3A and the variant genotypes of the investigated polymorphisms.

Our findings suggest that the variant genotype of TGF- β 1 T869C gene polymorphism is associated with FLT3 mutation in AML cases.

Acknowledgement: This work was supported by a grant of the Romanian National Authority for Scientific Research and Innovation, CNCS/CCCDI-UEFISCDI, project number PN-III-P2-2.1-PED-2016-1076 within PNCDI III, contract no.147 PED/2017.

Keywords: acute myeloid leukemia, FLT3 and DNMT3 mutation, TGF- β 1 T869C and IFN- γ T+874A gene polymorphisms

C12. EVALUAREA GENERĂRII TROMBINEI ÎN NEOPLASMELE MIELOPROLIFERATIVE PHILADELPHIA-NEGATIVE

Ariela Ligia OLTEANU¹, Romeo Gabriel MIHĂILĂ^{2,3}, Manuela MIHALACHE²

¹*Spitalul Clinic Județean de Urgență Sibiu, Laborator de analize medicale*

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

³*Spitalul Clinic Județean de Urgență Sibiu, Clinica de Hematologie*

Introducere: Pacienții diagnosticați cu neoplasm mieloproliferativ cronic Ph-negativ (NMPPh-), policitemia vera (PV), trombocitemia esențială (TE) și mielofibroza primară (MP) sunt predispuși la complicații trombotice pe parcursul evoluției bolii. În studiul nostru am investigat statusul coagulării în plasma acestor pacienți folosind testul de generare a trombinei (TGT), un test funcțional, global, realizat pe analizorul Ceveron® Alpha.

Material și metodă: Au fost colectate probe de sânge de la 89 de pacienți cu NMPPh- și de la 78 subiecți sănătoși în tuburi conținând K2EDTA (potassium-ethylene-diamino-tetra-acetic acid) și CTAD (citrate-theophyllin-adenosine-dipyridamole) pentru determinarea hemoleucogramei, a testelor pentru generarea trombinei și a testelor screening de coagulare. Testul pentru generarea trombinei a fost determinat cu ajutorul Technothrombin® TGA assay kit.

Rezultate: am demonstrat o diferență semnificativă în generarea trombinei între pacienți și subiecții sănătoși (peak thrombin; $p=0.049$ și velocity index (VI); $p=0.012$) cu o creștere mai evidentă la pacienții cu trombocitemie esențială precum și valori semnificativ mai mari ale parametrilor TGT, peak thrombin ($p=0.043$) și VI ($p=0.042$), la pacienții tratați cu anagrelide în comparație cu cei tratați cu hidroxiuree. S-a evidențiat o corelație inversă între parametrii TGT și durata tratamentului citoreductiv (peak thrombin $R=-0.25$, $p=0.018$, AUC $R=-0.257$, $p=0.015$, și VI $R=-0.21$, $p=0.048$). **Concluzii:** Rezultatele obținute sugerează că pacienții cu NMPPh- și în special cei cu TE pot fi predispuși la tromboze datorită unei generări crescute de trombină, iar riscul ar putea descrește pe parcursul tratamentului citoreductiv. Pacienții tratați

cu hidroxiuree generează mai puțină trombină și ar putea fi mai puțin expuși evenimentelor trombotice în comparație cu cei tratați cu anagrelide.

Cuvinte cheie: generarea trombinei, neoplasme mieloproliferative, tromboză

EVALUATION OF THROMBIN GENERATION IN CLASSICAL PHILADELPHIA-NEGATIVE MYELOPROLIFERATIVE NEOPLASMS

Introduction: Patients with Philadelphia-negative chronic myeloproliferative neoplasms (Ph-MPN), polycythemia vera (PV), essential thrombocythaemia (ET) and primary myelofibrosis (PMF), are prone to develop thrombotic events. We aimed to investigate the coagulation status in their plasma using thrombin generation assay (TGA), a functional global assay, on Ceveron® Alpha.

Materials and methods: The samples were collected from 89 consecutive Ph-negative MPN patients and from 78 controls into K2EDTA (potassium-ethylene-diamino-tetra-acetic acid) and CTAD (citrate-theophyllin-adenosine-dipyridamole) tubes for blood cell counts, TGA and coagulation screening tests. Thrombin generation was analysed in platelet-poor plasma using Technothrombin® TGA assay kit.

Results: We found a significantly increased peak thrombin generation ($p=0.049$) and velocity index (VI) ($p=0.012$) in patients in comparison with controls, especially in ET patients, and a significantly higher values for peak thrombin ($p=0.043$) and VI ($p=0.042$) in patients receiving anagrelide in comparison with those treated with hydroxyurea. We also noticed an inverse correlation between the length of cytoreductive therapy and TGA parameters, (peak thrombin $R=-0.25$, $p=0.018$, AUC $R=-0.257$, $p=0.015$, and VI $R=-0.21$, $p=0.048$).

Conclusion: Our results suggest that Ph-MPN patients, and especially those with ET, are predisposed to thrombotic events due to their higher peak thrombin and VI values and their risk may decrease as treatment is longer. Patients treated with hydroxyurea generate less thrombin and could be less prone to develop thrombotic events in comparison with those treated with anagrelide.

Keywords: thrombin generation, myeloproliferative neoplasms, thrombosis

R11. CONCEPTE AVANSATE IN DIAGNOSTICUL SI MANAGEMENTUL POLICITEMIEI VERA

Hortensia IONIȚĂ, Ioana IONIȚĂ

Universitatea de Medicină și Farmacie „Victor Babeș” Timișoara

Policitemia Vera (PV) este o afecțiune clonală a celulelor stem/progenitoare hematopoietice. De-a lungul ultimului secol, criteriile de diagnostic și conceptul de PV au suferit modificări semnificative. Cea mai semnificativă inovație a fost introducerea JAK2V617F și mutațiilor ei „similare” (inclusiv exonul 2 al JAK2). Descoperirea reperelor căii de semnalizare JAK/STAT activată autonom a contribuit la dezvoltarea clinică a primei molecule țintă, inhibitorul de JAK1 și JAK2 ruxolitinib. Policitemia Vera se asociază cu o expectanță de viață redusă, datorită progresiei hematologice și evenimentelor cardiovasculare care pot surveni. În categoria evenimentelor trombotice majore sunt accidente ischemice, accidente vasculare, infarctul miocardic, tromboza venoasă profundă sau embolismul pulmonar, tromboza arterială și venoasă periferică. Legătura patogenetică între simptome și mieloproliferarea clonală este susținută de eliberarea și semnalizarea anormală a citokinelor inflamatorii prin intermediul căii JAK/STAT afectate. Țintele

terapeutice în PV sunt de a reduce riscul de tromboză primară sau recurentă, de a preveni evenimentele hemoragice, de a minimiza riscul de evoluție spre mielofibroza post policitemică și leucemie acută și de a reduce încărcătura tumorală. Pacienții care nu răspund la tratament sau dezvoltă intoleranță la acesta pot fi trecuți de la hidroxiuree la interferon. Inhibitorul de JAK1 și JAK2, ruxolitinib, a fost aprobat pentru tratarea pacienților care prezintă intoleranță sau devin refractari la tratamentul cu hidroxiuree.

Concluzii. După descoperirea căii de semnalizare JAK/STAT activată aberant ca defect patogenic de bază, PV a patruns în sfera medicinei personalizate.

EVOLVING CONCEPTS IN DIAGNOSIS AND MANAGEMENT OF POLYCYTEMIA VERA

Polycythemia vera (PV) is a clonal disorder of hematopoietic stem/progenitor cells. Over the past century, PV has undergone substantial changes in its concept and diagnostic criteria. The most compelling innovation had been the introduction of *JAK2V617F* and “similar” mutations (involving *JAK2* exon 12). The landmark discovery of the autonomously activated JAK/STAT signaling pathway contributed to the clinical development of the first target drug, the JAK1 and JAK2 inhibitor ruxolitinib. Polycythemia vera is associated with reduced life expectancy, because of hematologic progression and cardiovascular events. Major thrombotic events are transient ischemic attacks, stroke, myocardial infarction, deep venous thrombosis or pulmonary embolism, peripheral arterial and venous thrombosis. The pathogenetic link between symptoms and clonal myeloproliferation is sustained by an abnormal release and signaling of inflammatory cytokines through the deranged JAK/STAT pathway. The goals of therapy in PV are to reduce the risk of first and/or recurrent thrombosis, prevent bleeding events, minimize the risk of evolution to post-polycythemia vera myelofibrosis and acute leukemia, and ameliorate the symptom burden. Most patients do well with hydroxyurea for the entire duration of their disease. Patients who are not controlled with therapy or develop an intolerance may switch from hydroxyurea to interferon. The JAK1 and JAK2 inhibitor ruxolitinib has been approved for the treatment of patients with PV who are refractory to, or intolerant of, hydroxyurea.

Conclusions: After the discovery of aberrantly activated JAK/STAT signaling as the basic pathogenic defect, PV has entered the arena of personalized medicine.

Keywords: polycythemia vera

R12. APORTUL CITOLOGIEI MEDULARE LA DIAGNOSTICUL COMPLICAȚIILOR HEMATOLOGICE ALE PACIENȚILOR CU TRANSPLANT RENAL

Mariana PAȚIU, Elena-Cristina SELICEAN

Institutul Oncologic “Prof. Dr. Ioan Chiricuță”, Hematologie

Pacienții cu transplant renal prezintă în cursul evoluției riscul de a dezvolta afecțiuni hematologice. Afectarea sistemului hematopoietic este cauzată de numeroși factori (imunosupresia și infecțiile, în special virale sunt cauzele cele mai frecvente) și determină apariția de citopenii. Anemia post transplant renal poate avea cauze multiple. Leucopenia și trombocitopenia rar apar izolat; cel mai frecvent fac parte din pancitopenii. Pentru diagnosticul multora din complicațiile hematologice ale pacienților cu

transplant renal, examenul citologic al aspiratului medular este indispensabil pentru că aduce rapid informații cu valoare diagnostică. În aceasta categorie se încadrează: aplazia pură a seriei eritrocitare, infecția cu parvovirus B19, sindromul hemofagocitic, mielodisplazia sau leucemia post tratament, bolile limfoproliferative post-transplat sau, excepțional, leishmaniaza viscerală. Prezentăm câteva cazuri la care imaginile microscopice medulare au permis orientarea rapidă a diagnosticului și instituirea tratamentului corespunzător.

Cuvinte cheie: Citologie medulara, complicații, transplant renal

THE CONTRIBUTION OF BONE MARROW CYTOLOGY IN THE DIAGNOSIS OF HEMATOLOGICAL COMPLICATIONS OF RENAL TRANSPLANT PATIENTS

Renal transplant patients present during evolution the risk of developing blood disorders. Hematopoietic system damage is caused by many factors (immunosuppression and infections, viruses being the most common etiology) and manifests in form of cytopenias. Anemia after kidney transplantation can have multiple causes. Leukopenia and thrombocytopenia rarely occur isolated, in the majority of cases being part of a pancytopenia. For the diagnosis of many of the hematological complications of kidney transplant patients, bone marrow cytology is essential because it rapidly offers valuable diagnostic information. This category includes: pure red cell aplasia, parvovirus B19 infection, hemophagocytic syndrome, treatment-related leukemia or myelodysplasia, post-transplant lymphoproliferative disease or, exceptionally, visceral leishmaniasis. We present a few cases in which bone marrow microscopic images rapidly oriented the diagnosis and thus allowed the early administration of appropriate treatment.

Keywords: Bone marrow cytology, complications, renal transplant

C13. EVALUAREA PACIENȚILOR CU HIPEREOZINOFILIE

Diana LIGHEZAN¹, Cristina SORICĂ¹, Miruna SAMFIREAG², Ovidiu POTRE¹, Martha IFROSE², Ioana PAȘCU², Monica PESCARU¹, Ioana IONIȚĂ¹, Rodica LIGHEZAN¹ Hortensia IONIȚĂ¹

¹University of Medicine and Pharmacy "Victor Babes", Timișoara

²Spitalul Clinic Municipal de Urgențe Timișoara

Introducere: Hipereozinofilia dobândită reprezintă o patologie heterogenă din care fac parte hipereozinofilia primară și secundară, aceasta din urmă poate avea etiologie parazitară, alergică, inflamatorie sau autoimună. Hipereozinofilia primară se clasifică în clonală și idiopatică.

Obiective: Scopul prezentului studiu constă în elaborarea unui protocol de diagnostic etiologic al pacienților cu hipereozinofilie.

Material Și Metodă: Acest studiu retrospectiv a inclus 12 pacienți cu valori crescute ale eozinofilelor în sângele periferic (> 500 celule/ μL), care au fost investigați folosind hemoleucograma, frotiul de sânge periferic, examenul coproparazitologic, teste serologice, IgE total, IgE specifice, biopsia osteomedulară, teste citogenetice și moleculare.

Rezultate: Hipereozinofilia secundară a fost identificată la un număr de 4 pacienți: cauza parazitară a fost confirmată la 3 pacienți pe baza examenului coproparazitologic, a serologiei și a valorii IgE total

iar cauza alergică la un pacient, prin IgE specifice. Eozinofilia primară clonală a fost exclusă prin biopsie osteo-medulară, studii citogenetice și RT-PCR (reverse transcription polymerase chain reaction). Un număr de 8 pacienți, la care nu s-au identificat cauze secundare sau clonale a fost diagnosticat cu sindrom hipereozinofilic.

Concluzii: Diagnosticul etiologic al hipereozinofiliei dobândite se realizează în mai multe etape, folosind investigații moderne pentru a confirma sau infirma diverse cauze posibile. Diagnosticul sindromului hipereozinofilic este unul de excludere.

Cuvinte cheie: hipereozinofilie, protocol diagnostic

ASSESSING PATIENTS WITH HYPEREOSINOPHILIA

Background: Acquired hypereosinophilia is a heterogeneous pathology that includes primary (clonal or idiopathic) and secondary hypereosinophilia (parasitic, allergic, autoimmune, inflammatory conditions and malignancies).

Objective: The aim of this study is to elaborate a diagnostic protocol in order to facilitate the differential diagnosis between primary and secondary cause of hypereosinophilia.

Materials And Methods: This retrospective study included 12 patients who had an elevation of absolute eosinophil count (> 500 cells/ μ L) which were investigated using complete blood count, blood smear, fresh stool microscopy, serological tests for different bacterial or parasitic infections, total IgE, specific IgE, bone marrow biopsy with cytogenetics and molecular techniques.

Results: Four patients were diagnosed with secondary hypereosinophilia: 3 caused by parasitic infections and one by allergy. The parasitic cause was confirmed through fresh stool microscopy, anti-parasitic serology and total IgE, whereas specific IgE revealed the allergic cause. Bone marrow biopsy, cytogenetics and RT-PCR (reverse transcription polymerase chain reaction) excluded primary, clonal hypereosinophilia. The other 8 patients, without any clonal or secondary cause, were diagnosed with hypereosinophilic syndrome.

Conclusion: A protocol with multiple steps, using modern investigations, is necessary for the accurate diagnosis of acquired hypereosinophilia. The hypereosinophilic syndrome remains a diagnosis of exclusion.

Keywords: Hypereosinophilia, diagnostic protocol

POSTER SESSION 1 - HEMATOLOGY**P1. EVOLUȚIA (IMPORTANȚA) COMPONENTULUI MONOCLONAL:
STUDIUL DE CAZ – MIELOM MULTIPLU CU LANȚURI
UȘOARE KAPPA**

Miruna SAMFIREAG¹, Diana LIGHEZAN¹, Cristina SORICĂ², Ovidiu POTRE², Ioana PAȘCU¹, Martha IFROSE¹, Ioana IONIȚĂ², Hortensia IONIȚĂ²

1 Spitalul Clinic Municipal de Urgență Timișoara, Timișoara, România

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

Introducere: Mielomul multiplu (MM), a doua cea mai întâlnită boală malignă hematologică, reprezintă în principal o patologie ce afectează populația vârstnică, mai frecvent sexul masculin, fiind caracterizată de proliferarea malignă a unei singure clone de celule plasmocitare – aceasta proliferază în măduva osoasă, ajungând să determine distrucție osoasă marcată. Complicațiile adiționale relevante adesea întâlnite sunt reprezentate de hipercalcemie, insuficiență renală, anemie respectiv infecții.

Metode: Prezentăm cazul unui pacient de 54 de ani, care se internează cu slăbiciune musculară, dureri distale și simetrice ale membrelor inferioare, respectiv cu dureri osoase. Cazul este definit de prezența lanțurilor ușoare kappa (κ); pentru a confirma prezența componentului monoclonal, s-a efectuat imunofixarea, care a relevat prezența κ .

Rezultate: Evoluția clinică a acestui pacient, care a urmat diferite tratamente chimioterapice începând cu anul 2013, când a fost diagnosticat, a fost studiată prin urmărirea prezenței κ . Un alt parametru important folosit pentru a demonstra patologia sa a fost β_2 -microglobulina (B2M), care reprezintă un factor de prognostic nespecific, alături de viteza de sedimentare a hematiilor (VSH); aspiratul medular a fost de asemenea efectuat. Toate criteriile menționate mai sus sunt necesare pentru a putea evalua remisiunea completă, evoluția în timp respectiv pentru depistarea timpurie a recăderii de boală.

Concluzii: În lucrarea de față, prezentăm o vedere de ansamblu asupra criteriilor studiate pentru a putea confirma diagnosticul de MM. Testele efectuate au fost rigurose legate de monitorizarea terapeutică, acestea reprezentând elemente esențiale în ceea ce privește prognosticul, fiind foarte importante pentru urmărirea pacientului diagnosticat cu MM cu κ .

Cuvinte cheie: lanțuri ușoare kappa, β_2 -microglobulina, mielom multiplu.

**THE EVOLUTION (IMPORTANCE) OF MONOCLONAL
GAMMOPATHY: A CASE REPORT OF KAPPA
LIGHT CHAINS MULTIPLE MYELOMA**

Introduction: Multiple myeloma (MM), the second most prevalent hematologic malignancy, is mainly a disease that affects aged patients, mostly men and is characterized by the neoplastic proliferation of a single clone of plasma cells. This clone of plasma cells proliferates in the bone marrow, developing in extensive skeletal destruction. Additional relevant complications such as hypercalcemia, renal insufficiency, anemia and infection are often present.

Methods: We present the case of a 54-year-old man presenting painful distal symmetrical lower limb weakness and bone pain. This case is defined by the presence of kappa light chains (κ); to elucidate the type of clonality or M bands, serum immunofixation study was performed, which showed κ chains.

Results: The clinical outcome of the patient, who followed different chemotherapeutic treatments since 2013 (the year in which he was diagnosed), was monitored by performing the quantitative measurement of κ chains. Another important parameter used to demonstrate his clinical condition was the β_2 -microglobulin (B2M) level, which is an unspecific prognostic predictor, along with the erythrocyte sedimentation rate (ESR); the bone marrow aspirate was also performed. All of the criteria mentioned above are necessary in order to evaluate the complete remission, follow-up and the early detection of disease relapse.

Conclusions: In the present report, we expose an overall review of the criteria studied in order to confirm the MM diagnose. The performed tests have been done for the therapeutic monitoring of this patient and they represent essential tools in terms of survival, being very important for the follow-up of the κ MM patient.

Keywords: kappa light chains, β_2 -microglobulin, multiple myeloma.

P2. INFLUENȚA BETA2 MICROGLOBULINEI ASUPRA RĂSPUNSULUI LA TRATAMENT LA PACIENȚII DIAGNOSTICAȚI CU MIELOM MULTIPLU CU AFECTARE RENALĂ

Cristina SORICĂ¹, Ovidiu POTRE¹, Monica PESCARU¹, Camelia GURBAN¹, Ioana IONIȚĂ¹, Diana LIGHEZAN¹, Miruna SAMFIREAG², Rodica LIGHEZAN¹, Hortensia IONIȚĂ¹

¹Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș", Timișoara

²Spitalul Clinic Municipal de Urgență Timișoara, Clinica de Hematologie

Introducere: Mielomul multiplu (MM) este o neoplazie a plasmocitelor provocată de acumularea în exces a acestora la nivelul măduvei osoase. Odată cu apariția noilor terapii, prognosticul acestei boli s-a îmbunătățit dar curabilitatea ei continua să rămână o provocare pentru cercetători.

Metode: În acest studiu au fost incluși 76 de pacienți diagnosticați cu MM care au prezentat valori ale beta2 microglobulinei serice (β_2 M) peste 5,5 mg/dL și insuficiență renală. Toți pacienții au urmat tratament cu Bortezomib în prima linie.

Rezultate: Pacienții au fost divizați în două categorii: cei cu valori ale β_2 M serice cuprinse între 5,5 și 10 mg/dL (42,7%) și cei cu valori ale β_2 M serice peste 10 mg/dL (57,3%). Supraviețuirea globală medie a fost de 48,5 luni. În cazul celor cu valori ale β_2 M peste 10 mg/dL, supraviețuirea medie globală a fost de 21,6 luni spre deosebire de cei cu valori ale β_2 M cuprinse între 5,5 și 10 mg/dL care au prezentat o supraviețuire medie globală de 57,4 luni. În ceea ce privește supraviețuirea medie fără progresie de boală, aceasta a fost de 10,5 luni la cei cu valori ale β_2 M peste 10 mg/dL comparativ cu 27,3 luni la ceilalți. În 33% dintre cazuri s-a obținut un răspuns complet la prima linie de terapie, în timp ce 23,8% dintre pacienți au prezentat boală progresivă iar 56,2% recădere. Analizând evoluția valorilor β_2 M, se constată că în 20% dintre cazuri persistă valorile crescute peste 10 mg/dL ale acesteia în urma tratamentului, în timp ce la 18,8% dintre aceste cazuri se decelează o progresie a insuficienței renale.

Concluzii: După cum se poate regăsi și în literatură, rezultatele acestui studiu relevă că nivelul crescut al β_2 M este un factor de prognostic negativ în MM.

Cuvinte cheie: Mielom multiplu, beta2 microglobulina, tratament

THE INFLUENCE OF BETA2 MICROGLOBULIN ON THE TREATMENT RESPONSE OF PATIENTS DIAGNOSED WITH MULTIPLE MYELOMA WHO DEVELOPED SECONDARY KIDNEY FAILURE

Background: Multiple myeloma (MM) is a malignant plasma cell disorder caused by the accumulation of plasma cells in the bone marrow. Along with the latest therapies, the prognosis of this disease improved but its curability still remains a challenge for the researchers.

Methods: In this study were included 76 patients diagnosed with MM, in different stages of evolution, who presented serum beta2 microglobulin levels over 5,5 mg/dl and secondary kidney failure. All patients were treated with Bortezomib-based therapy as a first line.

Results: We divided patients in two groups depending on serum beta2 microglobulin levels: one group included patients with serum beta2 microglobulin levels between 5,5 and 10 mg/dl (42,7%) while the other included patients with serum beta2 microglobulin levels over 10 mg/dl (57,3%). The medium overall survival (OS) was of 48,5 months but there were differences between the two groups. Those with beta2 microglobulin levels between 5,5 and 10 mg/dl presented a medium OS of 57,4 months while those with beta2 microglobulin levels over 10 mg/dl presented a medium OS of 21,6 months. Moreover, medium progression free survival (PFS) was influenced too by the beta2 microglobulin levels as patients with values higher than 10 mg/dl presented a medium PFS of 10,5 months in comparison with the others (27,3 months). When it comes to treatment, a complete response was obtained on 33% of cases, while 23,8% presented disease progression and 56,2% relapsed. By analyzing the evolution of serum beta2 microglobulin levels, it was revealed that in 20% of patients, serum beta2 microglobulin levels over 10 mg/dl persist after treatment and in 18,8% of these cases the kidney failure progresses.

Conclusion: As we may find in literature, results indicate that high levels of serum beta2 microglobulin levels provide a poor prognosis in MM. Moreover, when increased levels of beta2 microglobulin levels persist after therapy, the kidney failure progresses.

Keywords: Multiple myeloma, beta2 microglobulin, treatment

P3. EXPRESIA BCL-2 IN LIMFOMUL HODGKIN RECĂZUT SAU REFRACTAR

Monica PESCARU¹, Cristina SORICĂ¹, Ovidiu POTRE¹, Diana LIGHEZAN¹, Camelia GURBAN¹, Ioana IONIȚĂ¹, Rodica LIGHEZAN¹, Cristian JINCA¹, Maria IORDACHE¹, Hortensia IONIȚĂ¹

¹Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș", Timișoara

²Spitalul Clinic Municipal de Urgență Timișoara

Introducere: În ciuda progreselor făcute în ultimii ani, limfomul Hodgkin (LH) tinde să rămână o provocare în ceea ce privește obținerea unui răspuns complet (RC) și de durată la tratament.

Metode: Au fost incluși în studiu 80 de pacienți diagnosticați cu LH care au prezentat boală refractară (BR) sau recădere postchimioterapie. Imunohistochimia a fost utilizată pentru detecția prezenței bcl-2. O primă analiză a ținut estimarea supraviețuirii globale (OS) și a supraviețuirii fără progresie de

boală (PFS) la pacienții care au prezentat pozitivitatea bcl-2 la diagnostic. O altă analiză a avut ca scop monitorizarea evoluției bcl-2 în caz de BR sau recădere postchimioterapie.

Rezultate: Expresia bcl-2 a fost decelată la diagnostic la 48(60%) din totalul de 80 de pacienți. OS medie la pacienții care au prezentat pozitivitatea bcl-2 la diagnostic a fost de 29,6 luni comparativ cu 43,4 luni la ceilalți pacienți. PFS a fost în medie de 10,6 luni la pacienții care au prezentat bcl-2 pozitiv la diagnostic, comparativ cu 31,8 luni la cei cu bcl-2 negativ. La 75% dintre pacienții care au prezentat BR s-a decelat pozitivitatea bcl-2, la 52% dintre aceștia expresia genei persistând de la diagnostic. Recăderea a survenit la 68% dintre pacienți, 35% dintre ei prezentând bcl-2 negativ. 78,3% dintre pacienții care au recăzut au prezentat bcl-2 negativ de la diagnostic, în timp ce la restul de 21,7% aceasta s-a negativat ulterior. La 83% dintre pacienții care au prezentat BR, s-a decelat persistența expresiei bcl-2 încă de la diagnostic.

Concluzii: Deși se cunoaște din literatură că expresia bcl-2 reprezintă un factor de prognostic negativ în LH, acest studiu dovedește că ea influențează nu doar OS și PFS dar și răspunsul la tratament.

Cuvinte cheie: Limfom Hodgkin, bcl-2, supraviețuire

BCL-2 EXPRESSION IN RELAPSED AND REFRACTORY HODGKIN LYMPHOMA

Introduction: Despite the latest therapeutic progresses, Hodgkin lymphoma (HL) is still a challenge when it comes to obtaining a long term complete response to therapy.

Methods: 80 patients diagnosed with HL who developed relapsed or refractory disease were included in the study. Immunohistochemistry was used for detecting the presence or absence of bcl-2 both at the diagnosis but also after relapse or in case of refractory disease. The first analysis focused on estimating the OS and PFS of patients who presented bcl-2 positive at the diagnosis. Another analysis aimed to monitorize the evolution of bcl-2 from diagnosis until relapse or refractory disease.

Results: Bcl-2 expression was present in 48 (60%) from the total of 80 patients at diagnosis. The medium OS was of 29,6 months in case of patients who presented positive bcl-2 expression at diagnosis, while in those with negative bcl-2 expression it was of 43,4 months. The medium PFS was 10,6 months in case of patients presenting positive bcl-2 expression in comparison with 31,8 months at those with negative bcl-2. When it comes to the response to therapy, bcl-2 was detected on 75% of patients diagnosed with refractory disease, 52% of them presenting its expression since diagnosis. Relapse was diagnosed on 68% of patients, 35% of them presenting negative bcl-2 expression. What is more, 78,3% of patients who relapsed presented negative bcl-2 expression since diagnosis, while in the rest of 21,7% it became negative after therapy. In case of patients diagnosed with refractory disease (32%), the majority (83%) presented positive bcl-2 expression since diagnosis.

Conclusions: Even if it is well known from literature that bcl-2 expression determines a negative prognosis in HL, this study proved that it not only influences OS and PFS but it is more often present in refractory disease than it is in relapsed cases.

Keywords: Hodgkin lymphoma, bcl-2, survival

P4. POLIMORFISMUL GENEI SUPEROXID DISMUTAZĂ ÎN LIMFOMUL NON-HODGKIN

Andrei CRAUCIUC¹, Florin TRIPON¹, Smaranda DEMIAN¹, Marcela CANDEA¹, Valeriu MOLDOVAN¹, Alina BOGLIS¹, Carmen DUICU¹, Claudia BĂNESCU²

1 Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș

2 Laboratorul de genetică, Centrul Avansat de cercetări medicale și farmaceutice, Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș, România

Introducere: Mutațiile și polimorfismele în gena manganese superoxid dismutazei (MnSOD), genă care codifică enzime cu un important efect antioxidant, pot predispute la apariția afecțiunilor maligne. Obiectivele studiului nostru constau în evidențierea asocierilor dintre polimorfismul genei studiate și apariția limfomului non-Hodgkin (LNH), rata de supraviețuire la 5 ani în condiții similare de tratament și răspunsul la tratament.

Material și metodă: Lotul pacienților reprezentat de 99 de cazuri (40,4% bărbați și 59,6% femei) diagnosticați în clinica de hematologie, Spitalul Clinic Județean de Urgență Târgu Mureș și grupul control reprezentat de 100 de persoane fără afecțiuni maligne. Pentru genotiparea celor două loturi am folosit tehnica polimerizării în lanț reacție bazată pe restricția fragmentelor polimorfice în funcție de lungime (PCR-RFLP).

Rezultate: În lotul pacienților un număr de 6 au fost cu genotip Ala/Ala, 72 Ala/Val și 21 Val/Val comparativ cu grupul control unde un număr de 6 cazuri au fost Ala/Ala, 51 Ala/Val și 43 Val/Val. Între genotipurile celor două grupuri nu a fost găsită o asocieră (Ala/Ala versus Ala/Val: $p=0.76$, $OR=1.412$, $95\%IC=0.43-4.628$; Ala/Ala versus Val/Val: $p=0.327$, $OR=0.488$, $95\%IC=0.14-1.698$). Frecvența alelelor în cazul pacienților cu LNH comparativ cu grupul control este semnificativă ($p=0.029$, $OR=1.602$, $95\%IC=1.063-2.416$). Rata de supraviețuire rămâne neinfluențată de polimorfismul genei MnSOD2 în cazul comparării frecvenței celor 3 variante alelice ($p>0.05$). Nu am observat diferențe semnificative între genotipuri și distribuția alelelor în funcție de subtipul de LNH rata de supraviețuire și răspunsul la tratament.

Concluzii: În cazul studiului nostru, prezența variantei alelice Val la nivelul genei MnSOD poate fi considerată un factor de risc pentru apariția LNH dar polimorfismul genotipului nu influențează rata de supraviețuire și răspunsul la tratament.

Cuvinte cheie: MnSOD, limfom non-Hodgkin

POLYMORPHISM OF MANGANASE SUPEROXIDE DISMUTASE GENE IN NON-HODGKIN LYMPHOMA

Introduction: Polymorphism in manganese superoxide dismutase (MnSOD) gene which encoding one enzyme with a major antioxidant effects can predispose to the occurrence of malignant disease, including hematological ones. We investigate the MnSOD Ala16Val polymorphism in order to evaluate the associations between the variant allele and genotypes and predisposition for non-Hodgkin Lymphoma (NHL) and overall survival at 5 years from diagnosis in similar condition of treatment.

Material and methods: The patients group consisted of 99 adults (40,4% male and 59,6% female) diagnosed with non-Hodgkin lymphoma (NHL) and 100 subjects without malignancies disease. Poly-

merase chain reaction based on restriction fragments length polymorphism technique (PCR-RFLP) was used for the molecular diagnosis.

Results: In the patients group a number of 6 patients had the Ala/Ala genotype, 72 Ala/Val and 21 Val/Val compared with the control group were a number of 6 subjects had the Ala/Ala genotype, 51 Ala/Val and 43 Val/Val. We found no statistical differences for genotypes between groups (Ala/Val versus Ala/Ala: $p=0.76$; Val/Val versus Ala/Ala: $p=0.327$) but the variant allele frequency of the NHL patients compared with healthy subject was significant different ($p=0.029$, $OR=1.602$, $95\%IC=1.063-2.416$). According with survival rate the statistical results are insignificant ($p>0.05$). No significant differences were observed for genotype and allele distribution according to subtypes of NHL, overall survival and response to treatment.

Conclusion: Based on our results the presence of Val allele can be considered a risk factor for NHL development and the polymorphic variant does not influence the overall survival and treatment response.

Keywords: MnSOD, non Hodgkin lymphoma

P5. CERULOPLASMINA CA MARKER DE PROGNOSTIC ÎN LIMFOMUL HODGKIN

Ovidiu POTRE¹, Cristina SORICĂ¹, Monica PESCARU¹, Diana LIGHEZAN¹, Ioana IONIȚĂ¹,
Miruna SAMFIREAG², Rodica LIGHEZAN¹, Hortensia IONIȚĂ¹

*1 Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș", Timișoara
2 Spitalul Clinic Municipal de Urgență Timișoara, Clinica de Hematologie*

Introducere: Limfomul Hodgkin reprezintă o proliferare malignă a celulelor limfatice ce diseminează treptat, compromițând capacitatea de apărare a organismului contra infecțiilor. Există o serie de factori biologici și imunologici, cum ar fi prezența unor nivele crescute ale ceruloplasminei, care conferă prognostic negativ în această afecțiune.

Metode: Studiul a inclus 100 de pacienți diagnosticați cu limfom Hodgkin între ianuarie 2011-martie 2016. Lotul a cuprins două categorii de pacienți: 40% au prezentat valori normale ale ceruloplasminei și 60% valori crescute ale acesteia. O primă analiză a vizat aprecierea supraviețuirii globale și a supraviețuirii fără progresie de boală la cele două grupuri de studiu iar a doua analiză a evidențiat impactul nivelului crescut de ceruloplasmină asupra răspunsului la tratament.

Rezultate: Vârsta medie la diagnostic a fost de 36,5 ani și majoritatea au fost bărbați (72%). Supraviețuirea globală în cazul pacienților care au prezentat valori crescute ale ceruloplasminei a fost de 30 luni comparativ cu 48,7 luni la cei cu valori normale ale acestei proteine. Supraviețuirea fără progresie de boală a fost de 24,3 luni în cazul celor care au prezentat valori normale ale ceruloplasminei și de 14,4 luni la cei care au prezentat valori crescute ale acesteia. La 31% dintre pacienții care au prezentat nivele crescute de ceruloplasmină s-a obținut răspuns complet la tratament.

Concluzii: Chiar dacă nu este considerat a fi un marker specific în limfomul Hodgkin, nivelul crescut de ceruloplasmină a dovedit a fi asociat cu un prognostic negativ în această afecțiune. El influențează atât supraviețuirea globală, supraviețuirea fără progresie de boală dar și răspunsul la tratament.

Cuvinte cheie: limfom Hodgkin, ceruloplasmină, prognostic

CERULOPLASMIN AS A PROGNOSTIC MARKER IN HODGKIN LYMPHOMA

Background: Hodgkin Lymphoma (HL) represents a malignant proliferation of the lymphoid cells which disseminates gradually, compromising the body's ability to fight against infections. There are a few biological and immunological factors, such as the increased levels of ceruloplasmin, that give a negative prognosis.

Methods: The study included 100 patients diagnosed with HL between January 2011-March 2016. The patients were divided in two groups as it follows: 40% presented normal ceruloplasmin levels while 60% had increased levels of this protein. A primary analysis focused on evaluating Overall Survival (OS) and Progression Free survival (PFS) in these two groups of study while a second analysis aimed to reveal the impact that increased ceruloplasmin levels have on the response to therapy.

Results: Mean age at diagnosis was 36,5 years and the majority were men (72%). Mean OS in case of patients presenting increased levels of ceruloplasmin at diagnosis was of 30 months while in those with normal levels of this protein, OS was of 48,7 months. PFS was of 24,3 months in case of patients with normal levels of ceruloplasmin while in those with increased levels of this protein it was 15,4 months. A complete response to treatment was obtained at 68% of patients who presented normal ceruloplasmin levels while in case of those with increased levels of this protein it was obtained only in 31% of patients.

Conclusions: Even if it is not considered to be a specific marker for HL, increased levels of ceruloplasmin were associated with a negative prognosis in this disease. It influences both OS and PFS but also the response to therapy.

Keywords: Hodgkin lymphoma, ceruloplasmin, prognosis

P6. TRANSFORMAREA SINDROMULUI MIELODISPLAZIC SECUNDAR POSTCHIMIOTERAPIEI ÎN LEUCEMIE ACUTA MIELOMONOCITARĂ

Sonia CISMAȘ², Andrada MARINIȚA², Mihaela DELAMARIAN², Despina CALAMAR¹,
Maria IORDACHE¹, Hortensia IONIȚA¹

¹. Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babes", Timisoara

². Spitalul Clinic Municipal de Urgențe Timisoara, Departamentul de Hematologie

Introducere: Neoplazia secundară mieloidă poate fi o complicație a tratamentului citostatic agresiv. Cele mai comune tipuri sunt sindromul mielodisplazic și leucemia acută mieloblastică.

În această lucrare vom prezenta cazul unei paciente care a urmat mai multe linii de chimioterapie, asociate cu radioterapie pentru limfom nonHodgkin, ulterior dezvoltând sindrom mielodisplazic cu exces de blasti AREB 2 cu transformare în leucemie mielomonocitară.

Materiale și metode: Prezentăm cazul unei paciente în vârstă de 74 de ani, în evidența Clinicii de Hematologie Timisoara din 2010 cu diagnosticul de limfom nonHodgkin, diagnostic susținut în baza examenului histopatologic și imunohistochimic din biopsia de ganglion limfatic inghinal. A urmat poli-chimioterapie tip CHOP (4 aplicații), apoi R-CHOP(4 aplicații). Reevaluarea imagistică revelă adenopatie inghinală persistentă, motiv pentru care continuă chimioterapie tip R-FC (3 aplicații), urmată de

radioterapie. În 05.2016 Aspiratul medular decelează procent crescut de blaști, dismegacariopoieză. În 06.2016 efectuează biopsie osteomedulară care pune diagnosticul de SMDAREB2.

În 01.2017 se suspicionează transformare în leucemie acută și se efectuează imunofenotip: CD45+ CD34+(50%) HLA/DR+ cyMPO+ CD14+ CD13+ CD35; marker neexprimați pe populația blastică: cyCD3, cyCD79a, CD19, CD7, CD16, CD11b, CD10, IREM2. Concluzie: leucemie acută mielomonocitară. Se inițiază tratamentul cu Decitabină.

Rezultate: Pacientă diagnosticată cu limfom nonHodgkin, în remisiune după chimioterapie și radioterapie, dezvoltă secundar chimioterapiei SMD-AREB2, care ulterior se transformă în leucemie acută mielomonocitară. Datorită vârstei, se optează pentru tratamentul cu Decitabină.

Cuvinte cheie: Decitabină, leucemie acută mielomonocitară, sindrom mielodisplazic

TRANSFORMATION OF SECONDARY MYELODYSPLASTIC SYNDROME TO ACUTE MYELOMONOCYTIC LEUKEMIA

Introduction: Secondary myeloid neoplasia may be a complication of aggressive cytostatic therapy. The most common types of secondary neoplasia are acute myeloid leukaemia and myelodysplastic syndrome. In this case report we present the case of a patient treated with multiple lines of chemotherapy and radiation for nonHodgkin lymphoma and has developed secondary myelodysplastic syndrome with a later transformation to acute myelomonocytic leukemia.

Materials and methods: In this case presentation of a 74 year old female patient who was first diagnosed in 2010 with nonHodgkin lymphoma, based on lymph node biopsy. The patient underwent 4 applications of CHOP chemotherapy, followed by 4 applications of R-CHOP. Imagistic follow-up showed persistent inguinal adenopathy, consequently treatment with a second line of chemotherapy R-FC- 3 applications followed by radiation was instated. In 05.2016 bone marrow aspiration showed high blasts percentage, dysmegakaryopoiesis. In 06.2016 the patient was diagnosed with myelodysplastic syndrome, refractory anemia with excess blasts-2 (RAEB-2) through bone marrow biopsy. In 01.2017 Imunophenotype: CD45+ CD34+(50%) HLA/DR+ cyMPO+ CD14+ CD13+ CD35; marker not expressed: cyCD3, cyCD79a, CD19, CD7, CD16, CD11b, CD10, IREM2; **Conclusion:** acute myelomonocytic leukaemia. In 02.2017 Decitabine therapy was initiated.

Results: The patient, in remission after chemotherapy and radiation for nonHodgkin lymphoma, develops MDS RAEB-2 secondary to chemotherapy, and later transformation to acute myelomonocytic leukemia. Due to the age of the patient Decitabine treatment was initiated.

Keywords: Decitabine, acute myelomonocytic leukaemia, myelodysplastic syndrome

POSTER SESSION 2 - GENETICS; MISCELLANEA

P7. DEZVOLTAREA UNOR NOI VECTORI VIRALI ADENOASOCIAȚI TIP 2 CU POTENȚIAL ANTITUMORAL

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

1 Department of Microbiology, University of Medicine and Pharmacy of Tîrgu Mureș, Romania

2 Institute of Virology, University of Zurich, Zurich, Switzerland

3 School of Healthcare Science, Manchester Metropolitan University, Manchester, UK

Scop: evaluarea activității potențial antitumorale ale vectorilor virali adenoasociați (AAV2) care codifică CIP (CDK5 Inhibitor Peptide).

Metode: Am construit vectori rAAV2 care codifică CIP și o genă reporter fluorescentă (ECFP), cu (rAAV2-nlsCIP) sau fără semnalul de localizare nucleară (nls) (rAAV2-CIP). Efectul CIP asupra ciclului celular a fost evaluat prin epifluorescență și prin Western-blot, urmărind schimbarea culorii nucleului celulelor HeLa FUCCI, respectiv reducerea nivelului mai multor proteine reglatoare ale ciclului celular.

Rezultate: După transfecție cu ADN plasmidic pAAV2-CIP, cele mai multe celule HeLa FUCCI au fost oprite în faza G1 (42%) sau S precoce (38%). După transfecție cu plasmidele de control pAAV2-PCP (fără CIP), cele mai multe celule au fost găsite în faza S și G2 (63,01%, respectiv 22,06%). Ca urmare a infecției cu vectori rAAV CIP, MOI 5000, flow-citometria a arătat blocarea celulelor infectate (CFP+) în faza S. În acest caz, 80% respectiv 98,56% din celulele infectate cu rAAV2-CIP-CFP respectiv cu rAAV2-nlsCIP-CFP, comparativ cu doar 28,77% din celulele infectate cu rAAV2-PCP, au fost blocate în faza S. Western-blot pentru diferiții markeri ai ciclului celular a arătat o reducere a Rb și phospho-Rb în celulele infectate cu rAAV-CIP-PCP. CDC25C a fost redus în prezența tuturor vectorilor, inclusiv cel de control care nu codifică CIP. Phospho-CDC25C și ciclina E1 au fost reduse în prezența CIP.

Concluzie: Lipsa progresiei din stadiul G1 și nivelurile scăzute ale ciclului E1, face CIP un posibil inhibitor al diviziunii celulare, cu multiple aplicații medicale și în cercetare, inclusiv terapia antitumorală. Vectori AAV-CIP ar putea fi purtători biologici eficienți ai genei CIP.

Cuvinte cheie: Vectori AAV, ciclu celular, activitate antitumorală

DEVELOPMENT OF NOVEL RECOMBINANT AAV2 VIRAL VECTORS WITH POTENTIAL ANTITUMORAL ACTIVITY

Purpose: to assess the potential antitumoral activity of adeno-associated viral vectors (AAV2) that encode CIP (CDK5 Inhibitory Peptide).

Methods: We have constructed rAAV2 vectors that encode CIP and a reporter gene (CFP), with (rAAV2-nlsCIP) or without nuclear localization signal (nls) (rAAV2-CIP). The effect of CIP on the cell cycle was assessed by epifluorescence and by Western-blot, following HeLa FUCCI nuclear color change, respectively the down-regulation of several cell-cycle regulatory proteins.

Results: Following transfection with pAAV2-CIP plasmid DNA, most of the HeLa FUCCI cells were arrested in G1 (42%) or early S phase (38%). After transfection with pAAV2-CFP control plasmid (without CIP), most of the cells were found in S and G2 phase (63.01 and 22.06% respectively). Following infection with rAAV CIP vectors, MOI 5000, the flow-cytometry data showed the arresting of

infected cells (CFP+) in S phase. In this case, 80% of rAAV2-CIP-CFP and 98.56% of rAAV2-nlsCIP-CFP infected cells, compared to only 28.77% of rAAV2-CFP infected cells, were arrested in S phase. Western-blot for different cell cycle markers showed a reduction of Rb and phospho-Rb in rAAV-CIP-CFP infected cells. CDC25C was reduced following infection for all vectors, including the control vector that lacks CIP coding sequences. Phospho-CDC25C and Cyclin E1 were reduced in presence of CIP.

Conclusion: The lack of G1 progression and the low levels of Cyclin E1 makes CIP a potential inhibitor of cell division, with multiple research and medical applications, including antitumoral therapy. AAV-CIP encoding vectors could be effective biological carriers of CIP gene.

Keywords: AAV vectors, cell cycle, antitumoral activity

P8. FACTORI MATERNI ȘI FETALI CARE INFLUENȚEAZĂ FRACȚIA FETALĂ ÎN TESTAREA PRENATALĂ NON – INVAZIVĂ

Roxana BOHILTEA¹, Radu URSU^{1,2}, Gratiela CHELU², Laurentiu BOHILTEA¹, Marinela MALAGEANU², Sandra GRIGORE², Oana ISTRATE², Viorica RADOI^{1,2}

1 UMF Carol Davila

2 Synevo Romania

Introducere: Testarea prenatală non - invazivă folosește ADN fetal liber circulant (cffADN) în plasma maternă pentru screeningul aneuploidiilor fetale care implică cromozomii 13, 18, 21, X și Y. Odată cu apariția tehnicilor de secvențiere masivă paralelă, se pot analiza miliarde de molecule de ADN.

Scopul prezentului studiu este de a identifica efectele vârstei gestaționale, greutatei materne și a fertilizării in vitro asupra fracției de ADN fetal în plasma maternă.

Material și metodă: Studiul a fost realizat în perioada 2014 - 2016 pe un grup de 544 femei însărcinate având vârste gestaționale cuprinse între 10 și 23s+6 zile și care au efectuat testul în Departamentul de Genetică Medicală Synevo România

Criteriile de includere în studiu au fost - vârsta maternă peste 35 de ani, risc ecografic sau biochimic crescut pentru anomalii cromozomiale fetale.

Testarea genetică a fost efectuată prin secvențiere paralelă masivă iar analiza statistică s-a realizat folosind programele Microsoft Excel 2016 și IBM SPSS.

Rezultate: Greutatea maternă și indexul de masă corporală au evidențiat corelații existente semnificative statistic cu fracția de cffADN ($r = -0,9695$; $p < 0,00001$; test Pearson). Folosirea tehnicilor de fertilizare in vitro arată de asemenea o tendință de a influența concentrația de ADN fetal, fără o confirmare statistică însă (număr redus de cazuri în lotul analizat). Vârsta gestațională este asociată pozitiv cu fracția fetală, cu o creștere importantă începând cu săptămâna 20 de gestație. Nu au fost găsite corelații între sexul fetal și fracția de ADN fetal liber circulant.

Concluzii: Rezultatele studiului oferă informații importante pentru analizarea și înțelegerea comprehensivă a caracteristicilor fracției fetale, ajutând la optimizarea protocoalelor de testare și analiză bioinformatică în screeningul non- invaziv prenatal.

Cuvinte cheie: fracție fetală, IMC, FIV

MATERNAL AND FETAL INFLUENCES ON FETAL FRACTION IN NONINVASIVE PRENATAL TESTING USING MASSIVE PARALLEL SEQUENCING

Background: Noninvasive prenatal testing (NIPT) uses free circulating fetal DNA in pregnant women plasma for the screening of fetal aneuploidies which involve chromosomes 13, 18, 21, X and Y. With the advent of massively parallel sequencing, millions or billions of DNA molecules can be readily counted.

The aim of the present study is to identify the effects of gestational age, maternal weight and in vitro fertilization (IVF) on cfDNA fraction in maternal plasma.

Material and methods: The current research has been performed during 2014-2016 on a cohort of 544 pregnant women who underwent testing at gestational ages ranging from 10 to 23 weeks + 3 days at the Medical Genetics Department, Synevo Romania.

Study inclusion criteria were: maternal age over 35 years old; ultrasound and biochemical risk for chromosomal fetal anomalies;

Genetic tests were performed by massive parallel sequencing. Statistical analysis has been performed using the Microsoft Excel 2016 and IBM SPSS software.

Results: Maternal body weight and body mass index (BMI) revealed existence of significant statistical correlations with the cfDNA fraction ($r=-0,9695$; $p<0,00001$, Pearson test). The use of in vitro fertilization also appears to show associations with the fetal fraction, but without a possible statistical confirmation because of the low number in our cohort. Gestational age (GA) was positively associated with the cfDNA fraction, with an important increase starting from week 20 GA. There were no correlations found between fetal sex and cfDNA fraction.

Conclusions: The results of the research offer important information for a comprehensive analysis and understanding of the fetal fraction characteristics, providing help in optimizing the bioinformatical analysis protocols in NIPT.

Keywords: fetal fraction, BMI, IVF

P9. CUANTIFICAREA ȘI MONITORIZAREA MUTAȚIILOR EGFR LA PACIENȚII CU STADII AVANSATE DE CANCER PULMONAR FĂRĂ CELULE MICI (NSCLC) PRIN ANALIZA ADN TUMORAL LIBER CIRCULANT FOLOSIND REAL TIME PCR

Viorica RADOI^{1,2}, Radu URSU^{1,2}, Cristina DRAGOMIR², Gratiela CHELU², Bianca BASANGIU², Laurentiu BOHILTEA¹, Roxana BOHILTEA¹

¹UMF Carol Davila, București

²Synevo Romania

Introducere: Inhibitorii tirozin - kinazici ai receptorului factorului de creștere epidermală reprezintă o linie actuală de tratament personalizat pentru pacienții cu stadii avansate de NSCLC (Non Small Cell Lung Cancer). ADN -ul tumoral liber circulant reprezintă o unealtă nouă, noninvazivă folosită în detectarea biomarkerilor cancerului pulmonar și a altor câtorva tipuri de cancer. Aplicațiile clinice ale ADN tumoral în plasmă în cancerul pulmonar devin tot mai evidente fiind importante pentru diagnosticul,

răspunsul și rezistența dobândită la tratament și prognosticul bolii fără a implica și a fi influențat de heterogenitatea țesutului tumoral.

Material și metodă: Scopul studiului a fost de a identifica mutațiile cu semnificație clinică pentru o terapie de înaltă acuratețe.

Studiul cuprinde un grup format din 27 de pacienți cu cancer pulmonar fără celule mici (11 bărbați și 16 femei) care au fost testați pentru identificarea mutațiilor EGFR prin biopsie lichidă. Genotiparea a fost făcută folosind un kit real time PCR cantitativ și cu specificitate de alelă (EGFR Mutation Test v2) în Laboratorul Central Synevo România. Kitul de preparare a probelor pentru Cobas (Cobas cfDNA sample preparation kit) a fost dezvoltat pentru a folosi probe de sânge colectate pe EDTA. Separarea plasmei s-a făcut în primele 4 ore de la recoltare și depozitată la -70°C până la testare.

Rezultate: Au fost obținute rezultate la toți cei 27 de pacienți. Au fost identificate mutații activatoare EGFR (deleții exon 19, mutația L858R în exonul 21) la 3 /27 dintre pacienți (11,1%).

Concluzii: Real-time PCR pentru analiza ADN tumoral liber circulant se dovedește a fi o tehnică non-invazivă nouă și promițătoare pentru detectarea și cuantificarea mutațiilor EGFR. Kit-urile comerciale au rezultate constante și reproductibile dacă sunt folosite conform indicațiilor.

QUANTIFICATION AND DYNAMIC MONITORING OF EGFR MUTATIONS IN PLASMA CELL-FREE DNA BY REAL - TIME PCR FOR PROGNOSIS OF EGFR-TKI TREATMENT IN ADVANCED NSCLC (Non Small Cell Lung Cancer)

Background: Epidermal growth factor receptor (EGFR) tyrosine kinase (TK) inhibitors are current treatments for advanced non-small cell lung cancer (NSCLC) with activating EGFR. Circulating tumor DNA (ctDNA) is a novel noninvasive and useful assay in biomarker detection for lung cancer and a series of other types of cancer. The clinical applications of ctDNA in lung cancer have increased, being important in the diagnosis, treatment responsivity and acquired resistance, prognosis prediction of the disease without involving and being influenced by the tumor and its heterogeneity.

Material and methods: The study comprises a group of 27 NSCLC patients, including 11 male and 16 female tested for EGFR mutations from liquid biopsy. Genotyping was performed using a CE IVD allele-specific quantitative real-time PCR kit (EGFR Mutation Test v2) at Synevo Central Laboratory, Romania. The purpose of the study was to identify clinically actionable mutations for an accurate therapy option. The Cobas cfDNA sample preparation kit has been developed for use with K2 EDTA Plasma samples. Plasma has been separated from blood within 4 hours of collection and stored at < -70°C until tested.

Results: Test results were obtained in all 27 (100%) plasma samples. EGFR-activating mutations (exon 19 deletions, exon 21 L858R) were identified in 3/27 (11,1%) plasma samples.

Conclusions: Using real - time PCR in plasma cf-DNA provided a noninvasive and promising assay to qualitative and quantitative mutations. Commercial testing kits for EGFR mutations are ready to use with consistent and reliable results, if the kits are used properly.

P10. EFECTUL COMBINAT AL MTHFR-ALA222VAL, PPARGC1A-GLY482SER ȘI PPARG2 –PRO12ALA ÎN SINDROMUL METABOLIC

Katalin CSÉP, Anamaria TODORAN BUTILĂ, Claudia BĂNESCU

Universitatea de Medicină și Farmacie - Disciplina de Genetică, Tg. Mureș

Introducere: Numeroase gene candidate sunt studiate în cadrul etiologiei multifactoriale a sindromului metabolic. PPARG (peroxisome proliferator-activated receptor- γ) este un receptor nuclear implicat în adipogeneză și lipogeneză. Coactivatorul acestuia, PPARGC1A (peroxisome proliferator-activated receptor- γ co-activator 1- α) are un rol central în controlul energetic - funcția mitocondriilor și beta-oxidarea acizilor grași, dependent de o metilare adecvată. MTHFR (methylene-tetrahydrofolate reductase) este o enzimă cheie în ciclul folatilor și reacțiile de metilare.

Material și metode: Efectul combinat al polimorfismelor funcționale comune rs1801282 (PPARG2-Pro12Ala), rs8192678 (PPARGC1A-Gly482Ser) și rs 1801133 (MTHFR-Ala222Val) a fost investigat în cadrul unui studiu caz-control la 304 de persoane. Stabilirea diagnosticului s-a bazat pe criteriile recomandate de Federația Internațională de Diabet, iar genotiparea a fost realizată prin metoda PCR-RFLP (HinfI/MspI/ Bsh1236I).

Rezultate: În lotul de pacienți și control frecvența alelei minore rs1801282, rs8192678 și rs 1801133 a fost de 16.83-33.11-30.35 vs 16.66-27.77-30.55%. Frecvența numărului de alele de risc presupuse (12Pro, 482Ser, 222Val) situate pe cei trei loci investigați a prezentat distribuție normală, cu deplasarea maximei curbei Gauss la dreapta la cei afectați, de la 2 la 3 variante predispozante. Riscul de îmbolnăvire asociat la cei cu ≥ 3 alele a fost semnificativ crescut (OR=2.2, $p=0.005$, CI95%=1.27-3.8).

Concluzii: În sindromul metabolic, studierea simultană a trei gene candidate demonstrează trăsături ai modelului poligenic, iar în prezența unui număr mai mare de variante contributive la îmbolnăvire a genelor PPARG2, PPARGC1A și MTHFR riscul crește. Este necesară adresarea interacțiunilor genice în studiile de asociere, și trebuie găsite modalități corespunzătoare de analiză a efectului combinat al alelelor de risc.

Cuvinte cheie: sindrom metabolic, polimorfisme genetice

JOINT EFFECT OF PPARG2 – PRO12ALA, PPARGC1A - GLY482SER AND MTHFR - ALA222VAL IN THE METABOLIC SYNDROME

Introduction: Several candidate genes contributing to the multifactorial pathogenesis of the metabolic syndrome have been studied. PPARG (peroxisome proliferator-activated receptor- γ) is a nuclear receptor involved in adipogenesis and lipogenesis. Its coactivator PPARGC1A (peroxisome proliferator-activated receptor- γ co-activator 1- α) has a central role in the control of energy homeostasis - mitochondrial function and fatty acid beta oxidation, with an activity dependent on adequate methylation. MTHFR (methylene-tetrahydrofolate reductase) is a key enzyme of the one carbon cycle and methylation reactions.

Material and methods: Combined effect of the common functional polymorphisms rs1801282 (PPARG2-Pro12Ala), rs8192678 (PPARGC1A-Gly482Ser) and rs1801133 (MTHFR-Ala222Val) was investigated in a case-control study on 304 persons. Diagnosis followed the International Diabetes Fed-

eration criteria with mandatory central obesity and a relative over-representation of lipid anomalies. Genotyping was carried out by PCR-RFLP (HinfI/MspI/ Bsh1236I).

Results: In the metabolic syndrome and control group minor allele frequencies of rs1801282, rs8192678 and rs1801133 were 16.83-33.11-30.35 vs 16.66-27.77-30.55%. Frequency of the suspected risk allele (12Pro, 482Ser, 222Val) number on the three investigated loci followed normal distribution in both groups, shifted to the right in patients, peaking at an average of 3 vs 2 alleles. Disease risk associated with ≥ 3 alleles was significantly increased (OR=2.2, $p=0.005$, CI95%=1.27-3.8).

Conclusions: In the metabolic syndrome, simultaneous study of three candidate genes demonstrates characteristics of polygenic inheritance, and an increased risk is associated with a higher number of PPARG2, PPARGC1A and MTHFR predisposing alleles. Gene interactions must be addressed in association studies, and adequate approaches found to investigate the joint effect of variants.

Keywords: metabolic syndrome, genetic polymorphisms

P11. DIAGNOSTICAREA HIPERCOLESTEROLEMIEI FAMILIALE: O PROVOCARE

Valeriu MOLDOVAN¹, Claudia BĂNESCU¹, Elena MOLDOVAN², Răzvan ȘERBAN²,
Minodora DOBREANU¹

¹ Centrul Avansat de Cercetări Medicale și Farmaceutice, Târgu Mureș, România

² Universitatea de Medicină și Farmacie, Târgu Mureș, România

Introducere: Hipercolesterolemia familială (HF), patologie cu transmitere autozomal dominantă, este determinată de mutații în genele receptorului pentru LDL-colesterol (LDLR), apolipoproteinei-B (APOB) și proprotein-convertază subtilizin/kexină tip9 (PCSK9) care interferează cu metabolismul LDL-colesterolului.

Adulții afectați prezintă valori ridicate ale colesterolului seric total ($>300\text{mg/dl}$) și LDL-colesterolului ($>190\text{mg/dl}$), cu valori normale ale trigliceridelor.

HF este prezentă din copilărie, fiind asimptomatică (exceptând prezența xantoamelor și xantelasmelor), însă dacă rămâne netratată 50% din bărbați vor suferi un infarct miocardic până la vârsta de 50 de ani, respectiv 55 de ani în cazul femeilor.

Material și metodă: În prezentul studiu sunt incluși 20 de pacienți din România, dar procesul este în desfășurare. Criteriile de includere au fost: vârsta 18-55 ani, valori LDL-colesterol ridicate și afectare vasculară (boală coronariană, boală vasculară periferică). Pentru 8 pacienți selecționați s-a efectuat genotiparea utilizând reacția de polimerizare în lanț (PCR) de tip multiplex asociată hibridizării (FH arrays I&II) de la Randox Laboratories, fiind investigate 40 de mutații cauzatoare ale HF.

Rezultate și discuții: Pacienții nu au fost diagnosticați utilizând metoda propusă, posibil datorită numărului ridicat de mutații cauzatoare ale HF. FH arrays I&II au fost validate pe populația britanică; metoda s-ar putea dovedi inefficientă pentru populația noastră, sau va fi nevoie de un eșantion populațional extins pentru a fi validată. Pentru acești pacienți nedianașticiți se va efectua genotipare prin Real-time PCR folosind sonde TaqMan sau secvențiere de nouă generație.

Concluzii: Deși este dificil, diagnosticul HF este esențial pentru administrarea precoce a tratamentului cu statine sau a terapiei genice țintite la acești pacienți.

Cuvinte cheie: hipercolesterolemia familială, LDL-colesterol

FAMILIAL HYPERCHOLESTEROLAEMIA DIAGNOSIS: A CHALLENGE

Introduction: Familial hypercholesterolaemia (FH) is an autosomal dominant disease caused by mutations in the LDL receptor (LDLR), Apolipoprotein-B (APOB) and Proprotein-convertase subtilisin/kexin type9 (PCSK9) genes, that interfere with LDL-cholesterol metabolism.

Affected patients have elevated total cholesterol (>300mg/dl) and LDL-cholesterol (>190mg/dl) levels with normal triglycerides in adulthood.

FH is usually present from early childhood, without noticeable symptoms (except for xanthomas and xanthelasma), but left untreated 50% of men will suffer a myocardial infarction before the age of 50, and women before the age of 55.

Material and method: The prospective study includes 20 Romanian patients, but enrolling is still under way. Patients' inclusion criteria were: age 18-55 years, elevated LDL-cholesterol and vascular involvement (coronary artery disease, peripheral vascular disease). 8 selected patients were genotyped with the Randox Laboratories multiplex PCR biochip coupled with hybridization (FH arrays I&II) for a total of 40 FH-causing mutations.

Results and discussions: None of the genotyped patients could be diagnosed with the proposed method, maybe due to the large number of possible FH-causing mutations. FH arrays I&II were validated on the British population and the method might not be transposable to ours, or a larger sample size may be needed for its validation. FH diagnosis by Real-time PCR (polymerase chain reaction) using TaqMan genotyping assays or even Next Generation Sequencing will be performed for these still undiagnosed cases.

Conclusion: FH molecular diagnosis is difficult, but it is essential for administering early statin treatment or targeted gene therapy to these patients.

Keywords: familial hypercholesterolaemia, LDL-cholesterol

Acknowledgements: This work was partially supported by Research grant PN-III-P2-2.1-PED-2016-0734, contract 155PED / 2017

P12. INVESTIGAREA GENETICĂ A POLIMORFISMELOR GENELOR MDR1 C3435T, MDR1 C 1236T ȘI NPHS2 R229Q LA COPIII CU SINDROM NEFROTIC

Carmen DUICU¹, Florin TRIPON¹, Andrei CRAUCIUC¹, Cornel ALDEA², Alina BOGLIȘ¹,
Valeriu MOLDOVAN^{1,3}, Claudia BĂNESCU^{1,3}

1 Universitatea de Medicină și Farmacie din Tîrgu Mureș, România

2 Secția Nefrologie, Pediatrie 2, Spitalul Clinic de Urgență pentru copii Cluj Napoca, România

3 Laboratorul de Genetică, Centrul de Cercetări Avansate Medico-Farmaceutice (CCAMF), România

Introducere: Studii recente descriu corelații între gena multi-drug resistance 1(MDR1) și susceptibilitatea, supraviețuirea și răspunsul la tratamentul sindromului nefrotic(SN). Varianta alelică a polimorfismului NPHS2 R229Q a fost asociată cu rezistența la tratamentul corticosteroid. Scopul acestui studiu a fost să evidențiem dacă există corelații între polimorfismele MDR1 C1236T (rs1128503,exon12

,C>T,Gly412Gly) și C3435T (rs1045642,exon26,C>T,Ile1145Ile) și prezența variantei alelice a NPHS2 R229Q la copiii cu SN.

Materiale și metode: Acest studiu caz-control a fost aprobat de către Comisia de Etică a Universității de Medicină și Farmacie din Tîrgu Mureș(no.113/14.12.2015). Am inclus 68 de copii cu SN și 164 de copii sănătoși. Extracția ADN-ului a fost făcută utilizând protocoalele recomandate de producători iar genotiparea prin metoda PCR-RFLP.

Rezultate: Genotipurile pentru MDR1 C1236T au fost: CC la 20 de pacienți și 40 controale, CT la 24 de cazuri și 74 controale, TT la 24 de pacienți și 50 controale. Genotipul CC pentru MDR1 C3435T a fost identificat la 4 pacienți și 43 controale, CT la 41 de pacienți și 70 controale, TT la 23 de pacienți și 51 controale. Patru pacienți au fost heterozigoți pentru NPHS2 R229Q. Am comparat genotipurile, frecvența alelelor și a variantelor alelice combinate între grupuri. Rezultate cu semnificație statistică am găsit pentru polimorfismul MDR1 C3435T($p<0.0036$) și pentru variantele alelice combinate ale polimorfismelor MDR1($p<0.031$). Nu am identificat corelații între polimorfismele MDR1 și varianta alelica a NPHS2, răspunsul la tratament și supraviețuire.

Concluzie: Polimorfismul MDR1 C3435T și variantele combinate ale MDR1 C3435T și C1236T reprezintă un factor de risc pentru apariția SN.

Cuvinte cheie: MDR,NPHS2,nefrotic

GENETIC INVESTIGATION OF MDR1 C3435T, MDR1 C1236T AND NPHS2 R229Q GENES POLYMORPHISM IN YOUNG NEPHROTIC SYNDROME

Introduction: Recently published studies described a correlation between multi-drug resistance 1 (MDR1) gene and susceptibility, outcome and treatment response in nephrotic syndrome (NS). The variant allele of NPSH2 R229Q polymorphism was associated with corticosteroid treatment resistance. We aimed to investigate the correlations between the MDR1 C1236T (rs1128503,exon 12,C>T,Gly412Gly) and C3435T (rs1045642,exon 26,C>T,Ile1145Ile) gene polymorphism and the variant allele of NPHS2 R229Q in young NS patients.

Material and methods: This case-control study was approved by the Ethical Committee of the University of Medicine and Pharmacy from Tîrgu Mureș (no. 113/14.12.2015) and consisted of 68 NS patients and 164 controls. The DNA extraction was performed by using protocols recommended by manufacturers, and genotyping was performed by PCR-RFLP technique.

Results: The genotypes for MDR1 C1236T were: CC in 20 patients and 40 controls, CT in 24 cases and 74 controls and TT in 24 patients and 50 controls. The CC genotype for MDR1 C3435T was found in 4 patients and 43 controls, CT in 41 patients and 70 controls and TT in 23 patients and 51 controls. Four patients were heterozygous for NPHS2 R229Q. We compared the genotype, allele frequency and combined variant alleles between groups. Statistical significant results were found for variant MDR1 C3435T polymorphism ($p<0.0036$) and combined variant MDR1 polymorphisms ($p<0.031$). No association was found between MDR1 polymorphisms and NPHS2 variants, treatments response and outcome.

Conclusion: The MDR1 C3435T and combined variant genotype of MDR1 C3435T and C1236T polymorphism represent a risk factor for NS development.

Keywords: MDR, NPHS2, nephrotic

P13. INVESTIGAREA POLIMORFISMELOR GENELOR TNF ALPHA ȘI IL-6 LA COPII CU SINDROM NEFROTIC

Carmen DUICU¹, Florin TRIPON¹, Andrei CRAUCIUC¹, Cornel ALDEA², Alina BOGLIȘ¹, Valeriu MOLDOVAN^{1,3}, Claudia BĂNESCU^{1,3}

1 Universitatea de Medicină și Farmacie din Tîrgu Mureș, România

2 Secția Nefrologie, Pediatrie 2, Spitalul Clinic de Urgență pentru copii Cluj Napoca, România

3 Laboratorul de Genetică, Centrul de Cercetări Avansate Medico-Farmaceutice (CCAMF), România

Introducere: Sindromul nefrotic (SN) este definit de apariția proteinuriei, hipoalbuminemiei, edemelor și a hipercolesterolemiei. Polimorfismele în poziția 308 a promotorului genei factorului de necroză tumorală alpha (TNF α 308A/G, rs1800629) și în poziția 174 a genei interleukina 6 (IL-6 174G/C, rs1800795) au fost descrise ca fiind un factor de risc pentru apariția SN. Am realizat acest studiu în vederea investigării acestei asocieri într-o populație de copii cu SN din județul Mureș.

Materiale și metode: Am obținut acordul etic din partea Comisiei de Etică din cadrul universității (nr.113/14.12.2015). Am inclus în studiu 82 de pacienți și 146 de copii sănătoși. ADN-ul a fost extras din 300 microlitri de sânge proaspăt recoltat odată cu cel pentru efectuarea analizelor de rutină. Pentru amplificarea ADN-ului am folosit metoda ARMS-PCR.

Rezultate: Pentru TNF α 308A/G am identificat următoarele genotipuri: 47 GG, 19 GA și 1 AA în cazul pacienților și 82 GG, 58 GC și 6 AA în lotul control. În lotul pacienților pentru IL-6 174G/C un număr de 15 pacienți au avut genotipul GG, 49 GC și 15 CC. În lotul control pentru IL6 174G/C un număr de 35 de controale au avut genotipul GG, 98 GC și 13 CC. Nu am observat diferențe între cele două grupuri în distribuția genotipurilor, alelelor și a variantelor combinate ale acestor polimorfisme ($p>0.05$).

Concluzie: Variantele alelice ale TNF α 308A/G și IL-6 174G/C nu reprezintă un factor de risc pentru apariția SN.

Cuvinte cheie: TNF, IL-6, nefrotic

TNF ALPHA AND IL-6 GENES POLYMORPHISMS INVESTIGATION IN CHILDREN WITH NEPHROTIC SYNDROME

Introduction: Nephrotic syndrome (NS) is defined by the appearance of proteinuria, hypoalbuminemia, oedema and hypercholesterolemia. Polymorphisms in the 308 position of the promoter of tumor necrosis factor alpha (TNF α 308A/G, rs1800629) and 174 position of interleukin 6 (IL-6 174G/C, rs1800795) genes was reported to increase the risk for NS. Thus we started this case-control study in order to investigate this association in a young NS population from Mureș county.

Material and methods: We obtained the no.113/14.12.2015 ethical accord from the Ethical Committee of our university. A number of 82 patients and 146 healthy children were included. The DNA extraction was made from 300 microliters of fresh blood, harvested along with routine tests. ARMS-PCR was the method used for amplification.

Results: For TNF α 308A/G the genotypes were: 47 GG, 19 GA and 1 AA in patients group and 82 GG, 58 GC and 6 AA in control group. In patients group for IL-6 174G/C a number of 15 patients were GG, 49 GC and 15 CC. In control group for IL-6 174G/C a number of 35 children were GG, 98 GC and

13 CC. No statistically significant associations were found after the analyze between groups of genotypes, alleles distributions and combined genotypes and alleles ($p>0.05$).

Conclusion: According to our results the TNF α 308A/G and IL-6 174G/C polymorphisms are not a risk factor for NS development.

Keywords: TNF, IL-6, nephrotic

P14. ASOCIEREA POLIMORFISMULUI VEGF +936C/T CU SUSCEPTIBILITATEA PENTRU SINDROMUL NEFROTIC LA COPII

Florin TRIPON¹, Andrei CRAUCIUC¹, Cornel ALDEA², Alina BOGLIȘ¹, Valeriu MOLDOVAN^{1,3}, Claudia BĂNESCU^{1,3}, Carmen DUCU¹

1 Universitatea de Medicină și Farmacie din Tîrgu Mureș, România

2 Secția Nefrologie, Pediatrie 2, Spitalul Clinic de Urgență pentru copii Cluj Napoca, România

3 Laboratorul de Genetică, Centrul de Cercetări Avansate Medico-Farmaceutice (CCAMF), România

Introducere: Ca urmare a faptului că factorul endotelial de creștere vasculară (VEGF) este presupus a fi implicat în patogeneza sindromului nefrotic (SN) am început acest studiu caz-control cu scopul de a verifica ipoteza că polimorfismele VEGF -2549 I/D (rs35569394), VEGF +936C/T (rs3025039) și VEGF +405G/C (rs2010963) sunt asociate cu susceptibilitatea pentru SN la copii.

Materiale și metode: Am inclus în studiu un număr de 205 copii, 68 în lotul pacienților și 137 în lotul control. Metoda RFLP-PCR a fost folosită pentru genotiparea polimorfismelor menționate.

Rezultate: Pentru VEGF -2549I/D genotipurile identificate au fost următoarele: 23 II, 22ID și 21 DD în lotul pacienților și 30 II, 70 ID, 37 DD în lotul control. Genotipurile pentru VEGF +936C/T au fost: 32CC, 34 CT și 1 TT în cazul pacienților și 101 CC, 32 CT și 4TT în cazul controalelor. În lotul pacienților pentru VEGF +405G/C 28 de pacienți au fost GG, 20 GC și 19 CC, în comparație cu lotul control unde 20 au avut genotipul GG, 56 GC și 61 CC. Distribuția genotipurilor, alelelor și a combinațiilor dintre genotipuri și alele a fost comparată între cele două grupuri. Asocieri pozitive între polimorfismele investigate și SN au fost identificate pentru genotipurile și alelele VEGF +936C/T ($p<0.004$, OR >2.149 , CI95%: 1.29-3.57). VEGF ID și VEGF +405G/C nu sunt asociate cu NS (VEGF ID $p=0.01$, OR=0.40; CI95%: 0.19-0.84, pentru VEGF +405G/C $p<0.0006$, OR <0.25 , CI95%: 0.118-0.55).

Concluzie: Rezultatele noastre evidențiază faptul că polimorfismul VEGF +936C/T este asociat cu susceptibilitatea pentru SN.

Cuvinte cheie: sindrom nefrotic, VEGF

ASSOCIATION OF VEGF +936C/T GENE POLYMORPHISM WITH SUSCEPTIBILITY TO NEPHROTIC SYNDROME IN CHILDREN

Introduction: As a result of the fact that vascular endothelial grown factor (VEGF) has been postulated to be implicated in the pathogenesis of nephrotic syndrome (NS) we started this case-control study in order to test the hypothesis that VEGF -2549 I/D polymorphism (rs35569394), VEGF +936C/T (rs3025039) and VEGF +405G/C (rs2010963) genes polymorphism are associated with susceptibility to NS in children.

Material and methods: A total number of 205 children were enrolled, 68 in the patients group and 137 in the control group. RFLP-PCR technique was used for genotyping the mentioned VEGF gene polymorphisms.

Results: For VEGF -2549I/D the genotypes were: 23 II, 22 ID and 21 DD in the patients group and 30 II, 70 ID and 37 DD in the control group. The genotypes for VEGF +936C/T were: 32 CC, 34 CT and 1 TT in patients group and 101 CC, 32 CT and 4 TT in control group. In the patients group for VEGF +405G/C 28 of patients were GG, 20 GC and 19 CC, compared with the control group where 20 were GG, 56 GC and 61 CC. The genotypes, allele and combined genotypes and alleles were compared between patients versus controls. Positive association between investigated polymorphism and NS were found for VEGF +936C/T genotypes and allele ($p < 0.004$, $OR > 2.149$, $CI95\%: 1.29-3.57$). VEGF ID and VEGF +405G/C polymorphism are not associated with NS (VEGF ID $p = 0.01$, $OR = 0.40$; $CI95\%: 0.19-0.84$, for VEGF +405G/C $p < 0.0006$, $OR < 0.25$, $CI95\%: 0.118-0.55$).

Conclusion: Our results underline that VEGF +936C/T polymorphism is associated with susceptibility to NS.

Keywords: nephrotic syndrome, VEGF

P15. BIOCHIP MICROFLUIDIC PORTABIL PENTRU DETERMINAREA NUMĂRULUI DE LIMFOCITE T CD4⁺.

Mihaela SAVIN^{1,2}, Carmen-Marinela MIHAILESCU^{2,3}, Dana STAN², Emanoil BORDEI²,
Marioara AVRAM⁴, Tiberiu BURINARU⁴, Vasilica SCHIOPU⁴

1 Facultatea de Chimie, Universitatea din București

2 DDS Diagnostic, București

3 Facultatea de Farmacie, Universitatea Titu Maiorescu, București

4 Institutul National pentru Cercetare și Dezvoltare în Microtehnologii (IMT), București

Introducere: CD4 este receptorul de care se atașează virusul HIV, determinând incapacitatea limfocitelor de a se activa, iar detecția rapidă și cantitativă a limfocitelor T helper CD4⁺ (cluster de diferențiere) este importantă pentru stabilirea momentului de inițiere a terapiei antiretrovirale și pentru monitorizarea eficienței tratamentului.

Scopul studiului a fost dezvoltarea unui dispozitiv microfluidic cu nanoelectrozi interdigitați, de tipul point of care (PoC), pentru numărarea limfocitelor T helper CD4⁺, din probe de sânge integral, fără o preparare a probei, prin metoda de detecție electrochimică (amperometrică), pe baza proprietăților electrice ale acestora. Dispozitivul reduce costurile de operare și crește posibilitatea de a fi folosit de cât mai mulți specialiști din domeniul medical.

Material și metodă: Biocipul microfluidic este alcătuit din cinci module montate secvențial pe cip: port de intrare - ieșire fluide, cameră de lizare chimică a eritrocitelor, cameră de stopare a lizării eritrocitelor, cameră de capturare a limfocitelor. Diferența dintre numărul leucocitelor care intră și al celor care ies reprezintă numărul limfocitelor care s-au legat specific de anticorpii anti-CD4 umani. S-au folosit anticorpi anti-CD4 pentru captușirea pereților camerei de capturare iar probele au fost molecule CD4.

Rezultate: Biocipurile s-au realizat prin tehnica de fotogravură utilizând plachete de siliciu și polidimetilsiloxan. S-au obținut soluțiile optime de lizare a eritrocitelor pentru ca liza să aibă loc în 50 de

secunde și să nu distrugă leucocitele. De asemenea s-a realizat funcționalizarea chimică a suprafeței de captură a limfocitelor CD4 + .

Detecția amperometrică în timp real permite numărarea leucocitelor care s-au legat specific de anticorpii anti-CD4 umani în camera de capturare. De asemenea, determinarea numărului de limfocite T CD4+ folosind doar o picătură de sânge, fără ca aceasta să fie prelucrată în afara dispozitivului, are potențialul unui dispozitiv portabil cu dimensiuni mici.

Mulțumiri; Această lucrare a fost publicată cu *sprijinul financiar parțial al proiectului PN-III-P2-2.1- 46PTE/2016 (BIOLIMF)*.

Cuvinte cheie: dispozitiv microfluidic, CD4+.

POINT-OF-CARE MICROFLUIDIC BIOCHIP FOR DETECTION OF CD4⁺ T LYMPHOCYTES

Introduction: The human immunodeficiency virus (HIV) attaches to the CD4 receptor, causing the inability of the lymphocytes to activate. The rapid and quantitative detection of the CD4⁺ T lymphocytes (cluster of differentiation) is critical in determining the time to initiate antiretroviral therapy and to monitor the efficacy of the treatment.

The aim of the study was the development of a microfluidic point of care device, with interdigitate nano-electrodes, for counting the CD4⁺ T lymphocytes, in whole blood samples, without the need for sample preparation, based on the electrical properties of the CD4⁺ T lymphocytes. The device reduces the operating costs and can be used by many medical specialists.

Materials and methods: The microfluidic biochip consists of five sequentially mounted on-chip modules: the entry-exit port for fluids, the erythrocyte chemical lysis room, the quenches lysis room to preserve leukocytes and the lymphocyte capture room. The electrochemical difference between the number of the white blood cells entering and leaving is the number of lymphocytes that have specifically bound to anti-human CD4. The functionalization methods were realized by SAM (self-assembled monolayers) techniques.

Results: Biochips were obtained by photo-technique using silicon wafers and polydimethylsiloxane. Lysis solutions were prepared in order to ensure erythrocyte lysis in 50 sec, without affecting the leukocytes. The chemical functionalization was performed onto the capture surface of CD4 + lymphocytes.

The amperometric detection in real time allows to count the leukocytes that bind to specific human antibodies in the capture room. The count of CD4⁺ T lymphocytes using only a drop of blood, without the need for off-chip sample preparation has the potential of a miniaturized portable device.

Acknowledgements: This work was published with partial financial support of the national project PN-III-P2-2.1- 46PTE/2016 (BIOLIMF).

Keywords: microfluidic device, CD4⁺

P16 EVALUAREA IMUNOHISTOCHIMICĂ ȘI IMUNOHISTOFLUORESCENȚĂ A IMPLANTELOR ENDOMETRIOZICE

Elvira BRĂȚILĂ¹, Claudia MEHEDINȚU¹, Costin BERCEANU², Monica CÎRSTOIU¹, Roxana BOHÎLȚEA¹, Oana TOADER¹, Diana-Elena COMANDAȘU¹

1 Universitatea de Medicină și Farmacie „Carol Davila”, Departamentul de Obstetrică-Ginecologie, București, România

2 Universitatea de Medicină și Farmacie Craiova, Departamentul de Obstetrică-Ginecologie, Craiova, România

Scop: De a evalua profilul implantelor prelevate prin biopsie de la 9 paciente diagnosticate cu endometrioză.

Material și metodă: Am detaliat metodologia de analiză cantitativă a markerilor asociați endometriozei prin citometrie imagistică după marcarea secțiunilor biopsice prin tehnici de imunohistochemie (IHC) sau imunohistofluorescență (IHF). După evaluarea imunohistopatologică a probelor, componenta endometrială a fost analizată pentru determinarea proporției de celule ce exprimă markerii de interes și nivelului lor de expresie.

Rezultate: Analiza cantitativă a arătat pozitivitate pentru progesteron receptori (PR) la toate probele, în concordanță cu evaluarea anatomo-patologică. Cea mai crescută expresie a fost de 40-50% cu o intensitate medie de ~8000-10000. Probele analizate au prezentat o expresie ER (16-31%) mai scăzută decât PR, cea mai redusă fiind de 15% celule ER+. Expresia proteinei anti-apoptotice Bcl-2 a variat între 1% și 52%, regiunile cu Bcl-2 scăzută prezentând simultan o supraexpresie PR. Markerul nuclear de proliferare Ki67 a fost exprimat în 1%-30% din celule.

Discuții: Toate probele analizate au fost pozitive pentru PR, în general observându-se o expresie mai scăzută a ER. Au fost identificate subpopulații celulare pozitive pentru Bcl-2 sau Ki67 cu diverse ponderi de la o probă la alta, în acord cu profilul clinic. Avantajul marcării prin IHF a fost evident în cazul probelor cu colorare IHC scăzută. IHF permite analiza simultană a două antigene diferite (exemplu PR/ER; Bcl-2/Ki67). S-a evidențiat astfel concordanța expresiei receptorilor hormonal (23%) și totodată disjunția expresiei markerilor anti-apoptotici și de proliferare.

Concluzii: Descrierea profilului molecular al implantelor endometrioze permite abordarea terapeutică țintită și individualizarea terapiei.

Cuvinte cheie: endometrioză, imunohistochemie, imunohistofluorescență

IMMUNOHISTOCHEMICAL AND IMUNOHISTOFLUORESCENT EVALUATION OF ENDOMETRIOSIS IMPLANTS

Scope: To evaluate the profile of implants harvested by biopsy from 9 patients diagnosed with endometriosis. Material and method. We detailed the methodology for quantitative analysis of markers associated with endometriosis using imaging cytometry after labeling biopsy sections by immunohistochemistry (IHC) and immunohistofluorescence (IHF) techniques. After the immunohistopathological evaluation the endometrial component was analyzed to determine the proportion of cells expressing interest markers and their of expression level.

Results: Quantitative analysis showed positivity for progesterone receptor (PR) in all samples, according to pathological exam. The highest expression was 40-50% with an average intensity of ~ 8000-10000. The samples analyzed showed an ER expression (16-31%) lower than PR, the lowest being 15% ER + cells. The expression of anti-apoptotic protein Bcl-2 ranged between 1% and 52%, the regions with low Bcl-2 showing simultaneously PR overexpression. Nuclear proliferation marker Ki67 was expressed in 1% -30% of the cells.

Discussions: All samples analyzed were positive for PR with a general low expression of ER. Cell subpopulations were found positive for Bcl-2 and Ki67 with various proportions from sample to sample, in agreement with the clinical profile. The advantage of marking by IHF was evident in samples with low IHC staining. IHF allows the simultaneous analysis of two different antigens (eg PR/ER; Bcl-2/Ki67). This way we confirmed correspondence between hormone receptor expression (~ 23%) and at the same time disjunction of the anti-apoptotic and proliferation markers expression.

Conclusions: Evaluation of molecular profile of endometriosis implants enables targeted therapeutic approach and therapy individualization.

Keywords: endometriosis, immunohistochemistry, immunohistofluorescence

P17. UTILITATEA DOZĂRII SUBCLASELOR DE IMUNOGLOBULINE IGG ÎN EVALUAREA IMUNOCOMPETENȚEI LA COPIL

Márta Andrea FODOR¹, Enikő NEMES-NAGY², Brîndușa CĂPÎLNĂ³

1 Disciplina Laborator Clinic, Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș, România

2 Disciplina Biochimie și Chimia Factorilor de Mediu, Universitatea de Medicină și Farmacie Tîrgu Mureș, România

3 Clinica Pediatrie I, Spitalul Clinic Județean de Urgență Tîrgu Mureș, România

Introducere: Deficiențele imune umorale reprezintă un grup de boli rare, care se pot manifesta clinic prin simptomatologie variată: infecții, boli alergice, boli autoimune. Dozarea subclaselor de IgG, alături de imunogramă, reprezintă un mijloc eficient în diagnosticarea acestor deficiențe imune.

Scop: în lucrarea noastră ne-am propus evaluarea frecvenței și tipului de deficiență imunoglobulinică, precum și corelarea acestora cu manifestările clinice.

Material: am evaluat imunitatea umorală la 43 de copii internați la secția de Pediatrie I la Spitalul Clinic Județean de Urgență Tîrgu Mureș, în perioada 2013-2016 cu suspiciune de deficit imun umoral sau boală alergică.

Metodă: în vederea evaluării imunității umorale am determinat hemoleucograma, imunograma serică (IgA, IgG și IgM), nivelele de IgE și subclasele de imunoglobuline IgG (IgG1, IgG2, IgG3 și IgG4). În anumite cazuri s-a efectuat limfograma periferică. Am corelat aceste valori cu diagnosticul clinic. Dozarea imunoglobulinelor IgA, IgG și IgM am efectuat prin imunoturbidimetrie (Cobas 6000, Roche). Nivelele de IGE și subclasele de IgG au fost determinate prin nefelometrie (BN ProSpec, Siemens).

Rezultate: Am înregistrat modificări ale imunoglobulinelor la 16 copii. Am înregistrat următoarele modificări: IgE crescut (8 cazuri, 16%), IgM scăzut (4 cazuri, 8%), IgG2 scăzut (2 cazuri, 4 %), IgA și IgG1 scăzut câte un caz (2%). La acești copii manifestările clinice cele mai frecvente au fost infecțiile căilor respiratorii.

Concluzii: Dozarea subclaselor de imunoglobuline și imunograma, alături de celelalte determinări imune, reprezintă mijloace eficiente ale diagnosticării deficiențelor imune umorale.

Cuvinte cheie: deficiență imună umorală, imunoglobuline, subclase IgG,

UTILITY OF IGG SUBCLASSES ASSESSMENT IN CHILDREN

Introduction: humoral immunodeficiencies represent a group of rare diseases that can manifest clinically by various symptoms: infections, allergic or autoimmune diseases. Measurement of IgG subclasses, along with IgG, IgA, IgM and IgE levels, represents an effective means to diagnose these immune deficiencies.

Purpose: In our work we have proposed to assess the frequency and type of immunoglobulin deficiency and their correlation with clinical manifestations.

Material: humoral immunity was assessed in 43 children admitted to the Pediatric Clinic I in Tîrgu Mureș Emergency Clinical County Hospital, between 2013-2016 with suspicion of humoral immune deficiency or allergic disease.

Method: to assess humoral immunity, we performed the complete blood count, the serum IgA, IgG, IgM and IgE levels, IgG subclasses (IgG1, IgG2, IgG3 and IgG4). In some cases the peripheral blood lymphocytes analysis was performed. These results were correlated with the clinical diagnosis. The measurement of immunoglobulin IgA, IgG and IgM was performed by an immunoturbidimetric method (Cobas 6000, Roche). IgE levels and IgG subclasses were determined by immunonephelometry (BN ProSpec, Siemens).

Results: We recorded changes of immunoglobulin levels in 16 children. We observed increased IgE in 8 cases (16%), low IgM levels in 4 cases (8%), low IgG2 levels (2 cases, 4%), low IgA and IgG1 levels in 2%. The most common clinical manifestations were respiratory infections.

Conclusions: Determination of immunoglobulin levels and IgG subclasses, along with other immunological tests, represents an efficient means of diagnosing humoral immune deficiencies.

Keywords: humoral immunodeficiencies, immunoglobulins, IgG subclasses

P18. EVALUAREA MARKERILOR DE INVAZIVITATE DIN ȚESUTUL ENDOMETRIAL LA PACIENTELE CU ENDOMETRIOZĂ

Elvira BRĂȚILĂ¹, Claudia MEHEDINȚU¹, Costin BERCEANU², Monica CÎRSTOIU¹, Roxana BOHÎLȚEA¹, Oana TOADER¹, Diana-Elena COMANDAȘU¹

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

2 Universitatea de Medicină și Farmacie Craiova, România

Introducere și scop: Endometrioza reprezintă o boală inflamatorie estrogen-dependentă care afectează femeile fertile, caracterizată prin prezența țesutului endometrial în afara cavității uterine.

Material și metodă: Pentru a evalua potențialul invaziv al țesutului endometrial s-au analizat probe prin tehnica Western Blot (WB) pentru markerii N-și E-caderine, proteine ce controlează procesele de migrare și adeziune, alterarea structurii lor generând proliferare celulară anarhică. S-a comparat profilul acestora prin WB din endometrul a 5 paciente sănătoase și respectiv 5 implante endometrioze, care reprezintă insule de țesut endometrial ectopic.

Rezultate: WB a indicat absența E caderinei în forma sa neclivată (120kDa) în toate probele de implanturi endometrioze și în 2 probe de endometru de la paciente sănătoase. N caderina în forma sa neclivată este absentă în 3 din cele 5 probe de implant endometrioze. În 2 probe expresia în forma de 120 kDa este foarte scăzută, într-o probă regăsindu-se o formă cu masă moleculară mică de 80-90 kDa. S-a identificat prezența unei benzi de 50 kDa pozitive cu anticorpii anti-E/N-caderine provenită probabil din clivarea formei de 120 kDa.

Discuții: Lipsa E caderinei în forma sa neclivată (120kDa) este sugestivă pentru existența unui potențial invaziv la nivelul celulelor stromale și/sau epiteliale din aceste implanturi. Prezența unor fragmente de E și N caderină cu mase moleculare scăzute sugerează proteine cu incapacitate de a forma joncțiuni aderente funcționale. Apar astfel celule cu capacități migratorii crescute capabile de a coloniza țesuturi adiacente și apariția de implanturi endometrioze.

Concluzii: Potențialul invaziv al celulelor endometriale prezente la pacientele cu endometrioze explică agresivitatea și recurența bolii.

Cuvinte cheie: țesut endometrial, caderine E/N, Western Blot

EVALUATING ENDOMETRIAL TISSUE INVASIVENESS MARKERS IN PATIENTS WITH ENDOMETRIOSIS

Introduction and purpose: Endometriosis is an estrogen-dependent inflammatory disease that affects fertile women, characterized by endometrial tissue present outside the uterine cavity.

Material and method: To assess the invasive potential of endometrial tissue, samples were analyzed by Western Blot technique (WB) for markers E and N-cadherin, proteins which control migration and adhesion processes, alteration of their structure generating anarchic cellular proliferation. E and N-cadherin profile was compared by WB from the endometrium of 5 healthy patients and 5 samples of endometriosis implants (islets of ectopic endometrial tissue).

Results: WB indicated the absence of E cadherin in its uncleaved form (120kD) in all endometriosis implants samples and in 2 samples of endometrium from healthy patients. N-cadherin was absent in its uncleaved form in 3 of the 5 endometriosis implant samples. In 2 cases the expression of the 120 kDa form was very low, in one sample being present a form with low 80-90 kDa molecular weight. The presence of a 50 kDa band positive with anti-E/N-cadherins antibodies probably from cleavage of the 120 kDa form was identified.

Discussions: The lack of 120kD form is suggestive of potential invasive stromal and/or epithelial cells in the implants. The presence of low molecular weight fragments of E- and N-cadherin suggests the inability of these proteins to form functional adherent junctions, thus allowing the cells with increased migration capacities to colonize adjacent tissues and to generate endometriosis implants.

Conclusions: Invasive potential of endometrial cells present in patients with endometriosis explains the disease's aggressivity and recurrence.

Keywords: endometrial tissue, E/N cadherins, Western Blot

Acknowledgement: This study was financed through the grant obtained by PCCA competition 2013, Project Title: „Identification of cellular and molecular profile of endometriosis in order to develop new personalized therapeutic methods with predictive role for infertility”, No PN-II-PT-PCCA-2013-4-1348 (Acronim: EndoFertil).

P19. DETERMINAREA VITAMINEI D ÎN SARCINĂ

Roxana BOHILTEA, Natalia TURCAN, Viorica RĂDOII, Radu URSU, Ana UZUNOV, Monica CÎRSTOIU

Universitatea de Medicină și Farmacie Carol Davila, București, România

Deficiența de vitamină D este o condiție frecventă în rândul femeilor însărcinate. Există o anumită asocierie între deficiența maternă de vitamină D în timpul sarcinii și preeclampsie, prematuritate și greutate mică la naștere.

Metodă: Prin studiul observațional efectuat într-un spital multidisciplinar din București am analizat comparativ efectele suplimentării vitaminei D la femeile cu sarcina unică. Pe parcursul a 2 ani, au fost incluse 180 de cazuri. Pentru fiecare caz nivelul seric de vitamină D totală (vitamina D3, vitamina D2 și alți metaboliți hidroxiilați ai vitaminei D) a fost măsurat la 12 săptămâni de gestație, utilizând metoda imunochimică cu detecție prin chemiluminescență. Pentru jumătate din grupul de studiu a fost recomandată administrarea de vitamină D () a fost 500 UI/zi) în combinație cu alte vitamine și minerale pentru întreaga perioadă a sarcinii. Pentru cealaltă jumătate a grupului vitamina D nu a fost suplimentată (grup de control). Vitamina D a fost dozată din nou la la 35 de săptămâni de sarcină.

Rezultate: Valoarea medie a nivelului seric a 25 (OH) vitaminei D la la momentul înrolării în studiu a fost de 67 ng/ml, cele mai multe valori fiind situate sub 20 ng /ml. 23 de cazuri (12,7%) au avut niveluri mai mici de 10 ng/ml. La 35 de săptămâni 65% din gravidele din grupul de control aveau valori sub 10 ng/ml, iar în grupul cu suplimentare vitaminică, nivelul vitaminei D nu a fost modificat. În grupul de control s-a înregistrat o incidență de 2 ori mai mare a a preeclampsiei și hipertensiunii induse de sarcină decât în grupul cu suplimentare de vitamină D. Nu s-au înregistrat diferențe semnificative între cele două grupuri în privința vârstei gestaționale la naștere. Discuțiile continuă în privința dozei adecvate suplimentării în sarcină, doza uzual recomandată fiind adecvată menținerii vitaminemiei pe parcursul sarcinii, dar aparent fiind insuficientă satisfacerii necesarului în anumite condiții carentiale.

Cuvinte cheie: suplimentare vitamina D, sarcină, preeclampsie

VITAMIN D DETECTION DURING PREGNANCY

Vitamin D deficiency is a common condition among pregnant women. There is a certain association between maternal vitamin D deficiency during pregnancy and preeclampsia, prematurity and low birth-weight.

Method: We conducted an observational study, analyzing comparatively the effects of vitamin D supplementation in women with singleton pregnancy in a multidisciplinary hospital of Bucharest. We included 180 patients during a period of 2 years. For every patient, the serum level of level of total vitamin D (vitamin D3, vitamin D2 and other hydroxylated metabolites of vitamin D) was measured initially at 12 weeks of pregnancy, using the immunochemical method, with detection by chemiluminescence. After that, half of the patients received vitamin D (500 UI/day) in combination with other vitamins and minerals for the entire pregnancy period. For the other half, no supplementation was applied. Vitamin D was measured again at 35 weeks of pregnancy. **Results:** At the enrolment in the study, the average value of 25(OH) vitamin D was 67 ng/ml, with most values being situated below 20ng/ml. 23 patients (12.7%) had levels below 10 ng/ml. At 35 weeks of pregnancy, 65% of the women in the control group had vitamin D levels below 10 ng/ml, while there was no significant change of vitamin D levels in the other

group. Women in the control group had pregnancy induced hypertension and preeclampsia twice more frequently than women receiving vitamin supplements. There were no significant differences between the two groups for the gestational age at birth.

Adequate vitamin D administration during pregnancy is still a matter of debate, as the usual dosage seems suitable for maintenance and not for supplementation.

Keywords: vitamin D supplementation, pregnancy, preeclampsia

P20. DEFICIT SELECTIV DE IGA ÎN INFECȚII RESPIRATORII LA COPII

Simona CHEREGI, Cristian SAVA, Radu SPINEANU

Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină

Introducere: Deficitul selectiv de IgA, congenital sau dobândit, reprezintă o cauză frecventă a infecțiilor respiratorii recidivante la copil.

Material și metodă: Este analizat rolul deficitului selectiv de IgA la pacienți cu infecții respiratorii frecvente. Au fost identificați 31 de copii cu vârste între 2-9 ani cu deficit selectiv de IgA (sub 10 mg/dl). S-a folosit analizorul Beckman Coulter AU5811, metoda imunoturbidimetrică. Deoarece la unii pacienți cu deficit de IgA a fost semnalată asocierea unui nivel scăzut al unor subclase IgG (în special IgG2), s-a efectuat și determinarea nivelului seric al IgG2 prin metoda nefelometrică, explorarea făcându-se la Labor Dr. Limbach, Heidelberg, Germania. Pacienții incluși în studiu au fost monitorizați pe un parcurs de 5 ani.

Rezultate: Copiii cu deficit selectiv de IgA au prezentat valori ale IgA sub 10 mg/dl. Patru dintre aceștia (12,90%) au avut și titru scăzut al IgG2 la valori semnificative pentru grupa de vârstă respectivă. Nu s-au observat diferențe ale titrului IgA în funcție de prezența/absența deficitului concomitent de IgG2. Pe parcursul monitorizării, în cazul a 6 copii, nivelul IgA seric a crescut până la valori normale. Normalizarea IgA nu a survenit însă la niciunul dintre copiii care au prezentat o scădere concomitentă a IgG2.

Concluzii: Deficitul selectiv de IgA poate fi un element favorizant al infecțiilor respiratorii la copil. Prezența deficitului asociat de IgG2 nu a influențat valorile IgA, dar niciunul dintre acești pacienți nu a prezentat pe parcurs normalizarea deficitului de IgA.

Cuvintele cheie: deficit selectiv IgA, IgG2, copil.

SELECTIVE IGA DEFICIENCY IN CHILDREN WITH RESPIRATORY INFECTIONS

Introduction: Selective IgA deficiency in children represents a frequent cause of recurrent respiratory tract infections.

Method: The authors analyze the role of selective IgA deficiency in children with recurrent respiratory infections. 31 patients, aged between 2 and 9 years, were recorded with low serum IgA levels (immunoturbidimetric method, Beckman Coulter AU5811 Chemical Analyzer). Knowing that some patients with IgA deficiency also have very low levels of certain IgG subclasses (especially IgG2), serum IgG2

levels were also measured in this study group, using nephelometric method performed by Labor Dr. Limbach, Heidelberg, Germany. Children were monitored for a period of five years.

Results: Children with selective IgA deficiency presented serum IgA levels lower than 10 mg/dl. Four patients (12, 90%) associated decreased serum IgG2 levels. Concomitant IgG2 deficiency did not influenced serum IgA levels. During follow-up period serum IgA levels normalized in 6 cases. Normalization of serum IgA did not occur in any patient with associated IgG2 deficiency. **Conclusions.** Selective IgA deficiency is a contributing factor for respiratory infections during childhood. Concurrent presence of IgG2 deficiency had no impact on IgA serum levels, but none of these patients achieved normal serum IgA levels during follow-up.

Keywords: selective IgA deficiency, children

P21 ASOCIEREA SPECIALĂ A UNOR AFECȚIUNI AUTOIMUNE DIN CAZUISTICA UNUI AMBULATORIU DE SPECIALITATE

Enikő NEMES-NAGY, Evelyn-Ágnes MOLNÁR, Zsuzsa Réka KOVÁCS, Anita-Andrea KÖVENDI, Zita FAZAKAS, Márta-Andrea FODOR, Mónika SZABÓ, Mariana TILINCA

UMF Tg Mures

Introducere: La pacienții cu boli tiroidiene autoimune poate să apară hipo- sau hiperfuncția tiroidiană. De multe ori, boala este diagnosticată tardiv. Ocazional putem constata asocierea acestei afecțiuni cu alte boli autoimune la anumiți pacienți.

Scop: În această lucrare ne-am propus prezentarea unui caz rar din cazuistica unui ambulatoriu de specialitate din Tîrgu Mureș, la care s-a produs o asociere multiplă de boli autoimune cu afectarea diverselor organe. Ne-am propus de asemenea evaluarea frecvenței valorilor ridicate ale anticorpilor anti-tiroid-peroxidază (ATPO) la pacienții unui ambulatoriu de specialitate din Tîrgu Mureș, evaluarea statusului lor hormonal și a datelor demografice.

Material și metode: Cazul special a fost urmărit de noi timp de șase ani, pacienta fiind implicată într-un studiu pentru pacienții diabetici, și a revenit la unitatea noastră medicală pentru evaluarea periodică al statusului metabolic și hormonal. De asemenea am procesat baza de date a laboratorului Procardia în perioada ianuarie 2014 – decembrie 2015 pentru a evidenția numărul de pacienți cu valori hormonale patologice care denotă afecțiuni tiroidiene. Dozările de ATPO, tiroxină liberă (FT4) și de hormon stimulator tiroidian (TSH) au fost realizate prin metoda ELISA (analizor StatFax). Analiza statistică a rezultatelor s-a efectuat cu programele GraphPad InStat și Excel.

Rezultate: Cazul special (în vârstă de 60 de ani) a fost diagnosticată pentru prima dată cu hipertensiune arterială și poliartrită reumatoidă, după o perioadă de stres. Pacienta a primit prednison pe termen lung, ceea ce a condus la diabet zaharat secundar după trei ani. Ea este în prezent pe tratament cu insulină. În urma evoluției diabetului zaharat timp de 10 ani, ea a dezvoltat, de asemenea, cataractă și polineuropatie. În anul 2008, a fost diagnosticată cu tiroidită autoimună și în 2010 cu psoriazis (sora ei suferă, de asemenea, de psoriazis, iar fiica ei are valoare ridicată a ATPO cu niveluri normale hormonale). Din numărul total de 131 de determinări ATPO realizate pe parcursul a 2 ani, 34% au fost valori ridicate, în multe cazuri, cu tulburări hormonale. Majoritatea acestor pacienți au fost femei (87%), cu o vârstă medie de 48 +/- 15 ani (SD), 79% provenind din mediul urban.

Concluzii: În cazul bolilor autoimune se recomandă o gamă largă de teste de laborator care trebuie efectuate la pacient și la membrii de familie. De multe ori există o agregare familială, care afectează în principal femeile, prin urmare, aceste boli pot fi diagnosticate în fază timpurie, crescând șansa de tratament precoce și prevenirea complicațiilor.

Cuvinte cheie: boli autoimune, afecțiuni tiroidiene, metoda ELISA

PARTICULAR ASSOCIATION OF AUTOIMMUNE DISEASES IN A CASE OF AN OUTPATIENT MEDICAL UNIT

Introduction: In patients suffering from autoimmune thyroid diseases hypo- or hyperfunction of the thyroid gland can be developed. In some cases an association of this disease with other autoimmune disorders might occur.

Aim: In this paper we proposed to present a case in which a multiple association of autoimmune disorders occurred affecting different organs. We also proposed to assess the frequency of high anti-thyroid-peroxidase antibodies (ATPO) in the patients of a medical outpatient unit in Tirgu Mures, to evaluate their hormonal status and demographic data.

Material and methods: The special case was followed by us for six years, being involved in a study for diabetic patients; she returned to our unit for periodic reevaluation of her metabolic and hormonal status. We also processed the database of the Procardia Laboratory between January 2014 - December 2015 to evaluate the number of patients with pathological hormone values showing thyroid disorders. ATPO, free thyroxine (FT4) and thyroid stimulating hormone (TSH) determinations were made by enzyme-linked immunosorbent assay (ELISA) method (StatFax).

Results: The special patient (60 years old) was first diagnosed with hypertension and rheumatoid polyarthritis after a stressful period. She received prednisone on long term, which led to secondary diabetes after three years, she is currently on insulin treatment. In 2008, she was diagnosed with autoimmune thyroiditis and in 2010 with psoriasis (her sister also suffers from psoriasis, and her daughter has high ATPO values with normal hormonal status). From the total number of 131 ATPO determinations made during 2 years, 34% were high values, in many cases, with hormonal disorders. The majority of these patients were women (87%) with a mean age of 48 ± 15 years (SD), 79% were from urban environment.

Conclusions: In case of autoimmune diseases a wide range of laboratory tests is recommended to be performed in the patient and family members. These diseases can be diagnosed in early phase, increasing the chance of early treatment and prevention of complications.

Keywords: autoimmune diseases, thyroid disorders, ELISA method

POSTER SESSION 3 - MICROBIOLOGY

P22. ETIOLOGIA INFECȚIEI SISTEMICE ȘI REZISTENȚA LA ANTIBIOTICE

Dana Carmen ZAHA, Mihaela Mirela ZDRINCA, Lucia Georgeta DAINA

Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicina și Farmacie

Introducere: Infecțiile bacteriene sistemice se mențin în actualitate datorită gravității evoluției lor cât și frecvenței aflate în continuă creștere. Scopul acestui studiu este de a estima spectrul etiologic al infecțiilor bacteriene sistemice și sensibilitatea la antibiotice a tulpinilor izolate.

Metode: Studiul s-a desfășurat la Spitalul Clinic Județean de Urgență Oradea pe un lot de 325 de pacienți cu semne clinice de sepsis, în perioada ianuarie 2013 – decembrie 2016. A fost utilizat sistemul de hemocultură Signal urmat de identificarea tulpinilor izolate prin teste biochimice convenționale și/sau API 20E precum și de testarea sensibilității la antibiotice prin metoda difuzimetrică.

Rezultate: Rata de pozitivitate a hemoculturii a fost de 26.66%. Majoritatea infecțiilor sistemice au fost determinate de un singur microorganism (99.4%). Au predominat cocci Gram pozitivi (74.58%) urmați de bacili Gram negativi (23.1%), restul fiind germeni anaerobi. În grupul cocilor Gram pozitivi au predominat stafilococii coagulazo negativi (69.28%), stafilococul auriu (15%), *Enterococcus* spp. (13.1%), *Streptococcus* spp. (2.2%). În grupul tulpinilor Gram negative au predominat *E. coli* (27.9%), *Acinetobacter* spp. (19.3%), *Enterobacter* spp. (16.1%), *Serratia* spp. (13.9%), *Pseudomonas aeruginosa* (7.5%), *Proteus* spp. (5.3%). Rezistența la metilicină a fost de 60.79% pentru stafilococii coagulazo negativi și de 50% pentru *Staphylococcus aureus*. Tulpini de *Enterococcus* spp. rezistent la vancomicină nu au fost înregistrate. *Enterobacteriaceae* producătoare de beta lactamaze cu spectru extins au fost 40.8%, iar producătoare de carbapenemaze 13.9%. Toate tulpinile de *Acinetobacter* spp. au fost sensibile la Colistin, 33.3% la Cefoperazona-Sulbactam.

Concluzii: Infecțiile sistemice recunosc drept etiologie stafilococii coagulazo negativi și *Staphylococcus aureus* în proporție mare fiind rezistenți la metilicină, *Enterobacteriaceae* și *Acinetobacter* spp. cu rezistență crescută la antibiotice.

Cuvinte cheie: sepsis, etiologie, hemocultura, antibiotice.

THE ETIOLOGY OF SYSTEMIC INFECTION AND ANTIBIOTIC RESISTANCE

Introduction: Systemic bacterial infections remain a topicality because of the seriousness of their development and continuously growing frequency. The aim of this study is to estimate the etiologic spectrum of systemic bacterial infections and antibiotic susceptibility of isolates.

Methods: The study was conducted at the Clinical Hospital of Emergency Oradea on a group of 325 patients with clinical signs of sepsis in the period January 2013 - December 2016. The Signal system of blood cultures was used followed by identification of isolates using biochemical conventional tests and API 20E identification kits and susceptibility to antibiotics testing by disc diffusion method.

Results: The rate of positivity of blood culture was 26.66%. Most systemic infections were caused by a single microorganism (99.4%). Gram positive cocci predominated (74.58%) followed by Gram-negative bacilli (23.1%), the rest anaerobic germs. In the gram-positive cocci group, coagulase negative staphylococci predominated (69.28%), *Staphylococcus aureus* (15%), *Enterococcus spp.* (13.1%), *Streptococcus spp.* (2.2%). *E. coli* predominated (27.9%) in the group of Gram-negative strains followed by *Acinetobacter spp* (19.3%), *Enterobacter spp* (16.1%), *Serratia spp* (13.9%), *Pseudomonas aeruginosa* (7.5%), *Proteus spp* (5.3%). Resistance to methicillin was 60.79% for coagulase negative staphylococci and 50% for *Staphylococcus aureus*. *Enterococcus spp* resistant to vancomycin strains were not registered. Extended spectrum beta-lactamases producing *Enterobacteriaceae* were 40.8% and carbapenemases producing 13.9%. All strains of *Acinetobacter spp.* were susceptible to colistin and 33.3% to cefoperazone-sulbactam.

Conclusions: Systemic infections etiology represents coagulase-negative staphylococci and *Staphylococcus aureus*, a large proportion of them being resistant to methicillin, *Enterobacteriaceae* and *Acinetobacter spp* showing increased resistance to antibiotics.

Keywords. Sepsis, etiology, blood culture, antibiotics.

P23. DETERMINAREA ANTICORPILOR SPECIFICI ÎN DIAGNOSTICUL BOLII LYME

Ciprian V. IOVAN¹, Ioana CODREANU¹, Ciprian N. SILAGHI²

¹ Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie

² Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu" Cluj Napoca

Introducere: Diagnosticul bolii Lyme, necesită confirmare prin teste de diagnostic serologic, mai exact teste de detectare a anticorpilor. Obiectivul lucrării este de a verifica eficacitatea tehnicii ELISA și necesitatea confirmării diagnosticului serologic printr-o tehnică diferită (Western Blot) în borelioză.

Material și metodă: În studiul nostru anticorpii anti-*Borrelia burgdorferi* IgG și IgM au fost testați prin tehnica ELISA (kit DRG Diagnostics GmbH) la 58 de pacienți care s-au adresat în perioada 10.04.2014-01.12.2014 unui laborator acreditat din Oradea cu suspiciune de borelioză la cel puțin 4 săptămâni de la contaminare. Toate serurile au fost testate și prin metoda WesternBlot (kituri EUROIMMUN AG

Rezultate: Din cei 58 de pacienți testați prin metoda ELISA, 31 de pacienți au avut rezultate considerate pozitive (cu diferențe în funcție de rata de conversie a anticorpilor IgM și durata diferită de la momentul contaminării). Din cei 31 de pacienți cu rezultate pozitive prin tehnica ELISA, 23 au fost confirmate prin tehnica WesternBlot. Din cei 27 de pacienți cu rezultate negative, la 21 s-a confirmat rezultatul prin WesternBlot, iar la 2 pacienți s-au evidențiat anticorpi anti-*Borrelia garinii*, iar la 4 pacienți anticorpi anti-*Borrelia afzelii*.

Concluzii: Rezultatele testelor serologice pentru a diagnostica boala Lyme trebuie interpretate cu precauție, deoarece pot apărea rezultate fals positive sau fals negative. Testarea în doi pași prin confirmare cu tehnica WesternBlot este recomandabilă, eliminându-se astfel unele situații de reactivitate nonspecifică.

Cuvinte cheie: Boala Lyme, diagnostic serologic, tehnica WesternBlot

DETECTION OF SPECIFIC ANTIBODIES IN LYME DISEASE DIAGNOSIS

Introduction: Lyme disease diagnosis requires confirmation by serological diagnostic tests, explicitly antibody detection tests. The objective of the study was to verify the effectiveness of ELISA serological diagnosis and the need for confirmation by a different lab technique (Western Blot) in borreliosis.

Material and method: In our study, 58 patients suspected with borreliosis were enrolled during 10.04.2014-01.12.2014. IgG and IgM antibodies against *Borrelia burgdorferi* were assessed at least within 4 weeks after the contamination by an ELISA method (kit DRG Diagnostics GmbH) in an accredited laboratory in Oradea. All sera were also tested by Western Blot technique (kit EUROIMMUN AG).

Results: Out of 58 patients tested by ELISA, 31 patients were considered with positive results (with differences depending on the conversion rate of IgM and different time frame from contamination). Also, out of 31 patients with positive ELISA results, 23 were confirmed by Western Blot technique. Among 27 patients with negative results, 21 were confirmed by Western Blot, in 2 patients were found *Borrelia garinii* antibodies and in 4 patients *Borrelia afzelii* antibodies.

Conclusions: Results of serological tests for Lyme disease should be interpreted with caution as they may cause false positive or false negative results. A two-step test with Western Blot technique confirmation is more suitable, thus eliminating some cases of nonspecific reactivity.

Keywords: Lyme disease, serological diagnosis, Western Blot technique

P24. SPECTRUL ETIOLOGIC ȘI PROFILUL DE REZISTENȚĂ A TULPINILOR BACTERIENE IZOLATE DIN INFECȚIILE INVAZIVE

Alina Viorica IANCU¹, Bianca Ioana CHESARU¹, Miruna DRĂGĂNESCU¹, Gabriela GURĂU¹,
Manuela ARBUNE¹, Dana TUTUNARU¹, Liliana BAROIU¹, Maria Mirabela MATEIU¹, Nicoleta
MAFTEI¹

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

Introducere: Scopul studiului a fost de a determina etiologia și rezistența la antibiotice (RA) a tulpinilor izolate din infecții invazive în Spitalul Clinic de Boli Infecțioase Galați între 2013-2016.

Materiale și metode: Au fost efectuate 1694 hemoculturi în sistem automat Bactec 9050. Identificarea microorganismelor izolate a fost efectuată folosind metodele clasice și semiautomate (RapIDTM). Testarea sensibilității la antibiotice a fost determinată folosind metoda difuzimetrică. Rezultatele au fost interpretate conform standardului CLSI.

Rezultate: Din hemoculturi au fost izolate 108 tulpini bacteriene. Specii bacteriene identificate: stafilococi coagulazo negativi (SCN) 26.9%, *E. coli* 21.3%, *S. aureus* 15.7%, *S. pneumoniae* 6.5%, *Salmonella spp.* 6.5%, streptococi beta hemolitici 4.6%, *K. pneumoniae* 3.7% și 15.1% – alte specii. RA a fost: SCN – oxacilină 46.2%; *S. aureus* – oxacilină 17.6%, eritromicină 29.4%, clindamicină 17.6%. Toate tulpinile de stafilococi au fost sensibile la linezolid. *E. coli* a prezentat rezistență la amoxicilin/ac. clavulanic și ciprofloxacină 30.4%, gentamicină 21.7%, cefotaxim 17.4%, ertapenem 0%; *K. pneumoniae* – amoxicilin/ac. clavulanic, cefotaxim, ciprofloxacină, gentamicină 25%, ertapenem 0%; *Salmonella spp.* – ampicilină 33.3%, ciprofloxacină 14.3%, cefotaxim 0%. Pentru *S. pneumoniae*, toate tulpinile izolate au fost sensibile la penicilină, fluoroquinolone și vancomicină.

Concluzii: Dintre speciile bacteriene cele mai frecvent izolate din hemoculturi au fost SCN, *E. coli* și *S. aureus*. Incidența crescută a tulpinilor MRSA (17.6%), a MRSCN (46.2%) și producerea de ESBL la *E.coli* (17.4%) și *K. pneumoniae* (25%) reprezintă o problemă majoră și decisivă în managementul infecțiilor invazive.

Cuvinte cheie: infecții, rezistență la antibiotice

ETIOLOGIC SPECTRUM AND RESISTANCE PROFILE OF BACTERIAL STRAINS ISOLATED FROM INVASIVE INFECTIONS

Introduction: This study aims to determine the etiology and antibiotic resistance (AR) profiles of strains from invasive infections in Infectious Diseases Clinical Hospital, Galati, between 2013–2016.

Material and methods: 1694 blood cultures were performed on automated system Bactec 9050. Identification of isolated microorganisms was performed by classical or semiautomatic methods (Rap-ID™). Antibiotic susceptibility testing was determined using the disk diffusion method. The results were interpreted according to the CLSI standard.

Results: 108 bacterial strains were isolated from blood cultures. Bacterial species identified: coagulase negative staphylococci (CNS) 26.9%, *E. coli* 21.3%, *S. aureus* 15.7%, *S. pneumoniae* 6.5%, *Salmonella spp.* 6.5%, beta hemolytic streptococci 4.6%, *K. pneumoniae* 3.7% and 15.1% – other species. AR was: CNS – oxacillin 46.2%; *S. aureus* – oxacillin 17.6%, erythromycin 29.4%, clindamycin 17.6%. All strains of *Staphylococcus spp.* were susceptible to linezolid. *E. coli* were resistant to amoxicillin/ac. clavulanic and ciprofloxacin 30.4%, gentamicin 21.7%, cefotaxime 17.4%, ertapenem 0%; *K. pneumoniae* – amoxicillin/ac. clavulanic, cefotaxime, ciprofloxacin, gentamicin 25%, ertapenem 0%; *Salmonella spp.* – ampicillin 33.3%, ciprofloxacin 14.3%, cefotaxime 0%. All bacterial strains of *S. pneumoniae* were susceptible to penicillin, fluoroquinolone and vancomycin.

Conclusions: Among the bacterial species, the most frequently isolated from blood culture were CNS, *E.coli* and *S.aureus*. The increased incidence of MRSA (17.6%), MRSCN (46.2%) and ESBL production *E.coli* (17.4%) and *K. pneumoniae* (25%) have a major and decisive role in the management of invasive infections.

Keywords: invasive infections, antibiotic resistance

P25. CITIREA INTERPRETATIVĂ A ANTIBIOGRAMEI PENTRU ESCHERICHIA COLI IZOLATE DIN URINĂ

Roxana FILIP^{1,2}, Monica TERTELIU³

¹ Laborator Hipocrat Suceava, Romania

¹ Universitatea Ștefan cel Mare Suceava, Romania

¹ Spitalul Județean de Urgență Sfântul Ioan cel Nou de la Suceava

Introducere: Dacă tulpinile bacteriene sunt identificate la nivel de specie și sunt testate față de agenții antimicrobieni care trebuie, atunci mecanismul de rezistență poate fi dedus pe baza fenotipului de rezistență. Scopul studiului este depistarea fenotipurilor de rezistență întâlnite la izolatele urinare de *E.coli*.

Material și metodă: Lotul de studiu a cuprins 292 tulpini de *Escherichia coli* (*E. coli*) izolate din urină în perioada 1.03.2013- 31.12.2015 în laboratorul Hipocrat Suceava. Identificarea s-a realizat cu

medii multitest iar testarea sensibilității la antibiotice prin metoda difuzimetrică față de: Ampicilina (AMP), Amoxicilina-Acid clavulanic (AMC), Cefoxitina (FOX), Cefotaxima (CTX), Ceftriaxona (CRO), Ceftazidima (CAZ), Imipenem (IPM). Fenotipurile de rezistență au fost definite ca: fenotipul 1 (F1) rezistență la AMP, F2 rezistență la AMP și AMC, F3 rezistență la AMP, AMC, CTX, CRO, CAZ.

Rezultate: 91.4% dintre tulpini aparțin F1, 36.3% F2 și 9.5% F3, ceea ce sugerează rezistența prin mecanism enzimatic.

Concluzii: Citirea interpretativă folosită pe scară largă permite detectarea preliminară a mecanismului de rezistență și selectarea tulpinilor pentru caracterizare și raportarea rezultatelor.

Cuvinte cheie: fenotip de rezistență, citire interpretativă

INTERPRETIVE READING OF THE ANTIBIOGRAM FOR ESCHERICHIA COLI URINARY ISOLATES

Introduction: If isolates are identified at species level and tested against a panel of predefined agents, resistance mechanism can be inferred from resistance phenotype. The aim of our study is to detect the resistance phenotypes amongst E.coli urinary isolates.

Material and methods: Our series comprised 292 Escherichia coli (E.coli) urinary isolates between 1.03.2013 and 31.12.2015 in the Hipocrat clinical Laboratory, from Suceava, Romania. Identification was done by multitest media and sensitivity testing by disk diffusion method against following agents: Ampicillin (AMP), Amoxycillin/Clavulanic Acid (AMC), Cefoxitin (FOX), Cefotaxime (CTX), Ceftriaxone (CRO), Ceftazidime (CAZ), Imipenem (IPM). Resistance phenotypes were defined as: Phenotype 1 (F1) AMP resistance; phenotype 2 (F2): AMP and AMC resistance; phenotype 3 (F3) Amp, AMC CTX, CRO and CAZ resistance.

Results: 91.4% of strains belonged to F1, 36.3% to F2 and 9.5% to F3. These findings suggest an enzyme mediated mechanism.

Conclusion: The interpretive reading used on a large scale allows preliminary detection of resistance mechanisms and strain selection for further characterization and data reporting.

Keywords: resistance phenotype, interpretive reading

P26. UTILITATEA TESTĂRII ANTIGENELOR VIRALE PENTRU MANAGEMENTUL INFECȚIEI CU ROTAVIRUS

Camelia GRIGORE¹, Nicolae GRIGORE², Maria TOTAN²

1. Spitalul Clinic de Pediatrie, Sibiu

2. Universitatea "Lucian Blaga" Sibiu, Facultatea de Medicină

Introducere: Gastroenterita produsă de rotavirus afectează copiii, mai ales sub vârsta de 5 ani. Infecția este mai frecventă în lunile de iarnă și primăvară. Stabilirea etiologiei virale este utilă pentru evitarea administrării antibioticelor în aceste infecții.

Materiale și metodă: S-a efectuat un studiu pe o perioadă de 1 an pe un lot de 1325 de copii, cu vârste cuprinse între 1 lună și 5 ani internați în Clinica de Pediatrie, Sibiu în perioada Ianuarie 2016 - Decembrie 2016. Infecția cu rotavirus s-a determinat folosind teste imunocromatografice pentru

evidențierea antigenelor de rotavirus din scaun. S-a urmărit corelația cazurilor cu vârsta de apariție a bolii, variația sezonieră a cazurilor de boală diareică acută pe grupe de vârstă precum și sexul pacienților

Rezultate: În lotul studiat prezența rotavirusului a fost identificată la 21,9 %. Cele mai multe cazuri s-au înregistrat în lunile Ianuarie – Aprilie. Cele mai multe cazuri s-au înregistrat la grupa de vârstă 1 lună – 2 ani (62 % din totalul pacienților infectați cu rotavirus). În ceea ce privește sexul pacienților, fără diferență semnificativă statistic ($p=0,11$).

Concluzii: Datorită incidenței ridicate a infecției cu Rotavirus în lunile de iarnă – primăvară, la copiii sub 5 ani, cu un maxim al incidenței la grupa de vârstă 1 lună – 2 ani, este obligatorie testarea în laborator a antigenelor virale, pentru o optimă conduită terapeutică.

Cuvinte cheie: Rotavirus, copii

P27. INFECȚIA CU *HELICOBACTER PYLORI* LA COPII – O PROBLEMĂ DE SĂNĂTATE PUBLICĂ

Camelia GRIGORE¹, Nicolae GRIGORE², Maria TOTAN²

1 Spitalul Clinic de Pediatrie Sibiu

2 Universitatea "Lucian Blaga" din Sibiu, Facultatea de Medicină

Introducere: La nivel mondial infecția cu *Helicobacter pylori* constituie o importantă problemă de sănătate publică care trebuie atent urmărită deoarece ea reprezintă un factor determinant în dezvoltarea bolii ulceroase. Infecția are o posibilă corelație cu dezvoltarea socio-economică a zonei.

Materiale și metode: Pentru stabilirea prevalenței infecției cu *H. pylori* la copiii din zona de centru a României au fost testați 525 copii cu vârste între 1 an și 18 ani internați în Clinica de Pediatrie, Sibiu, în perioada ianuarie 2016 – decembrie 2016, folosind teste imunocromatografice, de evidențiere a antigenelor din scaun. S-a urmărit prevalența infecției la copiii incluși în studiu, dacă infecția diferă în funcție de sexul pacienților și compararea prevalenței infecției cu alte zone din țară.

Rezultate: La lotul studiat prevalența infecției cu *H. pylori* a fost de 18,20%.

S-a constatat un raport pe sexe de 1,4 F la 1 M, fără o diferență semnificativă statistic ($p=0,6$). Prevalența infecției cu *H. pylori*, în zona de centru a României, este ușor mai scăzută în comparație cu rezultatele obținute în studiul realizat de Lupu V. și colab., 2015 în nord - estul României, unde prevalența a fost de 23,6%, (statistic nu există o diferență semnificativă ($p=0,7$)).

Concluzii: Infecția cu *H. pylori* reprezintă o problemă de sănătate publică, fiind necesară testarea copiilor până la vârsta de 18 ani pentru o identificare precoce a acestei infecții cu scopul de a preveni dezvoltarea bolii ulceroase. Zona de centru a României este mai bine dezvoltată economic decât zona de N-E, aceasta fiind în corelație cu datele din literatură referitoare la prevalența infecției.

Cuvinte cheie: *Helicobacter pylori*, copii.

HELICOBACTER PYLORI INFECTION IN CHILDREN-A PUBLIC HEALTH PROBLEM

Introduction: Worldwide, *Helicobacter pylori* infection is a major public health problem, that should be closely watched because it is an important factor in the development of ulcer disease. The infection has a possible correlation with the socio-economic development of the area.

Materials and Methods: In order to determine the prevalence of *H. pylori* infection in children living in the central area of Romania, we tested 525 patients, aged 1 year to 18 years old, hospitalized in Children's Hospital, Sibiu, between January 2016 - December 2016, using immunochromatographic tests to determine *Helicobacter pylori* antigens in stool. We analyzed the infection's prevalence in children included in the study, infection's correlation with the sex and compared the prevalence of the infection in our area to other parts of Romania.

Results: The prevalence of *H. pylori* infection in our area was 18.20%.

The correlation with the children sex was 1.4 Female to 1 Male, but there is not a statistically significant difference ($p = 0.6$). The prevalence of *H. pylori* infection in the central part of Romania, is slightly lower compared to the results obtained in the study by Lupu V & colab. in 2015 in the north - eastern Romania, where prevalence was 23.6%, statistically no significant difference ($p = 0.7$).

Conclusions: *H. pylori* infection is a public health problem and requires children testing for early identification of this infection in order to prevent the development of ulcer disease.

Our area is better economically developed comparing to the north-eastern part of Romania, so there is a good correlation to the literature regarding this issue.

Keywords: *Helicobacter pylori*, children

P28. TULPINI MULTIREZISTENTE IZOLATE INTR-UN SPITAL DE BOLI INFECTIOASE IN 2016

Elena HOGEA^{1,2}, Oana PLAVITU², Irina BALOI², Roxana BUD², Monica LICKER¹, Roxana MOLDOVAN¹

1 Universitatea De Medicină Şi Farmacie Victor Babeş Timişoara

2 Spitalul Clinic de Boli Infecţioase şi Pneumoftiziologie Dr. Victor Babeş Timişoara

Introducere: Controlul infecţiilor intraspitaliceşti cauzate de tulpini multirezistente la antibiotice (MDR) presupune aplicarea unui protocol special. În vederea implementării acestuia este importantă evaluarea situaţiei epidemiologice locale, cunoaşterea, caracterizarea tulpinilor circulante.

Din aceste considerente ne-am propus: evaluarea frecvenţei izolării tulpinilor MDR din diferite produse patologice prelucrate în Laboratorul de Microbiologie al Spitalului Clinic de Boli Infecţioase şi Pneumoftiziologie Victor Babeş Timişoara în cursul anului 2016.

Material şi metodă: Pe parcursul anului 2016 au fost prelevate 3130 probe de la pacienţii internaţi în secţiile Spitalului. Pentru identificarea germenilor am utilizat sistemul Vitek 2 şi pentru testarea sensibilităţii la chimioterapicele antiinfecţioase s-a efectuat antibiograma difuzimetrică (interpretate conform CLSI) sau testarea prin metoda automată cu ajutorul sistemului Vitek 2 (BioMerieux). Au fost considerate tulpini MDR toate tulpinile rezistente la cel puţin trei clase de antibiotice.

Rezultate: Am izolat 584 tulpini bacteriene, din care 199 (34.07%) au fost MDR. Microorganismele mai frecvent izolate au fost reprezentate de: *Staphylococcus epidermidis* metilino rezistent (MRSE) (69 tulpini), *Staphylococcus aureus* metilino rezistent (MRSA) (58 tulpini), Enterobacteriaceae secretoare de betalactamaze cu spectru extins (BLSE) (53 tulpini), bacili gram-negativi nonfermentativi rezistenţi la carbapeneme (16 tulpini) şi Enterobacteriaceae producătoare de carbapenemaze (3 tulpini). Niciuna din tulpinile studiate nu a prezentat rezistenţă la glicopeptide, oxazolidinone sau colistin.

Concluzii: Multirezistența bacteriană reprezintă un fenomen universal, deosebit de îngrijorător pentru medicina actuală, confruntată cu diminuarea opțiunilor terapeutice și cu reducerea ritmului de fabricare a unor noi antibiotice.

Cuvinte cheie: MDR, infecții

MULTIDRUG RESISTANT BACTERIAL STRAINS ISOLATED IN A HOSPITAL FOR INFECTIOUS DISEASES IN 2016

Introduction: The control of hospital acquired infections caused by multidrug resistant (MDR) bacterial strains requires specific protocols. In order to implement such protocols, local epidemiologic assessments are needed, including the identification and characterization of circulating strains. Given the above, we aimed to evaluate the frequency of MDR strains isolated in various biologic specimens received and processed by the Microbiology Laboratory of the Victor Babes Clinical Hospital for Infectious Diseases and Pneumo-phthisiology Timisoara, during 2016.

Material and method: During the year 2016, 3130 biological specimens were collected from patients admitted in hospital departments. Germ identification was done by the Vitek 2 system and the antimicrobial sensitivity was tested either by disc diffusion (according to the CLSI standard) or by the automated method using the Vitek 2 system (BioMerieux). MDR resistance was defined as resistance to at least three antibiotic classes.

Results: We isolated 584 bacterial strains of which 199 (34.07%) were MDR. The most frequently isolated microorganisms were: methicillin-resistant *Staphylococcus epidermidis* (MRSE) (69 strains), methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) (58 strains), extended spectrum beta-lactamase (ESBL) producing *Enterobacteriaceae* (53 strains), carbapenem-resistant non-fermentative Gram negative bacilli (16 strains) and carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* (3 strains). None of the studied strains was resistant to glycopeptides, oxazolidinones or colistin.

Conclusions: Multidrug resistance is an alarming worldwide phenomenon for modern medicine which is struggling with the decrease of therapeutical options and the reduced discovery rate for new antimicrobials.

Keywords: MDR, infections

P29. MICROORGANISME IZOLATE DIN ASPIRATUL BRONȘIC

Ana-Maria DRĂGAN^{1,2}, Cristian SAVA^{1,2}, Alina TIRB¹, Iulia Andrada NEMEȘ DRĂGAN¹

1 Universitatea din Oradea, Facultatea de Medicină și Farmacie

2 Spital Clinic Municipal dr Gavril Curteanu din Oradea

Introducere: Prelevarea bronhoscopică este indicată numai când infecția este una din ipotezele serioase de diagnostic a pneumopatiei precum și în cazul suspiciunii de infecție fungică. Factorii favorizanți endogeni și exogeni singulari sau asociați crează predispoziție pentru dezvoltarea infecției levurice. Enterobacteriile pot cauza infecții ale tractului respirator inferior la gazde compromise.

Obiectivul lucrării este de a identifica tipul și frecvența microorganismelor izolate din aspiratul bronșic precum și spectrul de sensibilitate la antimicrobiene.

Material și metodă: S-au luat în studiu 204 pacienți cu vârsta cuprinsă între 9-91 de ani internați în secția de Pneumoftiziologie (15 în ATI), pe o perioadă de 6 luni, la care s-a efectuat bronhoscopie cu recoltare de aspirat bronșic; aspiratul a fost însămânțat pe medii uzuale pentru aerobi și fungi. Identificarea microorganismelor s-a efectuat cu teste biochimice și RapIDON System. Testarea la antimicrobiene s-a efectuat prin metoda difuzimetrică.

Rezultate: 14,70% (30) din pacienți au avut cultura pozitivă bacteriologic și/sau fungică; la 15 pacienți (50%) s-a identificat *Candida* spp. (la 5 pacienți în asociere cu bacili Gram negativ și la 2 pacienți în asociere cu *Staphylococcus aureus*) ; la 4 pacienți (13.3%) *Staphylococcus aureus* (cu sensibilitate la antimicrobiene) ; la 18 pacienți (60%) s-au identificat bacili Gram negativ (*Pseudomonas* spp. 44,4%; *Klebsiella* spp. 27.7 %; *Acinetobacter calcoaceticus* 22.2 %; *E. coli* 5, 5%), din care la 10 pacienți (55,5%) tulpinile au prezentat multidrogrezistență.

Concluzii: Jumătate din pacienți au cultura pozitivă pentru *Candida* spp. Pacienții cu multidrogrezistență provin din ATI.

Cuvinte cheie: aspirat bronșic, bacili Gram negativ; fungi.

MICROORGANISMS ISOLATED FROM BRONCHIAL ASPIRATE

Introduction: Bronchoscopic sampling is recommended only when infection is one of the strong hypotheses to be considered in the diagnosis of pneumopathy as well as when suspecting fungal infection. Endogenous and exogenous factors either single or associated create predisposition for the development of yeast infection. *Enterobacteriaceae* can cause lower respiratory tract infections in the case of compromised hosts.

The aim of the study is to identify the type and frequency of isolated microorganisms using the bronchial lavage, as well as their sensitivity to antimicrobial.

Material and method: We surveyed 204 patients aged 9-91 hospitalized in the Pneumology Dept. (of which 15 in Anaesthesia and Intensive Care Unit over a period of 6 months; patients underwent bronchoscopy with bronchial aspirate culture sampling; the aspirate was inoculated on aerobic and fungi specific media. Identification of microorganisms was performed by biochemical tests and via RapID ON System. Antimicrobial susceptibility testing was performed by disk diffusion method.

Results: 14.70% (i.e. 30) of patients were bacteriological culture and/or fungi positive; in 15 patients (i.e. 50%) *Candida* spp. was found (of which in 5 patients it was found in combination with Gram negative bacteria and in 2 patients in combination with *Staphylococcus aureus*); in 4 patients (i.e. 13.3%) *Staphylococcus aureus* was found (antibiotic sensitivity); in 18 patients (i.e. 60%) Gram-negative bacilli were found (i.e. *Pseudomonas* spp. 44.4%; *Klebsiella* spp. 27.7 %; *Acinetobacter calcoaceticus* 22.2 %; *E. coli* 5.5%) from which 10 patients had multidrug resistant strains.

Conclusions: Half of the patients were *Candida* spp. positive. Multidrug resistant patients come from Anaesthesia and Intensive Care Unit.

Keywords: Bronchial aspirate, Gram-negative bacilli; fungi

P30. CONSIDERAȚII ETIOLOGICE ȘI DE ANTIBIOTERAPIE ÎN PERITONITA APENDICULARĂ LA PACIENȚII CU VÂRSTA SUB 5 ANI

Florin FILIP¹, Danut BARBUNC¹, Dorina OPREA², Roxana FILIP^{3,4}

1 Emergency County Hospital, Suceava,

2 Synevo Clinical Laboratory, Suceava,

3 Hipocrat Clinical Laboratory, Suceava,

4 'Stefan cel Mare' University, Suceava

Introducere: Apendicita acută reprezintă o afecțiune rară dar severă a copilului mic. Nu există un consens privind antibioterapia asociată tratamentului chirurgical în aceste cazuri. Prezentăm experiența noastră pe o perioadă de 3 ani a cazurilor de peritonită apendiculară la copilul cu vârsta sub 5 ani.

Material și metodă: Am analizat retrospectiv documentația medicală asociată patologiei descrise: datele demografice, rezultatele de laborator, durata internării, antibioterapia, complicațiile imediate și tardive. Intraoperator s-a prelevat puroi la toți pacienții cu apendicită acută perforată și peritonită. Antibioterapia s-a efectuat utilizând două regimuri terapeutice: lotul A- monoterapie cu Ertapenem; lotul B- terapie cu Ceftriaxonă și Gentamicină.

Rezultate: În perioada 2012- 2014 au fost internați 140 de copii cu peritonită apendiculară, dintre care 15 (10, 71%) cu vârsta sub 5 ani (vârsta medie 3 ani și 8 luni). Lotul A a inclus 8 pacienți, iar lotul B- 7 pacienți. Nu au fost diferențe semnificative între cele 2 loturi privind vârsta medie a pacienților, incidența sepsisului la internare sau neutrofilia din formula leucocitară. Pacienții din lotul A au avut valori medii mai mari ale leucocitelor la internare (21.42×10^3 vs. 17×10^3) și durata medie de spitalizare mai mică (6, 5 zile vs. 8, 7 zile) față de lotul B. Un singur pacient din lotul B a necesitat reinternare pentru abces rezidual post- apendicectomie. Culturile din puroiul peritoneal au fost recoltate la 14 (93, 33%) din pacienți, și au fost pozitive la 12 pacienți: *E. coli* prezent în 11 cazuri (în 8 cazuri tulpină unică și în 3 cazuri asociere cu *P. aeruginosa*, respectiv Streptococ beta- hemolitic grup C) și *K. oxytoca* într- un caz. Trei tulpini de *E. coli* (2 din lotul A și 1 din lotul B) au fost producătoare de ESBL.

Concluzii: În grupul copiilor cu peritonită apendiculară, pacienții cu vârsta sub 5 ani reprezintă un procent de 10.71%. Antibioterapia asociată intervenției chirurgicale prezintă două variante cu eficacitate comparabilă. Tratamentul de primă intenție cu ertapenem oferă în experiența noastră avantajul unei durate de spitalizare mai scurte. Studiul *pattern*- ului local de rezistență la antibiotice ar permite optimizarea antibioterapiei în aceste cazuri.

Cuvinte cheie: antibioticoterapie, peritonită apendiculară, copii

BACTERIAL ETIOLOGY AND ANTIBIOTIC TREATMENT CONSIDERATIONS IN CHILDREN YOUNGER THAN 5 YEARS WITH PERFORATED APPENDICITIS

Introduction: The acute perforated appendicitis (APA) is a rare but severe disease in younger child. The choice of optimal antibiotic treatment in such cases is still under debate. We present our experience with patients younger than 5 years with APA treated in our department over a 3- year interval.

Material and method: Retrospective study of cases with APA including: demographics, admission labs, admission duration, antibiotic treatment, complications. Cultures from peritoneal pus were taken

during surgery. Two antibiotic regimens were used: Ertapenem as single drug in group A, and Ceftriaxone associated with Gentamycine in group B.

Results: A number of 140 patients with APA were treated in our department between 2012- 2014, of which 15 (10.71%) were younger than 5 (mean age was 3 years and 8 months). There were 8 patients in group A and 7 patients in group B. There were no significant differences between group A and group B in terms of mean age, incidence of sepsis and relative neutrophil count at admission. Patients in group A had a higher mean WBC level at admission (21.42×10^3 vs. 17×10^3) and a shorter mean hospital stay (6.5 days vs. 8.7 days) than patients in group B. There was only 1 patient in group B who required readmission for a residual intraperitoneal abscess. Cultures were taken in 14/ 15 (93.33%) patients and were positive in 12 patients: *E. coli* was identified in 11 cases (single strain in 8 cases and associated with *P. aeruginosa* and Group C beta- haemolytic *Streptococcus* in 3 cases) and *K. oxytoca* in 1 case. Three strains (2 in group A and 1 in group B) of *E. coli* were ESBL (+).

Conclusions: Children younger than 5 years represent 10.71% of patients with APA. There are two available antibiotic regimens associated to surgery that may be used with comparable end-results. The initial use of ertapenem as single antibiotic has the advantage of a shorter hospital stay. The study of antibiotic resistance *pattern* could be useful in choosing the initial antibiotic treatment.

Keywords: antibiotic therapy, perforated appendicitis, children

P31. *PROPIONIBACTERIUM AVIDUM* IZOLAT CA UNIC AGENT ETIOLOGIC DIN ABCES MAMAR LA UN PACIENT IMUNOCOMPETENT - PREZENTARE DE CAZ

Violeta Corina CRISTEA^{1,2}, Ionuț PECETE¹, Maria DUȚA¹, Gabriela SANDU¹, Cristina ANGELESCU¹, Roxana Gabriela PRICOP¹,

1 Laboratorul Central de Referință Synevo București

2 Universitatea de Medicină și Farmacie Carol Davila", București

Introducere: Genul *Propionibacterium* cuprinde bacterii care aparțin microbiotei normale tegumentare. Literatura de specialitate recentă menționează implicarea acestuia în infecții locale și sistemice, în special la persoanele imunodeprimăte. Vă prezentăm cazul unui abces mamar cu *Propionibacterium avidum* în etiologie unică, la un pacient imunocompetent.

Prezentare caz: Pacientă în vârstă de 31 de ani fără antecedente heredo-colaterale pentru neoplasm mamar sau ovarian se prezintă la camera de gardă pentru durere și scurgere tegumentară purulentă la nivelul sânelui stâng. Examenul clinic a evidențiat la limita cadranelor inferioare ale sânelui stâng un nodul elastic, mobil cu planurile superficiale și profunde, cu fenomene de inflamație acută: roșeață tegumentară, durere locală și scurgere purulentă. Examenul ecografic a pus în evidență la marginea areolei mamare un nodul hipoecogen net conturat cu dimensiunile de 13,5/4,4/10,8 mm. Specimenul recoltat prin intervenție chirurgicală a arătat reacție inflamatorie și prezența bacililor Gram pozitivi. După incubare în condiții de aerobioză cu 5% CO₂, s-au obținut colonii alb-gălbui, identificate prin spectrometrie de masă ca *Propionibacterium avidum*. Testarea sensibilității la antibiotice s-a efectuat prin metoda microdiluțiilor (Sensititre ANO2B- Thermo Scientific) iar interpretarea conform CLSI 2016. Tulpina izolată a prezentat sensibilitate față de antibioticele testate, cu excepția metronidazolului față de care acest gen prezintă rezistență intrinsecă. Pacienta a primit tratament cu amoxicilina cu acid clavulanic 2 grame pe zi timp de 10 zile iar evoluția a fost favorabilă.

Concluzii: Desi rare, infecțiile cauzate de *Propionibacterium avidum* pot să apară și la pacienții imunocompetenți, prin urmare, este necesară identificarea și testarea sensibilității la antibiotice.

Cuvinte cheie: abces mamar, *Propionibacterium avidum*, spectrometrie de masă

PROPIONIBACTERIUM AVIDUM ISOLATED IN UNIQUE ETIOLOGY FROM BREAST ABSCESS OF AN IMMUNOCOMPETENT PATIENT – CASE STUDY

Introduction: Although *Propionibacterium* spp. belongs to the normal microbiome of the skin, recently it has been involved in local and systemic infections, especially in immunosuppressed individuals. We present here a case of a breast abscess, caused by *Propionibacterium avidum* in unique etiology, in an immunocompetent patient.

Case study: A 31-year-old female patient, without antecedents in family history regarding breast or ovarian cancer came to the emergency with pain and purulent drainage of the left breast. Clinical examination revealed an elastic, mobile tumor, with superficial and deep plans at the limit of the left breast inferior quadrants and acute inflammation signs: skin redness, local pain and purulent drainage. The ultrasound examination showed, at the edge of breast areola, a clearly delimited hypoechogenic tumor of 13.5/4.4/10.8 mm. The specimen harvested after surgery drainage revealed an inflammatory reaction and the presence of Gram positive rods. After incubation in aerobic conditions with 5% CO₂, white-yellowish colonies were obtained and identified by mass spectrometry as *Propionibacterium avidum*. The antibiotic susceptibility testing was performed through the microdilutions method (Sensititre ANO2B-Thermo Scientific) and the interpretation according to CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute), 2016. The isolated strain showed sensitivity to all tested antibiotics, except metronidazole, to which this genus shows intrinsic resistance. The patient received amoxicillin with clavulanic acid (2g/daily for 10 days). The evolution under treatment has been favorable.

Conclusions: Our findings confirm that although rare, infections caused by *Propionibacterium avidum* can also occur in immunocompetent patients, therefore identification and antibiotic susceptibility testing should be performed.

Keywords: breast abscess, *Propionibacterium avidum*, mass spectrometry

P32. SEROPREVALENȚA TOXOPLASMEI GONDII LA COPIII DIN VESTUL ROMÂNIEI

Ionuț Dragoș CĂPRARU^{1,2}, Alina Maria LUPU^{1,3}, Livius ȚÎRNEA¹, Rodica LIGHEZAN^{1,4}, Tudor Rareș OLARIU^{1,4}

1 Victor Babes University of Medicine and Pharmacy, Timisoara

2 Public Health Authority Timis County, Timisoara

3 Institute of Cardiovascular Disease, Timisoara

4 Municipal Clinical Emergency Hospital, Timisoara

Introducere: Toxoplasmoza este cauzată de un parazit unicelular, obligatoriu intracelular numit *Toxoplasma gondii*. Infecția este dobândită prin contactul direct cu pisicile, ingestia de alimente sau apa contaminate cu oochiști și prin consumul sau manipularea de carne crudă ori insuficient preparată termic

ce conține chisturi tisulare. Studii recente au demonstrat că infecția cu *T. gondii* este foarte răspândită în populația adultă din România. Astfel, am realizat acest studiu pentru a determina seroprevalența *T. gondii* la copiii din vestul României.

Material și metodă: Acest studiu a inclus 913 copii evaluați consecutiv și internați la Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii „Louis Turcanu” din Timișoara în perioada ianuarie 2014 și iulie 2016. Probele de ser recoltate au fost testate pentru anticorpii *T. gondii* IgM și IgG folosind teste Elecsys® (Roche).

Rezultate: Vârsta medie a celor 913 copii a fost 6,7 ani (interval 1-18 ani). Seroprevalența generală a infecției cu *T. gondii* la copii a fost 37,56% (343/913). Anticorpii anti-*T. gondii* IgG au fost demonstrați în 35,26% (322/913) din cazuri. La 2,30% (21/913) dintre copii au fost detectați ambii anticorpi anti-*T. gondii* IgM și IgG. Seroprevalența *T. gondii* a prezentat o tendință de creștere odată cu vârsta de la 33,18% (1 - 5 ani) la 35,74% (6 - 10 ani) și până la 47,50% (11 - 18 ani).

Concluzie: Prezentul studiu arată că infecția cu *T. gondii* este foarte răspândită în rândul copiilor din vestul României. Rezultatele noastre indică necesitatea implementării unor măsuri preventive și de control împotriva infecției cu *T. gondii* în România.

Cuvinte cheie: toxoplasmoză, copii, seroprevalență

SEROPREVALENCE OF *TOXOPLASMA GONDII* AMONG CHILDREN IN WESTERN ROMANIA

Purpose: Toxoplasmosis, an important worldwide zoonosis, is caused by a single-celled obligate intracellular parasite called *Toxoplasma gondii*. Human infection is mainly acquired by direct contact with cats, ingestion of food or water contaminated with oocysts shed by infected cats, by eating or handling undercooked or raw meat containing tissue cysts. Recent studies have shown that *T. gondii* infection is highly prevalent in Romania's adult population. Thus, we undertook this study to determine the seroprevalence of *T. gondii* in children from Western Romania.

Methods and Materials: This study included 913 consecutive children, hospitalized at “Louis Turcanu” Children's Clinical Emergency Hospital in Timisoara between January 2014 and July 2016. Serum samples from children were tested for *T. gondii* IgM and IgG antibodies using Elecsys® (Roche).

Results: The mean age of the 913 children was 6.74 years (range 1-18 years). The overall seroprevalence of *T. gondii* infection was 37.56% (343/ 913). *T. gondii* IgG antibodies only were demonstrated in 35.26% (322/ 913). In 2.30% (21/ 913) of children both *T. gondii* IgM and IgG antibodies were detected. *T. gondii* seroprevalence tended to increase with age from 33.18% (1 – 5 years) to 35.74% (6 – 10 years) and to 47.50% (11 – 18 years).

Conclusion: The present study revealed that *T. gondii* infection is highly prevalent among children in Western Romania. Our results show the need for preventive and control measures against *T. gondii* infection in Romania.

Keywords: toxoplasmosis, children, seroprevalence

P33. CONCORDANȚA TESTULUI GENETIC DIRECT CU EXAMINĂRILE FENOTIPICE ÎN DIAGNOSTICUL TUBERCULOZEI

Ana-Maria DRĂGAN^{1,2}, Natalia ZAPOROJAN², Iulia Andrada NEMEȘ DRĂGAN¹

1 University of Oradea, Faculty of Medicine and Pharmacy

2 Clinic Municipal Hospital dr Gavril Curteanu Oradea

Introducere: Tuberculoza continuă să reprezinte o importantă problema de sănătate, 80% din decesele provocate apar la persoane cu vârsta între 15-59 ani. Mycobacteriile pot fi identificate prin metode clasice, fenotipice și prin metode rapide-tehnici de biologie moleculară. Scopul lucrării este de a compara metoda genetica (GeneXpert) cu cele fenotipice în diagnosticul tuberculozei.

Material și metode: S-au luat în studiu 114 pacienți cu vârsta între 1,2 ani și 87 ani cu suspiciune de tuberculoză. Produsele biologice (spută 59, spută indusă 28, aspirat gastric 16, aspirat bronșic 4, LCR 5, LPL 2) au fost examinate prin microscopie pentru BAAR (bacili alcool-rezistenți), cultura BK și antibiograma BK, test genetic GeneXpert pentru identificarea Complexului *Mycobacterium tuberculosis* și identificarea rezistenței la rifampicină (RMP).

Rezultate: 21 pacienți (18,42%) au avut teste pozitive pentru tuberculoză astfel: 19 cultură pozitivă pentru BK (16,66%); 2 microscopie BAAR pozitivă; 18 (15,78%) au avut test genetic pozitiv din care 17 cu cultură pozitivă și 1 pacient cultura negativă; 17 pacienți cu test genetic pozitiv au avut rezistența la rifampicină nedetectată iar 1 pacient a prezentat rezistență detectată; 3 pacienți au avut test genetic negativ și cultură pozitivă iar 2 pacienți au avut test genetic pozitiv și cultură negativă. Concordanța testelor fenotipice și genetice este la 16 pacienți (76,19%) iar discordanțe la 5 pacienți (23,80%).

Concluzii: Testul genetic direct la pacienții eligibili permite identificarea rapidă a Complexului *Mycobacterium tuberculosis* și detectarea rezistenței la rifampicină; pentru acest test este foarte importantă calitatea produsului biologic. Concordanța între testul genetic și metodele fenotipice este de 76,19%.

Cuvinte cheie: test genetic, metode fenotipice, tuberculoza

CONCORDANCE OF THE DIRECT GENETIC TEST WITH THE PHENOTYPIC EXAMINATIONS IN THE DIAGNOSIS OF TUBERCULOSIS

Introduction: Tuberculosis still remains a major health problem, 80% of induced deaths occur in people aged 15-59 years. Mycobacteria can be identified by phenotypic classical methods and by rapid methods - molecular-biology techniques. The purpose of the study was to compare genetic test (GeneXpert) with phenotypic methods in the diagnosis of tuberculosis.

Material and methods: We studied 114 patients aged 1.2 years and 87 years with suspected tuberculosis. The bioproducts (sputum 59, sputum induced 28, gastric aspirated 16, bronchial aspirate 4, LCR 5, LPL 2) were examined by microscopy for AFB (bacilli-alcohol resistant), culture BK and BK antibiogram, genetic test GeneXpert for identifying the Complex of *Mycobacterium tuberculosis* and identification of resistance to rifampicin (RMP).

Results: 21 patients (18.42%) had positive tests for tuberculosis as follows: 19 positive culture for BK (16.66%); 2 AFB smear positive; 18 (15.78%) had positive genetic test from which 17 with posi-

tive culture and 1 patient with negative culture; 17 patients with positive genetic test had not detected rifampicin resistance and 1 patient had detected resistance; 3 patients had the genetic test negative and positive culture and 2 patients had positive genetic test and negative culture. We found compliance of phenotypical and genetic tests in 16 patients (76.19%) and discrepancies in 5 patients (23.80%).

Conclusions: The genetic test directly to eligible patients enables the quick identification of *Mycobacterium tuberculosis* complex and the detection of resistance to rifampicin; for this test it is very important the quality of the biological product. The compliance between the genetic test and the phenotypic methods is 76.19%.

Keywords: genetic test, phenotypic methods, tuberculosis

P34. INVESTIGAREA PORTAJULUI NAZAL PRIVIND 5 SPECII BACTERIENE ÎN CAZUL STUDENȚILOR DE LA FACULTATEA DE MEDICINĂ DENTARĂ

Gabriela BĂNCESCU, Bogdan DABU, Adrian BĂNCESCU

Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București

Introducere: Scopul studiului a fost acela de a investiga rata portajului pentru: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Moraxella catarrhalis* și *Staphylococcus aureus*, în cazul studenților la Medicină Dentară.

Material și metodă: Probele de exsudat nazal au fost recoltate cu tamponul de la 285 de studenți ai Facultății de Medicină Dentară, Universitatea de Medicină și Farmacie (U.M.F.) „Carol Davila” din București, în primul semestru al anului 2013. Toți studenții au fost sănătoși și nu și-au administrat antibiotice în ultimele 3 luni. Probele au fost însămânțate pe: agar Columbia cu 5% sânge de berbec, Chocolat Agar + Polyvitex, *Haemophilus* Chocolate 2 Agar și Mannitol salt 2 agar (BioMérieux, Franța). Identificarea speciilor bacteriene a fost realizată prin metode convenționale și sistemele: api NH și ID 32 STAPH (BioMérieux, Franța). Testul difuzimetric cu disc de cefoxitină a fost utilizat pentru detectarea sensibilității/rezistenței la metilicilină a izolatelor de *S. aureus* (izolate SAMR sau SAMS).

Rezultate: Rata portajului nazal a fost de: 0,6% pentru *S. pneumoniae* și *H. influenzae*, 2,8% pentru *H. parainfluenzae*, 0,3% pentru *M. catarrhalis* și 11,5% pentru *S. aureus*. Cinci izolate aparținând ultimei specii au fost SAMR.

Concluzii: Studiul indică o rată a portajului nazal relativ scăzută pentru bacteriile investigate. Este important ca studenții să fie informați cu privire la riscul de transmitere a infecției în unitățile sanitare de medicină dentară.

Studiul a fost realizat în cadrul planului intern de cercetare al Catedrei de Microbiologie a Facultății de Medicină Dentară, în colaborare cu șeful Catedrei de Epidemiologie, U.M.F. “Carol Davila” - București.

Cuvinte cheie: portaj nazal, bacterii condiționat patogene, MRSA

INVESTIGATION OF THE NASAL CARRIAGE IN THE CASE OF 5 BACTERIAL SPECIES AMONG THE STUDENTS AT THE DENTISTRY FACULTY

Introduction: The aim of the present study was to investigate the nasal carriage rate of the following bacterial species: *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, *Haemophilus parainfluenzae*, *Moraxella catarrhalis* and *Staphylococcus aureus* among the dentistry students.

Material and method: Nasal samples were collected by swab from 285 students at the Dentistry Faculty of the University of Medicine and Pharmacy (U.M.F.) "Carol Davila" from Bucharest, during the first semester of the year 2013. All the students were clinically healthy and none had taken antibiotics within the last 3 months. The samples were seeded on Columbia Agar + 5% sheep blood, Chocolate Agar + Polyvitex, *Haemophilus* Chocolate 2 agar and Mannitol salt 2 agar (BioMérieux, France). The species identification was performed by conventional methods and the API systems: api NH and ID 32 STAPH (BioMérieux, France). In addition, the cefoxitin disk diffusion test was used to detect the meticillin-susceptibility or meticillin-resistance of *S. aureus* isolates (MSSA or MRSA isolates).

Results: The nasal carriage rate was of: 0.6% for *S. pneumoniae* and *H. influenzae*, 2.8% for *H. parainfluenzae*, 0.3% for *M. catarrhalis* and 11.5% for *S. aureus*. Five isolates belonging to the last species were MRSA.

Conclusions: The present study shows relatively low nasal carriage of the investigated bacteria among the healthy students. It is important that the students should be informed about the risk of infection transmission in dental healthcare settings.

This study was performed within the internal research plan of the Microbiology Chair of the Dentistry Faculty, in collaboration with the head of the Epidemiology Chair, U.M.F. "Carol Davila"- Bucharest.

Keywords: nasal carriage, conditionally pathogenic bacteria; MRSA

P35. HEMOCULTURI ALE PACIENȚILOR SPITALIZAȚI ÎNTR-UN SPITAL CLINIC JUDEȚEAN: ETIOLOGIE ȘI SPECTRU DE SENSIBILITATE

Maria RUS¹, Alina TĂMAȘ¹, Natalia CÎRLEA¹, Elena TĂNASE¹, Nicoleta TODORESCU¹, Delia MUNTEAN^{1,2}, Florin HORHAT^{1,2}, Marinela HOLOȘPIN¹, Monica LICKER^{1,2}

1 Spitalul Clinic Județean de Urgență "Pius Brinzeu" Timișoara

2 Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara

Introducere: Succesul terapiei în cazul septicemiilor depinde de rapiditatea diagnosticului și tratamentul antimicrobian adecvat. Scopul studiului a constat în evaluarea profilului etiologic și a pattern-urilor de sensibilitate a germenilor izolați din hemoculturi.

Material și metodă: Este un studiu retrospectiv, efectuat în perioada 15.06-15.08. 2015, în cadrul Spitalului Clinic Județean de Urgență "Pius Brinzeu" Timișoara. Monitorizarea hemoculturilor s-a efectuat cu ajutorul sistemului BD BACTEC™ 9120. Identificarea bacteriilor și testele de sensibilitate la antibiotice s-au realizat cu ajutorul sistemului automat Vitek 2C (bio-Mérieux). Interpretarea fenotipurilor de rezistență s-a realizat conform standardelor CLSI 2015.

Rezultate: Dintr-un număr total de 259 de hemoculturi, s-au pozitivat 115 (44.4%). Din cele 101 bacterii izolate, au predominat cocci Gram-pozitivi (62.4%), reprezentați de *S. aureus* (50.8%), dintre care 62.5% au fost metilicilino-rezistenți și *Enterococcus spp.* (12.7%). În rândul bacililor Gram negativi (BGN) ponderea au deținut-o tulpinile de *E. coli* și *A. baumannii* (câte 21.05%), urmate de *K. pneumoniae* (18.4%) și *P. aeruginosa* (10.5%). Tulpinile de *A. baumannii* au prezentat o rată a rezistenței la cefalosporinele de generația a III-a și carbapeneme (neconfirmată genotipic) de 87.5%, iar cele de *K. pneumoniae* au fost 100 % încadrate în fenotipul secretor de β -lactamaze cu spectru extins din care 62,5% au asociat rezistența la carbapeneme (neconfirmate genotipic).

Concluzii: Emergența multirezistenței germenilor izolați din hemoculturi, în special la tulpinile de *A. baumannii* și *K. pneumoniae*, necesită măsuri urgente în domeniul politicii de antibioterapie și consolidarea campaniei de igienă a personalului medical.

Cuvinte cheie: septicemii, hemoculturi, bacili Gram negativi

BLOOD CULTURES OF PATIENTS HOSPITALIZED WITHIN A CLINICAL COUNTY HOSPITAL: ETIOLOGY AND ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY PATTERNS

Introduction: The successful treatment of sepsis cases depends on early diagnosis and appropriate antimicrobial therapy. The purpose of our study was to assess the etiological profile and sensitivity patterns of pathogens isolated from blood cultures.

Material and method: It is a retrospective study, conducted between 15.06-15.08 2015, within County Emergency Clinical Hospital "Pius Brinzeu" Timișoara. Monitoring of blood cultures was performed using the BD BACTEC™ 9120 system. Identification of bacteria and antimicrobial sensitivity tests were done using Vitek 2 C (Bio-Mérieux) automated system. The interpretation of resistance phenotypes was performed according to the CLSI 2015 standards.

Results: From a total of 259 blood cultures, 115 (44.4%) were positive. Of the 101 isolated bacteria, Gram-positive cocci predominated (62.4%), represented by *S. aureus* (50.8%), of which 62.5% were methicillin-resistant and *Enterococcus spp.*, (12.7%). Among Gram-negative bacilli (GNB) the share was held by *E. coli* and *A. baumannii* (21.05% each), followed by *K. pneumoniae* (18.4%) and *P. aeruginosa* (10.5%). *A. baumannii* strains showed a resistance rate for third generation cephalosporins and carbapenems (unconfirmed genotypically) of 87.5% and 100% of *K. pneumoniae* strains were β -lactamases with extended spectrum producers from which 62.5% were resistant to carbapenems (unconfirmed genotypically).

Conclusions: The emergence of multiresistant bacterial of germs isolated from blood cultures, especially to *K. pneumoniae* strains and *A. baumannii* strains require urgent policy measures antibiotics and strengthening campaign of hygiene of medical staff.

Keywords: blood cultures, sepsis, Gram-negative bacilli

P36. TULPINI DE *ACINETOBACTER BAUMANNII* CU REZISTENȚĂ EXTINSĂ LA ANTIBIOTICE ÎNTR-O SECȚIE DE TERAPIE INTENSIVĂ

Delia MUNTEAN, Florin HORHAT, Roxana MOLDOVAN, Victor DUMITRAȘCU, Dorina DUGĂEȘESCU, Luminița BĂDIȚOIU, Delia BERCEANU-VĂDUVA, Monica LICKER

Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara

Introducere: *Acinetobacter baumannii* (AB) tinde să devină prototipul germenilor cu rezistență extinsă la antibiotice (XDR).

Scop: Identificarea AB- XDR într-o secție de terapie intensivă (TI).

Metode: Acest studiu a inclus 97 de pacienți internați într-o secție de TI, la Spitalul Clinic Județean de Urgență «Pius Brinzeu» Timișoara, din ianuarie 2016 până în aprilie 2016. Sensibilitatea la chimioterapice antiinfecțioase pentru toate tulpinile de AB izolate s-a determinat prin efectuarea MIC (Concentrația minimă inhibitorie), cu citire automată și clasificarea în fenotipuri rezistență prin utilizarea analizorului Vitek 2 Compact, în conformitate cu CLSI (Clinical Laboratory and Standards Institute Inc.). În studiul nostru am considerat AB-XDR în cazul în care a fost rezistent la toate clasele de antibiotice, cu excepția colistinului și minociclului.

Rezultate: De la 97 de pacienți au fost colectate 153 produse patologice, din care am izolat 34 tulpini de AB. Cele 25 tulpini de AB-XDR au reprezentat 73,52% și au fost izolate din aspirate bronșice și secreții de plagă. Toți pacienții de la care am izolat AB-XDR au fost supuși terapiei cu carbapeneme sau piperacilină-tazobactam.

Concluzii: Acest studiu indică importanța utilizării judicioase a antibioticelor ca mijloc de a stopa răspândirea AB-XDR.

Cuvinte cheie: *Acinetobacter baumannii*, rezistență extinsă la antibiotice, terapie intensivă

EXTENSIVELY DRUG-RESISTANT *ACINETOBACTER BAUMANNII* IN AN INTENSIVE CARE UNIT

Background: *Acinetobacter baumannii* (AB) has become a prototype of extensively drug-resistant (XDR) organisms.

Aim: Identifying XDR *Acinetobacter baumannii* in an intensive care unit (ICU).

Methods: This study included 97 patients admitted to ICU at Timisoara "Pius Brinzeu" Emergency Clinical County Hospital, from January 2016 to April 2016. The sensitivity to antiinfectious chemotherapeutic agents for all the AB strains isolated was determined by performing the MIC (Minimum Inhibitory Concentration), with automated reading and classification into resistance phenotypes by use of the Vitek 2 Compact analyzer, according to the CLSI (Clinical Laboratory and Standards Institute Inc.). In our study we considered XDR-AB strains where resistant to all antibiotic categories except for colistin and minocycline.

Results: From 97 patients were collected 153 pathological samples, from which we isolated 34 AB strains. The 25 XDR-AB strains represented 73,52% and have been isolated from bronchial aspirates and wound secretions. All the patients from which we isolated XDR-AB they were subjected to piperacillin-tazobactam or carbapenems therapy.

Conclusions: This study indicates the importance of judicious antibiotic use as a means to curb the spread of XDR-AB.

Keywords: *Acinetobacter baumannii*, extensively drug-resistant, intensive care unit

PLENARY LECTURES - TUMOR AND MOLECULAR MARKERS

R13. LIQUID BIOPSY, A NEW CONCEPT IN LABORATORY MEDICINE

Eugen CARASEVICI

Regional Institute of Oncology (IRO) Iasi, Romania

*Center of Fundamental Research and Experimental Development in Translational Medicine -
TRANSCEND*

Liquid biopsy is an expression which describes diagnostic procedures done on nucleic acids in the blood or in other body fluids. Cells dying by apoptosis or necrosis in a range of diseases (cancer, myocardial infarction, transplant rejection) release DNA from their fragmented genomes into the bloodstream. Also, DNA from a fetus can be detected in the blood of the mother. Tumor derived circulating cells and key cancer mutations can be used for taxonomic classification of the tumors and liquid biopsy's low-invasive nature allows repeat sampling to monitor genetic changes over time without the need for a tissue biopsy. The nucleic acids in the blood can be detected and analyzed using PCR techniques, next generation sequencing (NGS), or array technologies. Furthermore, cell-free microRNAs seem to be excellent candidates for blood-borne cancer biomarkers demonstrating their diagnostic and prognostic utility. In addition, extracellular microRNAs (miRNAs) are being explored as injury biomarkers, including drug-induced cardiotoxicity, hepatotoxicity and nephrotoxicity. Normal and tumor cells shed vesicles to the environment. Within the large family of extracellular vesicles, exosomes, 30-100 nm microvesicles, contain materials that mirror the genetic and proteomic content of the secreting cell and play a critical role in cell-cell communication. Liquid biopsies have the potential to help clinicians screen for disease, assess patients for the best treatment and monitor treatment response and resistance mechanisms in the tumor. With this non-invasive assay, cancer diagnosis and personalized care could be tailored with a simple blood draw.

Keywords: nucleic acids in the blood, cell-free microRNAs, exosomes

BIOPSIA LICHIDĂ, UN NOU CONCEPT ÎN MEDICINA DE LABORATOR

Biopsia lichidă este o expresie improvizată pentru descrierea procedurilor diagnostice aplicate acizilor nucleici din sânge, sau din alte fluide ale organismului. Celulele care mor prin apoptoză sau necroză într-o serie de afecțiuni (cancer, infarct miocardic, rejectia transplantului) eliberează ADN din genomul lor fragmentat în circulație. Deasemenea, ADN-ul fătului poate fi detectat în sangele mamei. Celulele circulante provenite din tumori și mutațiile semnificative pentru procesul neoplazic pot fi utilizate pentru clasificarea taxonomică tumorală, iar natura minim invazivă a biopsiei lichide permite repetarea prelevărilor în vederea monitorizării de durată fără nevoia unei biopsii tisulare.

Acești acizi nucleici din sânge pot fi detectați și analizați utilizând tehnici PCR, secvențieri de noua generație (NGS), ori tehnologii de tip array. Mai mult, microARN-urile aceluare par să fie candidați excelenți pentru markerii tumorali din circulație demonstrându-și utilitatea diagnostică și prognostică. În plus, microARN-urile extracelulare (miRNAs) sunt explorate ca markeri lezionali, inclusiv pentru

cardio, hepato și nefrotoxicitatea drog indusă. Celulele normale și tumorale difuzează vezicule în mediu. În cadrul familiei mari de vezicule extracelulare, exosomi, microvezicule de 30-100 nm, includ materiale care oglindesc conținutul genetic și proteomic al celulei secretante și joacă un rol esențial în comunicarea intercelulară. Biopsiile lichide pot ajuta clinicianul să selecteze boala, să stratifice pacienții pentru cel mai bun tratament și să monitorizeze răspunsul la tratament și mecanismele de rezistență. Printr-o simplă prelevare de sânge, cu ajutorul acestor teste non-invasive, s-ar putea accesa atât diagnosticul de cancer cât și tratamentul personalizat.

Cuvinte cheie: acizii nucleici circulanți, microARN-urile extracelulare, exosomi

R14. THE CHALLENGE-COMET ASSAY: FOR SENSITIVE, SPECIFIC, FUNCTIONAL AND QUANTITATIVE DETERMINATION OF DNA REPAIR CAPACITIES

William W. AU, Ph.D.

University of Medicine and Pharmacy, Tirgu Mures, Romania; Shantou University Medical College, Shantou, China; Princess Chulabhorn Research Institute, Bangkok, Thailand; and University of Texas Medical Branch, Texas, USA.

Most human diseases are caused by interactions between environmental and genetic factors. Subsequently, DNA repair is a key mechanism which determines whether disease (e.g. cancer) or drug resistance will occur or not. Therefore, precise determination of DNA repair capacity of normal individuals can allow us to predict if some individuals will have increase risk for cancer and for poor prognosis or not. The Challenge assay which was developed by Professor Au is a sensitive, specific and functional assay for determination of DNA repair capacity. In addition, with combination of the Comet assay, the Challenge-Comet assay can also provide quantitative evidence for DNA repair rates.

Using the assay, he and his team had shown that normal individuals had variations in DNA repair capacity. Furthermore, normal individuals who have inherited certain DNA repair gene polymorphisms had gene-specific reduction in DNA repair. Exposure to toxic environmental pollutants can cause reduction in repair which can further increase risk for cancer. Among breast cancer patients, they had significant reduction in DNA repair compared to normal females. This reduction might have been the major cause for their breast cancer. Among these patients, those with lower repair capacity had more aggressive cancer and worse prognosis than those with better repair.

Our investigations show that the Challenge-Comet assay can be used with confidence to determine DNA repair capacity. The data will indicate specificity in DNA repair problem and will provide quantitative values in DNA repair rates. These data are critically important for use in risk assessment, and in developing precise prevention and intervention protocols.

R15. DIAGNOSTICUL MOLECULAR IN GLIOMUL DE GRAD INALT

Anica DRICU, Profesor

Universitatea de Medicina si Farmacie Craiova

Conform datelor statistice ale Asociației Americane a Tumorilor Cerebrale, mai mult de 80.000 de cazuri noi de tumori cerebrale primare și ale sistemului nervos central sunt diagnosticate în fiecare an și

aproximativ 35% dintre ele sunt de natură malignă. În ciuda modalităților moderne de tratament, foarte puțini pacienți trăiesc mai mult de 5 ani de la diagnosticare. Diagnosticul corect este o componentă critică a unei decizii terapeutice de succes. În general, diagnosticul de gliom malign se bazează pe imagistica prin rezonanță magnetică sau tomografie computerizată. Pe lângă diagnosticul imagistic, există o serie de biomolecule care au capacitatea de a contribui la diagnosticarea și predicția răspunsului la tratament, în gliomul malign. Este cunoscut faptul că factorii de creștere și receptorii lor sunt dereglați în gliomul malign, fiind asociați cu rezistența la tratament și supraviețuirea mai scurtă a pacienților, după îndepărtarea chirurgicală a tumorii. Aceste caracteristici moleculare ale gliomului malign pot ajuta la un diagnostic mai exact. În acest studiu, am arătat că celulele de gliom de grad înalt exprimă o serie de receptori ai factorilor de creștere, precum receptorul factorului de creștere derivat din trombocite (PDGFR), receptorul factorului de creștere a endoteliului vascular (VEGFR), receptorul factorului de creștere epidermică (EGFR), factorul de creștere epidermică, latrophilin și 7 transmembranar conținând domeniul de proteină 1 pe cromozomul 1 (ELTD1). Numeroși compuși terapeutici care vizează acești receptori sunt în prezent în evaluare preclinică și clinică. În studiul actual, am arătat de asemenea că blocarea acestor receptori a produs moartea celulelor de gliom de grad înalt.

Cuvinte cheie: gliom de grad înalt, factori de creștere, diagnostic molecular

MOLECULAR DIAGNOSTICS IN HIGH GRADE GLIOMA

According to American Brain Tumor Association statistic, more than 80,000 new cases of primary brain and central nervous system tumors are diagnosed per year and about 35% of them are malignant. Despite modern treatment modalities, only very few malignant glioma patients live more than 5 years after diagnosis. Proper diagnosis is a critical component of a successful treatment decisions. Generally, glioblastoma diagnosis is based on magnetic resonance imaging or computed tomography. Besides imaging approaches, there are a number of biomolecules that have the capacity to contribute to diagnosis and prediction of response to treatment in glioblastoma. It is known that growth factors and their receptors dysregulations are associated with glioblastoma resistance to treatment and shorter survival succeeding tumor surgical removal. These molecular features of glioblastoma can aid in making a more exactly diagnosis. Here, we found that high grade glioma cells express several growth factor receptors, such as platelet-derived growth factor receptors (PDGFR), vascular endothelial growth factor receptor (VEGFR), epidermal growth factor receptor (EGFR), epidermal growth factor, latrophilin, and 7 transmembrane domain-containing protein 1 on chromosome 1 (ELTD1). Many therapeutic compounds targeting these receptors are currently in preclinical and clinical development. We also found that several approaches used to block these receptors, resulted in high grade glioma cell death

Keywords: high grade glioma, growth factors, molecular markers

C14. VALOAREA DIAGNOSTICĂ A TESTELOR DE LABORATOR ÎN TUMORILE NEUROENDOCRINE ȘI CARCINOIDE

Oana ȘTEFĂNESCU, Eleonora GHEORGHIU, Mihaela CRISTEA

SC BIOCLINICA SA, Timișoara

Introducere: Scopul lucrării este de a evalua suspiciunea diagnostică de sindrom carcinoid pe baza rezultatelor obținute în laboratorul nostru în decurs de doi ani, prin determinarea acidului

5-hidroxiindolacetic (5-HIAA) în urina/24h, serotoninei serice (SER) și cromograninei A (CgA) plasmatică. 5-HIAA este metabolitul serotoninei, un neurotransmițător chimic necesar sistemului nervos, în special creierului dar și unor celule speciale din plămâni și tractul gastrointestinal. SER este metabolizată hepatic cu formarea 5-HIAA, care se excretă renal. Eliberarea continuă sau intermitentă de SER responsabilă de sindromul carcinoid, conduce la o eliberare excesivă a 5-HIAA în urină. CgA este produsă în tumorile carcinoidice însoțite sau nu de sindrom carcinoid, fiind un bun marker al activității acestora (80-100% dintre ele produc CgA).

Material și metodă: Cea mai răspândită metodă de determinare a 5-HIAA și serotoninei în laboratorul clinic este cromatografia de lichide de înaltă performanță (HPLC) cu detecție electrochimică (ECD). S-au determinat concentrațiile de 5-HIAA urinar și serotonină serică, prin prepararea probelor de pacient conform metodologiei de lucru corespunzătoare kit-ului utilizat și analiză HPLC-ECD. CgA a fost determinată prin tehnologia TRACE (time-resolved amplified cryptate emission) – Brahms Kryptor.

Rezultate: În perioada ianuarie 2015 - decembrie 2016, au fost analizate un număr de 2119 probe din care 600 probe de urină/24h pentru determinarea 5-HIAA, 1044 probe de ser pentru determinarea SER și 475 probe plasmă EDTA pentru determinarea CgA. Diagnosticul de tumoră neuroendocrină a putut fi stabilit în cazul a 606 pacienți pentru care au fost determinați cel puțin doi parametri. Rezultatele obținute în cazul a 14 pacienți cu determinări multiple (136) ale tuturor celor trei parametri, au permis evaluarea activității tumorale (CgA și SER de 10x mai mare decât valorile de referință).

Concluzii: Măsurarea 5-HIAA în probele de urină/24h poate diagnostica cu specificitate ridicată sindromul carcinoid. SER este utilă în cazul în care 5-HIAA are valori normale. CgA este utilă pentru detectarea tumorilor alături de SER și 5-HIAA și în monitorizarea activității lor.

Cuvinte cheie: 5-HIAA, serotonină, CgA

DIAGNOSTIC VALUE OF LABORATORY TESTS IN NEUROENDOCRINE AND CARCINOID TUMORS

Introduction: The aim of the study was to evaluate the carcinoid syndrome diagnosis suspicion based upon the results obtained in our laboratory in a two years period, by determination of 5-hydroxy-indolacetic acid (5-HIAA) in 24h urine, serum serotonin (SER) and plasma chromograninA (CgA). 5-HIAA is the metabolite of serotonin, a chemical neurotransmitter needed by the nervous system, mainly the brain and by special cells in the lung and gastrointestinal tract. SER is metabolized by the liver with formation of 5-HIAA, which is excreted in urine. Continuous and intermittent release of SER, responsible for the carcinoid syndrome, leads to excessive release of 5-HIAA in urine. CgA is produced within the carcinoid tumors associated or not with carcinoid syndrome, and is a good marker for their activity (80-100% of them produce CgA).

Materials and methods: The most widespread method for measuring 5-HIAA and SER in the clinical laboratory is high performance liquid chromatography (HPLC) with electrochemical detection (ECD). Serum serotonin and urinary 5-HIAA were determined by preparation of patient samples according to the kit procedure and HPLC-ECD analysis. CgA was determined by TRACE technology (time-resolved amplified cryptate emission) – Brahms Kryptor.

Results: In the time interval January 2015 - December 2016, 2119 samples were tested: 600 urine samples for determination of 5-HIAA, 1044 serum samples for determination of SER and 475 plasma EDTA samples for determination of CgA. Neuroendocrine tumor diagnostics was established for 606

patients for which at least 2 parameters were determined. The results obtained for 14 patients having multiple determinations (136) for all 3 parameters allowed the evaluation of tumor activity (CgA and SER values being 10 times higher than the reference values).

Conclusion: Measurement of 5-HIAA in 24-hour urine specimen can diagnose carcinoid disease with high specificity. SER is useful when 5-HIAA shows normal values. CgA is useful for detection of tumors and monitoring of their activity.

Keywords: 5-HIAA, serotonin, CgA

C15. SUBTIPIZAREA TUMORILOR MAMARE - EVALUAREA CANTITATIVĂ A EXPRESIEI GENICE ERBB₂, ESR₁, PGR ȘI MKI67

Roxana ZUGRAVU, Anca Elena VESA, Lorena DEGAN, Diana Lucia CALOTĂ

SC Bioclinica SA, Timișoara

Introducere: În mod obișnuit, subtipizarea cancerului de sân se realizează prin tehnici de imunohistochimie, care, conform literaturii de specialitate, au limitele lor. O alternativă obiectivă, cu rezultate în aceeași zi, o reprezintă evaluarea cantitativă prin tehnici de real-time PCR a expresiei genelor implicate în subtipizarea cancerului mamar: ERBB₂, ESR₁, PGR și MKI67.

Material și metodă: Izolarea ARN-ului din țesutul tumoral s-a efectuat utilizând un kit comercial CE-IVD (RNXtract® BioNTech Diagnostics GmbH, Mainz, Germany). Expresia cantitativă a ARNm pentru ERBB₂, ESR₁, PGR, MKI67, precum și a două gene de referință denumite B2M și CALM2 a fost determinată prin tehnica RT-qPCR, utilizând kitul MammaTyper® CE-IVD (BioNTech). Cele 6 determinări sunt realizate în duplex, în câte 3 amestecuri de reacție.

Rezultate: Valoarea cut-off-ului de amplificare (Cq) pentru MKI67 și a celor 2 gene de referință pentru fiecare probă au fost utilizate ca mediană a măsurătorilor triple. Acestea au fost normalizate cu media expresiei genelor de referință și un control pozitiv pentru a corecta variația inter-run ($\Delta\Delta Cq$). Valorile finale au fost generate prin extracția $\Delta\Delta Cq$ din numărul total de cicluri pentru a se asigura că expresia normalizată a genelor obținută de test este proporțională cu nivelul de ARNm din probă. Toate calculele s-au efectuat conform specificațiilor producătorului.

Concluzii: Utilitatea clinică a subtipizării cancerului de sân prin evaluarea cantitativă a expresiei genelor este reprezentată de alegerea unei terapii adecvate de către medicul oncolog, fiind o metodă superioară celor utilizate pe scară largă în prezent.

Cuvinte cheie: MKI67, ARNm, MammaTyper®

SUBTYPING OF BREAST TUMORS - QUANTITATIVE ASSESSMENT OF ERBB2, ESR1, PGR AND MKI67 GENE EXPRESSION

Introduction: Typically, breast cancer subtyping is performed by immunohistochemistry techniques, which, according to the literature, have their limits. An objective alternative with results in the same day is the quantitative gene expression technique through real-time PCR for genes involved in breast cancer subtyping: ERBB2, ESR1, PGR and MKI67.

Material and methods: RNA isolation from tumor tissue was performed using a commercial CE-IVD kit (RNXtract® BioNTech Diagnostics GmbH, Mainz, Germany). Quantitative mRNA expression

for ERBB2, ESR1, PGR, MKI67 and two reference genes called B2M and CALM2 was determined by RT-qPCR using CE-IVD MammaTyper® kit (BioNTech). The six measurements are made in duplex, in each of the three reaction mixtures.

Results: Cycle quantification threshold value (Cq) of MKI67 and the two reference genes for each sample were estimated as the median of the triplicate measurements. These were then normalized against the mean expression of the reference genes and set off against a positive control to correct inter-run variation ($\Delta\Delta Cq$). The final values were generated by extracting $\Delta\Delta Cq$ from the total number of cycles to ensure that the normalized expression of the genes obtained from test is proportional to the level of mRNA in the sample. All calculations were performed according to the manufacturer's specifications.

Conclusions: Quantitative assessment of genes expression in breast cancer has a clinical utility for the oncologist by choosing an adequate therapy, being a superior subtyping method to those currently widely used.

Keywords: MKI67, ARNm, MammaTyper®

PLENARY LECTURES: CLINICAL CHEMISTRY - FOCUS ON METABOLIC SYNDROME

R16. PHARMACOGENETIC APPROACH IN METABOLIC SYNDROME THERAPY

Elizabeta TOPIĆ

Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, Zagreb, Croatia

Metabolic syndrome as a cluster of disorders such as dyslipidemia, insulin resistance, increased blood pressure and abdominal obesity that occur together in individuals represents an increased risk of heart disease, stroke and diabetes. The basic therapeutic goals in such individuals are reduction of body mass by controlled physical activity, dietary change and drug therapy for risk factors. It is known that during therapy about 7% of patients develop adverse drug reactions with about 0.3% of lethal outcomes. Factors that affect drug efficacy, inefficacy or toxicity include individual's lifestyle, biological and genetic factors i.e. genetic polymorphism of enzymes, transporters, receptors and target molecules involved in drug functioning. So, the crucial risk factor that leads to inefficacy or toxicity during the therapy can be inherited, however, it is the only factor that does not change with time. With inheritance related to the drugs deals pharmacogenetics. It is well known that most drugs are metabolized by enzymes. Some enzymes fully or partially inactivate an active drug and others activate an inactive or less active drug. Different genetic variants of a particular enzyme can metabolize a particular drug or group of drugs differently, hence understanding the particular variant in particular patient can directly affect the decision on drug choice and dosage. Another factor influencing drug effects are genetic variant of drug transporters. For example, genetic variant in the solute carrier organic anion transporter family member 1B1 (SLCO1B1) gene leading to deficiency of SLCO1B1 transport protein is responsible for elevated simvastatin in blood and its delayed breakdown in the liver. Simvastatin is one of the frequently used lipid lowering drugs for prevention of cardiovascular disease and stroke. The heterozygous and homozygous patients bearing the variant are at risk of overdosing. Drug overdose can be decreased or avoided, as the dosage is based on the results of pharmacogenetic testing of the patient genetic constitution rather than body weight and age, as in conventional approach. Knowing patient pharmacogenetic results and understanding the genetic basis of patient differences, clinicians can select the most effective drugs while minimizing the likelihood of adverse drug reaction.

Keywords: pharmacogenetics, metabolic syndrome, SLCO1B1 gene

R17. DEZVOLTAREA UNUI MODEL EXPERIMENTAL MICROARRAY MULTIPLEX, CA INSTRUMENT ÎN DETERMINAREA PROFILULUI DE RISC GENETIC PENTRU BOALA CORONARIANĂ ATEROSCLEROTICĂ ÎN POPULAȚIA ROMÂNEASCĂ

Minodora DOBREANU¹, Valeriu George MOLDOVAN², Adina HUȚANU¹, Laszlo HADADI^{1,3}, Razvan SERBAN^{1,3}, Claudia BĂNESCU²

1 Dept Immunology CCAMF, UMF Tîrgu Mureș,

2 Dept Genetics, CCAMF, UMF Tîrgu Mureș,

3 Emergency Institute for Cardiovascular Disease and Transplant Tîrgu Mures, Romania

Boala coronariană aterosclerotică (BCAS) este principala cauză de morbiditate și mortalitate, având o prevalență ridicată în România. Deși în studii epidemiologice mari din alte țări au fost deja validate anumite scoruri de risc genetic, profilul genetic de risc cardiovascular în România nu este încă cunoscut. Ne propunem să găsim un model experimental multigenic de factori de risc pentru BCAS, caracteristic pentru populația românească, care să poată fi ulterior utilizat pentru a produce un test de tip multiplex array cu cost permisiv, util în identificarea profilului genetic de risc, în scopul depistării precoce și a optimizării managementului persoanelor la risc. Ne propunem un studiu transversal pe un grup statistic semnificativ de pacienți adulți cu ateroscleroză coronariană obstructivă prematură, comparativ cu un grup de control fără patologie aterosclerotică clinic manifestă, cu scopul de a determina cei mai relevanți factori genetici de risc. Am selectat un panel de gene (raportate anterior ca fiind semnificative pentru populația Europei) implicate în metabolismul lipidic, inflamație și semnalizare în ateroscleroză, parțial bazat pe studiile CARDIoGRAMplusC4D și CoLaus și pe TaqMan® OpenArray® *Cardiovascular disease Panel*, *Atherosclerosis panel*, *Human LDL Pathways Panel* de la Thermo Scientific. Pentru a identifica rapid multiple mutații posibile dintr-o singură probă, vom folosi matrici cu sonde pentru profilul mutațional multiplu, care vor hibridiza cu ampliconii PCR complementari. Obținerea acestui model experimental genetic ar avea implicații clinice majore și imediate, permițând diagnosticul precoce, selectarea populației aflate la riscul cel mai crescut de BCAS și o abordare personalizată a acestor pacienți, care ar beneficia cel mai mult prin implementarea de strategii profilactice.

Cuvinte cheie: risc genetic BCAS, screening molecular multiplex, predicție BCAS, profilaxie

DEVELOPMENT OF A PREDICTIVE MULTIPLEX MICROARRAY MODEL USABLE AS A TOOL FOR DETERMINATION OF CORONARY ARTERY DISEASE GENETIC RISK IN THE ROMANIAN POPULATION

Coronary artery disease (CAD) is the leading cause of morbidity and mortality with a high prevalence in Romania. Although some genetic risk scores were validated in large-scale epidemiology studies in other countries, the cardiovascular genetic risk profile of the Romanian population is unknown. We aim to find an experimental multigenic model of CAD risk factors, characteristic for the Romanian population, to be further used to produce a financially affordable multiplex array, in order to empower the Romanian medical community with a usable tool to seek change regarding how genetic atheroscle-

rotic coronary artery disease (ASCAD) factors are detected and managed. We propose a cross-sectional study on a statistically representative Romanian group of premature ASCAD unrelated adult patients and controls to determine the most relevant genetic risk factors for CAD in Romanian population. We selected a candidate gene panel (previously reported in individuals of European ancestry at genome-wide significance) involved in lipid metabolism, inflammation and atherosclerosis signaling, partially based on the CARDIoGRAMplusC4D study and the CoLaus study and on TaqMan® OpenArray® namely *Cardiovascular disease Panel*, *Atherosclerosis panel*, *Human LDL Pathways Panel* from *Thermo Scientific*. A rapid mutation profiling array, consisting of highly multiplexed mutation PCRs, will be validated to quickly identify multiple mutations from a single sample. Obtaining of a representative genetic panel for ASCAD in the Romanian population, would have major and immediate clinical implications, with a view to promote early diagnosis and a more effective personalized prophylactic treatment of subjects with high ASCAD risk.

Keywords: genetic CAD risk, multiplex molecular screening, CAD prediction, prophylaxis

Acknowledgements: This work was partially supported by Research grant PN-III-P2-2.1-PED-2016-0734, contract 155PED / 2017.

C16. CERCETAREA PREVALENȚEI A DOUĂ POLIMORFISME ALE GENEI LIPOPROTEIN LIPAZEI - O ABORDARE MOLECULARĂ LA PACIENTUL CU SINDROM CARDIOMETABOLIC

Daniela Cristina DIMITRIU, Afrodita MĂRCULESCU, Corina CIOBANU, Elena PETRESCU-DĂNILĂ

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

Introducere: Un rol esențial în metabolismul lipoproteinelor plasmatice îl are lipoprotein lipaza (LPL). Gena LPL este situată pe cromozomul 8p22, cuprinde 10 exoni (aproximativ 35 kilobaze) și codifică o proteină cu 448 aminoacizi. Studiile realizate la nivelul genei LPL au identificat la populația caucaziană două polimorfisme frecvente responsabile de creșterea riscului de eveniment cardiovascular, respectiv Asn291Ser și Asp9Asn. **Material și metodă:** Cele două polimorfisme sunt detectate prin tehnica PCR-RFLP (*polymerase chain reaction – restriction fragment length polymorphism*). Regiunile codante ale genei LPL la nivelul cărora sunt localizate cele două situsuri polimorfice (codonul 9 – în exonul 1 și codonul 291 – în exonul 6) se amplifică prin tehnica PCR cu primeri adecvați. Pentru detecția polimorfismului Asp9Asn endonucleaza de restricție utilizată este *TaqI*, iar la detecția polimorfismului Asn291Ser se utilizează enzima de restricție *RsaI*. Fragmentele digerate sunt separate prin electroforeză pe gel de agaroză. **Rezultate și discuții:** Cele două polimorfisme sunt asociate cu o creștere medie a trigliceridelor plasmatice de 31% (pentru Asn291Ser), respectiv de 20% (pentru Asp9Asn) și cu o scădere medie a colesterolului cu 4,8 mg/dL (pentru Asn291Ser), respectiv cu 3,2 mg/dl (pentru Asp9Asn). Aceste profiluri lipidice aterogenice sunt asociate cu un risc moderat crescut de boală coronariană. **Concluzii:** Cercetarea a două polimorfisme la nivelul genei LPL constituie elemente suplimentare în detectarea precoce a predispoziției la ateroscleroză și boală coronariană și în prevenția evenimentelor vasculare majore la populația cu sindrom cardiometabolic.

Cuvinte cheie: lipoprotein lipaza, polimorfism, sindrom cardiometabolic.

RESEARCH ON THE PREVALENCE OF TWO POLYMORPHISMS OF LIPOPROTEIN LIPASE GENE – A MOLECULAR APPROACH IN PATIENTS WITH CARDIOMETABOLIC SYNDROME

Introduction: An essential role in the metabolism of plasma lipoproteins belongs to lipoprotein lipase (LPL). LPL gene is found on 8p22 chromosome, contains 10 exons (approximately 35 kilobases) and encodes a protein with 448 amino acids. The studies performed on LPL gene have found in Caucasian populations two frequent polymorphisms responsible for creating a higher risk for cardiovascular events: Asn291Ser and Asp9Asn.

Material and method: The two polymorphisms are detected by the PCR-RFLP (*polymerase chain reaction – restriction fragment length polymorphism*) technique. The coding regions of the LPL gene containing the two polymorphic sites (codon 9 – in exon 2 and codon 291 – in exon 6) are amplified by the PCR technique with appropriate primers. The detection of Asp9Asn polymorphism uses *TaqI* restriction endonuclease, while the detection of Asn291Ser polymorphism uses *RsaI* restriction endonuclease. The fragments obtained after digestion are separated by using agarose gel electrophoresis.

Results and discussion: The two polymorphisms are associated with an average increase in plasma triglycerides of 31% (for Asn291Ser) and of 20% (for Asp9Asn), and with an average decrease in HDL-cholesterol of 4.8 mg/dL (for Asn291Ser) and of 3.2 mg/dL (for Asp9Asn). These atherogenic lipid profiles are associated with a moderately increased risk of ischemic heart disease.

Conclusions: The search for two polymorphisms in the lipoprotein lipase gene constitutes additional elements in the early detection of predisposition to atherosclerosis and coronary heart disease and the prevention of major vascular events in the population with cardiometabolic syndrome.

Keywords: lipoprotein lipase, polymorphism, cardiometabolic syndrome

C17. LDL ȘI LDL OXIDAT CA FACTORI PREDICTIVI AI RIGIDITĂȚII ARTERIALE ȘI SENESCENTEI ARTERIALE PRECOCE LA PACIENȚII HIPERTENSIVI

Ioana MOZOȘ¹, Daniela JIANU^{1,2}, Radu PĂTRAȘCU², Emilian MOZOȘ², Eugen POȘIAR²

1 UMF “Victor Babeș”, Timișoara

2 Spitalul Militar, Timișoara

Introducere: Rigiditatea și vârsta arterială informează asupra riscului cardiovascular. Acest studiu și-a propus să compare valoarea predictivă a LDL și LDL oxidat pentru rigiditatea arterială și senescența arterială precoce (EAA) într-un lot de pacienți hipertensivi.

Material și metodă: Un lot de 24 de pacienți hipertensivi au fost investigați cu ajutorul unui Mobil-O-Graph, determinându-se viteza undei pulsului (PWV), indicele de augmentare (AI) și vârsta arterială. S-au determinat și nivelele serice ale LDL-colesterolului și LDL oxidat. Pentru LDL colesterol s-a folosit metoda fotometrică, analizor Advia 1800 Siemens, reactiv LDL colesterol Siemens, iar pentru LDL oxidat: metoda ELISA manual și reactiv Immundiagnostick.

Rezultate: Valorile LDL, LDL oxidat, AI și PWV au fost după cum urmează: $143 \pm 34,81$ mg/dl, $301,46 \pm 102,82$ ng/ml, $21,54 \pm 14,05$ și, respectiv, $7,21 \pm 0,71$ m/s. Coeficientul de corelație biserial a fost semnificativ pentru relația AI - LDL > 100 mg/dl ($r_{pb} = 0,45$, $p = 0,013$) și, respectiv PWV – LDL oxidat

> 235 ng/ml (rpb = 0,49, p = 0,007). LDL>100 mg/dl a fost cel mai sensibil predictor pentru AI, PWV și EAA. LDL oxidat a fost cel mai specific predictor pentru AI și EAA, iar LDL>130 mg/dl pentru PWV.

Concluzii: Nivelul LDL și LDL oxidat furnizează informații legate de rigiditatea arterială și senescenta vasculară precoce la pacienții hipertensivi. Nivele ușor crescute ale LDL se asociază cu creșterea vitezei unde pulsului, indicelui de augmentare și senescenta arterială precoce.

Acest studiu a fost finanțat prin grantul Bioclinica 9/2743/ 9.03.2016.

Cuvinte cheie: LDL, LDL oxidat, viteza unde pulsului

LDL AND OXIDIZED LDL AS PREDICTORS OF ARTERIAL STIFFNESS AND EARLY ARTERIAL AGING IN HYPERTENSIVE PATIENTS

Introduction: Arterial stiffness and arterial age provide prognostic information about cardiovascular risk. The present study aimed to compare the predictive value of LDL and oxidized LDL for arterial stiffness and early arterial aging (EAA) in hypertensive patients.

Material and method: A total of 24 hypertensive patients were investigated using a Mobil-O-Graph. Pulse wave velocity (PWV), augmentation index (AI) and arterial age were assessed. Serum levels of LDL and oxidized LDL were also measured. LDL was assessed using a photometric method, a Siemens Advia 1800 analyzer and Siemens LDL cholesterol reagents. A manual ELISA method and Immunodiagnostik reagents were used for oxidized LDL.

Results: LDL, oxidized LDL, AI and PWV were as follows: 143 ± 34.81 mg/dl, 301.46 ± 102.82 ng/ml, 21.54 ± 14.05 and 7.21 ± 0.71 m/s, respectively. Biserial correlation coefficient was significant for the relationships: AI - LDL>100 mg/dl (rpb = 0.45, p = 0.013) and PWV – oxidized LDL > 235 ng/ml (rpb = 0.49, p = 0.007), respectively. LDL>100 mg/dl was the most sensitive predictor for AI, PWV and EAA. Oxidized LDL was the most specific predictor of AI and EAA, and LDL>130 mg/dl for PWV.

Conclusions: LDL and oxidized LDL provide information related to arterial stiffness and early arterial aging in hypertensive patients. Slight elevated LDL values are associated with an increased arterial stiffness, augmentation index and early arterial aging.

Funding: The present study was funded by the Bioclinica grant 9/2743/9.03.2016.

Keywords: LDL, oxidized LDL, pulse wave velocity

C18 EFECTE ANTIOXIDANTE ALE NANOPARTICULELOR PLGA ÎNCĂRCATE CU LUTEINĂ ASUPRA ȘOBOLANILOR OBEZI

Daniela MIRICESCU, Bogdan CALENIC, Alexandra TOTAN, Daniela BADITA, Radu RADULESCU, Iulia STANESCU, Bogdana VIRGOLICI, Justina VIRLAN, Catalina RADULESCU, Maria GREABU

Universitatea de Medicină și Farmacie Carol Davila, București

Introducere: În ultimii ani, nanoparticulele (NPs) sintetice PLGA (poli-lactic-co-acid glycolic) au ridicat un interes deosebit datorită posibilităților aplicației medicale în vaccinare, proceduri imagistice de diagnostic, terapii canceroase sau livrare susținută de medicamente. Scopul studiului nostru este de a testa efectele antioxidante ale NPs PLGA încărcate cu luteină, un antioxidant hidrofob la șobolani obezi

Wistar. PLGA este unul dintre cei mai utilizați polimeri sintetici biodegradabili din domeniul medical aprobat de Agenția Europeană pentru Medicamente și Alimentație a Statelor Unite.

Materialle și metode: 30 șobolani obezi au fost împărțiți în 2 grupe, după cum urmează: 15 șobolani au fost folosiți ca grup control și 15 șobolani au primit PLGA-luteina la o concentrație de 50 mg / kg greutate corporală. PLGA s-a administrat oral cu ajutorul unei canule de hrănire și șobolanii au fost sacrificați la 6 ore. Biomarkerii de stres oxidativ, glutathionul (GSH), malondialdehida (MDA), capacitatea antioxidantă totală (CAT) și produșii de oxidare avansată ai proteinelor (POAP) au fost detectați în omogenatele tisulare hepatice.

Rezultate: În lizatul celular hepatic s-au evidențiat nivele statistic scăzute de MDA (șobolani obezi : 0.042 ± 0.013 ; *versus control* 0.065 ± 0.013 nmoli/g țesut; $p=0.01$) și POAP (șobolani obezi 2 ± 0.18 ; *versus control* 2.16 ± 0.18 , ng/ g țesut; $p=0.09$) și a crescut semnificativ statistic nivelul de GSH și CAT (șobolani obezi : 1.363 ± 0.07 ; *versus control* : 1.26 ± 0.07 , $\mu\text{g/ g țesut}$; șobolani obezi 107 ± 15.87 $\mu\text{moli/ g țesut}$; *versus control* 78.33 ± 15.87 g țesut, $p<0.001$) la grupul de șobolani obezi tratați cu NPS PLGA-luteină. Rezultatele studiului nostru a relevat modificări importante în statusul redox din lizatul de ficat la șobolani obezi care au primit NPS PLGA-luteină.

Concluzii: Nanoparticulele de PLGA încărcate cu luteină pot prezenta aplicații benefice în domeniul medical.

Cuvinte cheie: Nanoparticule, obezitate, stres oxidativ, luteina

ANTIOXIDANTS EFFECTS OF PLGA-LOADED LUTEIN NANOPARTICLES ON OBESE RATS

Objectives: In the recent years, nanoparticles (NPs) such as PLGA (poly-lactic-co-glycolic acid) have raised a substantial interest due to their possible medical applications in vaccination, cancer therapy or sustained delivery of drugs. The aim of our study was to test the antioxidant effects of NPs PLGA loaded with lutein over obese rats. PLGA is one of the most successfully used synthetic biodegradable polymers in the medical field being approved by the US Food and Drugs Administration and European Medicine Agency.

Materials and methods: 30 obese rats were divided in 2 groups as follows: 15 rats were used as the control group and 15 rats received PLGA-lutein at a concentration of 50mg/kg body weight. The NPs were given orally using a feeding canula, and rats were sacrificed at 6 hours. Oxidative stress biomarkers such as glutathione (GSH), malondialdehyde (MDA), total antioxidant capacity (TAC) and advanced human oxidation protein products (AOPP), were detected in liver tissue homogenates.

Results: Liver cell lysate revealed statistically decreased levels for MDA (obese rats : 0.042 ± 0.013 ; *versus controls* 0.065 ± 0.013 nmols/g tissue, $p=0.01$) and AOPP (obese rats 2 ± 0.18 ; *versus controls* 2.16 ± 0.18 , ng/ g tissue, $p=0.09$) and increased statistically levels for GSH and TAC (obese rats 1.363 ± 0.07 ; *versus control* s: 1.26 ± 0.07 , $\mu\text{g/ g tissue}$; obese rats 107 ± 15.87 $\mu\text{mols/ g tissue}$; *versus controls* 78.33 ± 15.87 g tissue, $p<0.001$) at the group of obese rats treated with PLGA-lutein NPs. The results of our study revealed important modifications in oxidative stress status in liver lysate of obese rats which received PLGA-lutein NPs.

Conclusion: The NPs PLGA loaded with lutein may present beneficial applications in biomedical fields

Keywords: Nanoparticles, obesity, oxidative stress, lutein

C19. EVALUAREA STRESULUI OXIDATIV DUPĂ ADMINISTRAREA DE NANOPARTICULE PLGA CU VITAMINA E LA ȘOBOLANI WISTAR OBEZI

Alexandra TOTAN¹, Daniela MIRICESCU¹, Radu RĂDULESCU¹, Daniela BĂDIȚĂ¹, Iulia-Ioana STĂNESCU¹, Bogdana VÎRGOLICI¹, Cristina SABLIOV², Bogdan CALENIC¹, Maria GREABU¹

1 UMF Carol Davila Bucuresti

2 Departamentul de Inginerie Biologica, Universitatea de Stat Louisiana si Centrul LSU Ag, 149 EB Doran Building, Baton Rouge, USA

Introducere: In ultimii ani nanoparticulele din acid polilactoglicolic devin din ce în ce mai interesante în ceea ce privește elaborarea unor noi metode de administrare a medicamentelor.

Scopul acestui studiu este evaluarea a patru importanți parametri de stres oxidativ (capacitatea antioxidantă totală – TAC; malondialdehida – MDA; glutatiunul redus – GSH și produșii de oxidare avansată a proteinelor – AOPP) în urma tratamentului șobolanilor obezi cu nanoparticule PLGA cu vitamina E.

Materiale și metode: 30 de șobolani Wistar obezi au fost împărțiți în două grupuri:

- 15 șobolani obezi în grupul control G1
- 15 șobolani obezi care au primit nanoparticule cu vitamina E - G2

Nanoparticulele au fost administrate pe cale orală utilizând o canulă de hrănire. Șobolanii au fost sacrificați după 6 ore de la administrarea nanoparticulelor. La sacrificare s-au prelevat probe de sânge, în care au fost analizați cei patru parametri.

Rezultate: Rezultatele obținute în cadrul acestui studiu au reliefat existența unor diferențe semnificative statistic între cele două grupuri studiate în ceea ce privește nivelurilor sangvine de GSH, TAC și MDA ($p < 0.01$). În cazul AOPP, biomarkerul degradării oxidative a proteinelor, nu am obținut diferențe semnificative între cele două grupuri luate în studiu ($p > 0.05$).

Concluzii: Rezultatele studiului nostru arată că administrarea vitaminei E în nanoparticule PLGA a avut un efect de reducere a stresului oxidativ semnalat la șobolanii obezi.

Cuvinte cheie: nanoparticule; obezi; stres oxidativ

OXIDATIVE STRESS ASSESSMENT AFTER VITAMIN E PLGA NANOPARTICLES ADMINISTRATION IN OBESE WISTAR RATS

Introduction: In the recent years, engineered nanoparticle (NP) such as PLGA, became very interesting in sustained delivery of drugs.

The main aim of the present work is to evaluate four key oxidative stress parameters (total antioxidant activity – TAC; malondialdehyde - MDA; reduced glutathione – GSH and advanced human oxidation protein products - AOPP) following vitamin E NPs administration in an animal model (obese Wistar rats).

Materials and methods: The 30 obese Wistar rats were divided in 2 groups as follows: 15 obese rats were used as control group (G1) and 15 obese rats were administered vitamin E Nps (50mg/kg body weight) (G2).

The NPs were given orally using a feeding canula; rats were sacrificed after 6 hours from administration and blood samples were analysed for the four oxidative stress indicators.

Results: Our results showed significant differences in GSH, TAC and MDA blood levels between the two analysed groups (G1 and G2) ($p < 0.01$).

For AOPP, biomarkers of oxidant-mediated protein damage, we have not detected any significant differences between the two groups ($p > 0.05$).

Conclusions: Vitamin E, administered by Nps, efficiently reduced the oxidative stress in the treated obese rats (G2).

Keywords: nanoparticles; obese; oxidative stress

C20. VITAMINA D, PROTEINA C REACTIVĂ ULTRASENSIBILĂ ȘI LDL LA PACIENȚII HIPERTENSIVI

Ioana MOZOȘ, Daniela JIANU, Radu PĂTRAȘCU, Emilian MOZOȘ, Eugen POȘIAR

UMF "Victor Babeș", Timișoara

Introducere: Obiectivul acestei lucrări a fost studiul relației dintre nivelul vitaminei D, proteinei C reactive ultrasensibile (hsCRP) și LDL, cu variabilele tensionale și rigiditatea arterială, apreciată pe baza velocității unde pulsului (PWV) și indicelui de augmentare (AI), într-un lot de pacienți hipertensivi.

Material și metodă: Un număr de 35 de pacienți hipertensivi, de 47 ± 6 ani, 21 (60%) de sex masculin, au fost investigați cu ajutorul unui Mobil-O-Graph, determinând variabilele tensionale, PWV și AI. Concomitent s-au determinat nivelul hsCRP, LDL colesterolul și 25-hidroxi-vitamina D3.

Rezultate: S-au obținut următoarele valori pentru hsCRP, LDL colesterol și 25-hidroxi-vitamina D3: $0,5 \pm 0,084$ mg/dl, 141 ± 39 mg/dl și, respectiv, 26 ± 11 microg/l. PWV și AI au fost: $7,21 \pm 0,67$ m/s și, respectiv, $20,25 \pm 13,9$. Corelații semnificative au fost obținute între nivelul 25-hidroxi-vitaminei D3 și variabilele tensionale, în special cu tensiunea arterială sistolică și tensiunea arterială medie ($r = 0,326$ și, respectiv, $0,329$). Analiza prin regresie multiplă a indicat asocieri semnificative între nivelul vitaminei D și valorile tensionale centrale (tensiunea sistolică, diastolică și presiunea pulsului în aortă). Cel mai sensibil predictor al PWV a fost hsCRP de peste 0,3 mg/dl, iar cel mai specific, nivelul scăzut al 25-hidroxi-vitaminei D3 (sub 20 microg/l). Cel mai sensibil predictor al AI a fost tot hsCRP de peste 0,3 mg/dl, iar cel mai specific, LDL de peste 160 mg/dl.

Concluzii: Nivelul vitaminei D, hsCRP și LDL furnizează informații importante la pacienții hipertensivi, legate de variabilele tensionale și rigiditatea arterială.

Acest studiu a fost finanțat prin grantul Bioclinica 9/2743/ 9.03.2016.

Cuvinte cheie: Vitamina D, Proteina C reactivă ultrasensibilă, LDL

VITAMIN D, HIGH SENSITIVITY C REACTIVE PROTEIN AND LDL IN HYPERTENSIVE PATIENTS

Introduction: The objective of the present paper was to study the relationship between vitamin D level, high sensitivity C reactive protein (hsCRP) and LDL cholesterol, with blood pressure variables and arterial stiffness, considering pulse wave velocity (PWV) and augmentation index (AI), in a group of hypertensive patients.

Material and method: A total of 35 hypertensive patients, aged 47 ± 6 years, 21 (60%) male, underwent investigation using a Mobil-O-Graph, assessing blood pressure variables, PWV and AI. Additionally, hsCRP, LDL cholesterol and 25-hydroxy-vitamin D3 were assessed.

Results: The following values were obtained for hsCRP, LDL cholesterol and 25-hydroxy-vitamin D3: 0.5 ± 0.084 mg/dl, 141 ± 39 mg/dl and 26 ± 11 microg/l, respectively. PWV and AI were, as follows: 7.21 ± 0.67 m/s and 20.25 ± 13.9 , respectively. Significant correlations were obtained between 25-hydroxy-vitamin D3 level and blood pressure variables, especially with systolic and mean arterial pressure ($r=0.326$ and 0.329 , respectively). Multiple regression analysis revealed significant associations between vitamin D level and central blood pressure (systolic, diastolic and pulse pressure in the aorta). The most sensitive predictor of PWV was hsCRP exceeding 0.3 mg/dl, and the most specific, low 25-hydroxy-vitamin D3 (less than 20 microg/l). The most sensitive predictor of AI was also hsCRP exceeding 0.3 mg/dl, and the most specific, LDL exceeding 160 mg/dl.

Conclusions: Vitamin D, hsCRP and LDL level provide important information in hypertensive patients, related to blood pressure variables and arterial stiffness.

Funding: The present study was funded by the Bioclinica grant 9/2743/9.03.2016.

Keywords: Vitamin D, High sensitivity C reactive protein, LDL

C21. O NOUĂ STRATEGIE PENTRU REDUCEREA SINDROMULUI METABOLIC ȘI CARIILOR DENTARE: TAXAREA BĂUTURILOR CARBOGAZOASE

Maria GREABU¹, Alexandra TOTAN¹, Daniela MIRICESCU¹, Bogdan CALENIC¹, Radu RĂDULESCU¹, Maria MOHORA²

1 Disciplina Biochimie, Facultatea de Medicină Dentară, Universitatea de Medicină și Farmacie Carol Davila, București, România

2 Disciplina Biochimie, Facultatea de Medicină Generală, Universitatea de Medicină și Farmacie Carol Davila, București, România

Sindromul metabolic și cariile dentare sunt unele din cele mai răspândite afecțiuni ale lumii moderne care afectează milioane de oameni generând costuri medicale semnificative. Pe de altă parte, consumul frecvent și regulat de dulciuri fermentabile au o contribuție deosebită la apariția acestor afecțiuni. Relația directă între dulciurile consumate, sindromul metabolic și cariile dentare a constituit principala cauză a recomandării Organizației Mondiale a Sănătății (OMS) de a se reduce la <10% a consumului zilnic. Băuturile cu îndulcitori constituie o sursă importantă de dulciuri fermentabile în dietă și consumul acestora s-a dublat în ultimul timp în numeroase țări contribuind la creșterea incidenței afecțiunilor menționate. Efectul nociv al acestor băuturi cu îndulcitori nu se remarcă imediat ci după câțiva ani. Lucrarea de față are ca scop prezentarea afecțiunilor determinate de consumul dulciurilor și băuturilor carbogazoase, în acest context rezultând necesitatea impozitării acestor produse alimentare, impozitare care poate constitui o armă împotriva apariției și răspândirii acestor afecțiuni având și rol preventiv. Comunitatea medicală are datoria să sprijine această acțiune de impozitare în scopul asigurării stării de sănătate și prevenirii afecțiunilor sistemice și orale menționate.

Cuvinte cheie: afecțiuni orale și sistemice, nutriție, evaluare economică, politică fiscal

A NEW STRATEGY TO REDUCE METABOLIC SYNDROME AND DENTAL CARIES: TAXES ON SUGAR-SWEETENED BEVERAGES

Metabolic syndrome and dental caries are one of the most prevalent diseases worldwide, affects billions of people and generates significant health care costs. On the other hand, regular and frequent consumption of fermentable sugar is a major contributor to that high prevalence. The well-established link between consumed sugar and metabolic syndrome and dental caries is a major reason for the World Health Organization (WHO) recommending that free sugars be restricted to <10% of daily energy consumption. Sugar-sweetened beverages (SSBs), widely available and marketed aggressively, are an important dietary source of fermentable sugars. The last decade has been a doubling of SSB consumption in several countries. This has greatly increased average daily calorie intake and contributed to increases in the prevalence of metabolic syndrome as well as dental caries. The harmful effects of SSBs are not immediately apparent to consumers. They are heavily discounted because they occur years after consumption. This work addresses issues that connect consumption of sweets, metabolic syndrome and dental caries and the necessity of taxing SSBs which can be an important weapon in our war against dental and metabolic diseases and can promote oral and systemic well-being. The health community needs to support SSB taxation to improve health. It is our responsibility to translate the mounting evidence that clearly supports reductions in added sugars to promote systemic and oral health for benefit of the public

Keywords: systemic and oral diseases, nutrition, economic evaluation, tax policy

PLENARY LECTURES: CONTINUOUS PROFESIONAL DEVELOPMENT

R18. MOMENTE DIN ISTORICUL ASOCIAȚIEI DE MEDICINĂ DE LABORATOR DIN ROMÂNIA

Ileana FUNDUC

Ex-vicepresedinte AMLR

Istoricul Fundației, al Societății și apoi al Asociației s-a desfășurat pe o lungă perioadă de timp, începând cu 1997, când regretatul Prof.Dr. Eugen Mody a propus înființarea Fundației de Laborator Clinic „Marcela Zamfirescu Gheorghiu”. În 2004 Fundația a devenit Asociația Laboratoarelor Medicale din România, această titulatură menținându-se până în 2015 când denumirea care a rămas până în prezent este de Asociația de Medicină de Laborator din România. Prin activitatea sa, Asociația sprijină ridicarea profesională a membrilor săi, îmbunătățindu-se în acest fel aportul medicinei de laborator în ceea ce privește actul medical.

MOMENTS IN THE HISTORY OF THE ASSOCIATION OF LABORATORY MEDICINE IN ROMANIA

The history of the Foundation, of the Society and then of the Association was conducted over a long time, since 1997, when the late Prof.Dr.Eugen Mody proposed the establishment of the Foundation for Clinical Laboratory „Marcela Zamfirescu Gheorghiu”. In 2004 the Foundation became Association of Medical Laboratories in Romania, maintaining this title until 2015, after which it got its current name, the Association of Laboratory Medicine in Romania. Through its activity, the Association supports the professional raising of its members, thus improving the contribution of laboratory medicine concerning the medical act.

R19. STEPS TOWARDS HARMONIZATION OF CPD IN LABORATORY MEDICINE

Elizabeta TOPIC

Faculty of Pharmacy and Biochemistry, University of Zagreb, Zagreb, Croatia

Laboratory medicine is constantly undergoing significant changes, due to new medical information, scientific results and development of novel technologies so it is mandatory for specialists in laboratory medicine to keep abreast with all these changes. The most appropriate way to achieve this goal is integration of continuous professional development (CPD) in the clinical laboratory education continuum. Laboratory professionals across Europe may have their basic education in medicine, pharmacy or science, but the total number of years of education for the specialist in laboratory ranges from nine to ten. Despite such heterogeneity, the profession in practice is comparable in most Europeans' countries.

To ensure the same quality of the laboratory medicine services in all EFLM countries regardless basic education, the objective of EFLM is harmonization of continuing professional education programs and its evaluation at unique basis.

The CPD programs have been introduced in majority of EFLM countries leading to certification of different profiles of laboratory, however, the programs vary in contents, accessibility for non-medical laboratory scientists and impact on re-licensing. The evaluation process in the CPD of laboratory medicine specialists in Europe also is different among countries. With aim to standardize, harmonize and implement common rules for CPD crediting system the EFLM have formed a Task and Finish group (TFG – CPD) whose steps towards harmonization includes development of two guidelines; a) for accreditation of CPD events and b) for certification of individuals and c) finally its implementation in EFLM countries.

Related to accreditation of CPD events the task of the TFG is to develop the guidelines with rules and criteria for events which can be accredited and credits to be allocated to them. In creating this guidelines attention should be paid on the following; which forms of live and distant education can be accredited as CPD events? Who can be provider of events? Who will evaluate the programs? Does the program answer the questions ‘What and how the attendant will learn?’ Is there a need to establish the EFLM Accreditation Body? Should the credits for events be based on the duration of the event or on something else?

Related to certification of individuals it should be consider that so far in EFLM countries more then 22 certification categories exist, granted very differently credits for them. It is of utmost importance to harmonize this issue among national societies and bodies having this task.

The final is the implementation of above guidelines in EFLM societies. In this step it is of utmost importance the cooperation with National Society. A common crediting system and its implementation in EFLM National Societies, will hopefully lead to the harmonisation of the continuing professional development of Specialists in Europe and ensure the same high quality of laboratory medicine in all EFLM countries in spite of free movement of laboratory specialists and patients throughout Europe.

Keywords: Laboratory medicine specialist, CPD, EFLM, quality harmonisation

R20 MANAGEMENTUL CALITĂȚII ÎN PREGĂTIREA SPECIALIȘTILOR ÎN MEDICINA DE LABORATOR. REALIZĂRI ȘI PERSPECTIVE

Gabriel IONESCU

RoEQALM, INC Cantacuzino, UMF Carol Davila București

La mai bine de un deceniu și jumătate de la introducerea în laboratoarele medicale din România a sistemelor de management al calității și după parcurgerea de către majoritatea acestora a cel puțin două cicluri de acreditare, se conturează clar îmbunătățirea calității serviciilor oferite de acestea.

Pe măsură ce laboratoarele acreditate au angajat specialiști care au urmat cursuri de management al calității în perioada rezidențiatului și a studiilor de masterat, noțiuni precum proceduri, neconformitate, validare, incertitudine de măsurare, trasabilitatea măsurării, nu au mai reprezentat „pietre de încercare” pentru noii veniți.

În curricula actuală principiile de management al calității și cerințele standardului de acreditare sunt prezentate într-un modul distinct, în modulele specifice fiind abordate în special aspecte de control intern al calității. Dar activitatea laboratorului medical este un ansamblu de procese complexe, interdependente: procesele de examinare, procesele de management și cele auxiliare. Este foarte important ca noțiunile de management al calității să fie înțelese și aplicate în acest sens.

Pentru consolidarea acestor realizări sunt necesare formarea și perfecționarea continuă a cadrelor de predare prin colaborări ale universităților care desfășoară programele de pregătire cu laboratoare acreditate și cu RENAR, actualizarea periodică a curriculei și a conținutului în acord cu edițiile actuale ale standardelor în materie, organizarea de către universități, societăți profesionale, alte organizații a activităților de educație medicală continuă, de la cele clasice la cele noi de tip e-learning, m-learning, cursuri on-line, webinarii, forumuri de discuții etc.

Cuvinte cheie: managementul calității, educație medicală continuă, curricula

QUALITY MANAGEMENT IN TRAINING SPECIALISTS IN LABORATORY MEDICINE. ACHIEVEMENTS AND PERSPECTIVES

After more than a decade and a half since the implementation of quality management systems in the Romanian medical laboratories and after the completion by most of them of at least two cycles of accreditation, it is clearly outlined the improvement of the quality of the services provided by them.

As accredited laboratories hired specialists who attended laboratory quality management courses during residency and master studies, notions as procedures, non-conformities, validation, measurement uncertainty and traceability of measurement were no longer “touchstones” for the newcomers.

The principles of quality management and the requirements of the accreditation standard are presented in the current curricula in a distinct module, the specific modules addressing in particular aspects of internal quality control. But the medical laboratory work is a set of complex and interdependent processes: examination processes, management and ancillary processes. It is very important that the concepts of quality management be understood and implemented in this regard.

To consolidate these achievements there are still needed: professors’ continuous improvement by the collaboration of the universities conducting training programs with accredited laboratories and with RENAR, regular updating of curricula and its content in line with the current editions of the standards, organization by universities, professional societies and other organizations, activities of continuous medical education, from the classical to the new ones: e-learning, m-learning, online courses, webinars, discussion forums, etc.

Keywords: quality management, continuous medical education, curricula

R21 EVALUAREA NECESITĂȚILOR DE PERFECTIONARE ALE MEDICILOR REZIDENȚI ÎN INDICAREA ȘI INTERPRETAREA TESTELOR DE LABORATOR

Vlad BURA, Ioana BRUDAȘCĂ

Universitatea de Medicină și Farmacie Iuliu Hațieganu Cluj Napoca

Introducere: Rezidenții sunt responsabili pentru indicarea și interpretarea testelor de laborator; mai multe studii au arătat însă că solicitarea inutilă sau inadecvată de teste de laborator este mai frecventă în rândul medicilor rezidenți decât a medicilor cu experiență. Întrucât pregătirea în domeniul laboratorului clinic este destul de slab reprezentată în curricula medicală, scopul acestui studiu a fost evaluarea gradului de încredere a medicilor rezidenți din Cluj Napoca în privința indicării și interpretării testelor de laborator, și identificarea nevoilor lor de învățare în această privință.

Material și metodă: Datele au fost colectate printr-un chestionar la care au răspuns rezidenți de diferite specialități și diferiți ani de pregătire. Scopul a fost evaluarea gradului de încredere în indicarea și interpretarea a 29 de teste uzuale de laborator. Rezidenții au fost întrebați și dacă doresc pregătire suplimentară în această privință, și care ar fi forma preferată (cursuri, activități practice, tutoriale online). De asemenea, au fost chestionați despre atitudinea în fața unui rezultat neașteptat (repetarea recoltării, comunicare cu laboratorul pentru elucidarea problemei, acceptarea rezultatului ca atare).

Rezultate: Au fost colectate 96 de răspunsuri. Studiul a identificat domenii în care rezidenții sunt mai puțin încrezători în indicarea și interpretarea testelor (indici eritrocitari, teste de coagulare, electroliți, proteine serice). Analiza globală arată un grad de încredere mai mare în indicarea testelor decât în interpretarea rezultatelor. 78% din participanți au solicitat pregătire specifică în cadrul rezidențiatului. 57,5% din rezidenți au contactat laboratorul pentru discutarea rezultatelor neașteptate, 31,5% au repetat recoltarea și 7% au luat o decizie bazată pe rezultatul respectiv. **Concluzii:** Studiul indică nevoia de îmbunătățire a abilității rezidenților de a indica și interpreta teste de laborator, care ar putea fi realizată prin pregătire suplimentară.

Cuvinte cheie: indicarea testelor de laborator, interpretarea testelor de laborator, nevoi de învățare ale rezidenților

ASSESSMENT OF LEARNING NEEDS IN ORDERING AND INTERPRETING LABORATORY TESTS FOR MEDICAL RESIDENTS

Background: Residents are in charge for ordering and interpreting laboratory tests, but several studies showed that the request of unnecessary tests or the inappropriate ordering of tests were more frequent among junior than among senior doctors. As clinical laboratory training is rather poorly represented in the academic medical curricula, the aim of this study was to assess the self-confidence level of medical residents from Cluj Napoca in requesting and interpreting laboratory tests, and also to identify their learning needs in that respect.

Materials and methods: Data were collected through a questionnaire applied to the residents (from different specialties and different years of training). The purpose was to ascertain how confident they were in requesting and interpreting the results of 29 usual laboratory tests. They were also asked about wanting additional training and the preferred option (theoretical/practical/online training), and about the action taken when confronted to an unexpected test result (repeating request, accepting the result without questioning, contacting the laboratory professionals for addressing the issue).

Results: Responses were received from 96 residents. The survey highlighted areas where residents are less confident about requesting tests and interpreting results (red blood cells indices, coagulation tests, electrolytes, plasma proteins). Summing up the replies we can observe the residents being overall more confident in requesting tests than interpreting results. 78% of the doctors requested specific training during residency. 57,5% of the doctors discussed the results with the laboratory staff, 31,5% repeated the request and 7% took a decision based on the result. **Conclusion:** The survey shows the need for improvement in the residents' skills in requesting and interpreting laboratory tests, that could be addressed by additional training.

Keywords: laboratory tests indication, laboratory tests interpretation, residents' learning needs

POSTER SESSION 4 - CLINICAL CHEMISTRY

P37. MARKERI BIOCHIMICI AI PROCESULUI DE ÎMBĂTRÂNIRE A PIELII

Anatolie VIȘNEVSCHI, Irina TCACI

USMF "Nicolae Testemițanu", Chișinău, Republica Moldova

Introducere: Îmbătrânirea afectează pielea umană, fenomen care devine tot mai important în ceea ce privește aspectele medicale, sociale și estetice. Cunoașterea mecanismelor de îmbătrânire a pielii este importantă pentru dezvoltarea produselor de îngrijire a pielii care încetinesc îmbătrânirea pielii și reduc efectele negative ale îmbătrânirii.

Obiectivul studiului: Evaluarea markerilor stresului oxidativ, sistemului antioxidant, enzimelor lizozomale și a markerilor matricei proteice extracelulare în serul sanguin la femeile din diferite categorii de vârstă cu modificări cronologice ale pielii.

Material și metodă: Grupul de studiu a inclus 90 de femei cu vârsta în limitele 25-60 de ani, cu modificări cutanate cronologice (riduri, pigmentări neregulate, modificări vasculare la nivel tegumentar). Lotul general de studiu a fost divizat în 3 grupuri de vârstă: grupul I - 30 de femei cu vârsta 25-35 de ani; grupul II - 30 de femei cu vârsta 36-50 de ani; grupul III - 30 de femei cu vârsta 51-60 ani. Activitatea glutatation-S-transferazei (GST) (nmol/s.L), *superoxid dismutazei* (SOD) (un/L), *glutatation reductazei* (GR) (nmol/s.L), β -galactozidazei (nmol/s.L), nivelul malondialdehidei (MDA) (nmol/L) și hidroxiprolinei (nmol/L) s-au determinat prin metoda spectrofotometrică.

Rezultate: Studiul demonstrează o creștere semnificativă ($p < 0,001$) a nivelului MDA ($15,95 \pm 1,1$) hidroxiprolinei ($79,95 \pm 3,5$), activității GST ($144,28 \pm 6,8$) și β -galactozidazei ($7,80 \pm 0,6$) ($p < 0,01$) la femeile din grupul cu vârsta 51-60 ani comparativ cu nivelul MDA ($7,05 \pm 1,2$) hidroxiprolinei ($64,17 \pm 1,3$), activității GST ($82,17 \pm 4,9$) și β -galactozidazei ($5,29 \pm 0,5$) grupul de vârstă 25-34 ani și MDA ($12,47 \pm 1,3$), hidroxiprolina ($72,57 \pm 2,4$), GST ($71,87 \pm 5,9$) și β -galactozidazei ($5,81 \pm 0,7$) în grupul cu vârsta 35-50 ani. Activitatea SOD și a GR nu au prezentat modificări semnificative.

Concluzii: Datele obținute sugerează că nivelul malondialdehidei, hidroxiprolinei și activitatea β -galactozidazei ar putea fi utilizate ca markeri biochimici ai procesului de îmbătrânire cronologică a pielii.

Cuvinte cheie: îmbătrânirea pielii, markeri biochimici

BIOCHEMICAL MARKERS OF SKIN AGING

Background: Aging affects human skin, a phenomenon that has become important in medical, social and aesthetic aspects of life. Knowledge of the mechanisms of skin aging is important to develop skin care products that will slow skin aging and reduce its negative effects.

Objective of the study: The aim of this study was to evaluate oxidative stress, the antioxidant system, lysosomal enzymes and markers of the extracellular protein matrix in the serum of women from different age groups with chronological skin changes.

Materials and methods: This study group included 90 women aged 25-60 years with chronological skin changes (wrinkles, pigmentation heterogeneities, vascular alterations of the skin). The study

group was classified into three age groups: I group - 30 women aged 25-35 years; II group - 30 women aged 36-50 years; III group - 30 women aged 51-60 years. Glutathione-S-transferase (GST), superoxide dismutase (SOD), glutathione reductase (GR), β -galactosidase activities as well as malondialdehyde (MDA) and hydroxyproline contents were measured by using a spectrophotometric method.

Results: This study has demonstrated a significant increase ($p < 0.001$) of the level of MDA ($15,95 \pm 1,1$), hydroxyproline ($79,95 \pm 3,5$), GST ($144,28 \pm 6,8$) and β -galactosidase ($7,80 \pm 0,6$) activity ($p < 0,01$) in women between 51-60 years compared to women in the age group of 25-34 and MDA ($12,47 \pm 1,3$), hydroxyproline ($72,57 \pm 2,4$), GST ($71,87 \pm 5,9$) and β -galactosidase ($5,81 \pm 0,7$) activity in age group 35-50 years. No significant changes were observed in the activity of SOD and GR.

Conclusions: Our findings suggest that the level of malondialdehyde, hydroxyproline and β -galactosidase activity could be used as a biochemical markers of chronologic skin aging.

Keywords: skin aging, biochemical markers

P38. BIOMARKERII SALIVARI AI STRESULUI OXIDATIV ȘI PROLIFERĂRII CELULARE ÎN CANCERUL ORAL

Radu RADULESCU, Alexandra TOTAN, Daniela MIRICESCU, Bogdan CALENIC, Maria GREABU

Universitatea de Medicină și Farmacie Carol Davila București

Introducere: Saliva poate fi utilizată ca fluid de diagnostic pentru numeroase afecțiuni orale, inclusiv cancerul oral datorită caracterului noninvaziv al recoltării și a numărului mare de biomarkeri conținut. Stresul oxidativ (SO) și proliferarea celulară sunt factori cheie în declanșarea și dezvoltarea procesului neoplazic.

Acidul uric (AU), principalul antioxidant (AO) salivar, joacă un rol cheie în evaluarea nivelului SO. Ki-67 este un marker al diviziunii celulare, fiind prezent în fazele active ale acesteia. Are o valoare de prognostic semnificativă în numeroase tipuri de cancer.

Obiective: Evaluarea potențialului diagnostic al biomarkerilor salivari ai SO și proliferării celulare în cancerul oral.

Material și metodă: Studiul a inclus 30 de pacienți (vârsta cuprinsă între 40 și 65 de ani) diagnosticați cu carcinom oral cu celule scuamoase și 14 voluntari sănătoși fără nicio afecțiune orală sau generală (vârsta între 40 și 60 de ani). Nivelul AU salivar a fost măsurat folosind metoda colorimetrică. Nivelul Ki-67 a fost determinat folosind un kit ELISA.

Rezultate: Nivelul AU salivar a prezentat o scădere semnificativă ($p < 0.05$) la nivelul lotului de pacienți cu cancer oral comparativ cu nivelul lotului de control (1.25 ± 0.2 mg acid uric/mg albumină *versus* 2.9 ± 0.44 mg acid uric/mg albumină). Ki-67 ($p < 0.05$) a înregistrat o creștere semnificativă în saliva lotului de pacienți cu cancer oral comparativ cu nivelul lotului de control (1.6 ± 0.2 ng Ki-67/ mg albumină *versus* 0.35 ± 0.05 ng Ki-67 / mg albumină).

Concluzii: Evaluarea biomarkerilor salivari poate să joace un rol important în detectarea și monitorizarea pacienților cu cancer oral.

Cuvinte cheie: salivă, stres oxidativ, cancer oral

SALIVARY BIOMARKERS OF OXIDATIVE STRESS AND CELLULAR PROLIFERATION IN ORAL CANCER

Background: Saliva can be utilized as a diagnostic fluid for a number of oral affections including oral cancer due to the high number of biomarkers contained and the ease of sampling. Oxidative stress (OS) and cellular proliferation are key factors in cancer triggering and development.

Uric acid (UA), the main salivary antioxidant, has an important significance in oxidative stress (OS) evaluation. Ki-67 is a marker for cellular division being present during active phases of the cell cycle. It has a prognostic significance in many types of neoplasms.

Objective: Evaluation of the diagnostic potential of salivary biomarkers of OS and cellular proliferation in oral cancer.

Materials and methods: Our study included 30 patients (aged between 40 and 65), diagnosed with oral squamous cell carcinoma (SCC) and 14 healthy volunteers with no associated oral or general diseases (aged between 40 and 60 years old). Salivary UA was measured using the colorimetric method. Ki-67 levels were determined using an ELISA kit.

Results: Salivary UA showed a significant decrease ($p < 0.05$) in the oral cancer group compared to controls ($1.25 \text{ mg uric acid/mg albumin} \pm 0.2$ versus $2.9 \text{ mg uric acid/mg albumin} \pm 0.44$). Ki-67 showed increased levels ($p < 0.05$) in the saliva of oral cancer patients compared to the control group ($1.6 \text{ ng Ki-67/mg albumin} \pm 0.2$ versus $0.35 \text{ ng Ki-67 / mg albumin} \pm 0.05$).

Conclusions: Salivary diagnosis has the potential of becoming a powerful and noninvasive tool in detecting and monitoring oral cancer patients.

Keywords: saliva, oxidative stress, oral cancer

P39. INVESTIGAREA CAPACITĂȚII TOTALE ANTIOXIDANTE IN HIPERHOMOCISTEINEMIA INDUSĂ EXPERIMENTAL LA ȘOBOLANI

Nina FILIP, Elena ALBU, Cristina Elena IANCU, Cristiana FILIP

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

Introducere: În momentul de față este cunoscut faptul că hiperhomocisteinemia este implicată în afecțiunile cardiovasculare. Pe de altă parte stresul oxidativ este considerat a fi un factor perturbator major la toate nivelurile, inclusiv cel vascular. În lucrarea noastră am investigat influența hiperhomocisteinemiei asupra capacității antioxidante totale (CAT) la șobolani.

Material și metodă: Hiperhomocisteinemia a fost indusă experimental la șobolani prin administrarea metioninei, $2 \text{ g / kg corp / zi}$, oral, timp de două săptămâni. Concentrațiile plasmatice ale homocisteinei au fost determinate înainte și după administrarea metioninei, folosind Diazyme kit. Pentru a estima statusul antioxidant total de la șobolani, superoxid dismutaza (SOD), glutation peroxidaza (GPx) și capacitatea totală antioxidantă (CAT) au fost determinate înainte și după administrarea metioninei folosind kituri Randox pentru utilizare manuală.

Rezultate: Concentrațiile homocisteinei au fost $12.08 \pm 1.12 \text{ } \mu\text{M/ml}$ inițial și $82 \pm 1.34 \text{ } \mu\text{M/ml}$ la final ($p=0.0001$). Activitatea SOD a fost $142.31 \pm 12.3 \text{ U/ml}$ inițial și $785.31 \pm 32.48 \text{ U/ml}$ la final ($p=0.0015$). Activitatea GPx, determinată în sângele total a fost $53482 \pm 3121 \text{ U/L}$ și $40213 \pm 3471 \text{ U/L}$ la final

($p=0.0103$). Nivelurile CAT au fost 0.732 ± 0.021 mM/L inițial și 0.611 ± 0.011 mM/L după două săptămâni de administrare a metioninei ($p=0.0251$).

Concluzii: Datele noastre arată că hiperhomocisteinemia instalată scade capacitatea totală antioxidantă.

Cuvinte cheie: homocisteina, stres oxidativ, metionina.

AN INVESTIGATION OF TOTAL ANTIOXIDANT CAPACITY IN HYPERHOMOCYSTEINEMIA EXPERIMENTALLY INDUCED IN RATS

Introduction: Nowadays it is generally accepted that hyperhomocysteinemia is involved in cardiovascular diseases. On the other hand, oxidative stress is considered to be a major disturbing factor at all levels including the vascular one. We have investigated the influence of hyperhomocysteinemia on the total antioxidant status (TAS) in rats.

Material and methods: Hyperhomocysteinemia was experimentally induced through oral methionine administration, in rats, 2 g/kg body/day, for two weeks. Concentrations of plasma homocysteine in rats were determined before and after methionine administration using a Diazyme kit. In order to estimate the total antioxidant status, superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase (GPx) and total antioxidant status (TAS) were determined before and after methionine administration, using Randox kits for manual use.

Results: Homocysteine concentration was 12.08 ± 1.12 μ M/ml initial and 82 ± 1.34 μ M/ml final ($p=0.0001$). SOD activity was 142.31 ± 12.3 U/ml initial and 785.31 ± 32.48 U/ml final ($p=0.0015$). GPx activity, determined in red blood cells was 53482 ± 3121 U/L and 40213 ± 3471 U/L at final ($p=0.0103$). TAS levels was 0.732 ± 0.021 mM/L initial and 0.611 ± 0.011 mM/L after methionine administration for two weeks ($p=0.0251$).

Conclusions: Our data show that installed hyperhomocysteinemia decreases the total antioxidant capacity.

P40. CORELAȚII ÎNTRE NIVELELE SERICE ALE 25-HIDROXICALCIFEROL ȘI STATUSUL LIPIDIC ÎN ANGINA INSTABILĂ

Camelia-Vidița GURBAN^{1,2}, Marilena MOTOC^{1,2}, Claudia BORZA¹, Ioana SUCEAVĂ¹, Daniel LIGHEZAN¹, Tudor Rares OLARIU^{1,2}

*1 Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara,
2 Spitalul Clinic Municipal de Urgență Timișoara*

Deficitul de 25-hidroxicalciferol, 25(OH)D₃, este implicat în dezvoltarea aterosclerozei coronariene. **Scopul studiului** a fost determinarea corelațiilor dintre nivelele serice ale 25(OH)D₃, proteinei C reactive (CRP) și statusul lipidic al pacienților diagnosticați cu angina instabilă (AI).

Material și metode: În studiu au fost incluși 42 pacienți cu AI (13 femei și 29 bărbați) și 20 de subiecți sănătoși (grupul de control). Pacienții și subiecții sănătoși au fost examinați clinic, EKG și

ECHO-CV. Au fost efectuate următoarele investigații de laborator: hemograma completă, viteza de sedimentare a hematilor (VSH), CRP și fibrinogenul (FBG). Nivelele serice ale 25(OH)D3 și CRP au fost determinate prin tehnica ELISA. Statusul lipidic seric: colesterol-total (CT), HDL-colesterol (HDL-c), LDL-colesterol (LDL-c), trigliceridele (TG) au fost măsurate prin tehnica enzimatică colorimetrică automatizată. S-a calculat indicele aterogenic al plasmei după formula $AIP = \log(TG/HDL-c)$.

Rezultate: La pacienții cu AI, nivelele serice ale 25(OH)D3 au arătat o carență (<10 ng/mL) la 60% din cazuri și un nivel insuficient ($10-30$ ng/mL) la 40% din cazuri, vs. grupul control care au prezentat un nivel optim de 25(OH)D3 ($30-100$ ng/mL). *În 70% din cazurile cu AI valorile VSH, CRP și FBG au fost crescute față de grupul de control ($p < 0.05$). Statusul lipidic a indicat o creștere a AIP la toți pacienții cu AI ($p < 0.01$), comparativ cu subiecții sănătoși.*

Concluzii: S-a constatat o corelație pozitivă între nivelele serice scăzute ale 25(OH)D3 și HDL-c ($r = 0.530$) și o corelație negativă cu LDL-c și TG ($r = -0.455$, respectiv $r = -0.570$) la pacienții cu AI. Nivelele serice ale CRP au fost semnificativ crescute la pacienții cu AI denotă răspunsul imun-inflamator și influențează metabolismul lipidic prin creșterea riscului de aterogeneză.

Cuvinte cheie: vitamina D3, aterogeneză, angina instabilă

CORRELATIONS BETWEEN SERUM LEVELS OF 25-HIDROXICALCIFEROL AND LIPID STATUS IN UNSTABLE ANGINA

25-hidroxiciferol, 25(OH)D3 deficiency is involved in the development of coronary atherosclerosis.

The aim of this study was to assess the correlations between serum levels of 25-hydroxiciferol, C-reactive protein (CRP) and the lipid status in patients diagnosed with unstable angina (UA).

Material and Methods: We included in the study 42 patients with UA (study group: 13 females and 29 males) and 20 healthy subjects (control group). Patients and controls were examined clinically; EKG and ECHO-CV. Complete blood count (CBC), erythrocyte sedimentation rate (ESR), C-reactive protein (CRP) and fibrinogen (FBG) were performed. Serum levels of 25(OH)D3 and CRP were determined by ELISA. The status of serum lipid: total cholesterol (TC), HDL cholesterol (HDL-C), LDL-cholesterol (LDL-C), triglycerides (TG) was measured by an automated enzymatic colorimetric technique. Atherogenic Index was calculated using the formula $AIP = \log(TG/HDL-c)$.

Results: In patients with UA, serum levels of 25(OH)D3 showed a deficiency (<10 ng/mL) in 60% of cases and an insufficient level ($10-30$ ng/mL) in 40% of cases, compared to controls in whom optimal levels of 25(OH)D3 ($30-100$ ng/mL) were demonstrated. In 70% of cases with UA values ESR, CRP and FBG were increased compared to controls ($p < 0.05$). The lipid status indicates an increase of the Atherogenic Index in all patients with UA ($p < 0.01$), compared to healthy subjects.

Conclusions: We found a positive correlation between increased serum levels of 25(OH)D3 and HDL-c ($r = 0.530$) and a negative correlation with LDL-C and TG ($r = -0.455$, respectively $r = -0.570$) in patients with UA. Serum levels of CRP were significantly higher in UA compared to controls and denotes immune-inflammatory and influence lipid metabolism by increasing the risk of atherogenesis.

Keywords: vitamin D3, atherogenesis, unstable angina

P41. MARKERII BIOCHIMICI CA PREDICTORI DE REMODELARE OSOASĂ ÎN CHISTURILE INFLAMATORII ODONTOGENE

Camelia-Vidița GURBAN^{1,2}, Rareș Tudor OLARIU^{1,2}, Marilena MOTOC^{1,2}, Horațiu URECHESCU¹, Cristiana PRICOP¹, Ancuța BANU¹, Alexandra PANȚU¹, Marius PRICOP¹

1 Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara

2 Spitalul Clinic Municipal de Urgență Timișoara

Scopul acestui studiu este de a evalua nivelele serice ale markerilor osoși implicați în procesul de remodelare osoasă din chisturile inflamatorii odontogene (CIO).

Materiale și metode: Studiul cuprinde 16 pacienți (10 femei și 6 bărbați) diagnosticați clinic și radiologic cu chisturi maxilare. Lotul martor cuprinde pacienți cu fracturi traumatice maxilare (n=8). Nivelele serice ale markerilor de remodelare osoasă: de osteosinteză-fosfataza alcalină osoasă (BAP) și de osteoliză-fosfataza acidă tartrat rezistentă (TRACP-5b) au fost măsurate prin tehnica imuno-enzimatică (ELISA). Procesul inflamator local a fost evidențiat prin colorațiile Hematoxină Eozină și Tricrom Gomori. Procesul inflamator sistemic a fost evaluat prin vitezei de sedimentare a hematiilor (VSH), hemoleucogramă (HLG), proteină C reactivă (CRP) și fibrinogen.

Rezultate: La lotul de studiu nu s-a evidențiat un proces inflamator sistemic, valorile VSH, HLG, CRP și fibrinogenului fiind în limite normale. Nivelele serice ale BAP au fost crescute semnificativ la toți pacienții lotului de studiu ($29.1 \pm 10.8 \mu\text{g/L}$, $p < 0.05$), comparativ cu lotul martor ($11.3 \pm 1.7 \mu\text{g/L}$). TRACP-5b a avut nivele serice crescute nesemnificativ statistic ($4.4 \pm 1.1 \text{U/L}$, $p = 0.24$) vs. lotul martor ($4 \pm 0.9 \text{U/L}$). Analiza histopatologică a evidențiat un infiltrat inflamator limfocitar difuz care disociază fasciculele conjunctivo-fibroase.

Concluzii: În chisturile inflamatorii odontogene apare un proces de remodelare osoasă, cu o creștere semnificativă a activității osteoblastelor. Acesta este exprimat prin creșterea nivelelor serice ale fosfatazei alcaline osoase. Procesul de osteoliză este mai redus, osteoclastele fiind minim activate, ca urmare nivelele serice ale fosfatazei acide tartrat rezistente sunt crescute nesemnificativ.

Cuvinte cheie: chisturi odontogene, remodelare osoasă.

BIOCHEMICAL MARKERS AS PREDICTORS OF BONE REMODELLING IN INFLAMMATORY ODONTOGENIC CYSTS

The aim of this study was to evaluate serum levels of bone markers involved in bone remodeling in inflammatory odontogenic cysts (OIC).

Materials and Methods: We investigated 16 patients (10 females and 6 males) clinical and radiological diagnosed with maxillary cysts. The control group included patients with traumatic maxillary fracture (n=8). Serum markers of bone remodelling: osteosynthesis, bone alkaline phosphatase (BAP) and osteolysis, tartrate-resistant acid phosphatase (TRACP-5b) were measured by the enzyme immunoassay technique (ELISA). Local inflammatory process was evidenced by haematoxylin eosin and Gomori Trichrome staining. Systemic inflammation was assessed through Erythrocyte Sedimentation Rate (ESR), Complete Blood Count (CBC), C Reactive Protein (CRP) and fibrinogen.

Results: In the study group we did not detect a systemic inflammatory process. ESR, CBC, CRP and fibrinogen were within normal limits. BAP serum levels were significantly increased in all patients

of the study group ($29.1 \pm 10.8 \mu\text{g/L}$, $p < 0.05$), compared to controls ($11.3 \pm 1.7 \mu\text{g/L}$). The serum levels of TRACP-5b were insignificantly increased ($4.4 \pm 1.1 \text{U/L}$, $p = 0.24$) compared to controls ($4 \pm 0.9 \text{U/L}$). Histopathological analysis revealed a diffuse lymphocytic inflammatory infiltrate dissociating conjunctive-fibre bundles.

Conclusions: The odontogenic inflammatory cysts are associated with a bone remodeling process, through an increased osteoblastic activity, proved by an significant increase in serum levels of bone alkaline phosphatase. Osteoclasts are less activated, as reflected by the insignificant increase in serum levels of tartrate-resistant acid phosphatase.

Keywords: odontogenic cysts, bone remodelling

P42. BIOCHIP SELECTIV PENTRU EVALUAREA REZISTENȚEI LA INSULINĂ ȘI A SINDROMULUI METABOLIC (SM)

Carmen-Marinela MIHĂILESCU^{1,2}, Mihaela SAVIN³, Dana STAN¹, Carmen MOLDOVAN⁴, George MUSCALU⁴, Silviu DINULESCU⁴

1 DDS Diagnostic, București

2 Universitatea Titu Maiorescu, București

3 Facultatea de Chimie, Universitatea din București

4 Institutul National de Micro si Nanotehnologii, București

Identificarea de biomarkeri capabili de a detecta precoce tulburările metabolice, rezistența la insulină precum și validarea eficientă a unor metode de diagnostic sunt printre măsurile avute în vedere în lupta împotriva sindromului metabolic și a diabetului zaharat. Tehnologia de imprimare moleculară cu polimeri constă în utilizarea unor polimeri care în amestec cu proteina creează un șablon selectiv complementar cu biomarker-ul de detectat.

Autorii prezintă rezultatele preliminare pentru obținerea unui biocip selectiv pentru detectarea a cinci biomarkeri importanți în sindromul metabolic, împreună cu doi markeri importanți în diabetul zaharat. Au fost create două șabloane prin electropolimerizarea fiecărui antigen cu un monomer, rezultând un film polimeric electrosintetizat. Monomerii care au fost utilizați au fost moleculele organice cu capacitatea de a crea monostraturi autoasamblate pe aur. Biocipurile au fost realizate pe un substrat de siliciu peste care au fost proiectate suprafețele de aur. Pentru configurarea canalelor microfluidice s-a utilizat un film de poli metacrilat de metil. Măsurarea impedenței electrice a fost efectuată după fiecare dintre concentrațiile de proteine, proteina C-reactivă și A-FABP ce au fost adăugate în probele de ser uman.

Rezultatele preliminare au arătat o legătură directă între greutatea moleculară de proteină, moleculele organice folosite și selectivitate. Selectivitatea a fost mai bună pentru CRP (25kDa) atunci când monomerul pentru șablon a fost o moleculă organică cu catenă lungă de carbon și respectiv pentru A-FABP (15kDa), cu o catenă mai scurtă de carboni. Biocipul va fi optimizat pentru a obține detecția simultană a biomarkerilor SM: adiponectina, leptină, ox-LDL și respectiv , pentru diabet, glucoza și peptidul C.

Cuvinte cheie: biocip, sindrom metabolic, tehnologia de imprimare moleculară

Mulțumiri. Această lucrare a fost publicată cu sprijinul financiar parțial al proiectului de cercetare PN-III-P2-2.1-50PTE/2016.

SELECTIVE BIOCHIP FOR EVALUATION OF INSULIN RESISTANCE AND METABOLIC SYNDROME (MS)

Identification of biomarkers which are able to detect early metabolic disorders, insulin resistance and an efficient validation of diagnostic methods are some of the measures envisaged in the fight against metabolic syndrome and diabetes. The molecular imprinting technologies consist in using the polymers which create a selective template, complementary for each of the biomarkers.

The authors present a selective biochip for detection of five important biomarkers in metabolic syndrome together with other two biomarkers important in diabetes. To obtain the templates, two native human antigens: C-reactive protein (CRP) and adipocyte fatty acid binding protein (A-FABP) were used in the preliminary tests. The templates were created by chemical functionalization using electro polymerization of each antigen with a monomer, resulting in an electro synthesis polymer layer. The monomers that were used were the organic molecules with capability to create the self-assembled monolayers onto gold area such as: lipoic acid and 11-mercapto-1-undecanol. Bio chips have been made on a silicon substrate over which has been patterned the gold surfaces. A poly (methyl methacrylate) layer was used for configuring the microfluidic canals. The electrical impedance measurements at the interfaces of the gold surfaces were performed after each known concentration of the proteins added in human serum samples.

The preliminary results showed a direct link between protein molecular weight of the antigens and the organic molecules: the selectivity was better for CRP (25kDa) when the monomer for template was an organic molecule with long carbon chain, whereas for A-FABP (15kDa), the selectivity was higher when the template was obtained with short chain molecules. This biochip will be optimized to obtain simultaneous detection of other important biomarkers in MS: adiponectin, leptin, ox-LDL and respectively for diabetes, glucose and C-peptide.

Keywords: biochip, metabolic syndrome, molecular imprinting technologies

Acknowledgments. This work was published with the partial financial support of the project PN-III-P2-2.1-50PTE/2016.

P43. NIVELE SERICE ALE PROTEINEI GLA MATRICEALE TOTALE LA PACIENȚII CU PATOLOGIE VASCULARĂ ȘI OSTEOARTICULARĂ

Ciprian N. SILAGHI, Simona R. GHEORGHE, Alexandra M. CRĂCIUN

Departamentul de Biochimie Medicală, Universitatea de Medicină și Farmacie "Iuliu Hațieganu", Cluj-Napoca, România

Introducere: Proteina Gla matriceală (MGP), dependentă funcțional de vitamina K, este un inhibitor al calcificării extravasculare, fiind secretată în principal de celulele musculare netede ale vaselor sanguine și condrocite. Scopul studiului a fost investigarea diferenței între nivelurile MGP circulante la pacienții cu afecțiuni vasculare (AV), afecțiuni osteoarticulare (AO) și populația sănătoasă. **Material și metodă:** În studiu au fost înscrși un grup de subiecți sănătoși peste 40 de ani (n=49), un grup cu AV (n=72) [boală arterială coronariană (BAC) (n=26), accident vascular cerebral (AVC) (n=6), hipertensiune arterială (HTA) (n=30), diabet zaharat (DZ) (n=10)], respectiv cu AO (n=23) [osteopenie/osteoporoză (OP) (n=13) și artrită reumatoidă (AR) (n=10)]. Am determinat profilul glucidic și lipidic la toți participanții. Metoda imunoturbidimetrică a fost utilizată pentru evaluarea serică a proteinei C-reactive înalt sensibile (hs-

CRP). Am determinat nivelurile serice de MGP total (tMGP) prin metoda ELISA. **Rezultate:** În grupul de pacienți, tMGP s-a corelat pozitiv cu hs-CRP ($r=0.225$, $p=0.03$). Am găsit niveluri circulante de tMGP semnificativ mai mici la subiecții sănătoși comparativ cu pacienții AV ($p<0,001$) sau AO ($p<0,001$), tMGP fiind mai crescut la grupul AV versus AO ($p<0,05$). În plus, am observat niveluri ridicate de tMGP în subgrupurile BAC ($p<0,001$), AVC ($p=0,001$), HTA ($p<0,001$), DZ ($p<0,001$) și AR ($p<0,001$) comparativ cu subiecții sănătoși. **Concluzii:** Nivelurile circulante de tMGP cresc odată cu inflamația în afecțiunile vasculare și osteoarticulare. Prin validări viitoare, nivelurile ridicate de tMGP ar putea fi utilizate ca instrument de screening pentru identificarea pacienților cu AV și AO.

Cuvinte cheie: MGP, inflamație, afecțiuni vasculare și osteoarticulare

SERUM LEVELS OF TOTAL MATRIX GLA PROTEIN IN PATIENTS WITH VASCULAR AND OSTEOARTICULAR PATHOLOGY

Introduction: The functional vitamin K-dependent matrix Gla protein (MGP) is an extracellular calcification inhibitor, mainly secreted by vascular smooth muscle cells and chondrocytes. The aim of the study was to investigate if there is a difference in circulating MGP between patients with vascular diseases (VD), osteoarticular diseases (OD) and healthy population. **Material and method:** Within the study, we enrolled one group of healthy subjects over 40 years ($n=49$), one group of patients with VD ($n=72$) [coronary artery disease (CAD) ($n=26$), stroke ($n=6$), hypertension (HT) ($n=30$), diabetes mellitus (DM) ($n=10$)] and one OD group ($n=23$) [osteopenia/osteoporosis (OP) ($n=13$) and rheumatoid arthritis (RA) ($n=10$)]. Glucose and lipid profile were assessed in all individuals. An immunoturbidimetric assay was used for serum high sensitivity C-reactive protein (hs-CRP) evaluation. Total serum MGP (tMGP) was assessed with an ELISA method. **Results:** In overall patients, tMGP was positively associated with hs-CRP ($r=0.225$, $p=0.03$). We found significantly lower circulating tMGP in healthy subjects compared to VD ($p<0.001$) or OD patients ($p<0.001$), with higher levels in VD than OD ($p<0.05$). Moreover, we observed higher levels of tMGP within the subgroups of patients with CAD ($p<0.001$), stroke ($p=0.001$), HT ($p<0.001$), DM ($p<0.001$) and RA ($p<0.001$) compared to healthy subjects. **Conclusions:** Circulating tMGP increases with inflammation in vascular and osteoarticular pathology. With further validations, higher circulating tMGP might be used as a screening tool to identify patients with VD and OD.

Keywords: MGP, inflammation, vascular and osteoarticular diseases.

P44. DIAGNOSTICUL SALIVAR: O NOUĂ ABORDARE A MONITORIZĂRII ACTIVITĂȚII HORMONALE ÎN LUPUSUL ERITEMATOS SISTEMIC

Iulia-Ioana STĂNESCU¹, Bogdan CALENIC¹, Alina DIMA¹, Alexandra TOTAN¹, Daniela MIRICESCU¹, Radu RĂDULESCU¹, Cătălina RĂDULESCU¹, Paul BĂLĂNESCU¹, Eugenia BĂLĂNESCU², Daniela BĂDIȚĂ¹, Maria GREABU¹

1 Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila" București, România

2 Spitalul Clinic Colentina, Centrul de Cercetare Colentina, București, România

Introducere: Saliva reprezintă un remarcabil fluid de diagnostic, fiind utilizată pentru a monitoriza o mare varietate de afecțiuni orale și sistemice. În același timp, hormonii sexuali afectează răspunsul imun

normal, deseori fiind cofactori ai instalării afecțiunilor autoimune. Obiectivul principal al studiului nostru este cuantificarea nivelelor salivare ale testosteronului (T2) și 17- β estradiolului (E2) la pacienții cu lupus eritematos systemic (LES) și compararea acestora cu cele ale subiecților non-LES pentru a evalua rolul hormonilor sexuali în patogeniza LES.

Material și metodă: În studiu au fost incluși 45 de pacienți ce îndeplinesc criteriile de diagnostic pentru LES conform Systemic Lupus International Collaborating Clinics (SLICC), 10 subiecți sănătoși și 15 pacienți cu alte afecțiuni autoimune. Nivelele salivare ale E2 și T2 au fost determinate utilizând kituri ELISA.

Rezultate: Nivelele salivare ale E2 la pacientele cu LES au fost semnificativ crescute doar comparativ cu femeile cu vasculită [median (quartile 1; 3) 7.0 (4.3 – 32.3) pg/mL vs 3.9 (3.3 – 4.6) pg/mL, $p=0.04$]. În același timp folosind testul Spearman a fost găsită o corelație pozitivă între nivelul salivar al E2 și parametri clinici importanți precum vârsta la includere ($r=0.357$) și durata tratamentului cu corticosteroizi ($r=0.331$). Mai mult, nivelul salivar E2 a fost identificat ca predictor independent al nefritei asociate lupusului. Nivelele salivare ale T2 au fost semnificativ scăzute la femeile cu LES *versus* subiecții sănătoși [median (quartile 1; 3) 18.1 (11.5 – 72.8) pg/mL vs 218.4 (68.5 – 269.0) pg/mL, $p=0.004$, respectiv vs 78.3 (40.9 – 230.4) pg/mL, $p=0.05$]. În plus, a fost găsită o corelație între nivelele salivare ale T2 și E2 ($p=0.02$; $r=0.376$).

Concluzii: Corelarea pozitivă între nivelele salivare ale E2 și parametrii clinici, nivelele scăzute ale T2 salivar la femeile cu LES *versus* subiecții sănătoși și corelația pozitivă între nivelele salivare ale E2 și T2 promovează utilizarea salivei ca fluid de monitorizare a activității hormonale în LES.

Cuvinte cheie: salivă, lupus eritematos sistemic, hormoni sexuali

SALIVARY DIAGNOSIS: A NEW APPROACH FOR HORMONAL MONITORING IN SYSTEMIC LUPUS ERYTHEMATOSUS

Background: Saliva is a remarkable diagnostic fluid being used for monitoring a wide range of local and systemic diseases. Meanwhile, sexual hormones have been found to interfere with the normal immune response, often being co-factors to the installation of autoimmune diseases. The main aim of our study is to measure salivary levels of testosterone (T2) and 17- β estradiol (E2) in systemic lupus erythematosus patients (SLE) and compare them with those of non-SLE control subjects in order to evaluate the role played by sex hormones in the pathogenesis of SLE.

Material and Method: Our research included 45 SLE patients fulfilling the Systemic Lupus Collaborating Clinics (SLICC) SLE's criteria, 10 healthy subjects and 15 patients with other autoimmune diseases. Salivary T2 and E2 levels were determined using ELISA kits.

Results: Salivary E2 levels in female SLE patients were significantly increased only comparing to vasculitis female patients [median (quartile 1; 3) 7.0 (4.3 – 32.3) pg/mL vs 3.9 (3.3 – 4.6) pg/mL, $p=0.04$]. Meanwhile, positive correlations have been found using Spearman test between salivary E2 levels and several clinical parameters such as age at inclusion ($r=0.357$) and duration of corticosteroid treatment ($r=0.331$). Moreover, E2 salivary level was identified as an independent predictor of the lupus renal nephritis. Regarding T2, salivary levels were found to be significantly lower in SLE female patients compared to both male and female controls [median (quartile 1; 3) 18.1 (11.5 – 72.8) pg/mL vs 218.4 (68.5 – 269.0) pg/mL, $p=0.004$, respectively vs 78.3 (40.9 – 230.4) pg/mL, $p=0.05$]. Furthermore, T2 and E2 salivary levels correlate ($p=0.02$; $r=0.376$).

Conclusions: The positive correlations between E2 salivary levels and clinical parameters, as well as the lower salivary T2 levels in SLE female patients *versus* the healthy subjects and the positive correlation between E2 and T2 salivary levels promote the use of saliva as a monitoring fluid for hormonal activity in SLE.

Keywords: saliva, systemic lupus erythematosus, sexual hormones

P45. ACTIVITATE LACTONAZICA SCAZUTA A PON1 LA COPIII AUTISTI FARA TRATAMENT MEDICAMENTOS

Eleonora DRONCA, Razvan RUSU, Horatiu COLOSI

UMF Iuliu Hațieganu Cluj Napoca

Obiective: Paraoxonaza 1 (PON1) serica este o enzima asociata HDL, cu functie importanta in protectia celulara fata de agenti toxici ca pesticidele organofosforice, lipidele oxidate din LDL, endotoxine bacteriene si, de asemenea, cu rol important in metabolizarea unor medicamente.

In acest studiu s-au analizat activitatile serice ale PON1 la copii cu autism fara tratament medicamentos si asocierea cu markerii stresului oxidativ.

Pacienti si metode: Studiul a inclus 18 pacienti cu autism (varsta 62.9 ± 4.3 luni) si 13 copii sanatosi (varsta 78.1 ± 4.9 luni). Activitatea arilesterazica, paraoxonazica stimulata cu NaCl si lactonazica au fost determinate spectrofotometric folosind fenilacetat, paraoxon si dihidrocinumarina ca substraturi. Prin metode colorimetrice au fost masurate nivelele compusilor 4-hidroxinonenal (4-HNE PAs) si glutatiunul redus eritrocitar (GSH).

Rezultate: Activitatea lactonazica a PON1 a fost semnificativ redusa la copiii cu autism comparativ cu lotul de control ($P < 0.05$). Activitatea arilesterazica influenteaza semnificativ activitatea lactonazica ($p < 0.001$), dar nu si pe cea paraoxonazica stimulata cu NaCl ($p = 0.55$). Nu au existat diferente semnificative intre copiii cu autism si lotul de control in ceea ce priveste 4-HNE PAs ($p = 0.368$) si GSH ($p = 0.586$).

Concluzii: La copiii cu autism netratati medicamentos exista activitate lactonazica scazuta, ceea ce sugereaza o inactivare specifica fie printr-o mutatie genica, o interactiune anormala cu HDL sau nivele alterate a anumitor compusi serici.

Cuvinte cheie: autism; paraoxonaza 1; arilesteraza; lactonaza; 4-hidroxinonenal; glutatiun.

DRUGS-NAIVE AUTISTIC CHILDREN HAVE REDUCED PON1 LACTONASE ACTIVITY BUT NOT ARYLESTERASE AND PARAOXONASE ACTIVITIES

Objectives: Serum paraoxonase-1 (PON1), a HDL-associated enzyme, acts as important guardian against cellular damage from toxic agents, such as organophosphates, oxidized lipids in the LDL, bacterial endotoxins, and also plays an important role in the metabolism of certain drugs.

The present study questions whether PON1 activities are impaired in drugs-naive autistic children and if they are associated with oxidative stress markers.

Methods and Results: We enrolled drugs-naive 18 autistic subjects (age: 62.9 ± 4.3 months) and 13 healthy controls (78.1 ± 4.9 months). Serum PON1 arylesterase, NaCl-stimulated paraoxonase and lactonase activities were assessed spectrophotometrically by rates of hydrolysis of phenyl acetate, para-

oxon, and dihydrocoumarin respectively. Serum 4-hydroxynonenal protein adducts (4-HNE PAs) and erythrocyte reduced glutathione (GSH) levels were measured using colorimetric assays.

We found that only lactonase activity was significantly reduced ($P < 0.05$) in children with autism compared to healthy controls. The arylesterase activity significantly influenced the lactonase activity ($p < 0.001$), but not the NaCl-stimulated paraoxonase activity ($p = 0.55$). There was no difference in 4-HNE PAs levels ($p = 0.368$) and GSH levels ($p = 0.586$) between healthy controls and autistic subjects.

Conclusions: Drugs-naïve autistic children have reduced PON1 lactonase activity but not arylesterase and paraoxonase activities. This suggests a specific inactivation of PON1 lactonase activity due to an unidentified gene mutation, altered interaction with HDL, or an abnormal level of some serum substances.

Keywords: autism; paraoxonase-1; arylesterase; lactonase; 4-hydroxynonenal; glutathione.

P46. AVANTAJELE BIOCHIMIEI USCATE ÎN EVALUAREA COLESTAZEI LA PACIENȚII PEDIATRICI

Bianca Ioana CHESARU, Michaela DOBRE, Alina Viorica IANCU, Gabriela GURĂU, Maria Mirabela MATEIU

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

Introducere: Studiul efectuat și-a propus evidențierea contribuției bilirubinei delta (DELB) în diagnosticul și supravegherea colestazei la pacienții pediatrici.

Materiale și metode: Studiul a inclus un lot de 94 de pacienți (0–19 ani) internați în Spitalul Clinic de Urgență pentru Copii "Sf. Ioan" din Galați (perioada 2013–2016), pentru care s-a evaluat DELB. Prin biochimie uscată (analizorul *Vitros 5.IFS*), s-au determinat bilirubina totală (TBil), neconjugată (Bu), conjugată (Bc), directă (DBil), delta (DELB) și enzime hepatice. S-a calculat raportul DBil/TBil și DELB/TBil.

Rezultate: Aplicând algoritmul indicat de Wallach în *Interpretarea testelor de laborator*, în care se utilizează raportul DBil/TBil, structura lotului a fost următoarea: 54 subiecți (57%) au fost anicterici, cu valori normale pentru TBil și DBil, și 40 (43%) au prezentat diverse forme de icter, respectiv 11 subiecți (11.7%) – icter prehepatic, 12 (12.7%) – icter intrahepatic și 17 (18%) – icter posthepatic. Calcularea ulterioară a raportului DELB/Tbil, ca marker colestatic, a evidențiat că 14 din cei 54 subiecți anicterici manifestă colestază semnificativă și 2/12 ictere intrahepatice sunt însoțite de colestază moderată. Reconsiderarea lotului în funcție de valoarea raportului DELB/TBil, în conformitate cu date din literatura de specialitate, a pus în evidență următoarea structură: 15 copii (16%) fără colestază, 60 (63.8%) cu colestază moderată și 19 (20.2%) cu colestază severă.

Concluzii: Adeseori, valorile normale ale Dbil substituie valorile patologice ale DELB, împiedicând evidențierea obstrucției biliare. Determinarea DELB/TBIL facilitează atât diagnosticul cât și monitorizarea evoluției colestazei la pacienții pediatrici, care poate fi prezentă în forme mai puțin severe și în cazurile anicterice.

Cuvinte cheie: bilirubina delta, colestază, copii

ON THE BENEFITS OF DRY BIOCHEMISTRY FOR THE MANAGEMENT OF CHOLESTASIS IN PAEDIATRIC PATIENTS

Introduction: This study aimed to highlight the importance of analyzing delta bilirubin (DELB) to facilitate the diagnosis and monitoring of cholestasis in children.

Materials and methods: 94 patients (0-19 y.o.), all having been admitted to the “St. Ioan” Clinical Emergency Hospital for Children of Galati between 2013–2016, were surveyed for DELB. Indicators such as total bilirubin (TBil), unconjugated (Bu), conjugated (Bc), direct (DBil) and delta (DELB) bilirubin, as well as liver enzymes were evaluated using a dry biochemistry analyzer (*Vitros 5.1FS*) for all patients. Corresponding DBil/TBil and DELB/TBil ratios were calculated.

Results: The algorithm from *Wallach's Interpretation of Diagnostic Tests*, based on the DBil/TBil ratio, was used to classify the study lot, whereby 54 subjects (57%) were anicteric, showing normal TBil and DBil values, while 40 (43%) exhibited various forms of jaundice. Of the latter, 11 patients (11.7%) had pre-hepatic, 12 (12.7%) had intra-hepatic, and 17 (18%) had post-hepatic jaundice. Calculations of the DELB/TBil ratio, as a cholestasis marker, revealed that 14 anicteric subjects exhibited significant cholestasis and 2 cases of intra-hepatic jaundice were accompanied by moderate cholestasis. Structuring the study lot via DELB/TBil ratio yields the following groups: 15 children (16%) without cholestasis, 60 (63.8%) with moderate and 19 (20.2%) with severe cholestasis.

Conclusions: Often, a normal DBil result supersedes pathological values of DELB, and the identification of biliary obstruction is delayed or impaired. Determining the DELB/TBil ratio facilitates the management of pediatric cholestasis, which may be present in mild form even in anicteric patients.

Keywords: delta bilirubin, cholestasis, children

P47. EVALUAREA FUNCȚIEI MITOCONDRIALE RESPIRATORII LA NIVEL TROMBOCITAR CA BIOMARKER NOU ÎN AFECȚIUNILE CARDIO-METABOLICE: STUDIU PRELIMINAR

Oana DUICU, Alexandra PETRUȘ, Corina RAȚIU, Lavinia NOVEANU, Danina MUNTEAN, Rodica LIGHEZAN

Universitatea de Medicină și Farmacie "Victor Babeș" Timișoara, România

Introducere: Trombocitele sunt actualmente recunoscute ca markeri predictivi ai disfuncției mitocondriale induse de stress-ul metabolic, cu potențial rol de biomarker în monitorizarea progresiunii și răspunsului terapeutic în numeroase maladii cronice.

Obiective: Scopul prezentului studiu a fost de a standardiza protocolul de izolare a trombocitelor și de măsurare a respirației mitocondriale prin respirometrie de înaltă rezoluție la pacienții cu sindrom metabolic.

Material și metodă: Probele de sânge recoltate de la voluntari sănătoși și pacienți cu sindrom metabolic au fost supuse la două centrifugări consecutive (500 g/10 min și respectiv 4600 g/5 min), în vederea obținerii unei plasmе bogate în trombocite (1000×10^6 /mL). Respirația trombocitelor umane izolate a fost evaluată la 37°C prin respirometrie de înaltă rezoluție (Oxigraful-2k, Oroboros Ltd.), după permeabilizarea membranei cu digitonină ($1\mu\text{g}/1 \times 10^6$ platelets) și utilizând protocolul SUIIT (Substrate-

Uncoupler-Inhibitor-Titration) adaptat pentru evaluarea respirației dependente de complexe I și II ale lanțului respirator.

Rezultate: Parametrii funcției respiratorii, raportul controlului respirator (RCR - ce reflectă eficiența cuplării fosforilării oxidative) și a raportului controlului respirației bazale (R/E - ce evaluează disfuncția mitocondrială) au fost semnificativ reduse la pacienții diagnosticați cu sindrom metabolic: RCR - 2.65 ± 0.3 vs. 4.23 ± 0.16 ($p < 0.001$) și respectiv, R/E - 0.31 ± 0.01 vs. 0.42 ± 0.04 ($P < 0.05$).

Concluzie: Evaluarea funcției mitocondriale la nivelul trombocitelor izolate din sângele periferic prin respirometrie de înaltă rezoluție reprezintă o metodă fiabilă de monitorizare a profilului bioenergetic uman în vederea depistării precoce a disfuncției mitocondriale drept biomarker potențial în afecțiunile cardio-metabolice.

Cuvinte cheie: mitocondrii, trombocite, afecțiuni cardio-metabolice

Cercetare finanțată prin proiectul de cercetare nr. contract 232/26.11.2015 -15819/9.12.2015 (R.L.).

ASSESSMENT OF MITOCHONDRIAL RESPIRATORY FUNCTION IN HUMAN PLATELETS AS NOVEL BIOMARKER IN CARDIO-METABOLIC DISEASES: A PRELIMINARY STUDY

Introduction: Thrombocytes are nowadays recognized as early predictive markers of mitochondrial dysfunction induced by metabolic stress with a promising potential use in monitoring the progression and therapeutical response in several chronic pathologies.

Objective: This study was purported to standardize the protocol for platelet isolation and to measure mitochondrial respiration using high-resolution respirometry in patients with metabolic syndrome.

Materials and methods: Blood samples were obtained from age-matched healthy adult donors and patients with metabolic syndrome and were subjected to two-step centrifugation (500 g/10 min and 4600 g/5 min, respectively) in order to obtain a platelet-rich plasma sample (1000×10^6 /mL). Respiration of isolated human platelets was assessed at 37°C using the Oxygraph-2k (Oroboros Ltd.), after plasma membrane permeabilization with digitonin ($1 \mu\text{g}/1 \times 10^6$ platelets), according to the Substrate-Uncoupler-Inhibitor-Titration (SUIT) protocol adapted to evaluate both complex I and complex II-dependent respiration.

Results: Respiratory parameters, the respiratory control ratio (RCR - reflecting oxidative phosphorylation coupling efficiency) and routine control ratio (R/E - as a measure of mitochondrial dysfunction) were impaired in patients with diagnosed metabolic syndrome: RCR - 2.65 ± 0.3 vs. 4.23 ± 0.16 ($p < 0.001$), and R/E - 0.31 ± 0.01 vs. 0.42 ± 0.04 ($P < 0.05$).

Conclusion: Assessment of mitochondrial function in platelets isolated from peripheral blood by high-resolution respirometry represents a reliable method to monitor the bioenergetic profile in humans and to early detect the presence of mitochondrial dysfunction as potential novel biomarker in cardio-metabolic diseases.

Keywords: mitochondria, platelets, cardio-metabolic diseases

This work was supported by the research grant contract nr. 232/26.11.2015 -15819/9.12.2015 (R.L.).

P48. EFECTELE PARTICULELOR CU NANO-E VERSUS CELE ALE ULEIULUI DE PEȘTE ASUPRA FICATULUI ȘI PANCREASULUI - UN STUDIU EXPERIMENTAL COMPARATIV

Mihaela BALABAN¹, Bogdana VÎRGOLICI¹, Bogdan CALENIC¹, Alexandra TOTAN¹, Daniela MIRICESCU¹, Elvira GUBGEAC², Horia VÎRGOLICI¹, Maria GREABU¹, Maria MOHORA¹

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

2 Universitatea de Științe Agronomice și Medicină Veterinară, București

Introducere: În studii experimentale pe șobolani hrăniți cu o dietă hiperlipidică pot fi studiate ficatul gras non-alcoolic (NAFLD) și boala pancreatică steatozică non-alcoolică (NAFPD).

Scopul acestui studiu este compararea efectelor induse de administrarea nanoparticulelor încărcate cu vitamina E (nano-E) versus cele ale uleiului de pește în NAFLD și NAFPD.

Materiale și metode: Studiul s-a desfășurat pe 3 grupuri a câte 5 masculi de șobolani Wistar, care au fost hrăniți cu o dietă hiperlipidică timp de 1 lună. Grupul de obezi (O) nu a primit niciun supliment. Grupul nano-E (N) a primit particule încărcate cu nano-E 1mg/kgc asociate dietei, în timp ce grupului L i-a fost administrat ulei de pește Lysi 1 ml/kgc, în paralel cu dieta grasă. În plus, a fost folosit un grup martor de 5 șobolani Wistar, care a primit dietă standard. Malonil-dialdehida (MDA) și glutatationul total au fost măsurați spectrofotometric pe omogenatele tisulare de ficat și pancreas și au fost efectuate examene histopatologice de țesut.

Rezultate: Examenul histopatologic a evidențiat în grupul O steatoză hepatică și pancreatică. Grupurile N și L au fost foarte similare și ambele remedii administrate au prevenit steatoza și au avut efecte antiinflamatorii. Valoarea MDA a fost mai crescută în grupul O față de grupurile N și L, care au înregistrat valori similare ale MDA, iar glutatationul total a avut o valoare mai crescută în grupul N ($p < 0.05$) pe omogenatul pancreatic.

Concluzii Atât particulele încărcate cu nano-E, cât și uleiul de pește au avut efect protector asupra ficatului și pancreasului și au prevenit steatoza pe model de șobolan hrănit cu dietă hiperlipidică. Particulele nano-E au îmbunătățit statusul antioxidant al pancreasului.

Cuvinte-cheie: particule încărcate cu nano-E; ulei de pește

LIVER AND PANCREAS EFFECTS OF NANO-E CHARGED PARTICLES VERSUS FISH OIL – A COMPARATIVE EXPERIMENTAL STUDY

Introduction: In high fat diet rat model, nonalcoholic fatty liver disease (NAFLD) and nonalcoholic fatty pancreas disease (NAFPD) can be studied. The aim of this study is to do a comparison of the effects of nano-E particles versus fish oil in NAFLD and NAFPD.

Materials and methods: Three groups of five male Wistar rats were fed a high fat diet for one month. The obese group (O) did not take any supplement. The nano-E group (N) took nano-E charged particles 1 mg/kgc associated to the diet, while the L group took Lysi oil 1 ml/kgc in parallel with the fat diet. A control group of five rats on a standard diet was also enrolled. Malonyldialdehyde (MDA) and total glutathione were measured on liver and pancreas tissue homogenates and histopathologic exams of tissue were done.

Results: Histopathological examination revealed steatosis of the liver and pancreas in the O group. The N and L group were very similar and both remedies prevent steatosis and have anti-inflammatory results. The MDA values were higher in O group, but similar in the N and L groups and total glutathione was higher in the pancreas, in the N group ($p < 0.05$).

Conclusions: Both nano-E and fish oil protect the liver and the pancreas and prevent steatosis in high fat diet rat model. Nano-E charged particles improved the antioxidant status of pancreas.

Keywords: nano-E charged particles; fish oil

P49. EFECTELE ULEIULUI DE NIGELLA SATIVA ASUPRA GRĂSIMII ECTOPICE CARDIACE

Maria Zinaida CONSTANTINESCU, Bogdana VIRGOLICI, Laura POPESCU, Horia VIRGOLICI, Cosmina Daciana ȘTEFAN, Daniela MIRICESCU, Daniela LIXANDRU, Maria MOHORA

Universitatea de Medicină și Farmacie "Carol Davila", București, Romania

Introducere: Uleiul de Nigella sativa îmbunătățește dislipidemia, crește sensibilitatea la insulină și are efecte antiinflamatoare.

Scop: Scopul acestui studiu este acela de a face o corelație între lipidoza cardiacă, sensibilitatea la insulină și valorile parametrilor biologici studiați pe șobolanii cărora le-a fost indusă obezitatea experimental prin dietă hipercalorică/hiperlipidică și apoi li s-a administrat ulei de chimen ca supliment alimentar.

Materiale și metode: Doisprezece șobolani Wistar au fost crescuți pe dietă hipercalorică/hiperlipidică și împărțiți în două grupuri: grupul O (care a primit doar dieta grasă) și grupul T (care a primit în plus ulei de Nigella sativa 1 mg/kg corp) timp de șase săptămâni. La final au fost efectuate examenele imunohistopatologice, evaluarea grăsimii ectopice folosind colorația histochimică Sudan III și testul imunohistochimic de determinare a proteinei fosforilateAkt (pAkt), folosind anticorpi pAkt. Aceste examene au fost corelate cu determinările adipocitokinelor serice, adiponectina și rezistina și a parametrilor sanguini (trigliceride, colesterol, HDL-c, transaminaze, acid uric, albumine, proteine totale, uree, gamma-GT, glucoza). În paralel aceste determinări s-au efectuat și pe un lot control, C, format din 6 șobolani.

Rezultate: La nivelul cardiomiocitelor, în grupul șobolanilor obezi O, s-au observat lipidoză și o concentrație scăzută a proteinei Akt fosforilate în comparație cu grupul control, C și anume 20.67%, respectiv 25%, $p < 0.05$. La grupul T vs O s-au determinat valori serice mai mici pentru trigliceridemie (78.40 vs 150.93 mg/dL) ($p < 0.03$) și concentrații mai crescute ale adiponectinei (1.54 vs 1.33 ng/mL) ($p < 0.05$) și mai scăzute ale rezistinei (3.74 vs 4.83 ng/mL) ($p < 0.01$). În plus, tratamentul cu Nigella sativa a prevenit cardioliipoza și a crescut concentrația proteinei pAkt ($p < 0.05$) în celulele cardiace (pAkt 26.22 vs 20.67%).

Concluzie: Uleiul de Nigella sativa previne lipidoza cardiacă, corectează hipertrigliceridemia și are efecte protectoare la nivelul inimii în dieta hipercalorică/hiperlipidică la șobolanii Wistar.

Cuvinte cheie: Nigella sativa, cardioliipoză, grăsime ectopică

THE EFFECT OF NIGELLA SATIVA OIL ON CARDIAC ECTOPIC FAT

Introduction: Nigella Sativa oil improves dyslipidemia, insulin sensitivity and has anti-inflammatory effects.

Aim: The aim of this study was to find correlations between cardiac lipidosis, insulin sensitivity and biological values in two groups of Wistar rat fat diet model, with and without treatment with Nigella Sativa oil.

Materials and methods: 12 male Wistar rats were fed a high caloric/high fat diet and divided in O group (only on fat diet) and T group (took also Nigella Sativa oil, 1 mg/kg) for six weeks. In cardiomyocytes, immunohistopathological exam, by using phosphorylated Akt (pAkt) antibodies and Sudan stain for lipids were done. The results were correlated with serum adipocytokines levels (adiponectin and resistin) and with biological serum parameters (triglycerides, cholesterol, HDL-c, transaminases, uric acid, albumin, total proteins, urea, gamma-GT, glucose). 6 rats were enrolled as controls (group C).

Results: In cardiomyocytes, in the obese rats, group O versus group control, C, cardioliipidosis was observed and a low phosphorylated Akt protein concentration was measured (20.67% and 25%, respectively, $p < 0.05$). In T group vs O group, lower levels for triglyceridemia (78.40 vs 150.93 mg/dL) ($p < 0.03$), resistin (3.74 vs 4.83 ng/mL) ($p < 0.01$) and higher levels for adiponectin (1.54 vs 1.33 %) ($p < 0.05$) were determined. The treatment prevented cardioliipidosis and increased pAkt protein values ($p < 0.05$) in cardiac cells, (pAkt 26.22 vs 20.67%).

Conclusion: Nigella sativa oil prevented cardiac lipidosis, improved triglyceridemia and had cardiac protective effects in the high fat diet rat model.

Keywords: Nigella sativa, cardioliipidosis, ectopic fat

P50. RELAȚIA DINTRE NIVELUL SERIC AL ACIDULUI URIC ȘI SINDROMUL METABOLIC: DIFERENȚE ÎN FUNCȚIE DE SEX ȘI VÂRSTĂ

Dana Emilia VELIMIROVICI¹, Delia BERCEANU VĂDUVA¹, Daniela CIPU¹, M. VELIMIROVICI¹, Dana Emilia BĂIBĂȚĂ¹, Oana COSOR¹, Livia STÂNGĂ¹, I. GOGOȘĂ², Maria RADA¹

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

2 Universitatea de Științe Agricole și Medicină Veterinară "Regele Mihai I al României", Timișoara, România

Obiective: Scopul acestui studiu este de a investiga relația dintre nivelul seric al acidului uric (AU) și sindromul metabolic (SMet), diferențiat în funcție de vârstă și sex.

Material și metodă: Au fost incluși în studiu 262 pacienți (132 femei și 130 bărbați), cu vârstă medie 52.7 ± 14 ani. Hiperuricemia (HU) a fost definită printr-un nivel seric al AU ≥ 7 mg/dl la bărbați și ≥ 6 mg/dl la femei (conform ghidului EULAR), iar SMet a fost definit conform criteriilor International Diabetes Foundation (IDF).

Rezultate: Prevalența SMet la lotul studiat a fost de 35.11%, iar a hiperuricemiei de 16.79%. Prevalența SMet și a HU diferă semnificativ în funcție de sex și vârstă. La femei HU și apariția SMet crește odată cu vârsta, astfel că la femeile peste 65 ani, HU este prezentă în proporție de 13.04%, iar SMet

43.47%, pe când la bărbați acestea nu variază semnificativ în funcție de vârstă. SMet are o prevalență mai mare la pacienții cu HU decât la cei fără HU. Prevalența HU la pacienții cu SMet a fost de 32.25% la femei versus 45.90% la bărbați.

Concluzii: Prevalența HU și a SMet diferă în funcție de vârstă și sex. Prevalența SMet a fost mai crescută la subiecții de sex masculin de vârstă medie, iar cea a HU nu variază semnificativ în funcție de vârstă. La femei prevalența HU și a SMet a fost mai crescută la grupa de vârstă peste 65 ani. Hiperuricemia în rândul femeilor de vârstă medie poate prezice dezvoltarea SMet.

Cuvinte cheie: sindrom metabolic, hiperuricemie, vârstă

THE RELATION BETWEEN METABOLIC SYNDROME AND THE LEVEL OF SERUM URIC ACID: GENDER AND AGE DIFFERENCES

Objectives: The goal of this study is to assess the relationship between the level of serum uric acid (UA) and the presence of the MetS according to age and gender.

Material and methods: 262 patients were enrolled (132 women and 130 men); the mean age was: 52.7 ± 14 year. Hyperuricemia (HU) was considered when the level of serum UA ≥ 7 mg/dl in men, and ≥ 6 mg/dl in women; MetS was defined according to the International Diabetes Foundation (IDF) criteria.

Results and discussions: MetS prevalence was 35.11%; HU incidence was 16.79%. The prevalence of MetS and HU was different depending on age and patients gender. In case of women HU and MetS increases by age, so after 65 years HU was present in 13.04% and MetS in proportion of 43.47%, while for men they do not vary significantly by age. MetS has a higher prevalence in patients with HU than in those without HU. HU prevalence was 32.25% in female patients with MetS versus 45.90% in male patients.

Conclusions: The prevalence of HU and of MetS differs according to age and gender. The highest prevalence of MetS was recorded in middle-aged male patients; the prevalence of HU has no significant changes according to age. In female patients, the prevalence of HU and of MetS is higher in those >65 years. HU in middle-aged female patients can predict the MetS development.

Keywords: metabolic syndrome, hyperuricemia, age

P51. REZULTATE DE LABORATOR LA PACIENȚI HIPERTENSIVI CU DISFUNCTIE COGNITIVĂ ȘI TULBURĂRI MICROVASCULARE DOCUMENTATE

Enikő NEMES-NAGY, Zoltán PREG, Beáta BARÓTI, Róbert TRIPON,
Márta GERMÁN-SALLÓ

UMF Tîrgu Mureș

Introducere: Hipertensiunea arterială este o boală cronică cauzând complicații microvasculare. Factorii de risc cardiovascular pot fi evaluați prin investigații de laborator. Deteriorarea microvaselor creierului provoacă tulburări cognitive/demență, iar markerii nefropatiei sunt microalbuminuria, creșterea creatininei/cistatinei C. În cadrul acestui studiu am investigat dacă analizele de laborator reflectă trăsături caracteristice la pacienții cu disfuncție cognitivă, respectiv s-a urmărit existența unor dovezi obiective a bolii microvasculare retiniene și cerebrale

Material și metodă: Între noiembrie 2016-februarie 2017 am efectuat un screening pentru tulburările cognitive la hipertensivi grad 2 și 3 admiși la Clinica de Recuperare Cardiovasculară din Tîrgu Mureș folosind trei chestionare validate. Dintre 60 de subiecți evaluați 12 au fost identificați cu discrete tulburări cognitive pe baza chestionarelor. Vârsta medie a fost 74,1ani $\pm$ 3,4 (SD). La acești pacienți am urmărit prezența unor markeri inflamatori (HS-CRP, TNF- α și evaluarea funcției renale (creatinină, microalbuminurie, cistatin C), respectiv s-au utilizat metode imagistice pentru obiectivizarea altor afectări microvasculare. S-a efectuat rezonanța magnetică a creierului (MRI), fotografiile retiniene cu Zeiss Visucam 500. GraphPadInStat s-a folosit pentru statistică **Rezultate:** 4 pacienți/33% au avut HS-CRP între 3-10 mg/l, 10 pacienți /83% având valori de cistatină C peste 1 mg/l, 6 pacienți/50% au prezentat TNF- α peste 8 pg/ml, așadar la majoritatea pacienților s-au observat markeri inflamatori crescuți și nefropatie incipientă. Am găsit corelație între HS-CRP și TNF- α ($r=0,6758$, $p=0,0224$), corelația dintre creatinină și cistatină C este la limita semnificației ($r=0,5334$, $p=0,0741$). Jumătate dintre pacienți au fost diabetici și obezi (IMC>30). Intersectare arteriovenoasă, lacune cerebrale au fost vizibile la aproape 2/3 dintre subiecți.

Concluzii: Majoritatea pacienților au prezentat semne de tulburări ale microcirculației retinei și a creierului și au avut numeroase rezultate de laborator patologice a căror investigare este importantă pentru a preveni și trata complicațiile cronice ale hipertensiunii. Pe fundalul acestor manifestări ar putea fi procese inflamatorii.

Finanțare: Academia Maghiară de Științe, contract nr.0346/26.02.2016

Cuvinte cheie: hipertensiune arterială, disfuncție cognitivă, microvasculopatie

LABORATORY RESULTS IN HYPERTENSIVE PATIENTS WITH COGNITIVE IMPAIRMENT

Introduction: Hypertension is a chronic disease causing microvascular complications. Cardiovascular risk factors can be evaluated by laboratory investigations. Damage of the brain's small vessels leads to cognitive impairment, markers of nephropathy are microalbuminuria, increased creatinine/cystatin C. In this study, we investigated whether laboratory analyses reflect characteristic features in patients with cognitive dysfunction and we followed the presence of microvasculopathy in the brain and retina based on objective proofs.

Material, methods: Grade 2 and 3 hypertensive patients admitted to the Cardiovascular Rehabilitation Clinic in Tîrgu Mures between November 2016-February 2017 were screened for cognitive impairment using three validated questionnaires. From 60 subjects screened 12 were had mild cognitive impairment based on the questionnaires. These were examined for retinal and cerebral microvascular disease signs. Average age of them was 74.1 years $\pm$ 3.4 (SD). In these patients we evaluated the presence of inflammatory markers (high-sensitive C-reactive protein ,HS-CRP TNF- α), and kidney function (creatinine, microalbuminuria, cystatin C). Brain magnetic resonance (MRI) was performed, retinal photographs were taken with Zeiss Visucam 500. GraphPadInStat was used for statistics.

Results: 4 patients/33% had HS-CRP between 3-10 mg/l, 10 patients/83% had cystatin C results exceeding 1 mg/l, 6 patients/50% presented TNF- α higher than 8 pg/ml, so in the majority of the patients we found increased inflammatory markers and early stage nephropathy. We found correlation between HS-CRP and TNF- α ($r=0.6758$, $p=0.0224$), correlation between creatinine-cystatin C results was not quite

significant ($r=0.5334$, $p=0.0741$). Half of the patients were diabetic and obese ($BMI>30$). Arteriovenous crossing signs and brain lacunes were visible in almost 2/3 of the subjects.

Conclusions: The majority of the patients presented signs of retinal and brain microcirculation defects and several pathological laboratory result which should be important to further investigate in order to prevent and treat late complications of hypertension. In the background of these manifestations might be inflammatory processes.

Funding: Hungarian Academy of Science, contract nr. 0346/26.02.2016

Key words: hypertension, cognitive dysfunction, microvasculopathy

P52. NANOPARTICULE ORGANICE PENTRU TRATAMENTUL AFECȚIUNILOR ORALE

Maria Justina Roxana VÎRLAN¹, Bogdan CALENIC¹, Daniela MIRICESCU¹, Daniela Elena COSTEA², Gabriela NEGROIU³, Cristina M.SABLIOV⁴, Mihaela Roxana CÎMPAN⁵, Maria GREABU¹

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

2 Universitatea din Bergen, Bergen, Norvegia

3 Institutul de Biochimie al Academiei Române, București, România

4 Universitatea de Stat din Louisiana și LSU Ag Center, Baton Rouge, Louisiana, SUA

5 Universitatea din Bergen, Bergen, Norvegia

Introducere: Nanoparticulele (NP) organice ar putea fi folosite pentru eliberarea controlată de medicamente în tratamentul afecțiunilor orale. Scopul acestui studiu este de a determina efectul a două tipuri de NP organice asupra celulelor aflate în cavitatea orală, în condiții normale sau patologice. Particulele utilizate au fost NP din acid poli-lacto-co-glicolic (PLGA NP), precum și NP din PLGA acoperite de chitosan (PLGACHi NP).

Materiale și metode: Keratinocitele orale umane normale (KON), fibroblastele orale umane normale (FON) și celulele din pulpa dentară (CPD) au fost izolate de la adulți clinic sănătoși. De asemenea, s-au utilizat și keratinocite umane premaligne POE9, keratinocite canceroase immortalizate 5PT, precum și fibroblaste asociate carcinomului scuamos oral OSCC-1. KON, FON, CPD, POE9 și OSCC-1 au fost expuse timp de 24 h la 5 $\mu\text{g/mL}$, 20 $\mu\text{g/mL}$ și 200 $\mu\text{g/mL}$ NP PLGA și NP PLGACHi. S-a determinat capacitatea NP PLGA și NP PLGACHi de a pătrunde în celulele orale.

Rezultate: Imaginile de microscopie cu imunofluorescență au arătat încorporarea NP PLGACHi în interiorul KON, FON, POE9, 5PT și OSCC-1. NP PLGACHi nu au fost preluate de către CPD. În mod interesant, NP PLGA nu au penetrat nici una dintre liniile celulare folosite în experiment.

Concluzii: NP organice folosite în acest studiu nu sunt potrivite pentru aplicații ce vizează CPD, deoarece nu sunt preluate de aceste celule. Internalizarea NP PLGACHi de către keratinocitele și fibroblastele orale umane recomandă folosirea acestora ca viitoare sisteme de eliberare controlată în tratamentul afecțiunilor mucoasei orale.

Cuvinte cheie: nanoparticule, celule orale, chitosan

ORGANIC NANOPARTICLES FOR ORAL DISEASE TREATMENT

Introduction: Organic nanoparticles (NP) could be used to deliver drugs to the oral mucosa for dental diseases treatment. The aim of this study was to determine the effect of two organic NP on the cells found in the oral cavity, in normal and in patologic conditions. The NP used were poly-lactic-co-glycolic acid (PLGA NP) and chitosan covered PLGA NP (PLGACHi NP).

Materials and methods: Normal human oral keratinocytes (NOK), normal human oral fibroblasts (NOF) and human dental pulp cells (DPC) were isolated from healthy patients. Immortalized premalignant human keratinocytes POE9, immortalized cancer keratinocytes 5PT and OSCC-1 cells, oral squamous carcinoma - associated fibroblasts were also used. NOK, NOF, DPC, 5PT, POE9 and OSCC-1 cells were exposed for 24 h to 5 µg/mL, 20 µg/mL and 200 µg/mL PLGA NP and PLGACHi NP. The ability of the PLGACHi NP and PLGA NP to penetrate the oral cells was determined.

Results: The fluorescence microscopy images demonstrated the uptake of PLGACHi NPs inside NOK, NOF, POE9 5PT and OSCC-1 cells. There is supporting evidence of PLGACHiNP uptake inside NOK, NOF, POE9, 5PT and OSCC-1 cells. PLGACHi NP were not incorporated by the DPC. Interestingly, PLGA NP did not seem to penetrate any of the cell lines used in the experiment.

Conclusions: The organic NP used in the present study are not suitable in applications regarding DPC, as they do not enter this cells. The internalization of PLGACHi NP by human keratinocytes and fibroblasts, highly recommended these compounds for being used in drug delivery systems to the oral mucosa.

Keywords: nanoparticles, oral cells, chitosan

P53. EFECTUL PROTECTIV AL NANOPARTICULELOR ÎNCĂRCATE CU VITAMINA E LA NIVEL RENAL ȘI CEREBRAL PE ȘOARECI HRĂNIȚI CU DIETĂ GRASĂ

Adriana DINU¹, Bogdana VÎRGOLICI¹, Bogdan CALENIC¹, Alexandra TOTAN¹, Daniela MIRICESCU¹, Elvira GUBGEAC², Horia VÎRGOLICI¹, Maria GREABU¹, Maria MOHORA¹

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

2 Universitatea de Științe Agronomice și Medicină Veterinară, București

Introducere: Scopul studiului este de a evalua efectele administrării de nanoparticule încărcate cu vitamina E la nivel renal și cerebral, pe model experimental, la șobolani cu dietă hipercalorică/grasă.

Materiale și metode: Studiul s-a desfășurat pe un lot de 10 șobolani Wistar de sex masculin, hrăniți cu dietă cu conținut caloric crescut, împărțiți astfel: grupul de obezi (grupul O) format din 5 șobolani Wistar nu a primit niciun supliment; grupul nanoE (grupul N) format din 5 șobolani Wistar a primit suplimentar nanoparticule încărcate cu vitamina E asociate dietei. Lotul standard a fost alcătuit din 10 șobolani Wistar de sex masculin alimentați cu dietă normocalorică împărțiți în două grupuri: (grupul S+) cu administrare de nanoE și (grupul S-) fără administrare de nanoE. Durata tratamentului a fost de 21 de zile, iar doza administrată a fost de 1 mg/kgc de nanoparticule încărcate cu vitamina E.

Rezultate: Au fost analizați parametrii biologici plasmatici: glucoza, colesterolul, trigliceridele, transaminazele, creatinina, ureea, proteinele totale și activitatea fosfatazei alcaline și s-a făcut examinarea histopatologică a rinichilor și creierului. Grupul O față de grupul S- a prezentat valori crescute ale trigliceridelor și o activitate crescută a fosfatazei alcaline ($p < 0.05$). Tratamentul cu nanoE

nu a normalizat valorile crescute ale acestor parametri. Nu au fost diferențe semnificative ale valorilor parametrilor biologici între grupul S- și grupul S+. În grupul O s-a descris satelitoză, neurofagie și hemoragii cerebrale, dar în grupul N, tratamentul cu nanoE a păstrat structura neuronilor la nivelul cortexului. De asemenea, la grupul N s-a păstrat spațiul de ultrafiltrare la nivelul capsulei nefronilor.

Concluzie: Tratamentul cu nanoparticule încărcate cu vitamina E administrat șoarecilor ce au primit dietă hipercalorică/grasă are efecte reno- și cerebroprotective.

Cuvinte cheie: nanoparticule încărcate cu vitamina E, rinichi, creier

RENO-AND CEREBRO-PROTECTIVE EFFECTS OF NANOPARTICLES CHARGED WITH VITAMIN E IN A HIGH FAT DIET RAT MODEL

Introduction: The aim of this study is to evaluate the effects of nanoparticles charged with vitamin E (nanoE) on kidney and brain in a fat diet rat model.

Materials and method: Ten male Wistar rats were fed a high caloric/fat diet: N group composed by five rats who received nanoE particles and O group without nanoE particles. Another ten male Wistar rats were fed with standard diet: S+ group composed by five rats who received nanoE particles and S- group without nanoE particles. The duration of treatment was 21 days and the dose of nanoE was 1 mg/kg body.

Results: Plasma biological parameters like glucose, cholesterol, triglycerides, transaminases, creatinine, urea, total proteins, alkaline phosphatase activity were analysed and histopathological exams of the brain and kidney were performed.

The O group versus S- group had higher alkaline phosphatase activity and triglyceride plasma level ($p < 0.05$). The nanoE treatment didn't reduce the increased levels of these parameters. There weren't any biological differences between S- and S+ groups. At the histopathological exam, in the O group, satelitis, neuronophagy and cerebral hemorrhage were described but in the N group, the treatment maintained the normal structure of the cortex. Also, the filtration space was maintained normal in the nephrons from group N.

Conclusion: The nanoparticles charged with vitamin E associated to a high caloric/fat diet have reno- and cerebro- protective effects.

Keywords: nanoparticles charged with vitamin E, kidney, brain

P54. RELAȚIA PARAMETRILOR METABOLICI CU CEI ANTROPOMETRICI LA SUBIEȚI CU PATOLOGIE CARDIOVASCULARĂ

Elena LUPEANU, Doina RODITIS, Petru GHERASIM

Institutul Național de Gerontologie și Geriatrie "Ana Aslan", București

Introducere: Modificările parametrilor metabolici și antropometrici sunt factori de risc clasici pentru unele stări patologice. Scopul studiului este să evidențieze legătura dintre variațiile parametrilor metabolici și antropometrici ca factori de risc pentru patologia cardiovasculară.

Material si metode: S-au investigat 175 de subiecți, femei, cu patologie cardiovasculară. S-au determinat greutatea corporală(G), indexul de masă corporală(IMC), circumferințele taliei(CT) și soldului(i)(CS), rapoartele talie-șold(RTS) și talie-înălțimea(RTI), nivelele serice pentru glucoză, uree, creatinină, acid uric, colesterol total, HDL-colesterol, non-HDL-colesterol, LDL-colesterol, trigliceride, și s-au calculat rapoartele colesterol total/HDLc, LDLc/HDLc, trigliceride/HDLc, indexul TyG și coeficientul de corelație Pearson dintre parametrii metabolici și antropometrici.

Rezultatele au arătat o corelație semnificativ pozitivă între glucoză și greutatea($r=0,2216$; $p<0,02$), IMC($r=0,2082$; $p<0,02$), CT($r=0,2511$; $p<0,01$), CS($r=0,2691$; $p<0,001$) și RTI($r=0,2699$; $p<0,001$). Acidul uric a corelat semnificativ pozitiv cu greutatea($r=0,1646$; $p<0,05$), IMC($r=0,1995$; $p<0,02$), CT($r=0,2647$; $p<0,001$), CS($r=0,2066$; $p<0,02$), RTS($r=0,1978$; $p<0,02$) și RTI($r=0,2497$; $p<0,01$). Trigliceridele corelează semnificativ pozitiv cu greutatea($r=0,2026$; $p<0,02$), IMC($r=0,1696$; $p<0,05$), CT($r=0,2684$; $p<0,001$), CS($r=0,2165$; $p<0,01$), RTI($r=0,2108$; $p<0,02$). Dimpotrivă, HDLc corelează semnificativ negativ cu greutatea($r=-0,2669$; $p<0,001$), IMC($r=-0,2863$; $p<0,001$), CT($r=-0,3584$; $p<0,001$), CS($r=-0,2946$; $p<0,001$), RTS($r=-0,2769$; $p<0,001$) și RTI($r=-0,3383$; $p<0,001$). Raportul colesterol total/HDLc corelează semnificativ pozitiv cu greutatea($r=0,1916$; $p<0,05$), IMC($r=0,1892$; $p<0,05$), CT($r=0,2259$; $p<0,01$), CS($r=0,1976$; $p<0,02$), și RTI($r=0,1808$; $p<0,05$). LDLc/HDLc corelează semnificativ pozitiv cu IMC($r=0,1634$; $p<0,05$). Raportul TG/HDLc corelează semnificativ pozitiv cu greutatea($r=0,1788$; $p<0,05$), IMC($r=0,1805$; $p<0,05$), CT($r=0,3028$; $p<0,001$), CS($r=0,2205$; $p<0,01$), RTS($r=0,2624$; $p<0,01$) și RTI($r=0,2679$; $p<0,01$). Indexul TyG corelează semnificativ pozitiv cu greutatea($r=0,2292$; $p<0,01$), IMC($r=0,2161$; $p<0,01$), CT($r=0,3001$; $p<0,001$), CS($r=0,2682$; $p<0,001$), RTS($r=0,1893$; $p<0,05$) și RTI($r=0,2564$; $p<0,01$).

Concluzii: Studiul a evidențiat o puternică legătură a indicatorilor metabolici serici: glucoza, acid uric, HDL-colesterol, trigliceride, a rapoartelor colesterol/HDLc, TG/HDLc și a indexului TyG cu parametrii antropometrici. Analiza corelată a parametrilor metabolici cu cei antropometrici este utilă la evaluarea riscului pentru patologia cardiovasculară. Cercetarile s-au realizat în cadrul contractului nr.335/2014(PN II PCCA 2013-4-1686)

Cuvinte cheie: factori de risc, indicatori metabolici, parametrii antropometrici

METABOLIC AND ANTHROPOMETRIC PARAMETERS RELATIONSHIP IN SUBJECTS WITH CARDIOVASCULAR DISEASE

Introduction: Changes in metabolic and anthropometric parameters are classic risk factors for several pathologies. The study aim is to highlight links between metabolic and anthropometric parameters as risk factors for developing cardiovascular diseases.

Material and methods: Subjects with cardiovascular disease, 175 women, were investigated. Body weight(BW), body mass index(BMI), waist circumference(WC), hip circumference(HC), waist-to-hip ratio(WHR) and waist-to-height ratio(WHtR), serum glucose, urea, creatinine, uric acid, total cholesterol(TC), HDL-cholesterol, non-HDL-cholesterol, LDL-cholesterol, triglycerides(TG), and total cholesterol/HDLc, LDLc/HDLc, triglycerides/HDLc(TG/HDLc) ratios, TyG index and Pearson correlation coefficient between metabolic and anthropometric parameters were assessed.

Results: Glucose positively correlated with BW($r=0,2216$; $p<0,02$), BMI($r=0,2082$; $p<0,02$), WC($r=0,2511$; $p<0,01$), HC($r=0,2691$; $p<0,001$) and WHtR($r=0,2699$; $p<0,001$). Uric acid positively correlated with BW($r=0,1646$; $p<0,05$), BMI($r=0,1995$; $p<0,02$), WC($r=0,2647$; $p<0,001$),

HC($r=0,2066$; $p<0,02$), WHR($r=0,1978$; $P<0,02$) and WHtR($r=0,2497$; $p<0,01$). Triglycerides positively correlated with BW($r=0,2026$; $p<0,02$), BMI($r=0,1696$; $p<0,05$), WC($r=0,2684$; $p<0,001$), HC($r=0,2165$; $p<0,01$), and WHtR($r=0,2108$; $p<0,02$). On the contrary, HDLc negatively correlated with BW($r=-0,2669$; $p<0,001$), BMI($r=-0,2863$; $p<0,001$), WC($r=-0,3584$; $p<0,001$), HC($r=-0,2946$; $p<0,001$), WHR($r=-0,2769$; $p<0,001$) and WHtR($r=-0,3383$; $p<0,001$). Total cholesterol /HDLc positively correlated with BW($r=0,1916$; $p<0,05$), BMI($r=0,1892$; $p<0,05$), WC($r=0,2259$; $p<0,01$), HC($r=0,1976$; $p<0,02$) and WHtR($r=0,1808$; $p<0,05$). LDLc/HDLc positively correlated with BMI($r=0,1634$; $p<0,05$). TG/HDLc positively correlated with BW($r=0,1788$; $p<0,05$), BMI($r=0,1805$; $p<0,05$), WC($r=0,3028$; $p<0,001$), HC($r=0,2205$; $p<0,01$), WHR($r=0,2624$; $p<0,01$) and WHtR($r=0,2679$; $p<0,01$). TyG index positively correlated with BW($r=0,2292$; $p<0,01$), BMI($r=0,2161$; $p<0,01$), WC($r=0,3001$; $p<0,001$), HC($r=0,2682$; $p<0,001$), WHR($r=0,1893$; $p<0,05$) and WHtR($r=0,2564$; $p<0,01$).

Conclusions: There are strong relationships of serum metabolic indicators: glucose, uric acid, HDLcholesterol, triglycerides, cholesterol/HDLc, LDLc/HDLc, TG/HDLc ratios and TyG index with anthropometric parameters. Analysis of metabolic parameters correlated with the anthropometric ones is useful in evaluating the risk for cardiovascular pathology. Researches were conducted under contract no.335 / 2014 (PN II 2013-4-1686 PCCA)

Keywords: risk factors, metabolic indicators, anthropometric parameters

P55. INTERACȚIUNEA NANOPARTICULELOR ORGANICE CU EPITELIUL ORAL

Bogdan CALENIC¹, Alexandra TOTAN¹, Daniela MIRICESCU¹, Cristina SABLIOV², Radu RADULESCU¹, Maria GREABU¹

1 Disciplina Biochimie, Facultatea de Medicina Dentara, UMF Carol Davila

2 Department of Biological and Agricultural Engineering, College of Engineering, Louisiana State University

Introducere: În ultimul deceniu un domeniu interdisciplinar de mare interes îl reprezintă studiul interacțiunii nanoparticulelor cu diferite țesuturi umane și tipuri celulare. La ora actuală în domeniul medical este preferată utilizarea NP de tipul polimerilor biodegradabili cum sunt PLGA (Poli- acid lactic –CO- Glicolic). Potențialele consecințe toxice ale NP la nivel celular reprezintă una dintre marile provocări ale utilizării NP și o direcție de cercetare insuficient abordată. Spre exemplu, efectul acestor NP la nivelul celulelor stem din mucoasa orală este necunoscut. Prezentul proiect are o abordare interdisciplinară urmărind explorarea interacțiunii dintre NP cu proprietăți specifice - cu PLGA simplu sau PLGA-Chitosan și keratinocitele stem orale.

Material și metode: Keratinocitele stem orale cu fenotipul $\alpha 6\beta 4$ pos CD71neg, au fost separate din mucoasa orală folosind o tehnică magnetică. După expunerea la diferite concentrații de PLGA și PLGA cu chitosan, celulele au fost analizate la diferite intervale de timp (1,3,6,24 h) pentru captare celulară, proliferare și citotoxicitate (Tripa Blue) folosind tehnici ELISA și imunofluorescență. **Rezultate:** Viabilitatea și proliferarea celulară precum și citotoxicitatea au fost comparabile statistic cu controlul negativ. În același timp captarea celulară a fost semnificativ crescută după 24 de ore de incubare cu 5 $\mu\text{g}/\text{ml}$ de PLGA-Chitosan.

Concluzie: Nanoparticulele pe baza de PLGA-Chitosan dar nu cele PLGA simple sunt polimeri de elecție pentru captarea de către compartimentul stem al mucoasei orale.

Cuvinte cheie: nanoparticule, Poli- acid lactic –CO- Glicolic, keratinocyte stem orale

ORGANIC NANOPARTICLE INTERACTION WITH ORAL HUMAN EPITHELIA

Objectives: The study of represents an interdisciplinary field of intense research. Oral route represents one of the main systems for particle delivery. However, present data on nanoparticle uptake in oral mucosa and its cellular components is insufficient. The main objective of the present work is to find the most suitable parameters of nanoparticle uptake by oral keratinocyte stem cells.

Methods: Oral keratinocyte stem cells were magnetically separated from human oral mucosa based on the $\alpha\beta4$ pos CD71neg phenotype. Following separation the cells were exposed to 1, 3, 5 and 10 $\mu\text{g/ml}$ of poly(lactic-co-glycolic acid) or PLGA and PLGA-Chitosan nanoparticles for 1, 3, 6 and 24 hours. The cells were analyzed for particle uptake, proliferation and cytotoxicity (Trypan Blue) using immunofluorescence and ELISA methods.

Results: Statistically significant particle uptake was observed at a concentration of 5 $\mu\text{g/ml}$ when compared to 1, 3 and 10 $\mu\text{g/ml}$ ($p < 0.05$, ANOVA). Using the same concentration, increased cellular uptake was observed in PLGA-chitosan vs. PLGA after 24 hours of incubation ($30.2 \pm 4.3\%$ vs $10.4 \pm 3.2\%$; $p < 0.05$, ANOVA). At the same time viability and proliferation remained comparable with negative controls

Conclusion: Oral stem cell compartment displays the maximum cell uptake when exposed to 5 $\mu\text{g/ml}$ PLGA-Chitosan nanoparticles for 24 hours.

Keywords: nanoparticles, poly-lactic-co-glycolic acid, oral keratinocyte stem cells

P56. ROLUL INSTRUIRII PERSONALULUI MEDICAL ÎN REDUCEREA ERORILOR DE LABORATOR DIN FAZA PREANALITICĂ

Carmen DELIANU¹, Liliana FOIA^{1,2}, Minodora DOBREANU³

1 Spitalul Clinic Județean de Urgență, "Sf. Spiridon", Iași

2 Universitatea de Medicină și Farmacie "Grigore T. Popa" Iași

3 Universitatea de Medicină și Farmacie Tirgu Mureș, România

Introducere: Selecția și respingerea specimenelor de coagulare neconforme este esențială în asigurarea unui management de calitate într-un laborator de hemostază. În vederea creșterii calității, este importantă reducerea erorilor preanalitice ce reprezintă 65-85% din totalul erorilor de laborator. Cunoașterea și corectarea posibilelor surse de eroare din preanalitic asigură pacientului cele mai bune rezultate.

Obiective: Identificarea, înregistrarea, și cunoașterea surselor de eroare începând cu prelevarea produsului biologic, astfel încât monitorizarea terapiei cu anticoagulante să devină eficientă și lipsită de risc hemoragic.

Material și metodă: În intervalul mai-august 2015 în spitalul „Sf. Spiridon” din Iași s-au identificat 978 (100%) specimene neconforme cu următoarele cauze: volum insuficient prelevat (10,64%), hemolizate (20,76%) și coagulate (68,60%). Toate neconformitățile au fost însoțite de o explicație textuală ce au justificat și posibila respingere a specimenului. Ulterior, personalul mediu a fost instruit, privind bunele practici referitoare la prelevarea pentru testele de hemostază. Instruirea a continuat și la nivelul organizației profesionale a asitenților din Iași, și în 2016.

Rezultate: În urma instruirii s-a obținut reducerea indicatorilor surselor de eroare pe secții clinice, după cum urmează: UPU de la 7,69% la 5,84%, ATI de la 5,21% la 2,98%, Chirurgie de la 6,74% la 3,30% și Medicale de la 4,93% la 3,36%.

Concluzii: Laboratorul poate îmbunătăți și reduce erorile din faza preanalitică, printr-un management ce are la bază verificarea calității specimenelor înainte de testare, instruirea personalului medical și verificarea cunoștințelor dobândite.

Cuvinte cheie: *instruire, specimene neconforme, hemostază.*

THE IMPORTANCE OF MEDICAL PERSONNEL TRAINING IN REDUCTION OF PRE-ANALYTICAL PHASE LABORATORY ERRORS

Introduction: Selection and rejection of non-conforming clotting specimens are essential in providing a quality management in the laboratories performing hemostasis tests. In order to improve the quality, it is important to reduce sampling errors in the pre-analytical phase, as they represent 65-85% of total laboratory failure. Acknowledge and correction of possible sources of error in pre-analytical provide best patient outcomes.

Objectives: To identify, record and manage sources of error since the biological product sampling, so that monitoring with anticoagulant therapy to be effective and free from bleeding risk.

Material and Methods: Between may-august 2016 in "Sf. Spiridon" hospital from Iași, a number of 978 (100%) non-conforming specimens have been identified, with the following causes: insufficient harvested volume (10.64%), haemolyzed (20.76%) and coagulated samples (68.60%). All non-conformities were accompanied by an explanatory text that could point out the possible specimen rejection. Subsequently, the nursing staff was trained on good practices related to sampling for hemostasis. Training continued and the professional organization of Assistance Service of Iași and 2016.

Results: Significant cutback of error sources indicators in clinical departments have been achieved after personnel training, assigned as follows: EU(emergency unit) from 7.69% to 5.84%, ICU(intensive care unit) from 5.21% to 2.98%, Surgery from 6.74% to 3.30% and from 4.93% to 3.36% in Medical.

Conclusions: The laboratory may reduce errors and improve the pre-analytical phase through a management that is based on checking the quality of the specimens before testing, training of the medical personnel and checkup of the acquired knowledge.

Keywords: *training, non-conforming specimens, hemostasis.*

P57. COMPARABILITATEA REZULTATELOR TESTELOR DE COAGULARE ÎNTRE ANALIZOARELE AUTOMATE SYSMEX CS 2000I SI GRIFOLS Q

Stefan BARBU¹, Oana OPREA^{1,2}, Elena BINZARI², Minodora DOBREANU^{1,2}

1 Central Medical Laboratory of Districtual Emergency Hospital Târgu Mureș

2 Dept Laboratory Medicine, University of Medicine and Pharmacy Tirgu Mures, Romania

Introducere: Pentru prevenirea evenimentelor trombotice se utilizează atât anticoagulante orale cât și injectabile. Evaluarea dozelor și complianța pacienților este evaluată utilizând INR și aPTT. În laboratoare care utilizează echipamente/reactivi/metode de lucru diferite este important de știut comparabilitatea rezultatelor obținute. Conform standardului ISO 15189, trebuie să fie stabilite criterii pentru verificarea comparabilității rezultatelor obținute pe metode diferite.

Scopul nostru a fost determinarea comparabilității rezultatelor între sistemele Grifols Q și Sysmex CS 2000i, utilizate zilnic pentru efectuarea testelor de coagulare.

Material și metodă: Au fost incluse în studiu 86 de probe de pacienți pentru grupul INR și 48 de probe pentru grupul aPTT efectuate în Laboratorul Central și Laboratorul de Urgență. Probele au fost analizate în aceeași zi pe ambele echipamente. Rezultatele obținute au fost analizate statistic utilizând MedCalc, respectiv metoda Bland-Altman și testul Wilcoxon. Valoarea lui $p < 0,05$ a fost considerată semnificativă din punct de vedere statistic.

Rezultate: A fost observată o diferență semnificativă statistic între cele două echipamente, pentru toți parametrii de coagulare ($p < 0,0001$), respectiv INR, aPTT, TQ și R aPTT.

Metoda Bland-Altman a demonstrat existența unui bias pozitiv semnificativ din punct de vedere statistic în favoarea sistemului Grifols Q, diferența fiind cu atât mai mare cu cât rezultatele aveau valori mai mari.

Concluzii: Cele două sisteme aflate în uz în laboratoarele noastre nu sunt comparabile astfel încât decizia clinică poate fi influențată. Clinicienii trebuie să fie informați de aceste diferențe și să urmărească pacienții utilizând același echipament.

Cuvinte cheie: Comparabilitate, BIAS, Bland-Altman

STUDY ON COMPARABILITY OF COAGULATION TESTS RESULTS BETWEEN SYSMEX CS 2000I AND GRIFOLS Q AUTOMATED SYSTEMS

Background: Both oral and s.c. anticoagulation therapy are used extensively by practitioners to prevent and treat thrombotic events. The compliance of patients and correct dosage are evaluated through INR and Ratio for aPTT, respectively. In laboratories that use different systems/methods/reagents to determine day by day coagulation parameters it is critical to know the comparability of results provided for the same samples by different equipments. Laboratories accredited according to ISO 15189 standard, should define mechanism for comparison of results obtained with two or more different analyzers or procedures for examinations.

Our **aim** was to determine if the results obtained on the Grifols Q or CS-2000i in our laboratory are comparable.

Material and methods: 86 samples in the INR group and 48 samples in the aPTT group were selected in Central and Emergency Laboratories. The samples were selected by the results obtained on one system and reanalyzed on the other equipment on the same day. The obtained results were statistically analyzed using MedCalc with Bland-Altman plot and Wilcoxon test. A $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Results: A highly significant statistical difference exists between Grifols Q and CS-2000i for the parameters Quick Time ($p < 0.0001$), INR ($p < 0.0001$), aPTT ($p < 0.0001$) and aPTT Ratio ($p = 0.0001$).

The Bland-Altman plot demonstrated the existence of a significant positive bias towards Grifols Q system, especially for pathologic results.

Conclusion: In our laboratory the two different systems are not comparable and this may affect the clinical decisions. Medical practitioners must be warned about the difference and monitor patients status on only one of the systems.

Keywords: Comparability, BIAS, Bland-Altman

P58. COMPARABILITATEA REZULTATELOR PARAMETRILOR DE HEMOLEUCOGRAMĂ ÎNTRE ANALIZOARELE AUTOMATE CELL – DYN RUBY ȘI SYSMEX XT 4000i

Mihaela ZAHARIA¹, Oana OPREA^{1,2}, Stefan BARBU¹, Minodora DOBREANU^{1,2}

1 Laborator Central Analize Medicale Târgu Mureș

2 Dept Laboratory Medicine, University of Medicine and Pharmacy Tirgu Mures, Romania

Introducere: Primul pas în investigarea unui pacient este reprezentat de hemoleucogramă ea oferind clinicienilor un punct de plecare în orientarea diagnosticului și tratamentului. Pe piață există diferiți producători de sisteme automate și multe laboratoare folosesc în paralel echipamente diferite.

Potrivit standardului ISO 15189 este important să cunoaștem comparabilitatea sistemelor folosite.

Scopul nostru a fost să determinăm dacă două din echipamentele folosite în laboratorul nostru, respectiv Sysmex XT-4000i și Cell-Dyn Ruby oferă rezultate comparabile.

Material și metodă: Pentru acest studiu au fost folosite 63 de probe alese la întâmplare, analizate pe aparatul Sysmex XT-4000i apoi reanalizate pe aparatul Cell-Dyn Ruby, în aceeași zi. Au fost analizați parametrii: WBC, RBC, HGB, PLT și HCT.

Rezultatele obținute au fost analizate statistic cu ajutorul MedCalc, și anume metoda Bland-Altman, Paired t-test și Wilcoxon test. Valoarea $p < 0.05$ a fost considerată semnificativă statistic.

Rezultate: Analiza statistică a demonstrat o diferență semnificativă între cele 2 sisteme privind următorii parametrii: RBC ($p < 0.0001$), HGB ($p < 0.0001$), HCT ($p < 0.0001$) și PLT ($p < 0.0001$). Analiza realizată cu metoda Bland-Altman a demonstrat bias negativ pentru sistemul Cell-Dyn Ruby vizând RBC, HGB, HCT și bias pozitiv pentru sistemul Sysmex XT-4000i vizând WBC și PLT.

Pentru WBC nu a existat o diferență semnificativă statistic.

Concluzii: Cu toate că între cele două sisteme există diferențe semnificative statistic, comparând diferențele cu variația biologică conform prevederilor CLIA, considerăm că din punct de vedere clinic, diferențele nu afectează decizia clinicianului indiferent de sistemul utilizat.

Cuvinte cheie: Comparabilitate, bias, Bland-Altman

COMPARABILITY OF RESULTS FOR CBC BETWEEN CELL-DYN RUBY AND SYSMEX XT-4000i

Background: One of the first medical investigation used in assessing patients health is a complete blood count. It gives medical practitioners a starting point for the diagnosis and treatment plan which will follow. There are many different systems available on the market and laboratories find themselves using two or more different systems for analysing patient samples. Thus, according to the ISO 15189 standard, it is important to determine the comparability of the systems used.

Our **aim** was to determine if two of the systems used in our laboratories, Sysmex XT-4000i and Cell-Dyn Ruby give comparable results.

Material and methods: 63 patient samples were included in the study. They were randomly selected from samples examined on Sysmex XT-4000i in Central Laboratory and reanalyzed on Cell-Dyn Ruby in the Emergency Laboratory. We took into account the following parameters: WBC, RBC, HGB, PLT and HCT.

The obtained results were statistically analyzed using MedCalc with Bland-Altman plot, Paired t-test and Wilcoxon test. A $p < 0.05$ was considered statistically significant.

Results: Statistical analysis demonstrated a highly significant difference for RBC ($p < 0.0001$), HGB ($p < 0.0001$), HCT ($p < 0.0001$) and PLT ($p < 0.0001$) parameters between the two systems. Analysis made with the Bland-Altman plot showed negative bias towards Cell-Dyn Ruby for RBC, HGB, HCT and a positive bias towards Sysmex XT-4000i for WBC and PLT.

For WBC parameter there wasn't a statistical significant difference.

Conclusion: Although there are statistically significant differences between the results of the two systems, when comparing the differences with biological variations according to CLIA-Requirements we considered that the differences do not affect the clinical decision, regardless of which of the systems is used.

Keywords: Comparability, bias, Bland-Altman

AUTHORS INDEX**Index de autori****A**

ALBU, Elena 105
ALDEA, Cornel 50, 52, 53
ANGELESCU, Cristina 74
ARBUNE, Manuela 66
AU, William W. 17, 84
AVRAM, Marioara 54
AXENTE, Carmen 10

B

BĂDIȚĂ, Daniela 93, 95, 111
BĂDIȚOIU, Luminița 10, 81
BĂIBĂȚĂ, Dana Emilia 119
BALABAN, Mihaela 117
BĂLĂNESCU, Eugenia 111
BĂLĂNESCU, Paul 111
BALOI, Irina 70
BĂNCESCU, Adrian 78
BĂNCESCU, Gabriela 78
BĂNESCU, Claudia 30, 40, 48, 49, 50, 52, 53, 90
BANU, Anuța 108
BARBUNC, Danut 73
BARBU, Stefan 129, 130
BAROIU, Liliana 66
BARÓTI, Beáta 120
BASANGIU, Bianca 46
BEDREAG, Ovidiu 10
BERBECAR, Simona 27
BERCEANU, Costin 56, 58
BERCEANU VĂDUVA, Delia 119
BERCEANU-VĂDUVA, Delia 81
BINZARI, Elena 129
BOGLIȘ, Alina 30, 40, 50, 52, 53
BOHÎLȚEA, Laurențiu 45, 46
BOHÎLȚEA, Roxana 45, 46, 56, 58, 60
BORDEI, Emanoil 54
BORZA, Claudia 106
BRĂȚILĂ, Elvira 56, 58
BRUDAȘCĂ, Ioana 101
BUD, Roxana 70
BUNGHEZ, Roxana 11

BURA, Vlad 101
BURINARU, Tiberiu 54
BUZEA, Mariana 11

C

CALAMAR, Despina 42
CALENIC, Bogdan 93, 95, 97, 104, 111, 117, 122, 123, 126
CALOTĂ, Diana Lucia 28, 87
CANDEA, Marcela 40
CĂPÎLNĂ, Brîndușa 57
CĂPRARIU, Ionuț Dragoș 14, 15, 75
CARAGHEORGHEOPOL, Andra 18
CARASEVICI, Eugen 83
CAȘOTĂ, Cristiana 11
CHELU, Gratiela 45, 46
CHEREĞI, Simona 61
CHESARU, Bianca Ioana 66, 114
CÎMPAN, Mihaela Roxana 122
CIOBANU, Anca Mariana 23
CIOBANU, Corina 91
CIOCAN, Veronica 19
CIPU, Daniela 119
CÎRLEA, Natalia 79
CÎRSTEA, Alexandra 26
CÎRSTOIU, Monica 56, 58, 60
CISMAȘ, Sonia 42
CODIȚĂ, Irina 12
CODREANU, Ioana 65
COLOSI, Horatiu 113
COMANDAȘU, Diana-Elena 56, 58
CONSTANTINESCU, Maria Zinaida 118
CORIU, Daniel 28
COSOR, Oana 119
COSTEA, Daniela Elena 122
CRĂCIUN, Alexandra M. 110
CRAUCIUC, Andrei 30, 40, 50, 52, 53
CREZANTE, Lazăr 27
CRISTEA, Mihaela 85
CRISTEA, Violeta Corina 74
CSEP, Katalin 48
CULEA, Ioana 27

D

DABU, Bogdan 78
DAINA, Lucia Georgeta 64
DAVID, Remona Eliza 22
DEGAN, Lorena 28, 87
DELAMARIAN, Mihaela 42
DELIANU, Carmen 127
DEMIAN, Smaranda 30, 40
DIMA, Alina 111
DIMITRIU, Daniela Cristina 91
DINU, Adriana 123
DINULESCU, Silviu 109
Dobreanu, Minodora 22, 49, 90, 127
DOBREANU, Minodora 129, 130
DOBRE, Michaela 114
DOROBĂȚ, Olga Mihaela 9
DRĂGAN, Ana-Maria 71, 77
DRĂGĂNESCU, Miruna 66
DRAGOMIR, Angela 14
DRAGOMIR, Cristina 46
DRICU, Anica 84
DRONCA, Eleonora 113
DUGĂȘESCU, Dorina 81
DUICU, Carmen 30, 40, 50, 52, 53
DUICU, Oana 115
DUMACHE, Raluca 19
DUMITRAȘCU, Victor 81
DUȚA, Maria 74

E

ENACHE, Alexandra 19

F

FAZAKAS, Zita 62
FILIP, Cristiana 105
FILIP, Florin 73
FILIP, Nina 105
FILIPOV, Marilena 11
FILIP, Roxana 23, 67, 73
FODOR, Márta-Andrea 57, 62
FOIA, Liliana 127
FRAEFEL, Cornel 44
FUNDUC, Ileana 99

G

GERMÁN-SALLÓ, Márta 120
GHEORGHE, Simona R. 110
GHEORGHIU, Eleonora 85
GHERASIM, Petru 124
GOGOĂȘĂ, I. 119
GREABU, Maria 93, 95, 97, 104, 111, 117, 122, 123, 126
GRIGORE, Camelia 68, 69
GRIGORE, Nicolae 68, 69
GRIGORE, Sandra 45
GUBGEAC, Elvira 117, 123
GURĂU, Gabriela 66, 114
GURBAN, Camelia-Vidița 37, 38, 106, 108

H

HADADI, Laszlo 90
HOGEA, Elena 10, 70
HOLOȘPIN, Marinela 79
HORHAT, Florin 10, 79, 81
HUȚANU, Adina 90

I

IANCU, Alina Viorica 66, 114
IANCU, Cristina Elena 105
IFROSE, Martha 34, 36
IONESCU, Gabriel 27, 100
IONIȚA, Hortensia 42
IONIȚĂ, Hortensia 32, 34, 36, 37, 38, 41
IONIȚĂ, Ioana 32, 34, 36, 37, 38, 41
IORDACHE, Maria 38, 42
IOVAN, Ciprian V. 65
ISTRATE, Oana 45

J

JIANU, Daniela 92, 96
JINCA, Cristian 38

K

KOVÁCS, Gábor L. 17, 18
KOVÁCS, Zsuzsa Réka 62
KÖVENDI, Anita-Andrea 62

L

LICKER, Monica 10, 70, 79, 81
LIGHEZAN, Daniel 106

LIGHEZAN, Diana Luisa 15, 34, 36, 37, 38, 41
 LIGHEZAN, Rodica 14, 15, 34, 37, 38, 41, 75, 115
 LIXANDRU, Daniela 118
 LUPEANU, Elena 124
 LUPU, Maria Alina 14, 15, 75

M

MAFTEI, Nicoleta 66
 MALAGEANU, Marinela 45
 MAN, Adrian 44
 MĂRCULESCU, Afrodita 91
 MARINIȚA, Andrada 42
 MATEIU, Maria Mirabela 66, 114
 MEHEDINȚU, Claudia 56, 58
 MIHĂILĂ, Romeo Gabriel 31
 MIHĂILESCU, Carmen-Marinela 54, 109
 MIHALACHE, Manuela 31
 MIRICESCU, Daniela 93, 95, 97, 104, 111, 117, 118, 122, 123, 126
 MOHORA, Maria 97, 117, 118, 123
 MOLDOVAN, Carmen 109
 MOLDOVAN, Elena 49
 MOLDOVAN, Roxana 10, 70, 81
 MOLDOVAN, Valeriu George 30, 40, 49, 50, 52, 53, 90
 MOLNÁR, Evelyn-Ágnes 62
 MOTOC, Marilena 106, 108
 MOZOȘ, Emilian 92, 96
 MOZOȘ, Ioana 92, 96
 MUNTEAN, Danina 115
 MUNTEAN, Delia 10, 79, 81
 MUREȘAN, Camelia 19
 MUSCALU, George 109

N

NEGROIU, Gabriela 122
 NEMEȘ DRĂGAN, Iulia Andrada 71, 77
 NEMES-NAGY, Enikő 57, 62, 120
 NOVEANU, Lavinia 115

O

OLARIU, Tudor Rareș 14, 15, 75, 106, 108
 OLTEANU, Ariela Ligia 31
 OPREA, Dorina 73
 OPREA, Oana 129, 130

P

PĂDURE, Adriana 18
 PANĂ, Marina 12
 PANȚU, Alexandra 108
 PÂRVU, Liliana 18
 PAȘCU, Ioana 34, 36
 PAȚIU, Mariana 33
 PĂTRAȘCU, Radu 92, 96
 PECETE, Ionuț 74
 PESCARU, Monica 34, 37, 38, 41
 PETRESCU-DĂNILĂ, Elena 91
 PETRUȘ, Alexandra 115
 PICU, Cătălina 18
 PLAVITU, Oana 70
 POPA, Constanța 26
 POPESCU, Laura 118
 POȘIAR, Eugen 92, 96
 POTRE, Ovidiu 34, 36, 37, 38, 41
 PREG, Zoltán 120
 PRICOP, Cristiana 108
 PRICOP, Marius 108
 PRICOP, Roxana Gabriela 74

R

RADA, Maria 119
 RĂDOI, Viorica 45, 46, 60
 RĂDULESCU, Cătălina 93, 111
 RĂDULESCU, Radu 93, 95, 97, 104, 111, 126
 RAȚIU, Corina 115
 RODITIS, Doina 124
 RUS, Maria 79
 RUSU, Razvan 113

S

SABLIOV, Cristina 95, 122, 126
 SAMFIREAG, Miruna 34, 36, 37, 41
 SANDESC, Dorel 10
 SANDU, Gabriela 74
 SAVA, Cristian 61, 71
 SAVIN, Mihaela 54, 109
 SCHIOPU, Vasilica 54
 SCHIPOR, Sorina 18
 SELICEAN, Elena-Cristina 33
 ȘERBAN, Răzvan 49, 90
 SILAGHI, Ciprian N. 65, 110
 SLEVIN, Mark 44

SORESCU, Georgeta 26
SORICĂ, Cristina 15, 34, 36, 37, 38, 41
SPINEANU, Radu 61
STAN, Dana 54, 109
STĂNESCU, Iulia-Ioana 93, 95, 111
STĂNGĂ, Livia 119
ȘTEFAN, Cosmina Daciana 118
ȘTEFĂNESCU, Oana 85
SUCEAVĂ, Ioana 106
SZABÓ, Mónika 62

T

TĂMAȘ, Alina 79
TĂNASE, Elena 79
TCACI, Irina 103
TERTELIU, Monica 23, 67
TILINCA, Mariana 62
TIRB, Alina 71
ȚÎRNEA, Livius 15, 75
ȚÎRNEA, Livius Octavian 14
TOADER, Oana 56, 58
TODORAN BUTILĂ, Anamaria 48
TODORESCU, Nicoleta 79
TOPIC, Elizabeta 89, 99
TOTAN, Alexandra 93, 95, 97, 104, 111, 117, 123, 126
TOTAN, Maria 68, 69
TRIPON, Florin 30, 40, 50, 52, 53
TRIPON, Róbert 120

TURCAN, Natalia 60
TUTUNARU, Dana 66

U

URECHESCU, Horațiu 108
URSU, Radu 45, 46, 60
UZUNOV, Ana 60

V

VASSU, Tatiana 26
VELIMIROVICI, Dana Emilia 119
VELIMIROVICI, M. 119
VESA, Anca Elena 28, 87
VÎRGOLICI, Bogdana 93, 95, 117, 118, 123
VÎRGOLICI, Horia 117, 118, 123
VÎRLAN, Maria Justina Roxana 93, 122
VIȘNEVSCHI, Anatolie 103

Y

YENICE, Sedef 21, 25

Z

ZAHA, Dana Carmen 64
ZAHARIA, Mihaela 130
ZAPOROJAN, Natalia 77
ZDRINCA, Mihaela Mirela 64
ZUGRAVU, Roxana 28, 87

Information and guidelines for authors

Manuscript submission

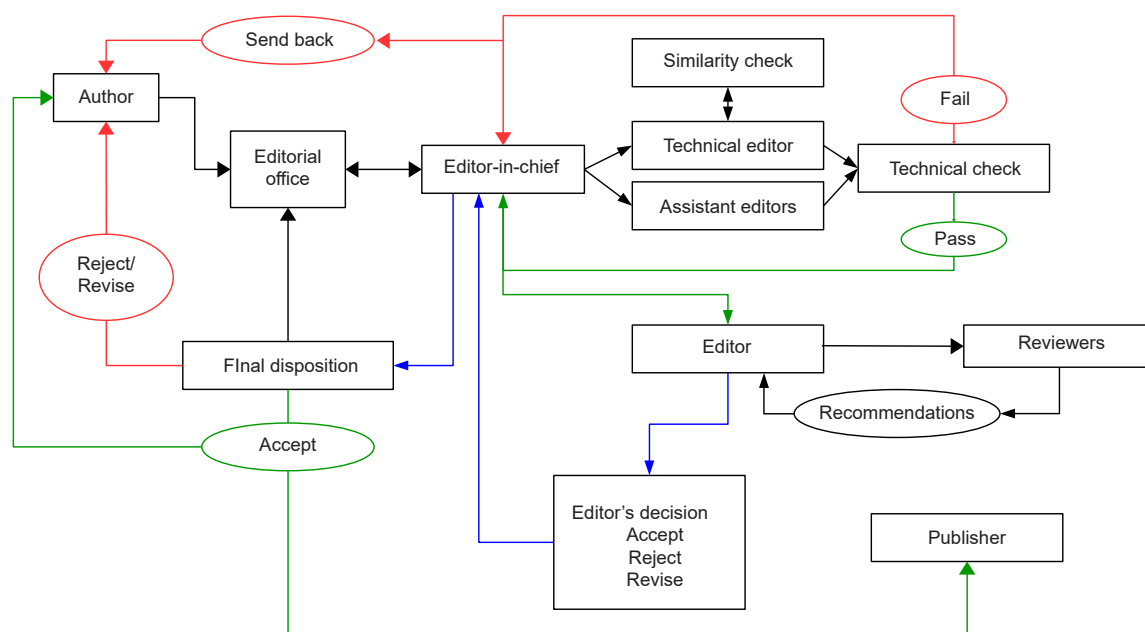
Manuscripts and all attached files (tables and illustrations) should be submitted in electronic form, using the on-line manuscript submission system Editorial Manager available for Romanian Journal of Laboratory Medicine at <http://www.editorialmanager.com/rrlm>.

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

Submission documents

At the time of submission, the *Romanian Journal of Laboratory Medicine* requires an explicit statement (**License to publish**) by the

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



Workflow of the editorial process

Authors are responsible for obtaining permission to reproduce copyrighted material from other sources and send an authenticated copy of the permission to the Editorial Board.

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

Authorship

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

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

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

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

Authors are requested to describe their individual contributions to a study paper in a “**Cover letter**” (page 288) that will be signed, attached to and sent by e-mail (office@rrml.ro) together

with the “**License to publish**” form, as soon as possible.

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

Research involving human subjects or experimental animals

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

Manuscript preparation

Before submitting a paper, please assure that the manuscript fit in one of the journal category described by the Journal’s Editorial Policy.

The following article types are accepted: Review, Original research article, Original professional paper, Short Communication, Case study / Series case studies, Course Notes, and Letter to the Editor. Advertisements, news, and special issues are also acceptable as non-indexed publications.

The following article types are accepted, with their formatting limitations:

Article type	Manuscript word limit	Maximum number of references	Maximum number of figures and tables	Abstract (max 250 words)	Supplemental data (online only)
Review	5000	70	6	Yes	Yes
Original research article	3500	40	6	Yes	Yes
Original professional paper	3000	30	5	Yes	Yes
Short Communication	2500	25	4	Yes	No
Case study / case series	2000	25	3	Yes	No
Course Notes	2000	15	3	No	No
Letter to the Editor	1500	10	1	No	No
Editorial	2000	10	1	No	No

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

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

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

Please do not import tables or figures into the text document, but only specify their insertion in text (e.g. *Table No 3 insertion*). They have to be sent in separate files. Files should be labeled with appropriate and descriptive file names, **without diacritics** (e.g. *Imunofluorescenta.doc*, *Imunofluorescenta Fig1.tiff*, *Imunofluorescenta*

Table2.doc). **The file names must not contain any self-revealing information** (e.g. authors' name).

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

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

Manuscript organization

The text of original papers will be organized in one document, in a so-called “IMRAD” structure: introduction (no more than 25% of the text), material and methods, results, comments or discussions and acknowledgements. **The manuscript should not include any self-re-**

vealing information. All information about the author(s), affiliation, contact, as well as the abstract and keywords, will be provided only within the online submission process.

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

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

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

References should be numbered consecutively in the order in which they are first mentioned in the text. Identify references in text, tables, and legends by Arabic numerals in paren-

theses. References cited only in tables or figure legends should be numbered in accordance with the sequence established by the first identification in the text of the particular table or figure. The titles of journals should be abbreviated according to the style used in *Index Medicus*. Consult the list of Journals Indexed for MEDLINE, published annually as a separate publication by the National Library of Medicine. Authors are responsible for the accuracy and completeness of all references and are also responsible for ensuring that references are not used out of context.

For journal articles use the following form: authors' surnames and first names initials, article's title, the journal abbreviation according to the *Index Medicus*, year, volume, starting and ending pages of the article. If there are more than six authors, list the first six and add et al. We recommend to automatically insert the references using dedicated reference management solutions (e.g. Zotero, Microsoft word bibliography, Endnote web), according to **Vancouver citation style**.

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

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

Editorial process and peer review

The whole peer-review workflow is performed in the Editorial Manager online system. Manuscript submitted should contain original work, focused on the aims of this journal, should

be clearly and correctly written in English, and should contain all essential features of a scientific publication. Submitted manuscripts are screened for completeness and quality of files and will not enter the review process until all files are satisfactory. In order to evaluate similarities with scientific literature, specialized text-matching software is used to screen all manuscripts accepted for scientific evaluation. The Secretariat will announce the corresponding author about the receipt and the status of the manuscript.

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

Authors will receive a PDF file with the edited version of their manuscript for final proof-reading. This is the last opportunity to view an article before its publication. The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness and accuracy of the text, tables and figures. Substantial changes in content are not allowed without the approval of the Editor. The authors are requested to return

the corrected proofs within 7 days after their delivery or notify the Editors that no corrections are required. After online publication, further changes can only be made in the form of an Erratum, which will be hyperlinked to the article. The corresponding author will receive a printed issue of the Journal free of charge.

Scientific misconduct / Corrections / Retraction Policy

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

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

Serious errors in a published manuscript and infringements of professional ethical codes will result in an article being retracted. This will occur where the article is clearly defamatory, or infringes others' legal rights, or where the article is, or there is good reason to expect it will be, the subject of a court order, or where the article, if acted upon, might pose a serious health risk. In any of these cases all coauthors will be informed about a retraction. A Retraction Note detailing the reason for retraction will be linked to the original article.

Publication fee

A processing fee of 50 EUR (equivalent in RON) will have to be paid for articles accepted for evaluation by the editorial board of Romanian Journal of Laboratory Medicine (invited contributions excepted). Please note that the payment will only be required if your article and application passes the Technical check and is accepted for scientific evaluation (the article is "under Review"). The journal does not have article submission charges.

The publication fee for accepted article is 150 EUR (equivalent in RON), which have to

be paid when article proof is sent to the correspondence author.

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 (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 (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 RO-56BRDE270SV16682302700 bank account open for Romanian Association of Laboratory Medicine – CF 17383407 – at BRD-Groupe Société Générale SA, Agenția Petru Maior, Str. Mihai Viteazu 31, Tîrgu Mureș, Romania. Please e-mail (office@rrml.ro) or fax a copy of the bank draft at the Editorial Secretariat (+40 265 217 425).

Cover letter and authors' contribution

According to the ICMJE, the *Romanian Journal of Laboratory Medicine* recommends that authorship be based on the following criteria:

1. Substantial contributions to the conception or design of the work; or the acquisition, analysis, or interpretation of data for the work;
2. Drafting the work or revising it critically for important intellectual content;
3. Final approval of the version to be published;
4. Agreement to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Those who meet all four criteria can be identified as authors; otherwise they should only be acknowledged.

Title

--

The authors attest that

- This paper has not been published previously;
- The manuscript is an original work without fabrication, fraud, or plagiarism;
- Have read the complete manuscript and takes responsibility for the content of the manuscript;
- There is no potential conflict of interest (employment, consultancies, stock ownership, equity interests, and patent-licensing arrangements);

Authors' contribution

Authors	Contributions	Signatures

Acknowledgements

--

