

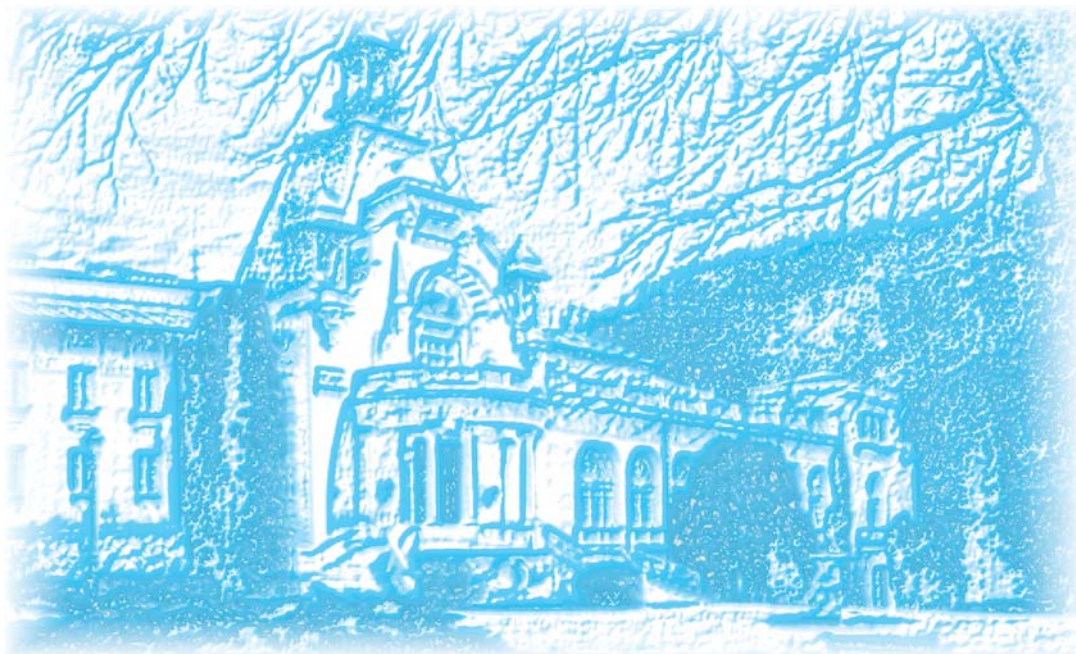
**SOCIETATEA ROMÂNĂ  
DE  
HEMATOLOGIE**

**SOCIETATEA NAȚIONALĂ  
DE TRANSFUZIE  
SANGUINĂ DIN ROMÂNIA**

**Al X-lea CONGRES NAȚIONAL  
DE HEMATOLOGIE**

**- cu participare internațională -**

**CAIET DE REZUMATE**



**Sinaia**

**4 - 8 octombrie 2007**

## COMUNICARI SESIUNEA EDUCATIONALA

### EVOLUTIA CLONALA IN ANEMIA APLASTICA

Ljubomir Petrov

Institutul Oncologie "Ion Chiricuta" Cluj Napoca  
Universitatea de Medicina si Farmacie "Iuliu Hateganu", Clinica de Hematologie

Anemia aplastica (AA) este o boala clonala a celulei stem hematopoietice caracterizata prin pancitopenie si grade diferite de hipocelularitate medulara.

AA dobandita, in peste 50% din cazuri este rezultatul unui atac imun mediat celular, asupra celulei stem hematopoietice. Exista numeroase dovezi care atesta prezenta unei celule stem hematopoietice reziduale clonale (enzimatice, citogenetice). Celulele T citotoxice responsabile de anemia aplastica s-au dovedit a fi si ele (oligo) clonale.

Tratamentul anemiei aplastice consta in transplant allogenic de celule stem hematopoietice (Allo- SCT) sau imunosupresie (IS). Spre deosebire de Allo-SCT cu potential curativ la  $\frac{3}{4}$  din pacienti, IS este urmata de o refacere partiala a hematopoiezei cu risc de resuta si de evolutie clonala: hemoglobinuria paroxistica nocturna (HPN), sindromul mielodisplazic (SMD) sau leucemia acuta.

Nu se cunoaste mecanismul exact al expansiunii clonei HPN, prezenta la debut la peste 50% din pacientii cu AA.

SMD este rezultatul evolutiei clonale a unor celule stem anormale cu telomeri scurti instabile genetic. Leucemia acuta post AA are un mecanism patogenetic asemanator.

Interesant este faptul ca 2 din complicatiile clonale tardive a AA tratate cu imunosupresoare pot coexista cu AA (sindromul AA/HPN si SMD hipoplazic).

Factorii de risc pentru SMD secundar post AA s-au dovedit a fi: varsta, numarul de cure de imunosupresie, splenectomia si adaosul de androgeni.

Se discuta rolul pe cate l-ar putea avea administrarea de G-CSF in schemele de imunosupresie.

Tratamentul complicatiilor clonale tardive in AA este dificil deseori. Allo-SCT si introducerea in arsenalul terapeutic a anticorpilor anticomplement reprezinta singurele modalitati terapeutice eficiente la ora actuala.

### CLONAL EVOLUTION IN APLASTIC ANEMIA

Ljubomir Petrov

"Ion Chiricuta" Cancer Institute  
University of Medicine and Pharmacy, Hematology Department

Aplastic anemia (AA) is a clonal hematopoietic stem cell disease characterized by pancytopenia and various degrees of bone marrow hypocellularity.

Acquired AA is in more than 50% of cases the result of a cellular autoimmune mediated attack against hematopoietic stem cells. There are many enzymatic and cytogenetic data attesting to the presence of a residual hematopoietic stem cell clone. The cytotoxic T-cells responsible for the immune attack were also proven to be (oligo)clonal.

The treatment of AA consists of allogeneic hematopoietic stem cell transplantation (Allo-SCT) or immunosuppression (IS). As opposed to Allo-SCT, which has curative potential in  $\frac{3}{4}$  of cases, IS results in partial recovery of hematopoiesis with a risk of relapse and clonal evolution: paroxysmal nocturnal hemoglobinuria (PNH), myelodysplastic syndrome (MDS) or acute myeloid leukemia (AML).

The PNH clone is present at diagnosis in over 50% of AA patients. The exact mechanism of the PNH clone expansion is unclear.

MDS is the result of the clonal evolution of an abnormal stem cell, genetically unstable due to the presence of short telomeres. Post-AAAML has a similar pathogenetic mechanism.

It is interesting to note that 2 of the late clonal complications of IS treated AA may actually coexist with AA. (the AA/PNH syndrome and hypoplastic MDS).

The risk factors for post AA MDS are the following: age, the number of IS regimens, splenectomy and androgen therapy.

The possible role of G-CSF added to immunosuppression regimens is discussed.

The treatment of late clonal complications of AA is often difficult. Allo-SCT and the recent introduction of anti-complement monoclonal antibodies are the only effective current treatments.

## TRANZIȚIA ÎN HEMOPATIILE MALIGNE - EXPERIENȚA CLINICII DE HEMATOLOGIE COLȚEA

AR Lupu

UMF „Carol Davila” București Clinica de Hematologie, Spital Clinic Colțea, București, România

Bolile hematologice maligne cronice sunt afecțiuni clonale ale celulei stem pluripotente hematopoietice a cărei capacitate de proliferare nu mai este controlată și prezintă anomalii morfologice și funcționale. Acest proces care stă la baza caracteristicilor patogenice, clinice și histologice în cazul fiecărei afecțiuni în parte, poate fi documentat prin evidențierea unor evenimente care se produc la nivel citogenetic și molecular. Transformarea în faza acută de boală poate reprezenta fie evoluția clonei maligne originale, fie se poate dezvolta o malignitate nouă. Procesul de tranziție poate fi asociat cu modificări la nivel molecular, cu un prognostic nefavorabil și influențează supraviețuirea. Factorii predictivi pentru transformare, momentul apariției acestora în cursul evoluției bolii reprezintă subiecte de cercetare.

Din cazuistica Clinicii de Hematologie Colțea am ales câteva cazuri ale unor pacienți care prezintă interes din punct de vedere al particularităților evolutive, al tipului de transformare, încercând să identific și posibili factori asociați cu transformarea în cursul evoluției bolii.

## THE TRANSITION IN MALIGNANT HEMOPATHIES THE EXPERIENCE OF COLTEA CLINIC OF HEMATOLOGY

AR Lupu

University of Medicine „Carol Davila” Clinic of Hematology, Coltea Clinic Hospital, Bucharest, Romania

The chronic hematologic diseases are clonal disorders of pluripotential hematopoietic stem cell which the proliferative capacity is not controlled and have morphologic and functional abnormalities. This process which is in the basis of pathogenetic, clinical and histologic characteristics may be documented by identification of some events that undergo at cytogenetic and molecular level. The transformed in acute phase of the disease represents either evolution of the original clone or development of a novo malignancy. The transition process may be associated with molecular changes, with poor prognosis and influenced the survival. Predictive factors for transformation, the moment of the transformation event in the course of the disease are subjects for researches.

Among the cases from Colțea Clinic of Hematology I have selected a few interesting because of evolutive and transformation particularities and I tried to identify the factors associated with transition in the course of the disease.

## THE UPDATE OF MANAGEMENT OF ACCELERATED AND BLASTIC PHASES OF CHRONIC MYELOGENOUS LEUKEMIA

Prof. Dr. Anca Roxana Lupu

UMF „Carol Davila” București

Chronic myelogenous leukemia (CML) is a clonal myeloproliferative expansion of the multipotent myeloid stem cell, that results from neoplastic transformation and alteration of primitive myeloid progenitor cell in their proliferative capacity. CML may have a biphasic or sometimes triphasic course. Patients who were initially diagnosed in the chronic phase (85-90%) will progress to an acute blast crisis phase (BP). Frequently, an intermediate or accelerated phase (AP), when patients become refractory to traditional, effective therapy, may precede the acute phase. CML is very well characterized leukemia at cytogenetic and molecular level. The Philadelphia chromosome is demonstrable in 90% of CML patients and 75% of patients in aggressive, acute leukemia-like phase, pass through an accelerated phase or abruptly transformation, develop other chromosome aberration in addition to the Philadelphia chromosome (trisomy 8, isochromosome 17, loss of Y chromosome, duplication of Ph chromosome). The BCR/ABL fusion gene, mRNA, and protein are diagnostic markers of CML, an active tyrosine kinase that drives the cell into uncontrolled proliferation in addition with the suppression of pathways of apoptosis. Imatinib mesylate is an abl tyrosine kinase inhibitor approved as first-line treatment for CML since 2002. Several mechanisms of resistance to imatinib have been demonstrated

frequently in patients in BP. In the case of failure, resistance or intolerance to treatment with imatinib the second generation of tyrosine kinase inhibitors such as dasatinib and nilotinib may be used. The novel therapeutic options in the cases refractory to conventional therapy and that progress to the AP or BP are: cytotoxic drugs (amongst thus undergoing investigation as therapy in CML: homoharringtonine, decitabine, troxacitabine, clofarabine, arsenic potassium arsenite), other abl kinase and signal transduction inhibitors, farnesyl transferase inhibitors, proteasome inhibitors, immune-based approaches, stem cell transplantation.

Key words: accelerated/blast phase of chronic myelogenous leukemia, abl kinase inhibitors

## GAMAPATIA MONOCLONALĂ CU SEMNIFICAȚIE NEDETERMINATĂ ȘI MIELOMUL MULTIPLU INDOLENT, PROGRESIE SPRE MIELOMUL MULTIPLU

Hortensia Ioniță

Disciplina de Hematologie - U.M.F. „Victor Babeș” Timișoara

Gamapatia monoclonală cu semnificație nedeterminată (MGUS) și mielomul multiplu indolent (Smouldering) (SMM) sunt asimptomatice, boli pre-maligne caracterizate prin proliferare monoclonală a celulelor plasmatică în măduva hematogenă în absența modificărilor organice ca leziuni osteolitice anemie sau insuficiență renală.

Pacienții cu MGUS și SMM necesită o urmărire îndelungată având în vedere riscul de progresie spre mielom multiplu (MM).

Predicția și prevenirea progresiei MGUS și a SMM spre MM este foarte importantă.

MGUS este cea mai obișnuită discrie plasmocitară prezentă la aproximativ 3% din populația generală cu vârste peste 50 ani. Prevalența bolii crește cu vârsta. Rata de progresie la MM este de 1% pe an. SMM reprezintă 15% din toate cazurile noi diagnosticate cu MM. Rata de progresie la MM simptomatic este cu mult mai mare decât la MGUS.

Pacienții cu MGUS necesită identificarea factorilor de risc care sunt predictivi pentru progresie. Cel mai important factor de risc fiind tipul și mărimea componentului monoclonal. Subtipurile IgM și IgA sunt predictive pentru progresie alături de procentul de celule plasmatică (6-9%) și prezența în ser de lanțuri ușoare libere (FLC).

Factorii de risc pentru progresie SMM includ de asemenea tipul și mărimea imunoglobulinei, prezența unor leziuni litice osoase evidențiate prin RMM și prezența celulelor plasmatică monoclonale anormale în sânge.

Studiile referitoare la progresia MGUS și SMM spre MM au demonstrat factori speciali care inițiază progresia cum ar fi: anomalii citogenetice Ras, metilare p16, myc, p53, modificarea micro mediului celular (angiogeneză, supresiei imunității mediată celulară, modularea secreției paracrine de citochine ca interleukina 6 și VEGF).

În majoritate, pacienții cu MM evoluează din MGUS și SMM deși mulți pacienți cu MM nu au recunoscute clinic aceste stadii pre-maligne probabil datorită naturii asimptomatice a maladiilor. O istorie anterioară de MGUS sau SMM nu are impact asupra prognosticului MM.

## MONOCLONAL GAMMAPATHY OF UNDETERMINED SIGNIFICANCE AND SMOLDERING MULTIPLE MYELOMA; PROGRESSION TO MULTIPLE MYELOMA

Hortensia Ionita

University of Medicine and Pharmacy „Victor Babeș” Timisoara- Department of Hematology

Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) and smoldering multiple myeloma (SMM) are asymptomatic, preneoplastic disorders characterized by monoclonal plasma cell proliferation in the bone marrow and absence of end organ damages such as osteolytic bone lesions, anemia, or renal failure. Patients with MGUS and SMM require in definite follow-up given their life-long risk of progression to multiple myeloma (MM). Predicting and preventing the progressions of MGUS and SMM to MM is of great importance.

The MGUS is the most common plasma cell dyscrasia present in approximately 3% of the general population 50 years of age and older. The prevalence increases with age. The rate of progression to multiple myeloma is 1% per year. SMM accounts for approximately 15% of all cases with newly diagnosed MM. The risk of progression to MM is much higher than observed with MGUS.

Patients with MGUS need identification of risk factors predictive of progression to MM. The most important risk factor is the type and the dimension of monoclonal component. IgA subtypes are predictive for progression with the percent of the plasma cells (6-9%) and presents. Free light chains in the serum.

The risk factors of progression in SMM include the type and level of immunoglobulin, the presence of ... lesions by magnetic resonance imaging (MRI) and the presence of monoclonal plasma cells in the blood.

The studies about progression of MGUS and SMM to MM showed special factors predictive for progression: Ras cytogenetic abnormalities, p16 methylation, myc; p53 modification of cellular micro environment (angiogenesis interleukin 6 and VEGF).

Patients with MM evolve from MGUS or SMM even though patients with MM do not have pre-malignant clinical stages.

History of MGUS and SMM does not have impact in the prognosis of MM.

## SINDROMUL MIELOPROLIFERATIV CRONIC DE TRANZITIE

Gabriel Gaman, Amelia Gaman, C. Moisa

UMF Craiova

Chiar dacă sindroamele mieloproliferative cronice prezintă un fenotip heterogen, totuși patologiile au un mecanism comun, și anume dereglarea unei tirozin kinaze sau a unui receptor de citokină.

Recent descoperirea mutațiilor genei pentru Janus kinaza 2 și a genei pentru receptorul trombopoietinei asociate cu cromozomul Philadelphia negativ la pacienții cu sindrom MP cronic, au condus la reevaluarea clasificării sindroamelor MP și a oferit noi posibilități de diagnostic și tratament.

În trecut au fost identificate rearanjări cromozomiale ale genelor receptorilor pentru factorul de creștere derivat plachetar +/- alfa (PDGFRA) și beta (PDGFRB) și ale receptorului factorului de creștere (FGFR1) și JACK2. Mutațiile ale genei KIT care codifică pentru receptorul celulei STEM au fost descoperite în mastocitozele sistemice

În mod clasic, cele 4 entități ale sindromului mieloproliferativ cronic se pot metamorfoza astfel :

-Leucemia Granulocitară Cronică poate trece în trombocitemie esențială și metaplazie mieloidă cu mielofibroza.

-Policitemia vera poate trece în LGC, TE și MMM

-TE în LGC, PV și MMM

-MMM în LGC

-Sindromul PV-MM apare la 50% din pacienții cu policitemie vera. Tranzitia apare în medie la 10 ani după momentul diagnosticului existând cazuri individuale în care poate apărea la intervale mai scurte sau mai lungi de timp

Najean a considerat că faptul că în cel puțin 15 ani această problemă reprezintă o complicație clinică majoră afectând 50% din pacienți.

PV-MM este caracterizată prin: creșterea splenomegaliei, eritrocite în picătură, fibroza extinsă medulară, tablou leuco-eritroblastic, număr de eritrocite normal sau scăzut.

Anemia este rezultatul sechestrării la nivelul splinei a hematiilor, eritropoiezei ineficiente și proceselor extramedulare de eritropoieza a hematiilor cu viață scurtă.

Combinarea anomaliilor PVE la trombocitopenie sau la defectele plachetare calitative sunt des întâlnite în această fază a bolii. Pacientul cu PV-MM este supus unui mare risc de a dezvolta leucemie acută.

TE, PV și MMM au aceeași evoluție clinică și același fenotip. Agravarea stării clinice este des întâlnită. TE poate evolua spre mielofibroza /MMM secundară.

Caracteristicile biologice comune ale sindroamelor mieloproliferative cronice sunt prezența coloniilor eritrocitare endogene (EEC), supra expresia genei PRV1 mRNA la nivelul eritrocitei și o scădere a MPL membranară de la nivelul megacariocitelor. Împreună aceste caracteristici arată faptul că defectele moleculare întâlnite în sindroamele mieloproliferative sunt foarte asemănătoare.

Mai multe grupuri au identificat mutația JACK2 V617K la majoritatea pacienților cu PV și la aproximativ 50% din pacienții cu TE și MMM. JACK2 este una din cele 4 Janus kinaze (KAK) care se leagă la nivelul domeniului intracitoplasmatic al receptorului JACK2 mediază semnalele receptorilor 1 monodimerici :

-EPO-R

-G-CSF-R

-MPL1 și MPL2-R, și este de asemenea implicată în semnalizarea KIT.

Mutațiile JACK2 reduc expresia MPL la nivelul suprafeței celulare.

Analiza predecesorilor hematopoetici demonstrează prezența cromozomilor homozigote pentru JACK2 V617K la majoritatea pacienților cu PV și absența la majoritatea pacienților cu TE.

Studii cantitative pe ADN-ul granulocitelor au arătat că nivelul alelelor mutante la majoritatea pacienților cu TE este mai scăzut decât la pacienții cu PV sau MMM (20% versus >50%)

La jumătate din pacienții cu sindrom mieloproliferativ cronic nu a fost demonstrată nici o anomalie recurentă. Studiile citogenetice au arătat un spectru larg de anomalii ce nu pot fi încadrate în clasificarea markerilor pentru că ele reprezintă o minoritate.

Printre cele mai frecvente anomalii citogenetice ale JACK2 V617K sunt deleția 20q și trisomia 9. Alte anomalii :

-deleția 13q, 12p

-trisomiile +8, +19, +21

-aberratie cromozomială 1q

-pierderile de la nivelul cromozomilor 7 și 4.

Schimbările epigenetice pot apărea în sindroamele MP cronice. Hipermetilarea SOCS1 la cazurile cu TE

JAK2V617K-pozitive sau TE,PV si MMM negative .

Raman intrebari in legatura cu mecanismele ce conduc la o mutatie unica sau o cale defectiva care genereaza diferitele fenotipuri ale bolii.

## CHRONIC MYELOPROLIFERATIVE DISORDERS TRANSITION

G.GAMAN, AMELIA GAMAN, C.MOISA

UMF CRAIOVA.

Despite being phenotypically heterogeneous, MPDs share a common mechanism of pathogenesis: the deregulation of either a tyrosine kinase or a cytokine receptor.

Recently, the discovery of mutations in the genes for the Janus kinase 2 (JAK2) and the thrombopoietin (TPO) receptor (MPL) gene, in Philadelphia chromosome - negative MPD led to the reassessment of MPDs classification and provided new tools for diagnosis and treatment.

Earlier, chromosomal rearrangements involving the genes for platelet-derived growth factor receptors +/- alpha (PDGFRA) and beta (LPDGFRA), fibroblast growth factor receptor-1 (FGFR1) and JAK2 were identified. Mutations in the KIT gene, which encodes the stem cell factor receptor, were found in systemic mastocytosis.

Classically, the 4 conditions of chronic myeloproliferation can be transformed one into another in this way:

- Chronic Myelogenous Leukemia (CML) is transformed into Essential Thrombocythemia (ET) and into Myelofibrosis with myeloid metaplasia (MMM).

- Polycythemia vera (PV) pass into CML, in MMM and in ET.

- MMM into CML.

- ET into MMM and PV.

The syndrome PV-MM occurs in 5-50% of patients with polycythemia vera. The transition occurs, on average, 10 years after the initial diagnosis, but in individual cases, it can occur after either shorter or longer intervals.

Najean had reported that 15 years or more after the initial diagnosis, this complication is a major clinical problem, affecting almost 50% of patients.

PV-MM is characterized by:

- increasing splenomegaly

- tear drop red cell morphology

- extensive bone marrow fibrosis

- leucoerythroblastic blood picture

- a normal or decreasing red blood cell mass.

The anemia that characterizes the spent phase is primarily a result of splenic pooling, ineffective erythropoiesis, and extramedullary production of red blood cells with a shortened red cell survival.

Bleeding abnormalities PVE to thrombocytopenia or qualitative platelet abnormalities are especially common during this phase of the disease. Patients with PV-MM are at high risk for the development of acute leukemia.

ET, PV and MMM share a general pattern of clinical evolution and phenotypical mimicry. Clinical progression is frequently observed. ET can evolve into PV, and both (ET and PV) can progress to secondary myelofibrosis/MMM.

The biological features common to these MPD are the presence of endogenous erythroid colonies (EEC), the over expression of PRV1 mRNA in granulocytes and the low level of membrane MPL in the megakaryocytic lineage.

Together, these features suggest that the molecular defects underlying these MPD would be very similar.

Several groups identified the JAK 2V617K mutation in most patients with PV and 50% of patients with ET and MMM.

JAK 2 is one of the four Janus kinases (KAK) these proteins bind the intracytoplasmic part of cytokine receptors through their FERM domain. JAK2 mediates signaling of type 1 monodimeric receptors:

- EPO-R

- G-CSF-R

- MPL1 and MPL2-R, and is also involved in signaling by KIT.

Mutant JAK 2 reduces MPL cell surface expression.

Analyses of hematopoietic progenitors demonstrate that homozygous clones for JAK2V617K are present in most PV patients.

Quantitative studies on granulocyte DNA showed that levels of mutated allele in most ET patients is lower than in PV or MMM patients (20% versus >50%).

In half of the malignancies with myeloproliferation features, no recurrent abnormalities has been shown.

Cytogenetic studies show a wide spectrum of abnormalities that cannot be used as unifying classification markers, because they only account for a minority of cases.

Among the most frequent cytogenetic abnormalities, the 20q deletion and trisomy 9 are found in

JACK2V617K positive classic MPD

Other abnormalities:

-del 13q,12p

-trisomies +8,+19,+21

-gain of 1q

-chromosome losses -7,-4

Epigenetic changes may occur in MPD. Hypermethylation of SOCS1 in cases of JACK2V617K-positive ET or negative ET,PV and MMM.

Questions remain about the mechanisms leading to a unique mutation or defective pathway to generate different disease phenotypes.

Optimizarea și standardizarea metodei Real Time PCR cantitativ pentru detectia transcriptului BCR-ABL în LMC: situația actuală în laboratorul de biologie moleculară al Centrului de Hematologie și Transplant Medular “Stefan Berceanu”

Rodica Talmaci<sup>1</sup>, Daniel Coriu<sup>1,2</sup>, Adriana Colita<sup>1,2</sup>

1-Universitatea de Medicină și Farmacie “Carol Davila”, București

2-Institutul Clinic Fundeni, București

Monitorizarea moleculară a nivelului de transcript BCR-ABL prin Real Time PCR cantitativ (RQ-PCR) este din ce în ce mai utilizată pentru analiza răspunsului terapeutic la pacienții cu Leucemie Mieloidă Cronică (LMC). Această metodă a devenit esențială în era terapiei cu inhibitori de tirozin kinază, pentru situațiile când nivelul residual al clonei leucemice este scăzut sub nivelul de detecție prin analiza citogenetică efectuată pe preparate din măduva osoasă. Creșterea nivelului de transcript BCR-ABL este un indicator precoce al pierderii răspunsului terapeutic și astfel, se impune modificarea strategiei de tratament. Din acest motiv este importantă monitorizarea moleculară regulată a pacienților cu LMC.

Începând cu acest an în departamentul nostru și-a început activitatea laboratorul de biologie moleculară, laborator care utilizează platforma LightCycler de real time PCR cantitativ. În laboratorul nostru suntem preocupați în obținerea unor rezultate valide și reproductibile pe care le putem realiza numai acordând o importanță specială respectării și optimizării fiecărei etape din protocolul de lucru recomandat de European LeukemiaNet și grupul Europe Against Cancer: colectarea probelor biologice, extracția ARN-ului, reacția de revers transcriptie, analiza și interpretarea datelor de PCR cantitativ. În această lucrare se prezintă rezultatele obținute și se analizează problemele întâlnite.

Optimization and standardization of a Real Time quantitative PCR method for detection of BCR-ABL transcripts in CML patients: actual situation in molecular biology laboratory of Center of Haematology and Bone Marrow Transplantation “Stefan Berceanu”

Rodica Talmaci<sup>1</sup>, Daniel Coriu<sup>1,2</sup>, Adriana Colita<sup>1,2</sup>

1-University of Medicine and Pharmacy “Carol Davila”, Bucharest

2-Fundeni Clinical Institute, Bucharest

Molecular monitoring of BCR-ABL transcript level by Real Time quantitative PCR (RQ-PCR) is increasingly used to assess treatment response in patients with Chronic Myeloid Leukemia (CML). This has become particularly relevant in the era of tyrosine kinase inhibitors therapy when residual level of leukemia usually fall below the level of detection by bone marrow cytogenetic analysis. Because a rising level of BCR-ABL is an early indication of loss of response and thus the need to reassess therapeutic strategy, regular molecular monitoring of individual patients is clearly desirable. Starting with this year in our department just have started the activity a new molecular biology lab using a LightCycler platform. Our main concern is to get valid RQ-PCR data, and for that it is imperative to consider and optimize each stage of the procedure, including samples collection, RNA extraction, reverse transcription, and the quantitative PCR. Here we present our achievement and some of the problems encountered.

**METAMORFOZA BLASTICĂ A LEUCEMIEI GRANULOCITARE CRONICE: MECANISME ȘI TRATAMENT**

Dan Coliță, Adriana Coliță

Centrul de Hematologie și Transplant Medular Institutul Clinic Fundeni, București

Evoluția naturală a leucemiei granulocitare cronice (LGC) sfârșește în mod implacabil cu o leucemie acută Ph+, mieloidă sau limfoidă (75 și respectiv 25% din cazuri), extrem de severă (metamorfoza sau criza blastică). Această

evoluție poate fi cupată numai cu ajutorul allotransplantului de celule stem hematopoietice (Allo-TCSH) sau mult întârziată prin administrare de Imatinib Mesilate (IM). Efectuat preferențial în faza inițială precoce, Allo-TCSH realizează remisiuni neîntrerupte lungi (50-70% cazuri la 3 ani) cu șanse de vindecare (< 2% recăderi/an la subiecții cu remisiune completă mai lungă de 5 ani). Administrarea IM de la diagnostic (400 mg/zi), prelungește cel puțin de 2 ori durata fazei cronice inițiale, amânând astfel instalarea crizei blastice. Rata anuală a progresiei după 5 ani de evoluție fără evenimente de boală în timpul tratamentului cu IM este de 0,9%. Pierderea răspunsului la IM reprezintă o formă secundară (dobândită) de rezistență la tratament și coincide cu reactivarea proteinei oncogenice p210BCR-ABL, molecula-țintă a IM. Oncoproteina p210BCR-ABL este o tirozin-kinază (TK), care produce fenotipul de boală. Expresia TK BCR-ABL este permanentă, autonomă și progresivă. TK BCR-ABL ar putea fi implicată direct sau indirect, (prin alterarea mecanismelor de reparare a ADN), în achiziția anomaliilor genetice neîntâmplătoare asociate în diverse combinații cu metamorfozarea blastică. În 60-80% din cazuri, anomalia Ph se asociază cu altele, numerice (+8, +13, al 2-lea crz.Ph) sau structurale [i17q, t(3:21), t(7:11)], iar la nivel molecular cu mutațiile p53 și ale locusului INK4A/ARF asociate frecvent cu criza blastică mieloidă și, respectiv, cu cea limfoidă.

Tratamentul crizei blastice (CB) nu este protocolat. Bolnavii sunt de 2 categorii: cei cu CB instalată după tratament cu IM și cei "naivi", care au făcut alte tratamente sau au fost depistați direct în faza de metamorfozare. La pacienții pretratați cu IM se recomandă efectuarea analizei moleculare a TK BCR-ABL. Depistarea unei mutații care conferă rezistență absolută la IM (ex. T315I) indică renunțarea la IM. La toți ceilalți este de încercat răspunsul la dozele mărite (600-800 mg/zi) de IM, care induc 34% răspunsuri hematologice (RH) complete sau reconvertiri la faza cronică, 18% răspunsuri citogenetice (RCi) și o supraviețuire mediană de 6,9 l. Alți inhibitori ai TK BCR-ABL (Nilotinib, Dasatinib) pot fi încercați în cazurile rezistente la IM, cu excepția celor cu mutația T315I. Nilotinib (2 x 400 mg/zi) induce 42% RH în CB mieloidă, 31% RH în CB limfoidă și 27% RCi la pacienții cu mutații ale TK. Dasatinib (2 x 70 mg/zi) produce răspunsuri complete hematologice și citogenetice în ambele forme de metamorfozare: 27% RH și 26% RCi în CB mieloidă și 29% RH și 50% RCi în CB limfoidă. Durata generală a răspunsurilor a fost < 6 luni. Polichimioterapie cu scheme bazate pe citarabină/antraciclină pentru transformarea mieloidă sau pe vincristină/prednison pentru formele limfoide ca alternativă la inhibitorii TK, oferă performanțe efemere de același ordin de mărime. Asocierile între citostatice și inhibitori ai TK pot fi sinergice sau aditive. Allo-TCSH la pacienții eligibili este o opțiune pentru pacienții aflați în remisiune completă sau reconverși la faza cronică.

## THE BLASTIC METAMORPHOSIS OF THE CHRONIC MYELOID LEUKEMIA (CML): MECHANISMS AND TREATMENT.

Dan Coliță, Adriana Coliță

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

The natural evolution of CML ends implacably with an extremely severe acute Leukemia Ph+, of myeloid or lymphoid type (75 and respectively 25% of cases), named metamorphosis or blastic crisis BC. This evolution can be stopped by the allotransplant of hematopoietic stem cells (Allo-THSC) or delayed by the treatment with Imatinib Mesilate (IM) which prolongs 2 times long the duration of the initial chronic phase of the disease. The evolution to BC is promoted by an oncoprotein (p210BCR-ABL), an autonomous active tyrosin-kinase (TK), engendered by the "Philadelphia" ("Ph") translocation [t(9:22)], the hallmark of the disease. The evolution to BC is marked by a nonrandom genetic instability which supplements the Ph chromosome with numeric (+8, +13, the 2nd Ph chr.), structural [i17q, t(3:21), t(7:11)] and molecular (p53 and INK4A/ARF mutations) abnormalities (60-80% of cases in BC). The treatment of BC is not firmly formulated. Being the fact of the central position of TK BCR-ABL, in the pathogenesis of the disease the inhibitors of the enzyme (i.e. Imatinib, Nilotinib and Dasatinib) began to be recommended as front-line therapy. They realise hematologic and cytogenetic remissions or reconversion in chronic phase of the BC, but with short duration (~6 mo.). The cytostatic polichemotherapy (the models of acute high risk leukemias) offers also ephemeral results. The allo-THSC has better outcome for the eligible patients reconverted to the chronic phase or being in complete remission after the above mentioned treatments.

Gamapatia monoclonală Cu semnificație nedeterminată, mielomul Multiplu Smoldering, Mielomul Multiplu cor, etiologii patogene

M.Badea#, Daniela Badea\*

#Clinica de Hematologie, \*Disciplina de Fiziologie; Univ de Medicină și Farmacie Craiova

Discraziile plasmocitare sunt proliferări limfoide B cu grad de maturare semnificativ ce permit sinteza de Ig sau fracțiuni ale acestora.



Gamapatia monoclonală cu semnificație nedeterminată (MGUS) este o boală clonală caracterizată prin infiltrație plasmocitară medulară 10%, CM 3g/dl, în absența leziunilor organice. Rar MGUS are potențial evolutiv către o limfoproliferare agresivă (MM, amiloidoză, boală Waldenstrom) majoritatea bolnavilor decedând din alte cauze.

Mielomul multiplu smoldering (SMM) este o boală cu caracter malign, cu plasmocitoză medulară 10%, CM în general 3g/dl, fără leziuni organice și complicații majore; potențial evolutiv frecvent către MM activ.

Mielomul Multiplu (MM) este o boală malignă activă cu plasmocitoză medulară 10%, CM 3g/dl, caracterizată de prezența leziunilor organice semnificative.

Discraziile plasmocitare își au originea într-o celulă ce a traversat centrul germinativ, a suferit fenomenul de switch izotipic și pe cel al mutațiilor somatice, fiind absente variațiile intraclonale. Genetica MM este complexă și heterogenă: cuprinde proliferări non-hiperdiploide ce posedă translocații primare ale IgH (40-50%), proliferări hiperdiploide (48-75 cromozomi)(40%) și alte tipuri de proliferări (20%). Translocațiile IgH cuprind 8 tipuri de proliferări împărțite în 3 grupe (cyclina D1, MAF și MMSET/FGFR3). Proliferările hiperdiploide prezintă trisomii ale cromozomilor impari 3, 5, 7, 11, 15, 19 și 21 și rar translocații IgH. Ambele tipuri de leziuni apar timpuriu în evoluția proliferării, ele fiind identificate în procente relativ similare, atât în MGUS cât și în MM. Afectarea locusului IgH apare foarte probabil în procesul de switch izotipic și mai rar în cel al mutațiilor somatice. Nu se cunoaște patogenia trisomiilor și nici modalitatea cum acestea contribuie la inițierea și/sau evoluția procesului malign.

Deși cu relevanță incontestabilă această încadrare genetică nu prezintă o semnificație clinică deosebită, întrucât MM pare să includă mai multe tipuri de proliferări cu caracteristici diferite în ceea ce privește atât evenimentele ce inițiază proliferarea, cât și caracteristici generale: dependența de micromediul medular, manifestările clinice, prognosticul sau răspunsul la terapie.

Impactul evolutiv și prognostic este oferit de alte caracteristici biologice, anomalii citogenetice sau de biologie moleculară, cu prevalență aprox similară în cele două grupe de proliferări menționate: translocațiile secundare ale IgH, del 13q, anomalii ale căii Ras, NFkB, a proteinei p53, sau a RB. Anomaliile de laborator cu impact asupra progresiei în MGUS sunt multiple, diverse și controversate: amplitudinea CM, prezența izotipului IgA sau IgM, procent medular crescut de plasmocite, reducerea Ig policlonale și, recent, anomalii ale raportului lanțurilor ușoare în ser 0,26 și 1,65. Școala de la Barcelona identifică două grupuri de bolnavi cu SMM cu caracteristici similare la diagnostic, dar care în timp se diferențiază: grupul în care CM rămâne stabil (nonevolving) față de grupul (evolving) cu rată crescută de evoluție către MM, în care CM se amplifică semnificativ în timp. Astfel, MGUS/SMM cu caracter evolutiv poate fi considerat de la început un MM incipient, în comparație cu nonevolving MGUS/SMM, ce reprezintă o leziune stabilă. Prin prisma ipotezei celulei stem a neoplaziei, certificată deja în MM, se ridică desigur problema heterogenității biologice a acesteia, dar și a importanței relației cu micromediul medular, cel puțin la un număr semnificativ de cazuri.

Monoclonal gammopathy of undetermined significance, Smoldering multiple myeloma and Multiple Myeloma pathogenic correlations

M.Badea#, Daniela Badea\*

#Dept. of Hematology, \*Dept. of Physiology; Univ. of Medicine and Pharmacy Craiova

The plasma cell disease are B cells proliferation with advanced grade of maturity with permitted immunoglobulin (Ig) or Ig fragments synthesis.

Monoclonal gammopathy of undetermined significance (MGUS) is a clonal disease characterized by plasma cells (PC) infiltration of bone marrow (BM) <10%, CM<3g/dl, in the absence of organic lesions. The evolutionary potential towards an aggressive lymphoma (MM, amiloidozis, Waldenstrom disease) is rare, the majority of patients dying from other causes.

Smoldering multiple myeloma SMM is a malignant disease with BM plasmacytosis >10%, CM usually >3g/dl, without organic lesions and major complications; frequently evolving towards active MM.

Active MM is a malignant disease with BM plasmacytosis > 10%, CM > 3g/dl, characterized by end-organ damage related to PC proliferation.

The PC proliferations originate in a cell that has traversed the germinal center, has undergone an izotipic switch and somatic mutations in the absence of intraclonal variations. The genetic makeup of MM is complex and heterogeneous; containing non-hyperdiploid proliferations that poses primary translocations of IgH (40-50%) hyperdiploid proliferations (48-75 chromosomes)(40%) and other types of proliferations (20%). IgH translocations contain 8 types split into 3 groups (cyclin D1, MAF and MMSET/FGFR3). The hyperdiploid proliferations presents trisomies of the odd chromosomes 3,5,7,11,15,19 and 21 and rarely IgH translocations. Both types of lesions appear early in the evolution of the proliferations, being identified in relatively similar percentages in both MGUS and in MM. The lesions of the IgH locus seem very probable in the izotipic switch process and worse, the somatic mutation. The pathogenesis of

the trisomia is unknown as is the way in which this contributes to the initialization of the malignant process. Although with incontestable relevancy this genetic classification, does not present a major clinical significance, since MM seems to include many types of proliferations with different characteristics with regard to the events that initialize the proliferation, but also in general features: dependency on the BM microenvironment, clinical manifestations, prognostic, or response to therapy. The evolutionary and prognostic impact is created as much by these biological characteristics, cytogenetic or molecular biology abnormalities with prevalence similar to the two groups: secondary translocations of IgH, del 13q, Ras pathway abnormalities, NFkB, the protein p53, or RB. Laboratory abnormalities that impact the progression of MGUS are multiple, diverse and controversial: the concentration of CM, the presence of IgA or IgM isotype, the high percent of BM cells, the reduction of the polyclonal Ig and recently, the abnormal free light-chain ratio, defined as below 0.26 (indicating excess of lambda chains) or above 1.65 (indicating excess of kappa chains)

With regards to SSM, the school of Barcelona recognize a group of patients with similar features at diagnostic, while CM is stable (nonevolving) versus the group (evolving) with a higher rate of evolution towards MM, in which CM increase significantly with time. Otherwise, MGUS/SMM with evolutionary character may be considered from the beginning an incipient MM compared to the nonevolving MGUS/SMM which represents a stable disease.

From the point of view of the neoplastic stem cell hypothesis, already certified in MM, the problem of the biological heterogeneity is very clear, but is also important to clarify the relationship of this cell with bone marrow microenvironment, at least for a significant number of cases.

## COMUNICARI VARIA

### ROLUL TRATAMENTULUI COMBINAT SI EVOLUTIA POSTTRATAMENT LA PACIENTII CU LIMFOAME MARGINALE CU SPLENOMEGALIE.

Autori: A. M. Vladareanu\*, A. Petre\*, C. Ciufu\*, D. Casleanu\*, H. Bumbea\*, M. Onisai\* , I. Voican\*, M. Begu\*, C. Marinescu\*, S. Radesi \*C Dobre\*\*\*, V. Vasilache\*, V. Popov, ,H. Pantu, \*\* S. Neagu\*\*, M. Grigoriu, \*\* , C Savlovshi\*\*, D. Vasile\*\*

\* Clinica de Hematologie, Spitalul Universitar de Urgenta ,Bucuresti

\*\* Clinica de Chirurgie, Spitalul Universitar de Urgenta ,Bucuresti

\*\*\* Institutul V. Babes, Bucuresti

REZUMAT: Limfoamele marginale fac parte din categoria limfoamelor indolente, cu evolutie favorabila sub tratament. Am prezentat un studiu retrospectiv luind in discutie pacientii diagnosticati cu Limfoame marginale in Clinica de Hematologie SUUB timp de 2 ani. Au fost luati in studiu atat pacientii cu Limfoame marginale nodale care asociau splenomegalie cat si pacientii cu Limfoame marginale splenice primitive..Diagnosticul s-a pus pe criteriul histopatologic si imunohistochimic al ganglionilor sau splinei, insotit de analiza flowcitometrica a maduvei si sangelui periferic in formele cu descarcare.

Sunt prezentate optiunile terapeutice si evolutia pacientilor sub tratament specific. S-a analizat eficienta tratamentului in cazul pacientilor initial splenectomizati apoi chimiotratati fata de cei la care tratamentul a continut chimioterapia ca prima linie. Mentionam ca in cadrul tratamentului polichimioterapic s-au folosit si anticorpi monoclonali, conform protocoalelor terapeutice.

Concluzie: Pacientii care au primit tratament combinat care a inclus chimioterapie, imunoterapie si tratament chirurgical ( splenectomie) au avut o evolutie favorabila apreciata ca rata de remisuni si supravietuire fara resuta. . Splenectomia este o optiune terapeutica cu rol important in tratamentul Limfoamelor marginale cu splenomegalie fie de prima intentie, fie in completarea tratamentului medicamentos iar indicatia ei trebuie formulata distinct in cazurile selectionate. .

### THE COMBINED TREATMENT ROLE AND THE EVOLUTION AFTER THERAPY IN MARGINAL NHL WITH SPLENOMEGALY PATIENTS

Authors: A. M. Vladareanu\*, A. Petre\*, C. Ciufu\*, D. Casleanu\*, H. Bumbea\*, M. Onisai\* , I. Voican\*, M. Begu\*, C. Marinescu\*, S. Radesi \*C Dobre\*\*\*, V. Vasilache\*, V. Popov, ,H. Pantu, \*\* S. Neagu\*\*, M. Grigoriu, \*\* , C Savlovshi\*\*, D. Vasile\*\*

\*Hemathology Department of the Emergency University Hospital, Bucharest

\*\*Surgery Department of the Emergency University Hospital, Bucharest

\*\*\*V. Babes Institute, Bucharest

ABSTRACT : Marginal non-Hodgkin lymphomas are indolent type of lymphomas, with favorable course under therapy. We present a retrospective analysis , considering the Marginal Lymphoma patients diagnosed in our department in the last 2 years, including nodal marginal lymphomas with splenomegaly, also splenic marginal lymphoma patients. The diagnosis was on hystopathologic and immunohystochemical examination of the lymph node and spleen, together with bone marrow flow-cytometry analysis and peripheral blood flow-cytometry in leukemic forms of the disease.

We are analyzing the therapeutic options and under treatment evolution of the patients, such as : the efficiency of the treatment in patients with prior splenectomy and chemotherapy as a second-line treatment comparing to patients having first-line chemotherapy. We also used monoclonal antibodies during the therapy, according to international regimens.

Conclusion : Patients receiving combined therapy : chemotherapy, immunotherapy and surgical treatment (splenectomy) have had a favorable course of the disease, considering remission rates and disease free survival without relapse. The splenectomy represents an important therapeutic option like first-line therapy or after chemotherapy; the recommendation of splenectomy must be very well chosen in clearly selected cases.

### FACTORI DE PROGNOSTIC IN LEUCEMIA LIMFOCITARA CRONICA

Horia Bumbea, Ana-Maria Vladareanu  
Spitalul Universitar de Urgenta Bucuresti, Romania

#### Rezumat

Sistemele de prognostic utilizate cel mai frecvent in leucemia limfocitara cronica sunt sidtemul Rai si Binet. Se asociaza in prezent si alti markeri la aceste sisteme de prognostic, legate de boala si statusul pacientului. Markerii imunofenotipici si genetici / moleculari reprezinta un grup important de factori de prognostic. Dintre markerii imunofenotipici remarcam markerii clasici :

- imunofenotipul aberant CD33, CD13, CD14, CD36
- imunofenotip atipic FMC7, CD22
- markeri solubili sCD23, sCD25, sCD27
- markeri de activare CD38
- surogat pentru statusul mutatiei IgVH ZAP-70
- cyclin D1, superexpresia bcl-2
- molecule de adeziune CD54 (ICAM-1), sCD44

Markerul imunofenotipic cel mai important a fost mult timp CD38, introdus de Damle si colab. in 1999, ca un marker asociat statusului mutatiei IgVH, dar rezultatele au fost discordante fata de determinarea prin tehnici moleculare, in timp ce expresia ZAP-70 se coreleaza mult mai bine cu statusul mutatiei IgVH, iar tehnica de analiza prin flowcitometrie este considerata metoda optima (Crespo si colab, 2003), desi unele centre inca mai efectueaza studii de standardizare a acestei metode.

In aceeasi masura sunt utilizati ca factori importanti de prognostic: aberatiile cromozomiale (13q-, 11q, 17p), lungimea telomerelor, activitatea telomerasei, timpul de dublare limfocitar, concentrația beta-2 MG, nivelul seric al sCD23, activitatea sTK.

Un element nou il aduce stratificarea in subgrupe prognostice a LLC pe baza asocierii imunofenotipice a FMC7, CD20 inalt pozitiv, CD23 slab pozitiv, CD38 inalt pozitiv (Habib si Finn 2006).

Toti acesti factori predictivi reprezinta factori suplimentari care se adauga la stadializarea clinica prognostica, care ramane inca baza evaluarii prognostice initiale a bolnavului cu LLC.

#### PROGNOSTIC FACTORS IN CRONIC LYMPHOCYTIC LEUKAEMIA

Horia Bumbea, Ana-Maria Vladareanu  
Spitalul Universitar de Urgenta Bucuresti, Romania

#### Abstract

The most important prognosis systems in chronic lymphocytic leukaemia were clinical systems Rai and Binet. There were associated many other markers, related to disease and to the patient status. Immunophenotypic markers have been introduced among the important prognosis factors. They could be classified as: atypical immunophenotype FMC7, CD20<sup>++</sup>, aberrant immunophenotype like myeloid markers CD14, CD36, CD13, CD33; soluble markers sCD23, sCD25, sCD27; activation markers (CD38); surrogate for IgVH mutation status (ZAP-70); cyclin D1, bcl-2 overexpression; adhesion molecules: CD54 (ICAM-1), sCD44.

The most important immunophenotypic marker was CD38, introduced in 1999 by Damle et al., as a strong prognosis marker associated with IgVH mutation status, but molecular studies found many cases with discordant results. A better marker seems to be the novel ZAP-70 as prognosis marker associated with IgVH mutation status, and the best method for analysis is flowcytometry (Crespo et al, 2003). Despite the method for detection need to be standardized, it is the best way to analyze very quickly the IgVH mutation status.

There are used as important pronostic markers cromozomial aberrations (13q-, 11q, 17p), telomer length, telomerase activity, serum beta-2 MG level, lymphocyte doubling time, serum sCD23, sTK activity.

Prognostic stratification of CLL was found related to the complex immunophenotype: FMC7, CD20 high pozitive, CD23 low pozitive, CD38 high pozitive (Habib and Finn 2006).

All these predictive factors represents only additional to the clinical staging systems which are still the basement of the initial prognostic evaluation and decision of treatment in patients with chronic lymphocytic leukaemia.

#### EVOLUTIA CLONALA TARDIVA INTR-UN CAZ DE ANEMIE APLASTICA TRATAT IMUNOSUPRESIV

Ljubomir Petrov

Institutul Oncologic "Ion Chiricuta" Cluj Napoca  
Universitatea de Medicina si Farmacie "Iuliu Hateganu", Clinica de Hematologie

Anemia aplastica este o boala a celulei stem hematopoietice caracterizata prin pancitopenie si grade variate de hipocelularitate. Patogeneza nu este pe deplin elucidata. Exista dovezi in favoarea depletiei imune a celulei stem hematopoietice prin limfocite T citotoxice.

Principalele modalitati terapeutice constau in transplant allogeic de celule stem si imunosupresie. Dupa tratamentul imunosupresor asistam uneori la o evolutie clonala spre: hemoglobinurie paroxistica nocturna (HPN), sindrom mielodisplazic (SMD) sau leucemie acuta mieloida (LAM).

Prezentam observatia clinica a unui pacient cu anemia aplastica severa care a avoluat dupa tratamentul imunosupresor spre HPN si SMD.

Bolnavul M.R. de 20 de ani a urmat in 1998 un tratament imunosupresor cu globulina antitimocitara (GAT) cu persistenta unei pancitopenii moderate fara complicatii sau necesar de transfuzii. Dupa 4 ani anemia se accentueaza pacientul devenind dependent de transfuzii. Examinarile efectuate la Clinica de Hematologie din Cluj si la clinica din Italia confirma diagnosticul de HPN. Dupa inca 6 luni biopsia osteo medulara pune in evidenta modificari displazice trilineare. Cariotipul este normal.

Tratamentul in continoare consta in transfuzii de masa eritrocitara, dinazol si corticoizi.

Anemia aplastica severa si foarte severa tratate prin transplant allogenic de celule stem sunt curabile intr-un procent de 50-75%.

Dupa imunosupresi rata de raspuns este de 75%, insa exista riscul recaderii si evolutiei clonale spre HPN, SMD sau LAM.

Cazul prezentat a avut o evolutie spre primele doua posibilitati.

## CLONAL EVOLUTION IN A PATIENT WITH SEVERE APLASTIC ANEMIA TREATED WITH IMMUNOSUPPRESSION

Ljubomir Petrov

“Ion Chiricuta” Cancer Institute  
University of Medicine and Pharmacy, Hematology Department

Aplastic anemia is a disease of hematopoietic stem cell characterized through pancitopenic and different grades of hypocellularity.

Pathogenesis it is not fully elucidated. There are proofs in favour of immunity clack of the hematopoietic stem cell through cytotoxic T cell.

The mains therapeutic treatments ways are based on allogenic stem cell transplant and immunosuppressive drug therapy. After the immunosuppression is done we can see sometimes that clonal evolution developing: PNH, MDS or AML.

We are showing the clinical observation of the patient having a severe aplastic anemia wich evolution after immunosuppression went towards PNH/MDS.

The patient M.R. 20 years old had in 1998 an immunosuppression with antithymocyte globulins (GAT) developing a moderate pancytopenic diseases without complications or blood transfusions necessary. After 4 years the anemia was more severe and the patient became blood transfusion dependent.

Examinations done at Hematology Department in Cluj and Italy have confirmed the PNH diagnostic.

After six mounths a bom marrow biopsy was done, showing modifications: trilineage dysplasia. The karyotype it is normal.

The further treatment is based on transfusions of erithocytary mass, “danazol” and “prednisone”.

Severe aplastic anemia and very severe are treated through allogenic stem cell transplant are healing in proportion of 50% to 75%.

After immunosuppressive treatment a 75% rate is aletainable, but exists the risk of relapse and a clonal evolution towards PNH, MDS or AML.

This patient had en evolution characterized by these two possibilities.

Quality of life beyond survival: endocrine treatment in major thalassemic patients

Simona Fica\*, Florentina Vladareanu\*\*\*, Anca Zirnea\*\*, Alice Albu\*\*, Carmen Barbu\*, Rodica Rotaru\*\*, Larisa Nitu\*\*\*, Daniela Marinescu\*\*\*.

\*Departament de Endocrinologie, "Carol Davila" University of Medicine and Pharmacy, Bucharest, Romania

\*\* Elias Hospital, Bucharest, Romania

\*\*\* National Institute of Transfusional Hematology, Bucharest, Romania

Homozygous  $\beta$ -thalassemia is a genetic disorder of globin chains synthesis characterized by ineffective erythropoiesis and chronic anaemia requiring regular transfusions in order to overcome the complications of anaemia and compensatory bone marrow expansion.

In Romania  $\beta$ -thalassemia major is not a common disease, with a prevalence of only 0,5%, but it represents a serious medical condition. Excess of iron accumulations resulting from transfusions leads to endocrine disturbances.

Aim of the study: to assess the prevalence of endocrine disturbances in  $\beta$ -thalassemic patients and to evaluate the benefit of hormone replacement therapy.

Patients: 78 patients (38 females and 40 males) with major  $\beta$ -thalassemia with a mean age of 19.456.82 years referred to our clinic from the National Institute of Transfusional Hematology.

Methods: All the patients were evaluated clinically (age, sex, height, weight, pubertal status by Tanner) and biologically. LH, FSH, estradiol, testosterone, PTH, TSH, free T4, insulin, GH, IGF1 were measured by chemiluminescence, BMD (bone mineral density) was measured by Dual-energy x-ray absorptiometry (DXA); mean ferritin value was used to assess iron overload.

Results: 65 patients at pubertal and adult age (83,3%) in our group had hypogonadotropic hypogonadism and 48 patients (61,5%) had pathological short stature with great impact on their life quality. Delayed puberty (21 patients-34,4%) and arrested puberty (18 patients -29,5%) were the most common clinical presentation of hypogonadism especially in male patients with a major impact on sexual development and final height. Moreover, 11 patients (14%) had primary hypothyroidism, 5 patients (6,4%) hypoparathyroidism, 3 patients (3,8%) diabeted mellitus and 6 patients (7,6%) insulin resistance. Severe osteoporosis (Z score  $>-2,5$ SDS) with great risk of fracture was found in 20 of 22 patients evaluated for their bone mineral density by DXA method suggesting a high prevalence of osteoporosis in these patients. We also found a significantly higher mean ferritin value in patients with endocrine disturbances of any type compared to subjects without endocrinopathies.

Patients with hypogonadism received hormone replacement therapy (females with transdermal estradiol for delayed puberty and secondary amenorrhea; males with depot testosterone undecanoate i.m.) with major benefit on sexual development (all patients advanced 1-2 Tanner stages), pubertal growth and prevention of osteoporosis. Thalassemic patients on growth hormone therapy had a growth velocity increment greater than 4 cm above the previous year. Patients with osteoporosis received antiresorptive therapy combined with calcium - vitamin D supplements with major improvement of life quality.

Conclusions: early endocrine evaluation and treatment are necessary in order to improve the life quality of thalassemic patients.

#### Calitatea vietii obiectivul tratamentului endocrin la pacientii cu $\beta$ -talasemie majora

Simona Fica\*, Florentina Vladareanu\*\*\*, Anca Zirnea \*\*, Alice Albu\*\*, Carmen Barbu\*,  
Rodica Rotaru\*\*, Larisa Nitu\*\*\*, Daniela Marinescu\*\*\*.

\*Clinica de Endocrinologie, Universitatea de Medicina si Farmacie "Carol Davila",

\*\* Spitalul Elias, Bucuresti, Romania

\*\*\* Institutul National de Hematologie, Bucuresti, Romania

$\beta$ -talasemie majora este o afectiune genetica datorata unui defect cantitativ de sinteza al lantului de globina caracterizata prin eritropoieza inefficienta si anemie cronica necesitand regim transfuzional pentru a preveni complicatiile anemiei si expansiunea compensatorie a maduvei hematopoitice. In Romania desi prevalenta este doar de 0,5%, talasemia prezinta un impact major asupra calitatii si sperantei de viata a pacientilor.

Scopul studiului: evaluarea prevalentei modificarilor endocrine cat si beneficiul terapiei de substitutie hormonale instituite.

Material si metoda: studiul a fost efectuat pe un lot de 78 de pacienti (38 femei si 40 barbati) diagnosticati cu talasemie majora la Institutului National de Hematologie Bucuresti avand o varsta medie de 19,456,82 ani.

Pacientii au fost evaluati clinic (varsta, sex, inaltime, greutate, stadiu Tanner, istoric menstrual) si biologic. Au fost efectuate dozari hormonale pentru: LH, FSH, estradiol, testosteron, TSH, FT4, GH, IGF1, PTH, insulinemie in cadrul sectiei de Endocrinologie a Spitalului Elias. Densitatea mineral osoasa (BMD) a fost evaluata prin efectuarea absorptiometriei duale cu raze X (DXA); depozitele siderozice au fost evaluate prin masurarea feritinei serice.

Rezultate: Disfunctiile endocrine ce determina aparitia complicatiilor cat si afectarea severa a calitatii vietii pe lotul studiat sunt: hipogonadismul hipogonadotrop (65 de pacienti la varsta pubertala si adulta -83,3%), hipotrofia staturo-ponderala (48 de pacienti -61,5%), hipotiroidismul primar (11 pacienti -14%), hipoparatiroidismul primar (5 pacienti -6,4%), diabet zaharat (3 pacienti -3,8%), insulinorezistenta 6 pacienti -7,6%).

Pubertatea intarziata (21 pacienti -34,4%) si pubertatea oprita in evolutie (18 pacienti- 29,5%) sunt cele mai frecvente manifestari clinice ale hipogonadismului cu impact major asupra dezvoltarii sexuale si a inaltimei finale.

Osteoporoza severa cu risc de fractura (DXA, scor T> -2,5 DS) a fost evidentiata la 20 din cei 22 de pacienti investigati.

Numarul si severitatea afectiunilor endocrine se coreleaza semnificativ statistic cu valoarea feritinei serice.

Terapia hormonală de substitutie a fost benefica pe lotul studiat: pacientii diagnosticati cu hipogonadism in tratament cu hormoni sexuali au inregistrat o progresie pubertala semnificativa (1-2 stadii Tanner pe scara dezvoltarii pubertale) cat si preventia osteoporozei; la pacientii cu hipotrofie staturo-ponderala in tratament cu hormoni de crestere s-a observat accelerarea vitezei de crestere (evaluata la peste 4 cm in ultimul an de terapie). Pacientii cu osteoporoza au primit tratament antiresorptiv cu bifosfonati, calciu si vitamina D cu evolutie favorabila.

Concluzii: evaluarea endocrinologica timpurie a pacientilor cu -talasemie majora este necesara pentru diagnosticul si terapia complicatiilor endocrine reversibile in speranta unei vietii normale.

Tratamentul cu doze scazute de 6-mercaptopurina (6MP) la pacientii cu leucemie acuta mieloida secundara (LAMs) mielodisplaziei si mieloproliferarilor cronice

Andrei Colita, Anca Lupu, Oana Ciocan, Gabriela Barca, Mihaela Closca, Carmen Saguna, Silvana Angelescu, Doina Barbu, Anca Ciobanu, Ana Maria Ivanescu, Madalina Vasile, Oana Patranoiu, Simona Crintea, Delia Mut Popescu

Spitalul Clinic Coltea Bucuresti

Obiectiv: evaluarea rezultatelor terapiei cu doze mici de 6MP si a evolutiei la pacientii varstnici cu LAMs Pacienti si metode: 8 pacienti cu LAMs urmariti in perioada Sept. 2002 March 2007; varsta mediana 76 ani (interval 66 81 ani); M/F: 3/5. Diagnosticul a fost stabilit dupa examinarea aspiratului de maduva osoasa si in 4 cazuri a fost confirmat prin biopsie osoasa. Patru pacienti au avut LAN secundara mielodisplaziei (SMD), 2 dupa boli mieloproliferative cronice Ph-negative (1 mielofibroza postpolicitemica, 1 mieloproliferare neclasificabila ambii pozitivi pentru mutatia JAK2 (V167F)) si 2 cu puseu blastoc de leucemie mieloida cronica. Chimioterapia initiala a constat in cure "3+7" in 6 cazuri, si cure TRAMPCO pentru cele 2 cazuri de puseu blastoc. Dozele de 6MP au fost de 100 - 150 mg/saptamana. Scopul introducerii terapiei cu doze mici de 6MP a fost paliativ in conditiile in care pacientii nu au obtinut raspuns hematologic la chimioterapia initiala sau ca urmare a aparitiei de complicatii infectioase sevre consecutive inductiei. Decizia initierii acestui tratatament a fost facuta cu acordul pacientilor si familiilor acestora.

Rezultate: la 4 pacienti s-au obtinut rezultate deosebit de bune:

	Sex	Varsta	Diagnostic	Evolutie	Urmarire
1.	M	77	LAM post SMD	RC	66 luni
2.	F	69	LAM post SMD	RC	24 luni*
3.	F	76	LAM post mIelofibroza	RC	12 luni <sup>†</sup>
4.	M	66	LMC puseu blastoc	Faza cronica	15 luni

\* pierdut di evidenta dupa 24 luni; † pozitiv pentru mutatia JAK2

Alti 2 pacients sunt in viata 1 cu LAM post SMD in remisiune partiala dar dependent de transfuzii, celalalt cu LAM post mieloproliferare neclasificabila prezinta leucocitoza si trombocitoza persistente (a fost necesara asocierea de hydroxiuree si methotrexate).

Dupa parerea noastra este posibila descrierea unui subgrup de pacienti varstnici cu LAMs care ar putea beneficia de chimioterapie cu doze reduse.

6 Mercapto-purine (6MP) Low-Dose Therapy In Elderly Patients With Acute Myeloid Leukemia (AML) Secondary To Myelodisplasia And Myeloproliferative Diseases.

Andrei Colita, Anca Lupu, Oana Ciocan, Gabriela Barca, Mihaela Closca, Carmen Saguna, Silvana Angelescu, Doina Barbu, Anca Ciobanu, Ana Maria Ivanescu, Madalina Vasile, Oana Patranoiu, Simona Crintea, Delia Mut Popescu

Coltea Clinical Hospital, Bucharest

Aim of the study: to evaluate the results of low-dose 6MP therapy and outcome in elderly patients with AML. Patients and methods: 8 patients with AML were followed between Sept. 2002 - March 2007; median age 76 years (range 66 - 81 years); M/F: 3/5. Diagnosis was established after bone marrow aspiration examination, and in 4 cases with confirmation of trephine bone biopsy. Four patients had AML following myelodysplasia (MDS), 2 after Ph-negative chronic myeloproliferative diseases (1 postpolycythemic myelofibrosis, 1 unclassified myeloproliferation both were positive for JAK2 (V167F) mutation) and 2 with blastic crisis of chronic myeloid leukemia. Chemotherapy consisted in 3+7 courses in 6 cases, and TRAMPCO regimens for the 2 cases of blastic crisis. The dose of 6MP was 100 - 150 mg/week. The purpose of low-dose 6MP therapy was palliation after failure of conventional therapy or after severe infectious complications during induction. Treatment decision was made after consulting the patients and their families.

Results: 4 patients had very good responses:

	Gender	Age	Diagnosis	Outcome	Follow-up
1.	M	77	AML post MDS	CR	66 month
2.	F	69	AML post MDS	CR	24 month*
3.	F	76	AML post myelofibrosis	CR	12 month <sup>†</sup>
4.	M	66	CML blastic crisis	Chronic phase	15 month

\* lost from follow-up after 24 month; † positive for JAK2 mutation

Other 2 patients are alive 1 with AML with partial response but transfusion dependent, the other with unclassified chronic myeloproliferation has persistent thrombocytosis and leucocytosis (therapy with hydroxiurea and methotrexate had to be associated).

In our opinion there might be a group of elderly patients with AML that would have a real benefit in terms of survival and quality of life using low-dose 6 mp therapy.

Thalidomida poate fi o alternativa de tratament in mielomul multiplu?  
( experienta pe 22 de cazuri)

Dr Gabriela Barca, Dr Nicoleta Berbec, Dr. Andrei Colita, Dr Doina Barbu, Dr Silvana Angelescu, Dr. Valentin Barca\*, Dr Oana Patrinoiu, Dr. Madalina Vasile, Prof Dr. Delia Mut Popescu  
Spitalul Clinic Coltea Hematologie  
UMF Carol Davila

Introducere: Thalidomida a fost scoasa din uzul clinic in 1962 datorita teratogenitatii sale severe-dar efectul sau antiangiogenic si imunomodulator inclusiv inhibarea factorului de necroza tumorală alfa au impus reintroducerea sa in practica ca un agent oral foarte eficient in tratamentul mielomului multiplu. Thalidomida exercita un rol antitumoral in mielomul multiplu prin diferite mecanisme:a) inhiba cresterea si supravietuirea celulelor mielomatoase, b)moduleaza adeziunea celulelor mielomatoase la stroma medulara prin inhibarea Il-6 si a altor citokine, c)interfera cu factorul nuclear de legare a ADNkB, d) are efect stimulator direct pe ambele tipuri de celule T, f) are efect antiangiogenetic

Material si metode: Prezentam folosirea thalidomidei la un numar de 22 de cazuri de mielom multiplu. Datele generale ale pacientilor au fost: 12 pacienti cu MM IGG, 8 pacienti cu MM IGA; 2 pacienti cu mielom micromolecular; 16 pacienti au primit tratamentul dupa mai mult de 12 cure PCT fiind considerate mieloame refractare la chimioterapie, 4 pacienti dupa 6 cure PCT si 2 pacienti dupa 1 cura PCT, maximum follow-up 5 ani si 4 luni. Thalidomida a fost folosita la toti pacientii cu dexametazona (cura Thalidex), unul a continuat cu Thalidex cu Alkeran ( cura MPT) iar intre cure pacientii au primit doze diminuate de thalidomida. Dozele folosite au fost intre 50-400mg/zi.

Rezultate; Toti pacientii au avut raspuns favorabil manifestat prin: cresterea valorilor hemoglobinei, scaderea VSH, scaderea componentei monoclonale cu ameliorarea aspectului electroforezei cu scaderea valorilor imunoglobulinei pe imunograma, dar durata raspunsului pentru 3 pacienti a fost de scurta durata. Reactiile adverse dezvoltate au fost: neuropatie periferica la un pacient care a impus scaderea dozelor, constipatie rebela la 1 un pacient care a renuntat la administrarea medicamentului, un pacient a dezvoltat edem al fetei care a impus intreruperea tratamentului, un altul a dezvoltat sub tratament leucemie cu plasmocite cu determinari cutanate si cerebrale si un pacient a decedat la 6 saptamani dupa inceperea tratamentului dupa o scurta ameliorare, dar medicamentul a fost administrat in stadiul final al bolii. Nici un pacient nu a dezvoltat pana in prezent complicatii trombotice.

Concluzii: Thalidomida este un medicament eficient in tratamentul mielomului multiplu fiind, pe cazurile avute in tratament, superior curelor clasice de chimioterapie. Reactiile adverse au fost minime si numai intr-un singur caz au impus intreruperea tratamentului.



Background: Thalidomide-removed from widespread clinical use by 1962 because of severe teratogenicity-has antiangiogenic and immunomodulatory effects, including the inhibition of tumor necrosis alpha factor. It has now returned to practice as an effective oral agent in the management of multiple myeloma. Thalidomide exerts an anti-myeloma effect through different mechanisms: a)it can directly inhibit the growth and survival of myeloma cells, b) it modulates cell adhesion and interrupts the adhesion of myeloma cells to bone marrow stromal cells. This leads to the inhibition of interleukin-6 (IL6) and other cytokines production by stromal cells that are crucial for myeloma cell growth and survival, c)it interferes with DNA binding of nuclear factor-kB, d) it has direct stimulatory effects on both T and natural killer cells, f) has a direct antiangiogenic effect.

Aims We report the use of thalidomide with for 22 cases of multiple myeloma. The general data of the group were:12 patients with MM IGG, 8 patients with MM IGA and 2 patients with micromolecular myeloma; of this group 16 patients received the treatment after more than 12 PCT cures being considered myeloma refractory to chemotherapy; 4 patients after 6 PCT cures and 2 patients after 1 PCT cure; maximum follow-up was 5 years and 4 months. The thalidomide was used for all patients with dexametazone (Thalidex cure) and after Thalidex one patient got Thalidex with Alkeran (MPT cure); without any other drug associations. The daily doses used were 50mg-400mg. All patients reacted favorably expressed by increase in hemoglobin level, ESR drop in values, decrease of the monoclonal component cu electroforetic improvement with decreased immunoglobulins. In 3 patients the positive response only lasted shortly. Side effects developed were: peripheral neuropathies in 1 patient which required decrease of thalidomide dose; 1 patient developed edema necessitating treatment discontinuation; 1 patient a developed plasma cell leukemia with cutaneous and cerebral determinations under treatment, 1 patient deceased in 6 weeks from the treatment onset after a brief period of improvement (the medications was though given in the final stage). No patient developed thrombotic complications to this date.

Conclusions: Thalidomide is an efficient drug in treating multiple myeloma and proved superior to classical chemotherapy cures. The side effects were minimal and required only in one case treatment discontinuation.

Raspunsul citogenetic la terapia cu Glivec in CML

4 ani de experienta

Daniela Iancu

A.Georgescu, I.Morosanu

Hematologie- Laborator Citogenetica, Institutul Clinic Fundeni, Bucuresti, Romania

Rezumat

LMC a fost prima boala maligna caracterizata printr-o anomalie cromozomiala castigata, markerul specific find cromozomul Ph rezultat prin t(9:22)(q34:q11) iar la nivel genic are loc fuziunea genelor BCR, ABL.

S-au monitorizat 127 bolnavi cu LMC print-un studiu dinamic la intervale de timp fixe (3, 6, 9, 12, 24,36, 48 luni) urmarind raspunsul citogenetic la terapia cu Glivec.

Raspunsul la terapie s-a abordat prin evaluarea numarului de celule purtatoare de cromozomi Ph si evaluarea modului de raspuns al fiecarui bolnav.

Concluzia este ca majoritatea bolnavilor (72%) are o capacitate de raspuns la terapie care este neschimbata de la debut si astfel pot fi impartiti in 2 categorii: sensibili sau rezistenti.

Timpul de raspuns al fiecarui bolnav depinde in mare masura de complexul genelor sale mutante inca neidentificate.

The cytogenetic response to the Gleevec therapy in chronic myeloid leukemia (CML) - 4 years of experience

Daniela Iancu

A.Georgescu, I.Morosanu

Hematologie- Laborator Citogenetica, Institutul Clinic Fundeni, Bucuresti, Romania

Abstract

Leukemia myeloid chronic was the first malignant disease characterized through chromosomal abnormality, the specific marker being the Philadelphia chromosome, a translocation t(9:22)(q34;q11) and at genic level is formed the gene BCR, ABL fusion

One hundred twentyseven (127) CML patients were monitored during a dynamic study at different moments of the evolution at 3, 6, 12, 18, 24, 36, 48 months by evolution of the cytogenetics response to the therapy with Gleevec.

The response to the therapy was analysed by the evolution of the member of cells with chromosome Ph and the evaluation of the modality of response for each patient.

The conclusion of the study is that the majority of the patients (72%) has an unchanged capacity of response at the

therapy with Gleevec from the onset to they can be divided in 2 categories: good responders and resistants to the treatment.

The type of response for each patient is more dependent, it's of complex mutant genes not yet identified

## LEUCEMIA CU PLASMOCITE: DATE ACTUALE DE BIOLOGIE SI TRATAMENT

Dan Coliță, Adriana Coliță

Centrul de Hematologie și Transplant Medular Fundeni, București

Leucemia cu plasmocite (LPI) este definită prin prezența a  $2 \times 10^9/L$  plasmocite monoclonale în circulație (20% PI în formula leucocitară). Este o formă rară de discrazie plasmocitară în strânsă relație cu procesele fiziopatologice ce caracterizează mielomul multiplu (MM). Studiile citogenetice evidențiază în LPI anomalii structurale și numerice asemănătoare cu cele ale MM, dar cu prevalența alterărilor cu semnificație prognostică nefavorabilă. În comparație cu MM, celulele din LPI au o rată de proliferare mai ridicată. Aceste aspecte explică evoluția severă a LPI, cu supraviețuire globală foarte scurtă. Se descriu 2 forme de prezentare a LPI: primară (de novo) 60% din cazuri și secundară (în cadrul fazei terminale a unui MM recunoscut), mai agresivă, cu răspuns general la tratament mai redus (16-19% din cazuri față de 50-75% în forma primară) și cu supraviețuire mediană mai scurtă (3 l față de 18,4 l în forma primară). Majoritatea autorilor încadrează ambele forme ale LPI în faza extramedulară a MM unde apar cu o incidență cuprinsă între 3,8% (forma primară) și 2% (forma secundară). Tratamentul LPI se suprapune în general peste cel al MM în recădere sau refractar: polichimioterapie (PCT) autotransplant de celule stem hematopoietice (ATCS), Thalidomidă (Thal), Bortezomib (BZM). Combinația clasică Melphalan Prednisone a fost abandonată în favoarea PCT, (ex. VAD, VCMP/VABP sau hiper-CVAD) care are performanțe de 3 ori mai ridicate. ATCS, efectuată în remisiune aduce o supraviețuire medie de cca. 40 l, cu o mediană de 20 l (extreme 7-106+ l). Thal Dexametazonă produce răspunsuri complete și parțiale în inducție sau în cazuri rezistente la alte terapii. BZM este eficient în cazuri rezistente sau în inducție în monoterapie sau în combinații (ex. BZM + CFA + DXM). Într-o serie de 12 cazuri cu LPI primare și secundare s-au obținut răspunsuri la 11 pacienți (92%) cu 2 remisiuni complete. Supraviețuirea mediană fără progresie și globală au fost de 8 și de 12 l, respectiv.

## PLASMA CELL LEUKEMIA: ACTUAL DATA REGARDING THE BIOLOGY AND TREATMENT

Dan Colita, Adriana Colita

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

Plasma cell leukemia (LPI) is defined by the presence of  $\geq 2 \times 10^9/L$  circulating monoclonal plasmocytes ( $\geq 20\%$  plasmocytes on blood smear). There is a rare entity of plasmocytic discrazia, in very close connection with physiopathology of Multiple Myeloma (MM). The cytogenetic studies show in LPI structural and numerical abnormalities similar with those from MM, but with the prevalence of the abnormalities with unfavorable prognostic risk. In comparison with MM, the cells from LPI have a higher proliferation rate. These aspects explain the severe evolution of LPI with a very short global survival. There are two distinct presentation forms: primary (de novo) - 60% of cases and secondary (terminal phase of a diagnosed Multiple Myeloma), which is more aggressive, with a lower response rate (16-19% of cases vs. 50-75% in primary form) and a shorter median survival (3 mo vs. 18, 4 mo respectively). The majority of the authors included both forms of LPI in the extramedullary phase of MM, with an incidence between 3,8% (primary form) and  $\leq 2\%$  (secondary form). The treatment of LPI is the same like for refractory or relapsed MM: chemotherapy (PCT), autologous stem cell transplantation (ATSC), Thalidomide (Thal), Bortezomib (BZM). The classical combination Melphalan + Prednisone was abandoned in favor of polichemotherapy (ex VAD, VCMP/VABP or hiperCVAD), which are 3 times more efficient. After ATSC done in remission was reported a survival average of 40 months with a median of 20 months (between 7-106 mo). Thal +/-Dex can obtain complete or partial remission for refractory cases to other therapies. BZM is efficient in refractory cases or in induction, in monotherapy or in combinations (ex. BZM+CFA+ DXM). In a series with 12 cases with primary and secondary LPI was reported 11 responses (92%) with 2 complete remissions. Disease free survival and global survival were 8 and 12 mo, respectively.

Amiloidoza sistemică familială non-neuropată (tip Ostertag) determinată de un nou tip de lizozim mutant

D. Coriu<sup>1</sup>, C. L. Murphy<sup>2</sup>, D. Kestler<sup>2</sup>, S. Wang<sup>2</sup>, G. Becheanu<sup>1</sup>, C. Dobrea<sup>1</sup> & A. Solomon<sup>2</sup>

1 University of Medicine "Carol Davila", Bucharest, Romania

2 University of Tennessee Graduate School of Medicine, Knoxville, TN, USA

Amiloidoza asociata lizozimului (ALys) este o boala rara determinata de mutatii aparute in al doilea exon din gena lizozimului care codifica precursorul proteic amiloidogenic. Pana in acest moment au fost identificate patru variante diferite (I56T, D67H, W64R, F57I) capabile sa reduca stabilitatea proteinei si sa induca fibrilogeneza.

Noi raportam un alt tip de Alys identificat la un barbat de 52 ani cu manifestari predominant hepatice (investigatiile medicale efectuate ulterior indica ca si alti membrii din familie au aceeasi boala). Acest tip de Alys este determinat de o mutatie punctiforma identificata pentru prima data in gena lizozimului.

Examinarea in lumina polarizata a preparatelor histologice din biopsia hepatica colorate cu rosu de Congo obtinute de la proband ( si alti doi frati) arata depozite interstițiale de material birefringent caracteristic pentru amiloid. Acest material a fost extras din sectiunile tisulare fixate in parafina, purificate in faza de reversie HPLC si apoi dupa digestia triptica peptidele rezultate sunt analizate chimic prin spectrometrie de masa in tandem (MS / MS). Aceasta analiza a identificat 109 din cei 130 de aminoacizi care reprezinta structura primara a lizozimul wild type. Nu au fost gasite peptidele care corespund aminoacizilor 11- 15, 63- 69 si 114-122. Pentru a identifica structura primara completa a acestei proteine am efectuat analiza ADN ului genomic izolat din sange periferic. Dupa amplificarea prin PCR a celor trei exoni din gena lizozimului s-a efectuat secventierea nucleotidelor. Aceasta analiza a aratat ca exonul II contine (in aditie la gena normala) o mutatie punctiforma in codonul 85 ( GAT => GGT) care implica substitutia acidului aspartic (D) cu glicina (G) la pozitia 67 din structura proteinei (D67G).

Astfel, rezultatele noastre adauga la variantele deja cunoscute in literatura un nou tip de lizozim implicat in amiloidoza sistemica familiala non- neuropata.

Familial non-neuropathic systemic amyloidosis ( Ostertag- type ) associated with a novel lysozyme mutation

D. Coriu<sup>1</sup>, C. L. Murphy<sup>2</sup>, D.Kestler<sup>2</sup>, S. Wang<sup>2</sup>, G. Becheanu<sup>1</sup>, C. Dobrea<sup>1</sup> & A. Solomon<sup>2</sup>

1 University of Medicine "Carol Davila", Bucharest, Romania

2 University of Tennessee Graduate School of Medicine, Knoxville, TN, USA

Lysozyme- related amyloidosis (ALys) has been associated with mutations in the second exon encoding the amyloidogenic precursor protein. To date, four different variants have been identified (I56T, D67H, W64R, F57I), all of which were deemed capable of reducing protein stability and enhancing fibrilogenesis. We now report another case of ALys in a 52-year-old male who had predominant hepatic involvement (as well as a family history indicating that other members had the same disorder) and in whom we found a hitherto unreported mutation in the lysozyme gene. Examination under polarized light of Congo red-stained sections of liver biopsies obtained from the proband (and 2 brothers) revealed extensive green birefringent interstitial deposits, characteristic for amyloid. This material was extracted from 4mm-thick sections cut from formalin-fixed paraffin embedded blocks, purified by reverse phase HPLC and subjected, after trypsin digestion, to chemical analyses by tandem mass spectrometry (MS/MS). These studies identified 109 of the 130 amino acids comprising wild-type lysozyme (peptides encompassing residues 11-15, 63-69, and 114 - 122 were not found). To obtain the complete primary structure of this protein, genomic DNA was isolated from the proband's peripheral blood leukocytes and the PCR products of the 3 functional exons were synthesized. Nucleotide sequence analysis revealed that exon 2 contained (in addition to the unmutated gene) a GAT to GGT transition in codon 85, which would result in the substitution of glycine for aspartic acid at position 67. Based on X-ray crystallographic data, we posit that the resultant profound modification in tertiary structure included by the D67G mutation would render the molecule unstable and thus amyloidogenic. Our findings add to the known variants of lysozyme involved in familial systemic ALys amyloidosis.

## SESIUNE TRANSPLANT MEDULAR

### COMPLICATII PRECOCE DUPA ALLOTRANSPLANTUL DE CELULE STEM HEMATOPOIETICE IN LEUCEMII ACUTE

D. Colita, C.Arion, Alina Tanase, Zsofia Varady, Anca Colita, Luminita Dumitrache, Ruxandra Fota, Virginia Mirea, Adriana Dumitrescu

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

Complicatiile precoce postallotransplant de celule stem hematopoietice se refera la cele care apar in primele 100 de zile dupa procedura. Majoritatea au ca element patogenic comun leziunea endoteliala data de toxicitatea terapiei de conditionare, in cadrul careia pot fi afectate oricare dintre organe, in grade si cu evolutii diferite. Pe de alta parte, datorita imunosupresiei pacientilor sau conflictului imunologic dintre receptor si donator pot apare boala de grefa contra gazda si infectii cu diferite etiologii. In Comp.TM din IC Fundeni s-au efectuat 12 proceduri de alotransplante genoidentice la pacienti cu leucemie acuta in perioada 2003 -2007, 3 pentru leucemii acute limfoblastice, si 9 pentru leucemii acute mieloblastice; 11 proceduri la adult si 1 la copil. Principalele complicatii precoce aparute au fost: mucozita grad 3, 4 (66%), boala venoocluziva hepatica (16%), microangiopatie trombotica (16%), disfunctie multiorganica (41%), rejet (8%) si esec de grefare (8%). Boala de grefa contra gazda grad II/IV a aparut la 41% din cazuri. Reactivarea citomegalovirusului datorita imunosupresiei a fost demonstrata la 66% din pacienti. 75% din pacienti au dezvoltat sindrom febril, cu evidentierea etiologiei la 85%. Nici un pacient nu a prezentat sindrom de grefare si nu s-a evidentiat nici o recadere in primele 100 de zile. Mortalitatea la 100 de zile a fost 33%.

### EARLY COMPLICATIONS AFTER ALLOGENIC STEM CELL TRANSPLANTATION FOR ACUTE LEUKEMIA

D. Colita, C.Arion, Alina Tanase, Zsofia Varady, Anca Colita, Luminita Dumitrache, Ruxandra Fota, Virginia Mirea, Adriana Dumitrescu

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

Early complications after allogeneic stem cell transplantation appear in the first 100 days post transplant. The majority of these have a common pathogenic event: injury of the vascular endothelium due to the toxicity of the conditioning regimen, which can affect any organ, with different grade and clinical evolutions. On the other hand, due to the immunosuppression of the recipients and due to the immunological conflict between the recipient and the donor, can appear different types of infections and graft versus host disease. We report 12 allogeneic transplants for acute leukemia patients performed in BMT Unit from Fundeni Clinical Institute, between 2003-2007; 3 acute lymphoblastic leukemias and 9 acute myeloblastic leukemias; 11 procedure at adults patients and 1 at a child. The main early complications were: grade 3, 4 mucositis (66%), venoocclusive disease (16%), thrombotic microangiopathy (16%), multiorgan failure syndrome (41%), rejection (8%) and graft failure (8%). Grad III/IV graft versus host disease appear in 41% cases. Cytomegalovirus reactivation due to the immunosuppression was demonstrated on 66% cases. 75% of cases developed febrile syndromes with clear etiology in 85% cases. None of the patient presented engraftment syndrome and we report none relapse on first 100 days post transplant. The 100 days mortality was 33%.

### APORTUL CERCETARII HIMERISMULUI HEMATOPOIETIC LA PACIENTII CU ALLOTRANSPLANT DE CELULE STEM

Zsofia Varady<sup>1</sup>, Alina Tanase<sup>1</sup>, D. Colita<sup>1</sup>, Ligia Barbarii<sup>2</sup>, Ruxandra Fota<sup>1</sup>, Virginia Mirea<sup>1</sup>, Carmen Calugaroiu<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Centrul de Hematologie si Transplant Medular, Institutul Clinic Fundeni, Bucuresti  
<sup>2</sup>Institutul Medico-Legal Bucuresti

Originea celulelor din sangele sau maduva pacientului allotransplantat poate fi identificata prin testarea markerilor genetici informativi care disting donatorul de recipient. Metodele moleculare de testare a himerismului sunt necesare pentru documentarea de rutina a grefarii cu celule de la donator, evaluarea persistentei celulelor donatorului, evaluarea riscului de rejet sau a recaderii malignitatii. In Compartimentul TM din I.C.Fundeni au fost testate 79 de probe de himerism de la 14 cazuri (donatori si receptori), prin metoda STR. 2 pacienti au fost transplantati in strainate si urmariti posttransplant in Unitatea noastra. 79% dintre probe au fost sange periferic. In 14% din receptori nu s-au putut identifica markeri informativi de himerism pretransplant, stabilirea lor efectuandu-se prin testarea celulelor epiteliale prelevate din tampoane bucale. 40/79 probe au fost himerism 100% donor. Testele de himerism complet de donor au fost corelate cu o evolutie clinica fara recadere, cu boala de grefa contra gazda cu grade diferite. Testarea himerismului a permis introducerea unui nou model terapeutic prin infuzie de limfocite de la donator ca si diagnosticul precoce al rejetului si recaderii bolii maligne.

#### THE CONTRIBUTION OF THE CHIMERISM TESTING FOR THE PATIENTS WITH ALLOGENEIC STEM CELL TRANSPLANT

Zsofia Varady<sup>1</sup>, Alina Tanase<sup>1</sup>, D. Colita<sup>1</sup>, Ligia Barbarii<sup>2</sup>, Ruxandra Fota<sup>1</sup>, Virginia Mirea<sup>1</sup>, Carmen Calugaroiu<sup>1</sup>  
<sup>1</sup>Fundeni Clinical Institute, Center of Hematology and Bone Marrow Transplantation, Bucharest  
<sup>2</sup>Mina Minovici Forensic Medicine, Bucharest

In allogeneic stem cell transplant, the origin of patient cells from marrow or peripheral blood can be identified by testing informative genetic markers, who can distinguished between donor and recipient. Molecular methods for evaluating chimerism are necessary for routine documentation of donor cell engraftment; assess the risk of rejection or recurrent malignancy. We tested by STR method 79 samples from 14 cases (donors and recipients) evaluated in BMT Unit from Fundeni Clinical Institute. 2 patients were transplanted in foreign countries and followed after in Fundeni BMT Unit. 79% of samples were from peripheral blood. In 14% cases pretransplant informative markers samples were not available and we used material from a buccal scraping for detecting recipient alleles. 40/79 samples were 100% donor chimerism. The complete donor chimerism was correlated with a clinical evolution without relapse and with different grade of graft versus host diseases. Due to testing the chimerism we could introduce a new therapeutic model with donor lymphocyte infusion and we could diagnose earlier rejection and relapse of malignity.

#### AUTOTRANSPLANTUL DE CELULE STEM HEMATOPOIETICE IN BOALA HODGKIN (EXPERIENTA CENTRULUI DE HEMATOLOGIE SI TM DIN I.C.FUNDENI)

Alina Tanase, Zsofia Varady, D.Colita, C.Arion, Anca Colita, Luminita Dumitrache, Ruxandra Fota, Virginia Mirea, Adriana Dumitrescu  
Centrul de Hematologie si Transplant Medular, Institutul Clinic Fundeni, Bucuresti

Autotransplantul de celule stem hematopoietice reprezinta indicatia standard de tratament pentru pacientii cu Boala Hodgkin cu recadere chimiosensibila sau peste a doua remisiune completa. In cazurile de Boala Hodgkin remisiune partiala sau boala refractara, autotransplantul de celule stem reprezinta o optiune clinica.

In Comp TM din IC Fundeni, in perioada 2001-2007 s-au efectuat 21 de proceduri de autotransplant la Boala Hodgkin; 14 femei/ 7 barbati, cu o medie de varsta de 24,95 ani (17-39 ani). 3/21 pacienti au avut sub 18 ani in momentul transplantului. Indicatia de autotransplant a fost pentru BH cu recadere chimiosensibila la 12/21 si remisiune partiala la 9/21 pacienti. Mobilizarea de celule stem s-a efectuat la majoritatea cazurilor dupa cura tip DHAP + G-CSF, cu o recolta in medie de 11,39 x10<sup>6</sup>CD34/kgc. Regimul de conditionare a fost BEAM la 17/21 pacienti, tip BEAM la 3/21 pacienti si LACE la 1 pacient. Grefarea s-a produs in medie in ziua +11 (+9+13). Principalele complicatii precoce posttransplant au fost: mucozita grad mai mare de 2 (15/21), sindrom febril (19/21). Mortalitatea la 100 zile a fost de 4,7% (1/21pac). Certificarea remisiunii complete la 100 de zile posttransplant prin PET scan s-a efectuat la 6/20 pacienti. Recaderea la 1 an a fost de 25% (5/20 pacienti). Autotransplantul de celule stem in Boala Hoddgkin reprezinta o metoda terapeutica eficienta, fara complicatii majore, cu mortalitate legata de procedura sub 5%, comparabila cu literatura.

#### AUTOLOGOUS STEM CELL TRANSPLANTATION IN HODGKIN DISEASE (THE EXPERIENCE OF BMT UNIT - BUCHAREST CLINICAL FUNDENI INSTITUTE)

Alina Tanase, Zsofia Varady, D.Colita, C.Arion, Anca Colita, Luminita Dumitrache, Ruxandra Fota, Virginia Mirea, Adriana Dumitrescu  
Fundeni Clinical Institute, Center of Hematology and Bone Marrow Transplantation, Bucharest

The autologous stem cell transplant represent standard indication of treatment for patients with Hodgkin Disease in chemosensitive relapse or more than second complete remission. For the cases with Hodgkin disease in partial remission or refractory disease, the autologous stem cell transplant represents only a clinical option.

Between 2001-2007, in BMT Unit from Clinical Institute Fundeni we performed 21 procedures for Hodgkin Disease; 14 female/7 male, average age 24,95 years (17-39). 3/21 patients had less than 18 years old on day of transplant. The indication of autotrasplant was for Hodgkin disease in chemosensitive relapse at 12/21 and partial remission at 9/21 patients. We harvested the stem cells after mobilization with DHAP+G-CSF protocol at majority of patients, with an average of  $11,39 \times 10^6$  CD34/kgc. The conditioning regiment was BEAM at 17/21 patients, BEAM like at 3/21 patients and LACE at 1 patient. The engraftment was reported in average on day +11 (+9+13). The main complications early after transplant were: > grad 2 mucosities at 15/21 patients and febrile syndrome at 19/21 patients. The 100 days mortality was 4,7% (1/21 patients). Certification of the complete remission by PET Scan at 100 days after transplant was reported at 6/20 patients. One-year relapse was 25%(5/20 patients). Autologous stem cell transplantation represents an efficient therapeutical method, without major complication, with transplant related mortality under 5%, similar with literature.

## FOTOFEREZA EXTRACORPOREALA (ECP) IN BOALA CRONICA DE GREFA CONTRA GAZDA

Virginia Mirea, Carmen Calugaroiu, Alina Tanase, Zsofia Varady, Dan Colita

Fotochimioterapia extracorporeala (ECP extracorporeal photochemotherapy) este un tratament de imunomodulare, definit ca expunerea extracorporeala la iradiere cu lumina ultravioleta (UVA) a leucocitelor patogene in prezenta unei substante fotosensibilizante, 8-methoxypsoralen (8-MOP), urmata de reinfuzarea celulelor in circuitul sanguin al pacientului. Fotofereza extracorporeala (ECP) este o modalitate imunoterapeutica a carei eficacitate clinica a fost demonstrata in limfomul cutanat cu celule T / sindrom Sezary (CTCL), in scleroza sistemica si in alte boli autoimune, in complicatiile transplantului de organe (rejet) sau de maduva hematogena (boala de grefa contra gazda GvHD/graft versus host disease - acuta si cronica). Terapia celulara prin fotofereza extracorporeala reprezinta o abordare noua, promitatoare, in managementul terapeutic al cazurilor rezistente/dependente/intolerante la terapia imunosupresoare din diferite boli mediate imun si mai ales din complicatiile medicinei de transplant.

Fotofereza extracorporeala este o procedura recent introdusa in cercetarea mondiala (dupa anii 1987 de Richard Edelson), fiind folosita in premiera nationala la un pacient cu boala de grefa contra gazda (GvHD) cronica forma cutanata pe 65% suprafata corporala si leziuni lichenoide jugale, aflat in ziua 273 dupa allotransplant sibling de celule stem hematopoietice periferice, cu chimerism 100%, cu tri-terapie imunosupresoare cu Cellcept 2g/zi, cortizon 50 mg/zi si Methotrexat 7,5 mg/saptamana.

Pentru realizarea procedurii ECP s-a utilizat un "sistem deschis", folosind aparatul de leucaferiza in flux continuu Cobe Spectra (protocol autoPBSC), cu iradiere UVA in doza de 2J/cm<sup>2</sup> (aparat PUVA Light), dupa fotosensibilizare cu 8 MOP in doza finala de 200ng/ml, cu retransfuzarea imediata a produsului ECP la pacient. Au fost realizate 12 proceduri ECP aplicand schema 2xECP/saptamana timp de 4 saptamani (ECP intensiv) urmata de schema de discontinuare cu 2xECP/2 saptamani, apoi lunar.

Sub terapie cu ECP s-a eliminat MTX de la debut si s-a inceput reducerea dozelor cortizonice cu 4 mg la 2 saptamani. Evolutia a fost nefavorabila, cu accentuarea leziunilor cutanate si aparitia de noi leziuni eritemato-ulcerative, fapt ce a determinat intreruperea terapiei prin ECP si introducerea unui nou imunosupresor (Prograf). La peste 570 zile post transplant pacientul are o evolutie favorabila cu leziuni inactive hipo- si hiperpigmentate pe 95% suprafata corporala si leziuni lichenoide pe mucoasa jugala.

Desi evolutia acestui pacient a fost nefavorabila sub terapia de fotofereza extracorporeala, literatura de specialitate arata ca rata de raspuns la ECP in GvHD cronic este de 59%, permitand scaderea dozei de corticoizi in 63% din cazuri si obtinandu-se ameliorari clinice de 74% in leziunile cutanate, 86% in leziunile mucoase, 72% in afectarea hepatica, 43% in afectarea pulmonara si 80% in afectari articulare.

## Extracorporeal photochemotherapy (ECP) IN GRAFT VERSUS HOST DISEASE

Virginia Mirea, Carmen Calugaroiu, Alina Tanase, Zsofia Varady, Dan Colita

Extracorporeal photochemotherapy (ECP) is an immunomodulating treatment defined like an extracorporeal UVA

irradiation of pathological leucocytes using a photosensitive drug 8-methoxypsoralen (8-MOP), followed by the intravenous reinfusion of photoirradiated cells to the patient. The extracorporeal photochemotherapy (ECP) is an immunotherapeutic alternative and its clinical efficiency was demonstrated in CTCL / Sezary syndrome, systemic sclerosis and other autoimmune diseases, in organ transplant's failure or complications of bone marrow transplant (Graft versus Host Disease GvHD acute and chronic forms). Cellular therapy using ECP treatment is a new promising modality in therapeutical management of patients with resistance / dependency / intolerance to the appropriate immunosuppressive therapy in several immune mediated diseases, and especially in complications in transplant medicine.

Extracorporeal photochemotherapy (ECP) is a newly worldwide research procedure (introduced after 1987's by Richard Edelson), being applied for the first time in our country to a patient with chronic GvHD cutaneous form involving 65% body surface and mucosal lichenoid lesions, on day 273 after allotransplant with sibling peripheral haematopoietic stem cells, in treatment with Cellcept 2g/day, corticosteroids 50 mg/day and Methotrexate 7,5 mg/week.

To performe the ECP procedure, we used the "open system", with the continuous flow apheresis machine Cobe Spectra (autoPBSC protocol), UVA irradiation for a dosage of 2J/cm<sup>2</sup> (PUVA Light System), after photoactivation with 8 MOP (final dose of 200ng/ml), followed by immediate reinfusion of the ECP product to the patient. Twelve ECP procedures were performed on an intensive schedule (2 successive ECP/week for 4 weeks) followed by discontinuation of ECP treatment (2xECP every 2 weeks / 4 weeks).

Under ECP as alternative treatment, the MTX was excluded since the beginning and was reduced the corticosteroids dosage with 4 mg every 2 weeks. It was observed an unfavourable evolution, with aggravation of the skin lesions and appearing of new active skin lesions, that decided to stop the ECP therapy and to introduce a new immunosuppressive drug (Prograf). After 570 days posttransplant the patient has a good clinical status (IK =100%) with hypo- and hyperpigmented skin lesions covering 95% body surface and unmodified mucosal lichenoid lesions.

Despite an unfavourable response to ECP at our patient, the review on ECP treatment in chronic ECP reveals 59% of response rate which allow to reduce the dosages of corticoids in 63% of cases and to obtain clinical improvements of 74% of skin lesions, 86% of mucosal lesions, 72% of liver manifestations, 43% of pulmonary involvements and 80% of joints manifestations.

Transplantul de celule stem hematopoietice in anemia aplastica: niciodata nu e prea tarziu

Andreea Moicean\*, A.D.Ho\*\*, Veronica Teleanu\*, Alina Catana\*\*\*, Erzjebet Benedek\*\*\*\*

\* Centrul de Hematologie si Transplant Medular, Institutul Clinic Fundeni

\*\* Universitatea din Heidelberg, Germania

\*\*\*Sectia de Hematologie, Spitalul Judetean Sibiu

\*\*\*\*Sectia Clinica de Hematologie si transplant de Maduva, Targu Mures

Singurul tratament curativ al aplaziei medulare este transplantul allogen de celule stem hematopoietice (P.Ljungman et al., Bone Marrow Transplantation (2006) 37, 439449). La pacientii cu varsta mai mica de 30 de ani transplantul de celule stem hematopoietice este tratamentul de electie, mai ales atunci cand exista donator inrudit HLA compatibil. Chiar si pacientii copii cu anemie aplastica non-severa dar dependenti de transfuzii, avand donator HLA identic inrudit au ca indicatie de prima alegere transplantul de celule stem hematopoietice. La pacientii cu varsta peste 30 de ani, transplantul si tratamentul imunosupresiv dau aceleasi rezultate bune. La pacientii cu varsta de peste 45 de ani, sau la orice varsta in absenta unui donator HLA compatitibil inrudit, este obligatoriu, anterior tentativei de transplant administrarea tratamentului combinat cu thymoglobulina si ciclosporina.

Prezentam 2 pacienti cu aplazie medulara ingrijiti in Clinica de Hematologie si Transplant Medular Fundeni in colaborare cu serviciile de hematologie din Sibiu, Targu Mures si Heidelberg.. Primul, un barbat diagnosticat la varsta de 9 ani. A urmat tratament substitutiv, corticoterapie, 2 serii de globulina antitimocitara (la 30 de ani si la 34 de ani), cu raspuns tranzitor. La varsta de 40 de ani, in februarue 2007, avand infectie cu virus hepatitic B, anticorpi antitrombocitari antiHLA, hemosideroza secundara transfuziilor (cardiaca, cutanata, hepatic), focare de infectie (maxilara, dentara, urinara), hipertrofie cardiaca stanga cu deficit de pompa primeste allogrefa de la fratele sau, HLA identic in Heidelberg, cu restaurarea in proportie de 80% a hematopoiezei.. Ce-l de-al doilea pacient o femeie de 19 ani, recent diagnosticata, cu forma severa (Tr ~5000/mmc), inclusa cu prioritate in program de transplant allogen donator inrudit HLA compatibil 100%, decedeaza cu hemoragie cerebrala cu inundatie ventriculara in perioada pretransplant, nefind posibil tratamentul substitutiv profilactic corespunzator.

Pacientii cu aplazie medulara sunt inclusi cu prioritate in programul de allotransplant atunci cand exista donator compatibil. In Centrul de Hematologie din Institutul Clinic Fundeni (cel mai mare serviciu de hematologie din tara si centru de referinta) sunt luate in evidenta anual, in medie 11 cazuri noi de aplazie medulara, iar aproximativ 88 de

internari pe an sunt ale bolnavilor cu aplazie medulara aflati in evidenta. Aceste internari sunt determinate de complicatiile starii de insuficienta medulara: anemie, infectie cu febra, sangerari. Doar 1-2% din pacientii romani cu aplazie medulara, au fost inclusi in program de transplant. Suplimentarea fondurilor dedicate ingrijirii pacientilor hematologici, dotarea corespunzatoare a centrelor de transfuzii pentru acoperirea necesitatilor acestor pacienti si afilierea Registrului National de Donatori de Celule Stem Hematopoietice la Registrul International, vor permite respectarea si in Romania a programului terapeutic prevazut in Ghidul Grupului European de Transplant de Maduva osoasa pentru aplazia medulara.

#### Hematopoietic Stem Cell Transplantation in Aplastic Anemia

Andreea Moicean\*, A.D.Ho\*\*, Veronica Teleanu\*, Alina Catana\*\*\*, Erzsebet Benedek\*\*\*\*

\* Center of Hematology and Bone Marrow Transplantation, Fundeni Clinical Institute

\*\* University of Heidelberg, Germany

\*\*\*Department of Hematology, Conty Hospital Sibiu

\*\*\*\*Clinical Department of Hematology and Bone Marrow Transplantation, Targu Mures

Allogeneic BMT from an HLA-identical sibling is usually the treatment of choice in patients with severe aplastic anaemia (SAA) under the age of 30 years. The choice in patients between 30 and 45 years of age is more difficult and both BMT and immunosuppression give good results. In older patients, or in the absence of an HLA-matched sibling, an initial course of a combination of ATG and cyclosporine should be given (P.Ljungman et al., Bone Marrow Transplantation (2006) 37, 439449).

We present 2 patients with aplastic anemia admitted in Center of Hematology and Bone Marrow Transplantation from Fundeni Clinical Institute and followed-up in cooperation with centers for Hematology from Sibiu, Targu Mures and Heidelberg. First, a male patient diagnosed with aplastic anemia at 9 years of age. He received transfusions with erythrocytes and thrombocytes, corticotherapy, two times globuline antithymocytes (at 30 and at 34 years old), with transient remission. At 40 years of age, on february 2007, having a lot of complications after a long disease history (like heart failure, hemocromatosis, alloantibody anti trombocytes and anti HLA antibody, infection with Hepatitis B Virus) he received allotransplants from his HLA identical brother with 80% restauration of hematopoiesis. The second patient is a female 19 years of age, diagnosed recently with severe aplastic anemia (Tr~5000/mmc). She had priority for inclusion in SCT programe, having a related donor (a brother HLA identic) but she died with lifethreatening cerebral hemorrhagy during pretransplant hospitalisation.

In conclusion, patients with Aplastic Anemia has priority for stem cell transplantation. Annually, near 11 new patients are admitted in Center of Hematology and Stem cell Transplantation from Fundeni Clinical Institute, and 88 hospitalizations are for patients with aplastic anemia with infectious, hemorrhagic or anemia complications. Only 1-2% of aplastic anemia romanian patients received hematopoietic transplant. The financial suplement for hematological patients, an appropriate supply of transfuzional Centers in order to provide the special requests for these patients and National Donor Registry afiliation to World Donor Registry for Hematopoietic Stem Cell Transplantation would allow to romanian hematologists to apply the terapeutic protocol for aplastic anemia patients, requested by EBMT Guide.

Transplantul de celule stem hematopoietice nu poate substitui tratamentul complet anterior transplantului in bolile maligne hematologice

Andreea Delia Moicean

Centrul de Hematologie si Transplant Medular Institutul Clinic Fundeni Bucuresti

Transplantul de celule stem hematopoietice este o componenta importanta a programului de tratament pentru bolile maligne hematologice. Transplantul in sine nu are rol curativ. Efectul lui asupra vindecarii este un efect cumulat efectului etapelor anterioare ale tratamentului. Prin ceea ce implica ea, procedura de transplant in hematologie este o metoda de abordare terapeutică a bolii reziduale. In limfoamele maligne si in leucemiile acute in special, cu cat boala reziduala la momentul transplantului este mai mica cu atat vindecarea bolii maligne prin transplant are sanse mai mari. Chiar in programul de transplant cu conditionare mieloablative se impune aplicarea corecta si completa a programului de tratament prevazut anterior de transplant pentru o anumita boala. Omiterea unei etape de consolidare (cu doze mari sau foarte mari sau cu radioterapie) din programul terapeutic pretransplant se asociaza cu recaderea precoce post transplant si insuccesul transplantului de celule stem hematopoietice.

Sunt prezentate spre exemplificare:



- 3 cazuri de leucemie acuta cu recadere posttransplant la care evaluarea istoricului terapeutic a relevat omiterea din motive obiective a programelor pretransplant de consolidare cu doze mari de citostatice;
- 1 caz de boala Hodgkin in recadere care nu a urmat pretransplant radioterapie pe campurile interesate si a recazut precoce post transplant.

Experienta romaneasca in transplantul de celule stem hematopoietice in bolile maligne hematologice este limitata dar transplantarea oricarui pacient cu boala maligna trebuie sa respecte conditiile de eligibilitate prevazute in protocoalele europene de tratament, atat din punct de vedere al conditiei fizice si al tipului de boala dar si din punct de vedere al istoricului terapeutic a pacientului respectiv.

Hematopoietic Stem Cell Transplantation cannot replace the appropriate treatment for hematological malignant diseases

Andreea Delia Moicean

Centrul de Hematologie si Transplant Medular Institutul Clinic Fundeni Bucuresti

Hematopoietic Stem cell transplantation (HSCT) is an important step during the common treatment for hematological malignant diseases. HSCT itself is not curative. It's curative effect is an additional one to that of former steps of treatment. By its implications HSCT is a therapeutical approach of the residual disease. As in malignant lymphoma and in acute leukemias, in proportion as residual disease is low at transplant, curing the disease is more possible after HSCT. In myeloablative conditioning transplantation too, the complete and appropriate treatment before transplantation is mandatory. Omiting a high dosis consolidation or a radiotherapy consolidation before transplant associates with early relapse after transplant.

For example, there are presented:

- 3 patients with acute leukemia relapsed after transplant. The therapeutical history checking showed high dosis consolidation befor transplant omitting;
- 1 patient with relapsed Hodgkin disease who had not before transplantation a field-involved radiotherapy. He relapsed early after transplant.

Romanian experience in HSCT is very limited but for each transplant performed the patient have to be eligible as european guides request: physical performance, disease features and therapeutical history.

should be prepared "as soon as possible" after collection. In any case, there should be no more than 24-48 hours between collection and sample processing.

2. The panel for quick orientation or paucicellular samples includes:

cCD3, MPO, cCD79a, TdT

CD7, CD2, CD10, CD19, CD22 (s or c), sIg, CD13, CD33, CD34

CD45 for gating purposes.

For sublineage classification and definition of clinical entities (also with adapted gating strategy): DR, CD1a, CD4, CD5, CD8, CD3 (m), IgM (c), CD14, CD117, CD56, CD65, CD41 or CD61, CD238 (glycophorin A) or CD36. .

Other useful markers (>20): MPO/LF (lactoferrin) (c), CD14, lysozyme (c), □□ CD11b, CD11c, CD15, CD16, CD35/36, CD58, CD64, CD68 (c), CD71, CD86, CD99, CD123, TCR.

Therapeutic targets: CD20, CD52, CD45, CD33, CD123, CD87, CD44, uPAR(CD87)/uPACD116.

These panels are intended for diagnostic purposes of acute leukemia. They may need to be completed using markers that will prove later useful for MRD detection.

3. Antibody combinations allow simultaneous analysis of 3 or 4 markers, more recently 5 or 6, and probably even more in a near future. By multicolor immunophenotyping we can identify aberrant LAIPs which allows the discrimination of leukemic cells from normal cells, impacting on MRD detection. There are also important economical advantages. Multicolor immunophenotyping has many technical problems, some combinations and fluorochromes being dependent on the type of flow cytometer or filter combinations used, which explain why it is so difficult to reach a consensus.

Immunology of Bone Marrow Transplantation in Romania: development, accreditation, external quality control.

alleana Constantinescu\*, Petru. Cianga\*\*, Elena Gai\*\*\*, Mihaela Melinte\*\*\*\*, Dan Luscalov\*\*\*\*\*, Lucia

Dican\*\*\*\*\*, Daniela Nedelcu\*, Adela Toader\*, Marilena Zaharia\*, Anca Tica\*, Daniela Vasile\*

\*Centre of Immunogenetics and Virology, Fundeni Clinical Institute, Bucharest

\*\* Centre of Immunogenetics, Iasi

\*\*\* Centre of Immunogenetics, Targu Mures

\*\*\*\* Centre of Immunogenetics, Timisoara

\*\*\*\*\* Centre of Immunogenetics, Cluj Napoca

Introduction: HLA determines the fate of transplantation.

Plays a role in the control of cellular interactions responsible for both cellular and humoral immune responses. Is associated with a variety of diseases.

The histocompatibility barrier between recipient and donor remains a problem in that it will activate immune responses leading to graft rejection.

Although immunosuppressive drugs (FK 506, Cyclosporine) will reduce rejection, the successful management of the transplant management of the transplant patients requires an understanding of the MHC also referred as the HLA system. HLA antigens are controlled by a series of highly polymorphic genes on the short arm of chromosome 6-MHC. HLA class I and class II alloantigens can induce transplant immunity at both humoral (antibody) and cellular (T lymphocyte) immune levels. Both HLA class I and class II bind small antigenic peptides for presentation to the TCR which then may lead to specific T-cell activation. The HLA alleles is considerable polymorphism of HLA is well-known. HLA polymorphism is reflected by allelic substitution of many amino acid residues in the polypeptide chains, especially the external domains which contain the peptide binding site. This affects the spectrum of antigenic peptides presented by the different allelic types of HLA molecules and the repertoire of responding T-cells.

Material and methods:

Virological assessment Both donor and recipient are tested for: VHB, VHD, VHC, HIV 1/2, CMV, EBV, HSV 1 and 2, VZV, HTLV 1/2, rubella virus, toxoplasma gondii and chlamydia.

Methods Indirect diagnostic tests (serological)

Direct diagnostic tests, molecular biology tests (PCR, RT-PCR)

Pre-BMT Immunological Algorithm

HLA Typing by molecular biology methods PCR

SSOP- sequence-specific oligonucleotide probe hybridization (high resolution)

SSP sequence-specific primers (high resolution)

SBT (the highest available resolution)

Cross- match

- CDC

- ELISA

- KIR genotyping match

Anti-HLA antibody detection and identification

- AHG CDC

- ELISA

- Luminex

Immunological assessment post BMT: Cytokine gene polymorphism

IL2R, IL4, IL6, IL10, TNF $\alpha$

TH1 / TH2 PCR

Chimerism PCR under development

Tacrolaemia

Cyclosporaemia

Virological assessment

Results: For bone marrow transplantation the use of Sequence Based Typing (SBT) is the gold standard for HLA matching. Cytokine gene polymorphism, donor-recipient KIR genes match, are useful in prevention of acute rejection episodes, maintaining, on a long term the bone marrow allograft functionality. Donor surface NK and T cells KIR genes mismatch with the recipient could activate cellular immune response via MHC class I.

Conclusions:

Transplantation immunology is complex.

Our Immunogenetics Centres provide expanded immunological monitoring together with virological and drug monitoring of BMT transplanted patients.

Our goal is to offer complete integrated monitoring data and to fulfill EFI Standards. EPT helps to assess and monitor multiple components of quality, especially analytical and preanalytical. Accreditation requirements include developing maintaining and documenting an effective QA program that includes analytical external proficiency testing. Clinical and laboratory scientists should work together as a team in order to have a complete overview of the transplanted patients.

<...

HHHHHH

Imunologia transplantului medular in Romania: dezvoltare, acreditare, control extern de calitate

Ileana Constantinescu\*, Petru Cianga\*\*, Elena Gai\*\*\*, Mihaela Melinte\*\*\*\*, Dan Luscalov\*\*\*\*\*, Lucia Dican\*\*\*\*\*, Daniela Nedelcu\*, Adela Toader\*, Marilena Zaharia\*, Anca Tica\*, Daniela Vasile\*

\*Centrul de Imunogenetica si Virusologie, Institutul Clinic Fundeni, Bucuresti

\*\* Centrul de Imunogenetica, Iasi

\*\*\* Centrul de Imunogenetica, Targu Mures

\*\*\*\* Centrul de Imunogenetica, Timisoara

\*\*\*\*\* Centrul de Imunogenetica, Cluj Napoca

Introducere: HLA determina soarta transplantului. Joaca un rol important in controlul interactiunilor celulare responsabil pentru raspunsul imun celular si umoral si este asociat cu o varietate de boli. Bariera compatibilitatii dintre receptor si donator ramane o problema in activarea raspunsului imun legat de rejectia grefei. De asemeni, daca imunopresia va reduce rejectia, managementul de succes al transplantului si al pacientilor transplantati necesita o intelegere a MHC, identic cu sistemul HLA. Antigenele HLA sunt controlate de o serie de gene inalt polimorfice, la nivelul bratului scurt al cromozomului 6 MHC. Aloantigenele HLA clasa I si clasa II, pot induce imunitate post transplant atat la nivel umoral cat si la nivel celular. Peptidele antigenice vor fi prezentate limfocitelor T, in compania moleculelor HLA de clasa I si clasa II. Polimorfismul HLA, este reflectat de substitutia alelica a multor reziduuri aminoacidice din lanturile polipeptidice, in special la nivelul domeniului extern care contine situsul de cuplare a peptidelor. Aceasta afecteaza spectrul peptidelor prezentate de diferite tipuri alelice de molecule HLA si repertoriul clonelor de celule T specifice.

Material si metoda:

Virusologie completa: Atat donatorului cat si primitorului li se fac urmatoarele teste: VHB, VHD, VHC, HIV 1/2, CMV, EBV, HSV 1 si 2, VZV, HTLV 1/2, virusul rubela, toxoplasma gondii si clamidia.

Metode: Diagnosticul indirect (serologie)

Diagnosticul direct-teste de biologie moleculare (PCR, RT-PCR)

Algoritmul Imunologic pre-Transplant Medular

Tipizarea HLA prin metoda de biologie moleculara PCR

SSOP-sequence-specific oligonucleotide probe hybridization (inalta rezolutie)

SSP-sequence-specific primers (rezolutie inalta)

SBT-highest available resolution

Crossmatch

-CDC

-ELISA

-Genotipare KIR

Detectia si identificarea anti-HLA

-AHG CDC

-ELISA

-Luminex

Imunologie completa post transplant medular: polimorfism gene citokine, IL2R, IL4, IL6, IL10, TNF, TH1/TH2 PCR, Chimerism PCR, Ciclosporina, Tacrolimus, virusologie completa

Rezultate: Pentru transplantul medular, se performeaza metoda SBT care este standardul de aur in potrivirea HLA. Polimorfismul genelor citokinelor, potrivirea genelor KIR intre primitor si donator sunt utile in prevenirea episoadelor de rejectie acuta, mentinand functionarea alogrefei de maduva osoasa pe termen lung. Mismatch-ul intre genele KIR care codifica receptorul pe suprafata al celulelor NK ale donatorului si receptorii celulelor T pot sa genereze activarea raspunsului imun celular via MHC clasa I.

Concluzii: Imunologia transplantului este complexa. Centrele noastre de imunogenetica urmaresc sa extinda monitorizarea imunologica si virusologica in acelasi timp cu monitorizarea imunopresiei la pacientii transplantati medular.

EPT ajuta la evaluarea si monitorizarea multiplelor componente legate de calitate, in special analitice si pre-analitice. Cerintele acreditarii necesita dezvoltarea mentinarii si documentarii a unui program complet care include testarea eficientei externe . Oamenii de stiinta din laborator si clinica trebuie sa lucreze ca o echipa pentru a avea o imagine completa a pacientilor transplantati.

National Bone Marrow Registry: development, management and European Accreditation

Ileana Constantinescu\*, Alina Tanase\*\*, Zsofia Varady\*\*, Daniela Nedelcu\*, Adela Toader\*, Marilena Zaharia\*, Anca Tica\*, Daniela Vasile\*, Dan Colita\*\*

\*Centre of Immunogenetics and virology, Fundeni Clinical Institute, Bucharest

\*\*Centre of BMT transplantation, Fundeni Clinical Institute, Bucharest

National waiting lists for Bone Marrow donor registry (2003)

The donor must give his/her informed consent according to the national legislation before blood is taken for typing and before the donor is placed on a list of donors available to be called.

Histocompatibility testing for related and unrelated transplants

-Virological assessment Both donor and recipient are tested for: VHB, VHD, VHC, HIV 1/2, CMV, EBV, HSV 1 and 2, VZV, HTLV 1/2 , rubella virus, toxoplasma gondii and chlamydia.

-HLA typing

Must include high resolution class I and class II typing by DNA methods to determine the degree of HLA matching as appropriate for the transplant protocol.

Typing of donor and recipient at the highest level of resolution required by the transplant protocol must be performed in the laboratory affiliated with the transplant centre.

QC in tissue typing

By choosing the best methodology.

To characterize the problems (precision, accuracy) affecting the method.

To assess method stability. Variables that affect the quality of results. The educational background and training of the laboratory personnel. The condition of the specimens. The controls used in the test runs. Reagents. Equipment. The interpretation of the results. The transcription of results. The reporting of results

Advantages and Benefits of EFI Accreditation

Exchange of information. Exchange of experience. Homogenous way of performing tests

Management of Quality Control. Improving continuously our activity. EPT helps to assess and monitor multiple components of quality, especially analytical and preanalytical. Accreditation requirements include developing maintaining and documenting an effective QA program that includes analytical external proficiency testing.

Our goal is to offer complete integrated monitoring data for all services that we provide, to maintain and promote EFI Standards and to support all Romanian Immunogenetics Centers to apply for EFI accreditation.

Registrul National de Donatori de Maduva: organizare, management si acreditare europeana.

Ileana Constantinescu\*, Alina Tanase\*\*, Zsofia Varady\*\*, Daniela Nedelcu\*, Adela Toader\*, Marilena Zaharia\*, Anca Tica\*, Daniela Vasile\*, Dan Colita\*\*

\*Centrul de Imunogenetica si Virusologie, Institutul Clinic Fundeni, Bucuresti

\*\*Centrul de Transplant Medular, Institutul Clinic Fundeni, Bucuresti

Registrul National de Donatori Onorifici de maduva dateaza din 2003.

Donatorul trebuie sa semneze consimtamantul legal inainte de recoltare si inainte ca donatorul sa fie trecut pe lista de donatori onorifici de maduva.

Testarea histocompatibilitatii pentru donatorii inruditi si neinruditi:

Virusologie pentru primitor si donator, VHB, VHD, VHC, HIV 1/2, CMV, EBV, HSV 1 si 2, VZV, HTLV 1/2 , virusul rubela, toxoplasma gondii si clamidia.

Tipizarea HLA

Trebuie sa includa metoda de tipizare HLA clasa I si clasa II de inalta rezolutie care determina gradul de compatibilitate HLA pentru transplant. Tipizarea primitorului si donatorului prin metoda de cea mai inalta rezolutie ceruta de

protocolul de transplant trebuie performata in laboratoare afiliate centrelor de transplant.

Controlul de calitate in tipizare tisulara

Prin alegerea celei mai bune metode, caracterizarea problemelor care afecteaza metoda (precizie si acuratete)  
.Stabilitatea metodei. Variabilitati care afecteaza rezultatele. Educatia si perfectionarea personalului din laborator.  
Starea pacientului. Reactivii. Echipamentele. Interpretarea rezultatelor. Transcrierea rezultatelor. Raportarea rezultatelor.

Avantaje si beneficii ale acreditarii.

Schimb de informatii. Schimb de experienta. Managementul controlului de calitate. Imbunatatirea continua a activitatii.

EPT ajuta la evaluarea si monitorizarea multiplelor componente legate de calitate, in special analitice si pre-analitice.  
Cerintele acreditarii necesita dezvoltarea mentinarii si documentarii a unui program complet care include testarea eficientei externe . Oamenii de stiinta din laborator si clinica trebuie sa lucreze ca o echipa pentru a avea o imagine completa a pacientilor transplantati.

## ATELIER DE LUCRU EDUCATIONAL LEUCEMII ACUTE

Genomic Analyses for Leukemia diagnosis and the identification of novel therapeutic targets

Carsten Müller-Tidow\* and Anca Ilea\*\*

\* Department of Medicine, Hematology and Oncology, University of Münster, Germany

\*\* Ritus-Biotec, Codlea/Brasov

Acute leukemias are a group of malignant diseases with often similar appearance. An accurate diagnosis enables the use of the best therapy and strongly predict patients' prognosis. Recent advances in the understanding of disease pathogenesis has also led to the development of improved molecular tests. Especially in acute myeloid leukemia (AML) rapid progress has been made in defining the disease associated genetic and epigenetic lesions. Two major types of genetic events have been described that are crucial for leukemic transformation: alterations in myeloid transcription factors governing hematopoietic differentiation and activating mutations of signal transduction intermediates. These processes are highly interdependent, since the molecular events changing the transcriptional control in hematopoietic progenitor cells modify the composition of signal transduction molecules available for growth factor receptors, while the activating mutations in signal transduction molecules induce alterations in the activity and expression of several transcription factors that are crucial for normal myeloid differentiation. The improved understanding of disease pathogenesis has led to an intensive search for novel drugs that are currently evaluated.

### CONSENSUL EUROPEAN IN IMUNOFENOTIPAREA PRIN CITOMETRIE IN FLUX A LEUCEMIILOR ACUTE

Adriana Dumitrescu

Laboratorul de Citometrie in flux, Institutul Clinic Fundeni, Bucuresti, Romania

Citometria in flux constituie in prezent o metoda indispensabila pentru diagnosticul leucemiilor acute, obiectivele sale majore fiind determinarea liniei, identificarea leucemiilor bifenotipice (LAB, clasificarea si, in ultimul timp, identificarea fenotipurilor asociate leucemiei necesare pentru detectarea ulterioara a bolii minime reziduale (BMR).

Procedura complexa si laborioasa, imunofenotiparea a suscitat numeroase dezbateri ale specialistilor implicati, incercand sa se obtina un consens. Prezentam recomandarile actuale in contextul consensului european obtinut in cadrul European Leukemia Net (ELN) ([www.leukemia-net.org](http://www.leukemia-net.org)). Acestea se refera la: 1. precautiile preanalitice, 2. panelul de anticorpi monoclonali, 3. combinatiile anticorpilor monoclonali.

1. Etapele preanalitice care preced imunofenotiparea sunt de o deosebita importanta:

- Esantionul preferat este maduva osoasa; in mod exceptional se poate utiliza sange periferic (blasti >80% sau >30 G/L)
- Anticoagulantul indicat: EDTA, Heparina sau citrat Na
- Volumul probei

- Transportarea probei: temperatura optima de 10-25°C ( nu se tine la frigider si nici la soare, in nici un caz nu se ingheata!), cat mai repede posibil, dar in cel mult 24-48 ore de la recoltare.

2. Panelul de anticorpi monoclonali necesari pentru orientare sau pentru probele sarace include:

cCD3, MPO, cCD79a, TdT

CD7, CD2, CD10, CD19, CD22 (s sau c), sIg, CD13, CD33, CD34

CD45 pentru "gating"

Pentru clasificare si definirea entitatilor clinice (cu strategia potrivita de gating) sunt necesari urmasorii markeri: HLA-DR, CD1a, CD4, CD5, CD8, CD3 (s), IgM (c), CD14, CD117, CD56, CD65, CD41 sau CD61, CD238 (glycophorin A) sau CD36.

De asemenea se considera ca fiind necesari si alti markeri (>20): MPO/LF (lactoferrin) (c), CD14, lysozyme (c), CD11b, CD11c, CD15, CD16, CD35/36, CD58, CD64, CD68 (c), CD71, CD86, CD99, CD123, lanturi TCR.

Panelul trebuie sa include si tintele terapeutice: CD20, CD52, CD45, CD33, CD123, CD87, CD44, uPAR(CD87)/uPACD116.

Pentru identificarea ulterioara a BMR pot fi necesari si alti markeri.

3. Combinatiile de anticorpi monoclonali permit analiza simultana a 3-4 markeri, mai recent 5-6 si probabil mai mult in viitor. Prin imunofenotiparea cu multe culori se pot identifica fenotipurile aberante (coexpresie, asincronisme), ceea ce permite discriminarea celulelor leucemice si a celor normale, cu impact asupra detectarii BMR. Se adauga avantaje economice. Imunofenotiparea cu mai multe culori ridica multe probleme tehnice, folosirea anumitor combinatii si fluorocromi depinzand si de tipul de citometru sau combinatiile de filtre utilizate, ceea ce explica si dificultatea de a ajunge la un consens.

## EUROPEAN CONSENSUS IN FLOW CYTOMETRY IMMUNOPHENOTYPING OF ACUTE LEUKEMIAS

Adriana Dumitrescu

Laboratorul de Citometrie in flux, Institutul Clinic Fundeni, Bucuresti, Romania

Flow cytometry is a proven method for the diagnosis of acute leukemias nowadays, the objectives of acute leukemia immunophenotyping being lineage assignment, detection of biphenotypic leukemias (BAL), classification and identification of leukemia associated immunophenotypic patterns (LAIP).

As a complex and laborious procedure, flow cytometry immunophenotyping has been debated several times by the specialists, trying to get a consensus.

We are presenting current recommendations as concluded within European Leukemia Net (ELN) ([www.leukemia-net.org](http://www.leukemia-net.org)). These refer to: 1. Preanalytical precautions, 2. Consensual mandatory acute leukemia diagnosis panel, 3. Antibody combinations.

1. The preanalytical steps preceding immunophenotyping are of major importance:

- Sampling for acute leukemia diagnosis: bone marrow is preferred, but peripheral blood samples with large blast counts (>80% or >30 G/L) can also be used.

- As anticoagulant, both EDTA, Heparin or Na citrate are suitable.

- The volume of the sample collected

- Transportation of the sample: room temperature, i.e. between 10 and 25°C is ideal. The sample should not be refrigerated and certainly not be frozen, it should not stay in the sun either. They should be prepared "as soon as possible" after collection. In any case, there should be no more than 24-48 hours between collection and sample processing.

2. The panel for quick orientation or paucicellular samples includes:

cCD3, MPO, cCD79a, TdT

CD7, CD2, CD10, CD19, CD22 (s or c), sIg, CD13, CD33, CD34

CD45 for gating purposes.

For sublineage classification and definition of clinical entities (also with adapted gating strategy): DR, CD1a, CD4, CD5, CD8, CD3 (m), IgM (c), CD14, CD117, CD56, CD65, CD41 or CD61, CD238 (glycophorin A) or CD36.

Other useful markers (>20): MPO/LF (lactoferrin) (c), CD14, lysozyme (c), CD11b, CD11c, CD15, CD16, CD35/36, CD58, CD64, CD68 (c), CD71, CD86, CD99, CD123, TCR.

Therapeutic targets: CD20, CD52, CD45, CD33, CD123, CD87, CD44, uPAR(CD87)/uPACD116.

These panels are intended for diagnostic purposes of acute leukemia. They may need to be completed using markers that will prove later useful for MRD detection.

3. Antibody combinations allow simultaneous analysis of 3 or 4 markers, more recently 5 or 6, and probably even more in a near future. By multicolor immunophenotyping we can identify aberrant LAIPs which allows the discrimination of leukemic cells from normal cells, impacting on MRD detection. There are also important economical advantages. Multicolor immunophenotyping has many technical problems, some combinations and fluorochromes being dependent on the type of flow cytometer or filter combinations used, which explain why it is so difficult to reach a consensus.

## Limitele imunohistochimiei în diagnosticul leucemiilor acute limfoide și non-limfoide

Camelia Dobrea (1), Alina Nicolae (2)

1. Institutul Clinic Fundeni, Centrul de Hematologie și Transplant Medular, Laborator Anatomie Patologica, București, România

2. Spitalul Universitar de Urgenta, Laborator Anatomie Patologica, București, România

Leucemia acută prezintă pattern-uri caracteristice ale expresiei antigenelor de suprafață (CD antigens), care facilitează

identificarea și clasificarea lor adecvată, jucând deasemenea un rol important în instituirea terapiei.

Cel mai comun sistem utilizat în clasificarea leucemiilor acute se bazează în principal pe caracteristicile citomorfologice, citochimice și imunocitochimice ale celulelor din frotiurile de sângele periferic și din aspiratul medular. Dacă aspiratul medular este alb, biopsia de măduvă osoasă (din creasta iliacă) devine investigația cu implicare diagnostică majoră.

Sistem de clasificare al leucemiilor acute WHO 2000, bazat pe sistemului Franco-American-Britanic (FAB) revizuit, ține cont de trăsăturile citogenetice și moleculare ale celulelor tumorale, în special în cazul LAL.

Imunohistochimia oferă ca avantaje: arhitectura și dispoziția celulelor tumorale, dovedindu-și utilitatea în cazurile rare de leucemie acută cu mielofibroză, fără descărcare de blaști în periferie și cu aspirat medular alb.

Numeroase studii au încercat să demonstreze valoarea diagnostică a anticorpilor utilizați pe biopsii de măduvă osoasă incluse la parafină; următorul panel de anticorpi este considerat în general adecvat: CD34, MPO, CD68, glycophorin A, factor VIII, CD42, lizozim, TdT, CD3, CD10, CD79a, CD20.

Totuși imunofenotiparea prin flow citometrie conferă o mai bună evaluare a populației de celule blastice, fiind o investigație multiparametrică. Ea joacă un rol indispensabil în identificarea corectă a LAM M0, diferențierea LAP de LAM M1/M2, identificarea corectă a LAL TdT-negative, precum și a variantelor neobișnuite de leucemie: leucemie bifenotipică și nediferențiată.

Pentru toate cazurile cu rezultate discordante între aceste două metode și/sau expresie aberantă de antigene, alte investigații (analiza rearanjării genice) sunt indicate.

#### The limits of immunohistochemistry in diagnosis of acute lymphoid and non-lymphoid leukemia

Camelia Dobrea (1), Alina Nicolae (2)

1. Pathology Laboratory - Centre of Hematology and Bone Marrow Transplantation, Fundeni Clinical Institute, Bucharest, Romania

2. Pathology Laboratory - Emergency University Hospital Bucharest, Romania

Acute leukemia displays characteristic patterns of surface antigen expression (CD antigens), which facilitate their identification and appropriate classification and hence plays an important role in instituting appropriate treatment.

The most commonly used systems of classification of acute leukemia are based mainly on cytomorphological, enzyme cytochemical, and immunocytochemical findings in blood and bone marrow smears. If bone marrow aspiration is unsuccessful, the investigation of bone marrow biopsy specimens (from the iliac crest) becomes of major diagnostic importance.

The WHO classification system of acute leukemia is based on a revision of the French-American-British (FAB) system, and takes account of cytogenetic and molecular genetic findings, especially in the case of ALL.

The immunohistochemistry offers the advantage of the architecture, disposition of malignant cells and also in rarely cases of acute myeloid leukemia with myelofibrosis, without peripheral discharge and bone marrow aspirate - dry tap (such as AML M7, acute panmyelosis).

A lot of studies tried to demonstrate the diagnostic value of antibodies suitable for use on paraffin embedded sections from bone marrow biopsy specimens, and the following panel is generally considered suitable for subtyping: CD34, MPO, CD68, glycophorin A, factor VIII, CD42, lysosyme, TdT, CD3, CD10, CD79a, CD20.

Although immunophenotyping by flow cytometry confers a much better evaluation of blast cells being a multiparametric analysis. It plays an indispensable role in the correct identification of AML M0, differentiation of APL from AML M1/M2, correct identification of TdT-negative ALL and unusual variants, such as undifferentiated and biphenotyping acute leukemias.

For all the cases with discordant results between these methods, or/and aberrant



## POSTERE

### DETERMINARI BLASTICE EXTRAMEDULARE IN LEUCEMIILE ACUTE MIELOBLASTICE CARACTERISTICI EPIDEMIOLOGICE . EXPERIENTA CLINICII DE HEMATOLOGIE SUUB

I. Voican, A.M. Vladareanu, H. Bumbea, D. Cisleanu, S. Radesi, M. Begu, C. Ciufu, V. Vasilache, C. Marinescu, A. Petre, M. Dervesteanu, M. Onisai, R. Bucoveanu  
Clinica de Hematologie, Spitalul Universitar de Urgenta Bucuresti

Cuvinte cheie- Leucemia acuta mieloblastica, Determinare blastica extramedulara

Introducere: Determinarile blastice extramedulare (DBE), cunoscute si ca sarcom granulocitic, clorom sau mieloblastom, sunt tumori maligne constituite din blasti si granulocite in diferite stadii de maturatie. Aparitia lor reprezinta un factor de prognostic prost asociat cu o supravietuire redusa.

Scopul: Identificarea unor particularitati asociate aparitiei DBE in leuceemiile acute mieloblastice (LAM) "de novo" si secundare.

Material si metoda: Prezentam un studiul retrospectiv al unui lot de 15 pacienti (cazuri consecutive) cu LAM "de novo" (7 cazuri) si secundare (8 cazuri) diagnosticate in clinica noastra in perioada 1.03 2005 - 30.06.2007. Criteriile de diagnostic utilizate corespund Clasificarii WHO a LAM.

Rezultate: Repartitia lotului de pacienti pe sexe a fost de 5 femei si 10 barbati iar mediana varstei a fost de 56 ani (18-78) cu urmatoarele subtipuri morfologice identificate: LAM0 1caz, LAM1 2cazuri, LAM2 7 cazuri, LAM4 1 caz, LAM5 2 cazuri si Leucemie cu eozinofile 2 cazuri. Localizarile DBE identificate au fost: piele (1 caz), ganglioni limfatici (6 cazuri), tub digestiv (4 cazuri), sistem nervos central (1 caz), os (1 caz), sinovie (1 caz), tiroida (1 caz), muschi (2 cazuri). Cinci pacienti au prezentat DBE unice; opt au avut mai multe situsuri cu aceeasi structura histologica interesata iar in doua cazuri s-au identificat DBE in organe cu structura histologica diferita. Doar in patru cazuri DBE au precedat boala medulara. Toti pacientii au fost investigati din punct de vedere imunofenotipic dar fara a putea identifica expresia vreunui antigen particular si nici nu s-a putut stabili vreo corelatie intre subtipul morfologic LAM si localizari particulare ale DBE, posibil datorita numarului mic de cazuri avute la dispozitie. Conform datelor din literatura, pacientii cu DBE au prognostic mai prost si supravietuire mai scurta. In lotul nostru, supravietuirea globala raportata la momentul diagnosticului de DBE la pacientii cu LAM "de novo" a fost mai scurta fata de cei cu LAM secundara.

Concluzii: DBE pot apare atat in LAM "de novo" cat si secundare, ca prima manifestare de boala, precedand debutul medular si periferic sau ca evenimente tarzii in evolutia leucemiei. In lotul nostru, in majoritatea cazurilor DBE au aparut dupa determinarea medulara (la pacienti deja diagnosticati cu LAM conform criteriilor clasice). Dupa cum reiese din literatura, DBE pot apare practic in orice locatie dar cele mai frecvente situsuri - in lotul nostru - au fost ganglionii limfatici si tubul digestiv; localizari absolut particulare: glanda tiroida si sinovia. Supravietuirea globala a fost mai mica in grupul pacientilor cu LAM "de novo" fata de grupul LAM secundare.

### EXTRAMEDULLARY MYELOID CELL TUMORS IN ACUTE MYELOBLASTIC LEUKEMIA EPIDEMIOLOGIC CHARACTERISTICS. THE EXPERIENCE OF HEMATHOLOGY DEPARTMENT OF THE EMERGENCY UNIVERSITARY HOSPITAL

I. Voican, A.M. Vladareanu, H. Bumbea, D. Cisleanu, S. Radesi, M. Begu, C. Ciufu, V. Vasilache, C. Marinescu, A. Petre, M. Dervesteanu, M. Onisai, R. Bucoveanu Hemathology Department of the Emergency Universitary Hospital, Bucharest

KEY WORDS: Acute myeloblastic leukemia, Extramedullary myeloid tumors

Background: Extramedullary myeloid cell tumors (EMT), also known as granulocytic sarcoma, chloroma or myeloblastoma are malignant tumors of myeloblasts and granulocytes in different stages of maturation. Their development represents a poor prognostic factor and correlates with a short survival.

Aims: To identify particular characteristics for EMT occurrence in "de novo" and secondary AML.

Methods: We present a retrospective study of 15 patients (consecutive cases) with "de novo" (7 cases) and secondary (8 cases) AML admitted to our hospital between 01.03.2005 and 30.06.2007 and diagnosed according to WHO criteria.

Results: Among the 15 patients, 5 were females and 10 were males with a median age of 56 years, range [18-78]. The following morphologic types were identified: AML0 1 case, AML1 2 cases, AML2 7 cases, AML4 1 case, AML5 2 cases and acute leukemia with eosinophils 2 cases. All the patients were morphologically and immunophenotypically investigated. The EMT locations were: skin (1 case), lymph nodes (6 cases), gastrointestinal tract (4 cases), central nervous system (1 case), bone (1 case), synovia (1 case), muscle (2 cases) and thyroid gland (1 case). Five patients presented unique determination of EMT; eight had multiple sites involving the same histologic structure and in two cases EMT developed in organs with different histologic structure. In four cases, the EMT preceded the medullary disease. Although all the patients were immunophenotypically investigated, no significant observation regarding a particular antigen expression and no correlation between the morphologic AML type and peculiar location of EMT could be made, probably due to the small number of cases.

Patients with EMT have poorer prognostic and shorter survival. In our research, the overall survival reported to the EMT diagnosis was shorter in "de novo" AML compared to secondary AML.

Conclusion: EMT can develop in patients with de novo or secondary AML, as first manifestation of the disease, preceding the onset in marrow and peripheral blood, or as late events in the evolution of the illness. In our data, in most of the cases, the EMT succeeded the medullar involvement. As reported in the literature, the EMTs may virtually involve any location, but the most common sites in our research were: lymph nodes and gastrointestinal tract; rare and peculiar location were: thyroid gland and synovia. The overall survival was shorter in the "de novo" AML group than in secondary AML.

#### SINDROM BUDD-CHIARI CA EVENIMENT REVELATOR PENTRU POLICITEMIA VERA. EVOLUTIE FAVORABILA SUB TRATAMENT ANTICOAGULANT SI CITOREDUCTOR. PREZENTARE DE CAZ.-----

I. Voican\*, A.M.Vladareanu\*, M.Dervesteanu\*, M.Begu\*, S.Radesi\*, H.Bumbea\*, D.Casleanu\*, C.Marinescu\*, V.Vasilache\*, C.Ciufu\*, A.Petre\*, A.Ilea\*\*

\* Clinica de Hematologie, Spitalul Universitar de Urgenta Bucuresti

\*\* RitusBiotech, Codlea

Introducere: Evenimentele trombotice reprezinta una din cele mai frecvente complicatii (20-30%) si principala cauza de mortalitate (30%) a pacientilor cu Policitemia Vera (PV). Aparitia lor este mai frecventa in primii trei ani de la diagnostic, putand reprezenta elementul revelator al bolii mieloproliferative cronice (BMC). Afecteaza atat teritoriul arterial cat si venos iar prezenta mutatiei JAK2V617 pare a se corela cu un risc trombotic crescut. Tromboza venelor suprahepatice (sindromul Budd-Chiari) reprezinta o localizare particulara si destul de putin frecventa a procesului trombotic, asociata unui prognostic foarte rezervat pe termen scurt, in ciuda tratamentului anticoagulant.

Material si metoda: Prezentam cazul unui pacient diagnosticat concomitent cu tromboza de vene suprahepatice si BMC PV. Diagnosticul hematologic s-a bazat pe examenul histologic al maduvei osoase (Punctie Biopsie Osoasa), determinarea valorii eritropoietinei serice (EPO) si evidentierea mutatiei JAK2 V617F prin examen PCR. Sindromul de hepatocitoliza important, colestaza si semnele deficitului de productie hepatica alaturi de datele imagistice (ecografie, eco Doppler, CT-scan, endoscopie digestiva superioara) ce pledau pentru o ciroza hepatica non-virala (markeri virali hepatitici negativi) decompensata portal (varice esofagiene grad IV-V, ascita si edeme periferice) si parenchimos (hipoalbuminemie, hiperbilirubinemie, hipocolesterolemie, modificari ale coagulogramei) au ridicat problema diagnosticului diferential cu Sindromul Mosse.

Evolutia pacientului sub tratament complex ce a inclus flebotomii terapeutice repetate, citoreductie cu Hydroxiuree si anticoagulant (Heparina sodica in administrare continua urmata de anticoagulant oral) alaturi de masuri patogenice si simptomatice vizand ciroza hepatica, a fost favorabil cu normalizarea parametrilor hematologici, disparitia fenomenelor de decompensare hepatica si reducerea dimensiunilor procesului trombotic.

Concluzii: Accidentul trombotic major - cu prognostic cunoscut ca extrem de rezervat asociat unei BMC justifica initierea unui tratament anticoagulant agresiv chiar in prezenta unui risc hemoragic crescut generat de o potentiala afectiune hepatica cronica cu deficit de productie a factorilor coagularii, varice esofagiene si gastropatie portala.

## BUDD-CHIARI SYNDROME AS A REVELANT EVENT FOR POLICITEMIA VERA. FAVOURABLE EVOLUTION WITH ANTICOAGULANT AND CYTOTOXIC THERAPY.

I. Voican\*, A.M.Vladareanu\*, M.Dervesteanu\*, M.Begu\*, S.Radesi\*, H.Bumbea\*, D.Casleanu\*, C.Marinescu\*, V.Vasilache\*, C.Ciufu\*, A.Petre\*, A.Ilea\*\*

Background: Thrombotic events represent one of the most frequent complications (25-30%) and the main cause of death (30%) in policitemia vera (PV). They occur especially in the first 3 years after diagnosis and may represent the revelator element for diagnosis. They affect both the arterial and the venous vessels and the presence of JAK2 V617 mutation seems to correlate with a higher thrombotic risk. The suprahepatic veins thrombosis (Budd-Chiari syndrome) represents a less frequent and odd location of the thrombotic process associated to a very poor, short term prognosis, in spite of the anticoagulant therapy.

Method: We present the case of a male patient in which the suprahepatic vein thrombosis and the chronic myeloproliferative disease (CMD) were concomitently diagnosed. The diagnosis of PV was based upon the bone marrow biopsy appearance, the low level of serum erythropoietin and the evidence of JAK2 V617 mutation by PCR examination. The high values of liver enzymes, cholestasis and the signs of reduced liver protein production along with the paraclinic investigations (ultrasounds, Doppler exam, CT-scan, digestive endoscopy) that suggested the diagnosis of hepatic cirrosis of non-viral ethiology (hepatitic viruses markers were negative) with portal decompensation (oesofagial veins dilatations, ascitis and peripheral oedema) as well as parenchimal decompensation (low albumine, low coagulation factors, high bilirubinemia) raised the problem of the differential diagnosis with Mosse syndrome.

The patient's evolution with complex therapy that included serial flebotomy, citotoxic agents Hydroxiurea - anticoagulant therapy (unfractionated Heparine followed by oral anticoagulant) and pathogenic and symptomatic measures regarding hepatic disease was good: the hematologic parameters became normal, the liver decompensation disappeared and the thrombotic process was stopped and even diminished.

Conclusions: The major thrombotic accident - known as a very bad prognostic factor associated to a CMD justifies an aggressive anticoagulant therapy in spite of an increased hemmorrhagic risk generated by a possible liver disease with coagulation disturbances, oesofagial varices and portal gastropathy.

## SINDROM HIPEREOZINOFILIC CA MANIFESTARE PARANEOPLAZICA INTR-UN SARCOM RETROPERITONEAL. PROBLEME DE DIAGNOSTIC.

Prezentare de caz-- poster

I.Voican\*, A.M.Vladareanu\*, M.Dervesteanu\*, M.Begu\*, G.Simion\*\*, A.Sandu, H.Bumbea\*, D.Casleanu\*, C.Ciufu\*, A.Petre\*, C.Marinescu\*, S.Radesi\*, M.Onisai\*

\*Clinica de Hematologie, Spitalul Universitar de Urgenta, Bucuresti

\*\*Departamentul Anatomie Patologica, Spitalul Universitar de Urgenta Bucuresti

Introducere: Hipereozinofilia ( $>1,5 \times 10^9/L$ ) apare atat ca eozinofilie reactiva (HES secundar) ce recunoaste o multitudine de cauze subiacente, ca sindrom hipereozinofilic (HES) idiopatic cat si ca leucemie cronica cu eozinofile (LCE). Diagnosticul diferential al acestor trei entitati implica excluderea tuturor cauzelor de eozinofilie reactiva pentru HES secundar (infectioase, alergice, neoplazice, imunologice) si determinarea markerilor de anomalie mieloida clonala (ex gena de fuziune FIP1L1/PDGFR) care stabilesc diagnosticul de LCE; HES idiopatic este diagnosticat in absenta tuturor acestor factori.

Stabilirea diagnosticului corect este esentiala pentru ghidarea tratamentului, demonstrat fiind faptul ca in LCE doze mici de Imatinib mesilat induc remisiunea competa in timp ce cazurile de HES secundar nu sunt sensibile la acest tratament. Literatura precizeaza insa ca rezultatele negative pentru FIP1L1/PDGFR nu exclud in totalitate posibilitatea tratamentului cu Glivec, atata timp cat s-au obtinut rezultate pariale sau chiar si complete.

Material si metoda: Se prezinta cazul unui pacient in varsta de 53 ani cu hiperleucocitoza ( $L.>140000/mm^3$ ) si eozinofilie importanta (E=78%) aparute in contextul unei tumori de loja renala stanga cu extensie retroperitoneala, insotita de determinari ganglionare abdominale, hepatice nodulare, pleuro-pulmonare micronodulare si tromboza de vena cava inferioara si vena renala stanga evidentiate imagistic. Pacientul mai prezenta: eruptie cutanata papulo-eritematoasa pruriginoasa in placarde pe membre, adenopatii periferice si hepatosplenomegalie importanta pe fondul

unei stari generale progresiv alterate, cu scadere ponderala importanta si subfebrilitate. Principalele elemente luate in considerare in diagnosticul diferential au fost : Leucemie cu eozinofile si HES secundar fie unei neoplazii solide cu punct de plecare retroperitoneal fie unui limfom malign T. Absenta FIP1L1/PDGFR (determinata prin examen PCR) si lipsa de raspuns la tratamentul cu Glivec au inclinat balanta catre diagnosticul de HES secundar, confirmat necroptic prin evidentiarea unei tumori gigante retroperitoneale cu multiple determinari secundare hepatice, pancreatice, ganglionare si pleuro-pulmonare.

Concluzii: Desi contextul clinic cu valori hematologice extreme (tablou leucemic) si schita initiala a unui raspuns terapeutic la inhibitor de tirozinkinaza pot sugera diagnosticul de LCE, examenul molecular isi dovedeste superioritatea si indispensabilitatea in stabilirea diagnosticului corect al SHE

## HYPEREOSINOPHILIC SYNDROME (HES) AS PARANEOPLASTIC MANIFESTATION IN A RETROPERITONEAL SARCOMA. DIAGNOSIS DIFFICULTIES

I.Voican\*, A.M.Vladareanu\*, M.Dervesteanu\*, M.Begu\*, G.Simion\*\*, A.Sandu, H.Bumbea\*, D.Casleanu\*, C.Ciufu\*, A.Petre\*, C.Marinescu\*, S.Radesi\*, M.Onisai\*

\* Hematology Department of the Emergency University Hospital, Bucharest

\*\* Anatomopathology Department of Emergency University Hospital, Bucharest

Background: Hypereosinophilia ( $>1.5 \times 10^9 / L$ ) may be due to reactive eosinophilia (secondary HES) with multiple causes, to idiopathic HES as well as to chronic eosinophilic leukemia (CEL). The differential diagnosis among them claims to exclude all the possible causes of secondary eosinophilia (infectious diseases, allergic reactions, immune causes and underlying neoplastic diseases) as well as to determine the markers of clonal myeloid disorder (e.g. the presence of the FIP1L1/PDGFR fusion gene) that confirm the diagnosis of CEL; idiopathic HES is diagnosed if none of these conditions are fulfilled.

The correct diagnosis is essential for treatment decision as it has already been demonstrated that low doses of Imatinib mesilate induce complete remission in CEL but not in secondary HES. Negative FIP1L1/PDGFR results, however, did not rule out response to therapy (partial and even complete responses were achieved).

Method: We present the case of a 53 years old male patient with hiperleucocytosis ( $WBC > 140000 / mm^3$ ) and striking eosinophilia ( $E = 78\%$ ) along with a left renal region tumor with retroperitoneal extension, intraabdominal lymph nodes enlargement, nodular liver involvement, pleural and pulmonary micro-nodules and inferior cava vein and left renal vein thrombosis all these were discovered on CT-scan. The patient's performance status was very low, he had fever from time to time and lost almost 25 kg. He also had an extensive erythematous rash with pruritus on his legs, palpable peripheral lymph nodes and liver and spleen enlargement. The main differential diagnosis were eosinophilic leukemia and secondary HES due to either a solid tumor or to a malignant T cell lymphoma. The absence of FIP1L1/PDGFR (in PCR examination) and the lack of response to Glivec therapy made the secondary HES diagnosis the most probable one. This was confirmed by the necropsy which revealed a giant retroperitoneal tumor with multiple secondary locations in pleura, lungs, liver, pancreas and lymph nodes.

Conclusions: Although the clinical picture and the initial response to Imatinib therapy may suggest a primary hematologic disease, the molecular examination proves its superiority in establishing the correct diagnosis of HES.

## DIFICULTĂȚI ÎN DIAGNOSTICUL LEISHMANIAZEI DE IMPORT ÎN ROMÂNIA

M. L. A. Balea<sup>1</sup>, M Guran<sup>1</sup>, R Gogulescu<sup>2</sup>, E Ceaușu<sup>3</sup>, M. I. Balea<sup>4</sup>

1. Spitalul Clinic Colentina, București, România
2. Laboratorul Gral Medical, Spitalul Clinic Colentina, București, România
3. Spitalul Clinic Boli Infecțioase si Tropicale "Dr. Victor Babeș"
4. INP Prof. Dr. M Nasta, București, România

Tabloul clinico-biologic extrem de variat al Leishmaniozei ne permite să afirmăm că alături de colagenoze, vasculite sistemice poliarterite, tuberculoză, infecția HIV această afecțiune face parte din grupa marilor mimitori.

Practic inexistentă înainte de anul 1989, odată cu deschiderea granițelor am diagnosticat numai în clinica noastră 5 cazuri de leishmanioza viscerală: 3 subiecți de sex bărbătesc și 2 subiecți de sex feminin, cu vârsta cuprinsă între 24 și 47 an; 4 subiecți veneau din sudul Greciei și unul din sudul Italiei (Regio Calabria).

Tabloul clinico-biologic a asociat: sindrom febril prelungit, sindrom consumptiv, hepatosplenomegalie progresiv, adenomegalie progresivă, pancitopenie care se agravează progresiv și sindrom umoral inflamator cu hipergamaglobulinemie policlonală.

Subiecții au ajuns în clinica noastră după 8-14 luni de suferință, interval în care, la internările din diverse servicii medicale ipotezele de diagnostic au fost: endocardită lentă, CH VHB+ cu hipersplenism și pancitopenie, PTI, boli neoplazice, toxoplasmoza viscerală, LMNH, sa.

Diagnosticul în clinica noastră a fost argumentat de prezența de leishmania amastigotes în macrofagele din grunții mielomedulari. Accentuăm necesitatea realizării unui examen riguros în contextul în care una din bolnave a efectuat o PBO în clinicile din Regio Calabria, ulterior în clinicile din România (mai și octombrie 2006). Reexaminând lamele din octombrie 2006 am evidențiat prezența de leishmania amastigotes: 1 macrofag infectat la 100 câmpuri.

În concluzie: leishmanioza viscerală face acum parte din patologia ce trebuie avută în vedere și în România, întrebarea Ubi Vene și examenul riguros al PBO reprezentând cheia diagnosticului.

## DIAGNOSTIC DIFFICULTIES IN IMPORTED LEISHMANIASIS IN ROMANIA

M. L. A. Balea<sup>1</sup>, M Guran<sup>1</sup>, R Gogulescu<sup>2</sup>, E Ceaușu<sup>3</sup>, M. I. Balea<sup>4</sup>,

1. Colentina Clinical Hospital, Bucharest, Romania
2. Gral Medical Laboratory, Colentina Clinical Hospital, Bucharest, Romania
3. "Dr. V. Babeș" Infectious and Tropical Diseases Hospital, Bucharest, Romania
4. NIP Prof. Dr. Marius Nasta, Bucharest, Romania

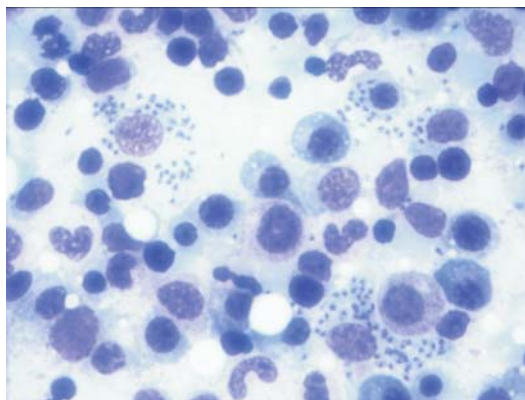
The extremely-polymorphous symptoms and signs of visceral Leishmaniasis allow us to state that this infection is part of a grate imitators group together with collagen diseases, systemic vasculitis " polyarteritis, tuberculosis and HIV infection. With no occurrence before 1989, after the liberation of the Romanian frontiers, no less than 5 visceral Leishmaniasis have we diagnosed only in our clinic: three males and two females ages 24 47. Four of the subject had come from Southern Greece and one of subjects from Southern Italy (Reggio Calabria).

The associated symptoms and signs were as follows: prolonged-fever syndrome, consumption syndrome, progressive hepatosplenomegaly, progressive adenomegaly, progressive-aggravating pancytopenia and inflammatory humoral syndrome accompanied by polyclonal hypergammaglobulinemia.

The subjects came at our clinic after 8 14 months of suffering, meanwhile having been diagnosed by various medical-attendance unites with the following hypothetic diagnoses: subacute bacterial endocarditis, hepatic cirrhosis HVB+ with hypersplenism and pancytopenia, idiopathic thrombocytopenic purpura, neoplastic disorders, visceral toxoplasmosis, non-Hodgkin's lymphomas (NHLs).

The diagnosis in our clinic has been argumented by the occurrence of leishmania amastigotes in the macrophages within the bone marrow grains. We emphasize that we should make a thorough examination considering the following case of a female-patient, who have been performed bone-marrow biopsy in one of the clinics in Reggio Calabria and afterwards in the clinics in Romania (May 2006 and October 2006). At a second examination, the smear obtained in October 2006 evidenced amastigotes leishmania: one infected macrophage per 100 fields.

Conclusion: visceral leishmania has become part of the pathology that should be taken into account in Romania, the quest "Ubi Vene" and rigorous examination of bone-marrow biopsy being the key to diagnosis.



## EFECTELE SINDROMULUI DE HIPERVÂSCOZITATE SERICĂ ASUPRA SECREȚIEI DE ERITROPOIETINĂ (EPO)

M. L. A Balea<sup>1</sup>, T Puscariu<sup>2</sup>, 2. C Siara<sup>1</sup>, M. I. Balea<sup>1</sup>

1. Spitalul Clinic Colentina, București, România
2. Institutul Fundeni, București, România
3. INP Prof. Dr. M Nasta, București, România

Introducere: Epo este produsă primar de către rinichiul adult sub controlul unui mecanism de detecție a oxigenului. În afară de hipoxie, mai sunt alți câțiva factori care modulează producția de Epo, cum ar fi hipoglicemia, concentrațiile crescute de calciu intracelular, eliberarea de insulină, estrogenii, androgenii și variate citokine.

Scop: Demonstrarea ipotezei că hipervâscozitatea serică modulează producția de Epo.

Metodă: Considerând vâscozitatea serică (VS) importantă pentru funcția renală am evaluat nivelul Epo serice înainte de inițierea programului de plasmafereză și la 21 zile după normalizarea VS la subiecții cu boală Waldenstrom și mielom multiplu, cu vâscozitatea serică mai mare de 4cp (lotul cercetat a prezentat VS cuprinsă între 4cp și 12cp), care au necesitat plasmafereză pentru rezolvarea sindromului de hipervâscozitate. Rezultatele obținute ne-au indicat scăderea constantă sub valoarea limită a normalului a concentrației serice a Epo la evaluarea efectuată înaintea plasmaferezei. Am constatat o corelație strânsă între magnitudinea valorilor VS și severitatea scăderii valorilor Epo.

Reevaluare concentrației Epo serice la 21 zile după echilibrarea VS ne-a indicat o creștere constantă a acesteia cu 68% până la 230% față de valoarea inițială cu o valoare medie a creșterii de 114%.

Concluziile acestei etape de lucru indică VS ca participând la reglarea secreției de Epo, hipervâscozitatea reprezentând un factor de inhibiție a secreției de Epo.

## THE EFFECT OF BLOOD VISCOSITY ON ERYTHROPOIETIN SECRETION

M. L. A Balea<sup>1</sup>, T Puscariu<sup>2</sup>, 2. C Siara<sup>1</sup>, M. I. Balea<sup>1</sup>

2. Fundeni Institute, Bucharest, Romania
3. NIP Prof. Dr. Marius Nasta, Bucharest, Romania

Background: Erythropoietin (Epo) is produced primarily in the adult kidney under the control of an oxygen-sensing mechanism. Besides hypoxia, there are several factors that modulate Epo production, such as hypoglycemia, increased intracellular calcium, insulin release, estrogen, androgenic steroids, and various cytokines.

Aims: To demonstrate our hypothesis that the blood viscosity modulates as well Epo's production.

Methods: Considering blood viscosity's importance for kidney function we have evaluated the serum erythropoietin's level in subjects with Waldenstrom's disease and multiple myeloma before starting the plasmapheresis program and at 21 days after the serum viscosity was normalized. The analyzed lot had viscosity between 4cp and 12cp and need plasmapheresis as a regulator of their severe hyper-viscosity syndrome.

The results we obtained denoted constant decrease to the low level of normal values and under normal limits of serum Epo concentration for the evaluation made before plasmapheresis. We observed a high correlation between the high level serum viscosity and the severity of Epo's decrease level.

The reevaluation of the serum erythropoietin concentration 21 days after serum viscosity stabilizing, indicated a constant increase of the serum Epo with 68% to 230% (referring to initial values), the average increase being 114%.

Our conclusions of this stage are: the serum viscosity is involved in the Epo's release regulation; the hyper-viscosity represents an inhibitory factor of the Epo's release.

## EFICIENȚA TERAPIEI CU ERITROPOIETINA "EPOETIN BETA" ÎN SINDROAMELE MIELODISPLAZICE (SMD)

M. L. A Balea<sup>1</sup>, M. Guran<sup>1</sup>, R. Stanescu<sup>1</sup>, N. Cheta<sup>2</sup>

1. Spitalul Clinic Colentina, București, România
2. Laboratorul Gral Medical, Spitalul Clinic Colentina, București, România

Terapia cu eritropoietină EPOETIN BETA/NEORECORMON în doza de 450 u/Kg corp/săptămână a fost

administrată unui lot format din 20 subiecți cu SMD: 8 subiecți cu AR și ARS și 12 subiecți cu AREB și AREB t. Terapia a fost asociată în toate tipurile de SMD la care răspunsul la celelalte mijloace terapeutice a fost minim sau nul. S-au obținut rezultate foarte bune cu echilibrarea hematologică completă numai în formele de AR și ARS de SMD: 75% din subiecții cu SMD/AR/ARS au prezentat remisiune hematologică completă și susținută iar 25% din subiecți au prezentat un răspuns parțial, ne mai necesitând însă terapie de substituție. În formele agresive de SMD: AREB, AREB t s-a obținut un răspuns hematologic minim la 15 % din subiecți cu scăderea ritmului de administrare a terapiei de substituție. În concluzie putem afirma posibilitatea utilizării cu succes a terapiei cu EPOETIN BETA la subiecții cu SMD/AR/ARS fără răspuns la celelalte mijloace terapeutice.

## THE EFFECTIVENESS OF ERYTHROPOIETIN EPOIETIN BETA/NEORECORMON THERAPY IN MYELODYSPLASTIC SYNDROMES (MDS)

M.L.A Balea<sup>1</sup>, M. Guran<sup>1</sup>, R Stanescu<sup>1</sup>, N. Cheta<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Colentina Clinical Hospital, Bucharest, Romania

<sup>2</sup> Gral Medical Laboratory, Colentina Clinical Hospital, Bucharest, Romania

Erythropoietin EPOETIN BETA/NEORECORMON dosed 450 U/kg/week was administrated to a lot of 20 subjects with MDS: 8 subjects with RA and RARS and 12 subjects with RAEB and RAEB-t. This therapy was associated to all subgroups of MDS that had minimal or not any response to other therapeutic means. Effective results with complete hematological improvement was achieve only in subgroups of RA and RARS: 75% of subjects with MDS-RA and MSD-RARS had complete and sustained hematological recovery and 25% of these had a partial response, but they no more in need of supportive therapy. In subjects with aggressive form of MDS RAEB and RAEB-t the hematological response was minimal in 15% of subjects, yet decreasing administration rate of supportive therapy.

In conclusion, we can state the effectiveness of EPOETIN BETA in subjects with MDS RA and RARS without response to other therapy means.

## EFICIENȚA PLASMAFEREZEI ÎN TERAPIA PTT

M. L. A Balea<sup>1</sup>, C Siara<sup>1</sup>, C Băicuș<sup>1</sup>, M. I. Balea<sup>2</sup>

1. Spitalul Clinic Colentina, București, România

2. INP Prof. Dr. M Nasta, București, România

PTT reprezintă o entitate în care diagnosticul în timp util este vital. Incidența scăzută și tabloul clinico-biologic polimorf întârzie adesea diagnosticul. Triada: „trombocitopenie exprimată sau nu prin purpură” „anemie hemolitică microangiopatică exprimată prin icter, prezența de schizocite și eritroblaști în sângele periferic, LDH maximal, hemosiderinurie” „afectarea renală și neurologică” reprezintă cheia diagnosticului și permit inițierea terapiei în timp util. Inhibiția metal-enzimei ADAMTS 13 prin anticorpi sau deficiențe ale acestei enzime induc realizarea de concentrații maxime de factor von Willebrand, explică eficiența maximală a plasmaferezei.

10 subiecți dintr-un lot de 12 subiecți: 3 de sex bărbătesc, 9 de sex feminin, cu vârsta cuprinsă între 19 și 57 ani, la care am stabilit riguros diagnosticul de PTT și am exclus CID și sindromul hemolitic uremic, au efectuat terapia prin plasmafereză.

Dintre factorii favorizanți ai PTT am identificat: LED, prezența de Ac. APL, terapia cu ACO, infecțiile recurente cu E Coli secundare unei prostatite cronice.

S-au efectuat între 9 și 14 ședințe de plasmafereză cu epurarea 1 - 2.6 volume plasmaticice (VP) în asociere cu perfuzii PPC, corticoterapie și antibioterapie.

Remisiunea s-a obținut după 7 -14 zile de la inițierea terapiei la 9 subiecți (90%); un subiect prezentat tardiv a beneficiat de o singură ședință de plasmafereză.

Recădere a prezentat un singur subiect de sex bărbătesc, la 7 luni de la primul episod, în contextul unei infecții urinare cu E Coli netratată (neglijată 3 săptămâni). Subliniem că dacă răspunsul la primul episod a necesitat epurarea a 1.9 VP și s-a instalat în ziua a 7-a de tratament, la recădere a necesitat epurarea a 2.4 VP și s-a instalat după 14 zile de tratament. La acest subiect urmează să apreciem oportunitatea terapiei cu Rituximab.

În concluzie: plasmafereza reprezintă o terapie cu eficiență maximală în condițiile unui diagnostic riguros stabilit în timp util.

## THE EFFICIENCY OF PLASMAPHERESIS IN THROMBOTIC THROMBOCYTOPENIC PURPURA (TTP) THERAPY

M. L. A. Balea<sup>1</sup>, C. Siara<sup>1</sup>, C. Băicuș<sup>1</sup>, M. I. Balea<sup>2</sup>

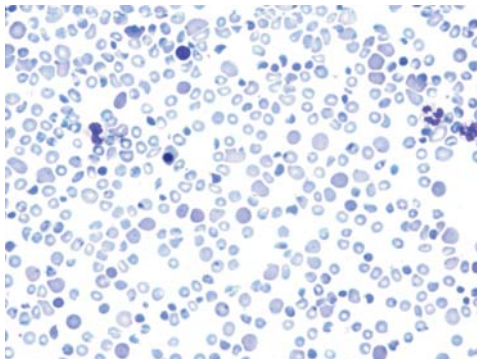
1. Colentina Clinical Hospital, Bucharest, Romania

2. NIP Prof. Dr. Marius Nasta, Bucharest, Romania

TTP is an entity where diagnosis in due time is essential. Low incidence and the polymorphous clinical and biological symptoms and signs often delay diagnosis. The triad consisting of “thrombocytopenia (accompanied or not by purpura)” “microangiopathic haemolytic anaemia expressed by jaundice, presence of schistocytes and erythroblasts in the peripheral blood, high level LDH, hemosiderinuria” “renal and neurological involvement” stands for the key to diagnosis and allow the initialization of a proper therapy in due time. The inhibition of ADAMTS-13 metalloprotease by antibodies against it or deficiencies of these enzymes induces the achieving of the maximum concentration of the Willebrand factor which explains the efficiency of plasmapheresis.

Ten adult subjects from a group of twelve (three males and nine females aged between 19 and 57 years) whom were rigorously TTP diagnosed (excluding DIC and the hemolytic-uremic syndrome), have been performed plasmapheresis therapy. Among the conditions that promote TTP we have identified SLE, antiphospholipid antibodies occurrence, oral contraceptives therapy, recurrent E. Coli infections secondary to chronic prostatitis. It have been performed nine to fourteen plasmapheresis by which 1.2-2.6 plasma volumes (PV) have been purged in association with FFP (fresh frozen plasma) perfusions, corticotherapy and antibiotherapy. Remission was achieved 7-14 days after the therapy in nine subjects; one of the subjects who had asked for a medical examination belatedly was only once performed plasmapheresis. Relapse was only found in one subject male 7 months after the first episode under an untreated three weeks old urinary infection with E. Coli. We emphasize that if the response to the first episode needed purging of a 1.9 PV and it occurred on the seventh day of treatment, at the relapse it needed purging of a 2.4 PV and occurred after 14 days of treatment. In this subject we shall consider whether a Rituximab therapy should be salutary.

Conclusion: plasmapheresis is a maximum - efficiency therapy provided that diagnosis should be rigorously and in due time.



## IMPLICAREA PROCESULUI DE OSCILAȚIE GENETICĂ ÎN EPISOADELE DE REACTIVARE A BOLII LUPICE

M. L. A. Balea<sup>1</sup>, M. I. Balea<sup>2</sup>

1. Spitalul Clinic Colentina, București, România

2. INP Prof. Dr. M. Nasta, București, România

Introducere: Pentru a explica evoluția recurentă a neutropeniei ciclice, boala Hodgkin, boala grefă contra gazdă, bolile de colagen, am sugerat conceptual de oscilație genetică pe care l-am definit ca reprezentând exprimarea alternativă a genelor maternelor cu genele paternale, demonstrând paternul concentrației antigenelor de grup A și a celor de grup B pe





splenectomizat, în remisiune indusă terapeutic (CHOP+Bleo) care dezvoltă anemie cu reticulocitopenie severă progresivă mergând până la absența totală a reticulocitelor și dispariția corpurilor Howell Jolly . Mielograma efectuată în acest context confirmă eritroblastopenie pură indicând prezența de eritroblaști giganți, dismorfici, vacuolați și un raport serie mieloblastică / serie eritroblastică de 25. Evaluarea CT toraco-mediastinală exclude timom; serologia ELISA-PV B19 și HTLV I este negativă iar imunograma indică hipogamaglobulinemie severă. Se inițiază terapie cu EPOETIN Beta care induce eritropoeza cu reparația reticulocitelor și a corpurilor Jolly dar procentul acestora nu depășește 0,3%. În context se asociază ciclosporina în doză de 800mg/zi administrate în două prize (12mg/Kg corp/zi) în asociere cu prednison 40mg/zi. Evaluarea la 30 zile indică amorsarea eritropoezei cu creșterea procentului de reticulocite la 7,5%: mielograma indică reparația populației eritroblastice cu un raport serie Mieloblastică / serie Eritroblastică de 1,5. Efectul se menține, permițând după 8 săptămâni reducerea progresivă a dozelor de ciclosporină. În concluzie putem afirma eficiența terapiei imunomodulatoare cu ciclosporină în tratamentul eritroblastopeniei pure complicând evoluția LMNH

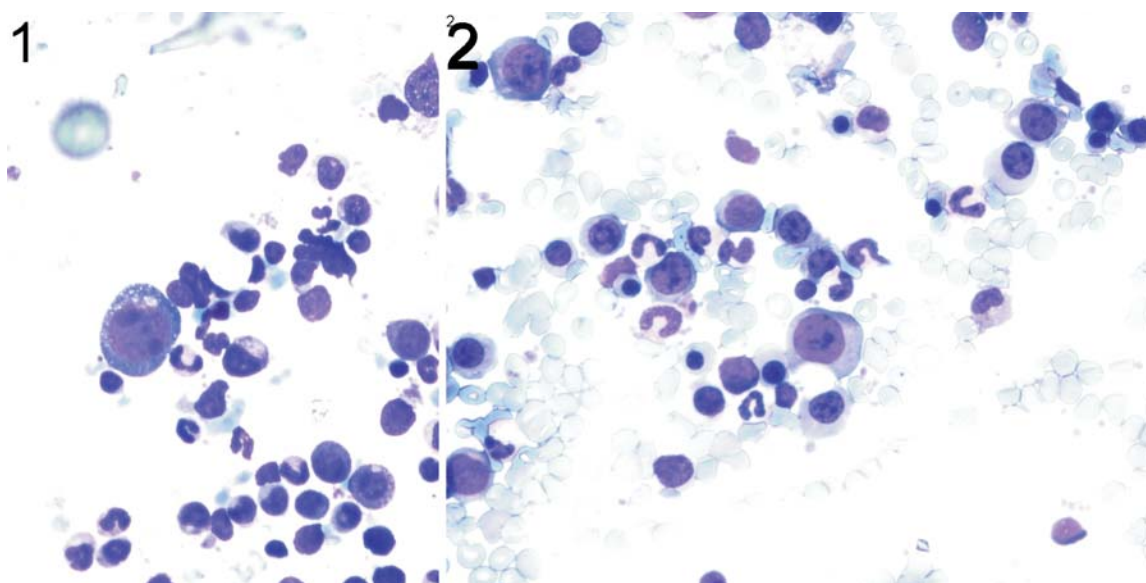
## THE RESPONSE TO CYCLOSPORINE AND EPOETIN-BETA IN A CASE OF PURE RED CELL APLASIA INVOLVING AT-CELL NON-HODGKIN'S LYMPHOMA

M. L. A. Balea<sup>1</sup>, A. Răzvan<sup>1</sup>, M Guran<sup>1</sup>, M. I. Balea<sup>2</sup>

1. Colentina Clinical Hospital, Bucharest, Romania
2. NIP Prof. Dr. Marius Nasta, Bucharest, Romania

Pure red cell aplasia (PRCA) is a redoubtable complication of the lymphoproliferative disorders: CLL, NHL, and Hodgkin's disease. In this context we shall show the evolution of 32 - years old male - patient who had been diagnosed with T-cell NHL, stage III B, and underwent splenectomy, in therapeutically-induced remission (CHOP + Bleo), developing progressive severe-anemia with reticulocytopenia to the extent of total lack of reticulocytes and absence of the Howell Jolly bodies, associated with severe hypogammaglobulinemia. Bone marrow examination confirms PRCA, showing giant, atypical, vacuolar erythroblasts and a myeloblastic series / erythroblastic series ratio of 25. The thoracomediastinal CT scan evaluation excludes a thymoma, the ELISA - PV B19 and HTLV 1 is negative. An Epoetin-beta (NeoRecormon) therapy shall be initialized while will induce erythropoiesis with the reappearance of the reticulocytes and of the Howell Jolly bodies but the rate will not go beyond 0.3%. Contextually, Cyclosporine shall be associated 800 mg bd (12 mg /kg/day) together with 40 mg /day of Prednisone. An evaluation after 30 days shows an improvement of erythropoiesis with an increasing rate up to 7.5% in reticulocytes: the bone marrow examination shows the reappearance of erythroblast's population with a myeloblastic series / erythroblastic series ratio of 1.5. The effect shall be kept, allowing 8 weeks afterwards the progressive reduction of the Cyclosporine doses.

As a conclusion, we can state that the immunomodulating Cyclosporine therapy in the treatment of PRCA involving the NHL is efficient.























Cucuianu A1, Rege G2, Dima D1, Patiu M1, Basarab C1, Saglio G2, Petrov L1

1. Institutul Oncologic "Ion Chiricuta", Sectia Hematologie, Cluj-Napoca, Romania

2. Spitalul San Luigi, Sectia Hematologie, Torino, Italia

Leucemia mieloida cronica (LMC) in faza blastica are un prognostic deosebit de sever, in special in cazurile rezistente la imatinib. Introducerea recenta in practica a noilor inhibitori de tirozin kinaze de tip "molecule mici" ar putea ameliora semnificativ prognosticul acestor pacienti

Prezentam cazul clinic al unei paciente de 62 ani diagnosticata in Martie 2006 cu LMC faza cronica Philadelphia pozitiva. A fost initial tratata cu Hydroxiuree apoi in Iulie 2006 s-a inceput Glivec, 400mg/zi. Cariotipul, repetat la debutul tratamentului cu Glivec arata 90% Ph fara alte anomalii aditionale. S-a obtinut o remisiune hematologica dar la un control de rutina in Noiembrie 2006 s-a observat leucocitoza moderata (14,000) cu 47% blasti, cu un fenotip CD13, CD33, CD34 si cu expresia aberanta a CD10. Cariotipul a aratat Ph 100% fara anomalii aditionale. S-a debutat Glivec 600mg/zi dar pacienta a tolerat greu tratamentul, cu aparitia unei hepatocitolize marcate. Pe langa toleranta scazuta, cresterea dozei de Glivec nu a avut efect hematologic, motiv pentru care s-a intreput.

Ulterior, s-a inceput dasatinib 2 X 70mg zilnic. La inceput tratamentul a fost bine tolerat cu obtinerea dupa aproximativ o luna a unei remisiuni hematologice. A persistat o moderata hepatocitoliza si colestaza, insa efectul advers cel mai important a fost aparitia unei colectii pleurale recidivante, necesitand repetate evacuari, iar ulterior reducerea dozei de dasatinib la 100mg/zi si adaosul de corticoizi in doza mica.

Cariotipul effectual la 3 luni de la debutul dasatinib a relevat un raspuns citogenetic major (1 din 20 mitoze Ph pozitiva). Analiza moleculara (RQ-PCR), efectuata la 6 luni a relevat 17 copii de BCR-ABL/10,000 copii ABL (0.17%), deci aproape o reducere de 3-log a masei leucemice. Frecventa evacuarilor pleurale a scazut in timp; la momentul actual pacienta nu a mai avut pleurezie semnificativa de 2 luni, iar tratamentul cu prednison a fost stopat.

Acest caz clinic subliniaza progresul realizat in ultimii ani in tratamentul LGC, chiar si in cazurile avansate, datorita introducerii noilor inhibitori de tirozin kinaze.

#### MAJOR CYTOGENETIC AND MOLECULAR RESPONSE AFTER DASATINIB IN A PATIENT WITH CHRONIC MYELOID LEUKEMIA IN BLASTIC PHASE

Cucuianu A1, Rege G2, Dima D1, Patiu M1, Basarab C1, Saglio G2, Petrov L1

1. "Ion Chiricuta" Cancer Institute, Hematology Dept, Cluj-Napoca, Romania

2. San Luigi Hospital, Hematology Department, Torino, Italy

Chronic myeloid leukemia in blastic phase carries an adverse prognosis, especially in imatinib-resistant cases. The recent development of the newer small molecule tyrosine kinase inhibitors may change the outlook in these patients

We present the clinical case of a 62 year old female who was diagnosed in March 2006 with chronic phase, Philadelphia positive chronic myeloid leukemia (CML). She was initially treated with Hydroxiurea and in July 2006 Glivec was started at a dose of 400mg/day. The karyotype, repeated when Glivec was started showed 90% Philadelphia positive mitoses without additional abnormalities. A hematological remission was subsequently obtained. A routine control in November 2006 showed mild leucocytosis (14,000) with 47% blasts, with a CD13, CD33, CD34 and aberrant CD10 phenotype. The caryotype showed 100% Ph without additional abnormalities. Glivec at 600mg/day was started but the patient tolerated it poorly, developing important hepatocytolysis. Besides being poorly tolerated, Glivec at 600mg/day had no hematological effects, therefore Glivec was withdrawn.

Subsequently, the patient was started on dasatinib 2 X 70mg daily. In the beginning, she has tolerated dasatinib relatively well, with the achievement in about a month of a complete hematological remission. A moderate hepatocytolysis and colestasis persisted. A recurrent problem was bilateral pleural effusion requiring repeated evacuations and subsequently a reduction of dasatinib to 100mg daily and the addition of small doses of prednisone.

The caryotype after 3 months of treatment revealed a major cytogenetical remission (1 in 20 mitoses Ph positive). The RQ-PCR, performed a 6 months showed 17 copies of BCR-ABL/10,000 copies of ABL (0.17%), therefore an almost 3-log reduction of the leukemic load. The frequency of pleural evacuations decreased over time and at the time of writing she has had no pleural effusion for 2 months and the prednisone was stopped.

This case underscores the progress being made in recent years in the treatment of CML, even in advanced phases, due to the introduction of the newer small molecule tyrosine kinases.





Aurelia Tatic, Iulia Ursuleac, Tatiana Puscariu, R.Gologan, Dana Ostroveanu, Adriana Colita, D.Colita, Aristica Poenaru, Emilia niculescu-Mizil, Andreea Delia Moicean, Otilia Georgescu, Anca Ion  
Clinica de Hematologie, Institutul Clinic Fundeni, București

Introducere. Anemia este cea mai frecventa manifestare clinica in sindromul mielodisplazic(SMD).Adesea este severa, necesitand transfuzii si determinad scaderea calitatii vietii.Tratamentul cu Eritropoietina umana recombinata (Epo) in SMD cu risc scazut amelioreaza anemia in aproximativ 20-40% din pacientii cu SMD, scade necesarul transfuzional si imbunatateste calitatea vietii.Rata raspunsului la tratament depinde de subtipul FAB si nivelul seric al eritropoietinei.Tratamentul concomitent cu Epo si G-CSF creste rata raspunsului.

Metoda. Am evaluat raspunsul la tratamentul cu Epo administrat subcutanat in doza de 150 u/kg de 3 ori pe saptamana la 27 de pacienti diagnosticati in Clinica de Hematologie a Institutului Clinic Fundeni in perioada 2005-iunie 2007. Pacientii au fost clasificati conform criteriilor FAB. Caracteristicile lotului au fost: 12 barbati (44,44%), 15 femei (66,66%), limitele de varsta au fost intre 41-80 ani (mediana 65,16 ani). Subtipurile de SMD au fost: anemia refractara (AR) 19 pacienti (70,37%), anemie refractara cu sideroblasti inelari (ARSI) 5 pacienti (18,52%), anemie refractara cu exces de blasti (AREB) 3 pacienti (11,11%).Am dozat nivelul eritropoietinei serice la 11 pacienti. Raspunsul al tratament a fost evaluat astfel:raspuns complet (RC cresterea nivelului Hb peste 2 gr/dl, fara transfuzii), raspuns partial (RP- crestera nivelului Hb peste 1gr/dl, reducerea necesarului transfuzional si ameliorarea calitatii vietii) si fara raspuns (FR) dupa 3 luni de tartament.

Rezultate: raspunsul la tratament a fost :

7 pacienti cu nivel seric al eritropoietinei 150 U/L 4 RC, 2 FR, 1 RP si 4 pacienti cu nivel seric al eritropoietinei intre 150-500 U/L-1 RC, 2 RP, 1 FR;

8 pacienti care au primit Epo ca tratament de prima intentie : 5RC ( 4 AR, 1 ARSI), 2 RP (2 AR), 1 AR fara raspuns la 3 luni;

19 pacienti tratati anterior : 5RC (5AR), 9 RP (5AR, 3ARSI, 1AREB), 5 FR ( 2AR, 1ARSI, 2 AREB).

Concluzii: administrarea Epo la pacientii cu SMD risc scazut reduce necesarul transfuzional si imbunatateste calitatea vietii. Cele mai bune rezultae s-au obtinut in AR cu nivel scazut al Epo serice si cand Epo a fost aministrata ca pima intentie. RC a fost obtinuta la 10 pacienti ( 9 AR, 1 ARSI).

RESULTS OF THE TREATMENT WITH ERYTHROPOIETIN IN MYELOYDYSPLASTIC SYNDROME FROM A SINGLE ROMANIAN CENTER

Aurelia Tatic, Iulia Ursuleac, Tatiana Puscariu, R.Gologan, Dana Ostroveanu, Adriana Colita, D.Colita, Aristica Poenaru, Emilia niculescu-Mizil, Andreea Delia Moicean, Otilia Georgescu, Anca Ion  
Fundeni Clinical Institute, Haematology Department, Bucharest, Romania

Introduction. The anaemia is the most frequent clinical manifestation in myelodysplastic syndromes (MDS). It is often severe, transfusion dependent and associated with impaired quality of life. Treatment with recombinated human erythropoietin (rHuEpo) in low risk MDS improves anaemia in aproximately 20% - 40% of patients with MDS, reduces transfusion needs and improves quality of life. Response rate depends on FAB subtypes and serum erythropoietin level. Concomitant treatment with rHuEpo and G-CSF rises response rate .

Method. We evaluated the response to the treatment with rHuEpo given subcutaneously at a dose of 150U/kg thrice weekly to 27 patients diagnosed in Fundeni Clinical Institute treated with rHuEpo between 2005-june 2007. The patients were classified according to FAB criteria. The characteristics of the group were: 12 males ( 44,44%), 15 females (66,66%), age range between 41-80 years (median 65,16). The MDS subtypes were: refractory anaemia (RA) 19 patients (70,37%), refractory anaemia with ringed sideroblasts (RARS) 5 patients (18,52%), refractory anaemia with excess of blasts (RAEB) 3 patients ( 11,11%). We have dosed serum Epo levels to 11 patients. All patients were evaluated as: complete response (CR increase of Hb above 2 gr/dl, without transfusion needs), partial response (PR-increase Hb above 1gr/dl, reduction of the transfusion frequency and an improvement of quality of life) and without response after 3 months of treatment.

Results:The treatment responses were:

- 7 patients with serum Epo levels <150U/L (4 CR, 1 PR, 2 without response) and 4 patients with Epo level between 150-500U/L(1 CR, 2 PR, 1 without response).

- 8 patients (32%) were treated with rHuEpo as first intention: 5 CR (4 RA, 1 RARS), 2 PR (RA), 1 RA without response to 3 months ;

- 19 patients with prior treatments: 5 CR (5 RA), 9 PR (5 RA, 3 RARS, 1 RAEB ), 5 without response (2 RA, 1 RARS, 2 RAEB ).















Uscatescu Valentina , Ostroveanu Daniela , Stoia Razvan , Georgescu Otilia .  
Tehnicieni : Chiriac Elisabeta , Taru Viorica , Viziru Claudia .

#### ISTORIC :

Anticorpul antifosfolipidic cuprind o familie de imunoglobuline caracterizata printr-un patern de reactivitate intr-o serie de teste de laborator . Aceasta familie include lupusul anticoagulant (LA) , anticorpul anticardiolipinici (ACA) si anticorpul care produc teste biologice fals pozitive in testele serologice pentru sifilis .

Scopul prezentarii noastre a fost de a determina prevalenta acestor anticorpi la pacientii hemofilici si cu boala von Willebrand si sa determinam relatia cu infectiile produse de hepatita B (HBV) , hepatita C (HCV) sau HIV .

Aceasta scurta prezentare este o parte dintr-un studiu prospectiv, pentru monitorizarea inhibitorilor factorilor coagularii la pacientii hemofilici si nonhemofilici si din acest punct de vedere sa putem institui un tratament corect .

#### SCOP:

Pacientul , hemofilic sau nonhemofilic poate produce anticorpi din diferite subclase de Ig G, directionati impotriva diferitelor epitopi ai moleculei de FVIII ( multi anticorpi sunt comuni in populatia hemofilica) . Acesti anticorpi se leaga de domeniile C2 ( sau A2) ale FVIII .

Pierderea domeniului C2 care se leaga de fosfolipidul procoagulant fosfatidilserina pe plachetele activate si celulele endoteliale si de factorul von Willebrand , duce la reducerea activitatii procoagulante .

#### STUDIUL POPULATIONAL

Acest scurt studiu a demarat in urma observatiilor clinice anumiti pacienti chiar cu un tratament corect si cu o buna monitorizare a terapiei au o recuperare mai lunga . In acelasi timp se pare ca dozele de “complex coagulant antiinhibitori” este mai mare .

#### METODE TEHNICI DE LABORATOR

Recoltarea de sange : se recolteaza sange venos pentru determinarea PT, APTT , TT, FVIII , FIX , Fibrinogen , KGT , dRVVT , TITT , PNP .

FVIII s-a determinat coagulologic si cromogenic . S-au efectuat numaratori complete (HGL) , VSH , teste functionale renale si hepatice , proteine serice si determinarea imunoglobulinelor . S-au efectuat teste pentru infectiile cu HIV , HCV, HBV .

Statusul imunologic s-a efectuat prin determinarea CD4. Nivelul viremiei pentru HIV s-a analizat prin PCR . S-au efectuat teste serologice pentru sifilis (VDRL) . LA s-a diagnosticat bazat pe testele KCT, TITT , sau dRVVT cu teste pozitive PNP .

ACA s-a diagnosticat prin prezenta ACA IgA si /sau ACA Ig M-anticorpi .

APTT corectat (dependent de temperatura si timp ) a fost determinat pentru identificarea inhibitorilor anti FVIII sau anticorpilor antifosfolipid si a fost confirmat prin testul Bethesda . Testele de corectie au fost realizate imediat dupa amestecul plasmatic , dupa 1 ora de incubatie la 37 grade Celsius si imediat dupa amestecul plasmelor separate si incubate .

#### REZULTATE

Dezvoltarea inhibitorilor anti FVIII reprezinta o complicatie majora la pacientii hemofilici desi in studiul abordat de noi prevalenta inhibitorilor anti FVIII si LA a fost mai scazuta decat in alte studii similare . Prezenta lupusului anticoagulant poate interfera cu testele de prim diagnostic al FVIII coagulologic mimand un inhibitor al FVIII . Am investigat modalitatile prin care lupusul anticoagulant determinat prin dRVVT poate da valori fals pozitive ale titrului de inhibitori determinati prin metoda Bethesda .

#### DISCUTII

Anticorpul antifosfolipidic pot apare in populatia cu hemofilie astfel ca un test pozitiv dRVVT este comun cu inhibitorii anti FVIII . Poate fi posibil ca anticorpul antifosfolipidic sa se lege de fosfolipidele din plasma de normal in tehnica Bethesda care duce la un dRVVT slab pozitiv .

Din cauza rarietatii acestei interferente , trialuri controlate randomizate nu au fost efectuate , pentru a putea compara direct tratamentul sau sa exprimam factorii care pot duce la aceste modificari .

#### Bibliografie :

“ Änti factor VIII inhibitors and lupus anticoagulants in haemophilia patients “(Blanco ) ;

“ A chromogenic assay allows reliable measurement of FVIII levels in the presence of strong lupus anticoagulants “ (Mastre )

## DIFFICULTIES IN THE DIAGNOSIS OF HAEMOPHILIA A AND B WITH INHIBITORS LABORATORIES DATA AND THE MANAGEMENT OF THE TREATMENT

Uscatescu Valentina, Ostroveanu Daniela , Stoia Razvan, Georgescu Otilia  
Tehnicieni : Elisabeta Chiriac , Viorica Taru , Claudia Viziru

Clinical Institute Fundeni, Department Of Haematology And Bone Marrow Transplantation

### BACKGROUND:

Antiphospholipid antibodies comprise a family of immunoglobulins characterised by their pattern of reactivity in a number of laboratory test. This family include lupus anticoagulant (LA), anticardiolipin antibodies (ACA) and antibody causing biologic false positive serologic test for syphilis. The purpose of our presentation was therefore to determine the prevalence of these antibodies in haemophilia and von Willebrand patients and to determine the relationship with blood infections caused by hepatitis B( HBV), hepatitis C (HCV), or HIV viruses . This short presentation is a part from a large study started as prospective observation for monitoring the inhibitors against coagulation factors in haemophilic and nonhaemophilic patients and from this point of view to manage the treatment.

### AIMS:

An individual patient, either nonhaemophilic or haemophilic, can produce antibodies of different IgG subclasses directed against different epitopes on the FVIII molecule (multiple antibodies is much common in patients with haemophilia). These antibodies bind to the C2 (or A2) domain on FVIII. Loss of the C2 domain, which binds to the procoagulant phospholipid phosphatidylserine on activated platelets and endothelial cells and to von Willebrand factor, leads to a reduced procoagulant activity.

### PATIENT POPULATION

This short study has started during clinical observations that some of our patients even with a correct treatment and good monitoring of the therapy have a long recovery. In the same time it seems that the dosages of antiinhibitor-coagulant complex are much higher .

### METHODS:

**BLOOD SAMPLING:** Venous blood was collected for determination of PT, APTT, TT, FII, FIX, Fibrinogen, KGT, dRVVT, TITT, PNP. Coagulation and chromogenic FVIII were performed. A full blood count, erythrocyte sedimentation rate, renal and liver function tests, serum protein and immunoglobulins were performed. Were tested HIV, HCV and HBV infection.

Immunological status was performed by CD4 determination. HIV viral charge was analysed by PCR.

Serologic test for syphilis (VDRL) was done.

LA was diagnosed based on the coexistence of KCT, TITT or dRVVT with PNP positive test.

ACA was diagnosed by the presence of ACA IgA and/or ACA IgM antibodies.

APTT correction (time and temperature dependent) were determined to identify anti FVIII inhibitors or antiphospholipid antibodies and it was confirmed by the Bethesda assay. These correction tests were realized immediately after the mixture, after one hour of incubation at 37°C and immediately after the mixture previous separately incubation.

### RESULTS:

The development of anti-factor VIII inhibitors are a major clinical complication in haemophilia our prevalence of anti FVIII inhibitors and LA was lower than in other studies. A lupus anticoagulant may interfere with the one - stage factor VIII clotting assay mimicking a Factor VIII inhibitor. We investigated whether a lupus anticoagulant, as detected by the dilute Russell's viper venom time (dRVVT), may falsely elevates a positive Bethesda titer.

### DISCUSSION:

Antiphospholipid antibodies can develop in haemophilic population so our findings suggest a positive dRVVT common with a Factor VIII inhibitor. It may be possible that antiphospholipid antibody bound to the phospholipid in the normal plasma in the Bethesda assay which provoke a dRVVT weakly positive. Because of the rarity of these disorders, randomized controlled trials have not been conducted either to compare treatments directly or to examine the factors indicating a favourable outcome.

### REFERENCES

“Anti factor VIII inhibitors and lupus anticoagulants in haemophilia A patients “( Blanco );

“A chromogenic assay allows reliable measurement of FVIII levels in the presence of strong lupus anticoagulants” (Mastre)



















## MIELOMUL MULTIPLU -ANALIZA COMPLICAȚIILOR ȘI INFLUENȚALOR ÎN SUPRAVIEȚUIREA PACIENȚILOR

Ioana Ioniță1, Ruxandra Laza1, Maria Chevereșan2, Anca Isac1, C.Ioniță2, D.Oroș1, Hortensia Ioniță1

- 1.Disciplina de Hematologie U.M.F.”Victor Babeș” Timișoara
- 2.Clinica de Hematologie Spitalul Clinic Municipal Timișoara

Introducere: Mielomul multiplu (MM) este o boală malignă hematologică întâlnită destul de frecvent în practica medicală. MM este o limfoproliferare de tip B celular cu grad avansat de maturare, caracterizat prin acumularea plasmocitelor maligne în măduva osoasă.

MM prezintă un interes deosebit atât prin frecvența în creștere cât și prin introducerea unor metode terapeutice noi care au prelungit semnificativ supraviețuirea pacienților. Totuși vârsta avansată, statusul de performanță deficitar, prezența unor comorbidități și complicațiile în legătură cu boala și chimioterapia pot influența foarte mult supraviețuirea pacienților cu MM.

Scop: Ne-am propus analiza complicațiilor apărute în evoluția bolii precum și cele datorate regimurilor terapeutice aplicate și influența lor asupra duratei de supraviețuire.

Material și metodă.

Am analizat un număr de 86 pacienți cu MM care au fost internați în ultimii 5 ani 2000 - 2008 în Clinica de Hematologie Timișoara. Lotul a cuprins 45(58%) pacienți de sex masculin și 41(42%) pacienți de sex feminin. Vârsta medie a fost de 65 ani cu limite de vârstă 42-80 ani.

Cei mai mulți pacienți au fost diagnosticați în std.III de boală (43 std.IIIA și 35% Std.IIIB).

Am analizat complicațiile infecțioase, renale, neurologice, incidența fracturilor osoase, complicațiile tromboembolice și hemoragice.

Complicații infecțioase au apărut la 75% din pacienții cu MM, cea mai frecventă localizare fiind cea respiratorie urmate de infecții urinare.

Supraviețuirea a fost influențată la 36% pacienți cu aceste tipuri de complicații. Majoritatea pacienților fiind în std.III de boală. Complicații renale au fost prezente la 47% din cazuri, aproximativ 5% din pacienții în std.IIIB au decedat prin uremie.

Complicațiile neurologice au fost prezente la 51% din pacienții cu MM și au avut grade variabile de severitate. Fracturile osoase au fost prezente la 39% din cazuri mai ales la nivel dorso-lombar, coaste, vertebre și la nivelul picioarelor. Acestea au influențat semnificativ supraviețuirea pacienților și calitatea vieții.

Concluzii: Pacienții diagnosticați precoce în stadii timpurii de boală cu complicații minore au avut o evoluție favorabilă și o supraviețuire prelungită.

Se impune instituirea unui tratament precoce bine susținut în cazurile cu complicații severe mai ales la pacienții cu stadii avansate de boală.

## MULTIPLE MYELOMA - COMPLICATIONS ANALYSIS AND THEIR INFLUENCE IN PATIENTS SURVIVAL

Ioana Ioniță1, Ruxandra Laza1, Maria Chevereșan2, Anca Isac1, C.Ioniță2, D.Oroș1, Hortensia Ioniță1

- 1.University of Medicine and Pharmacy „Victor Babeș” Timisoara- Department of Hematology
- 2.County Hospital Timisoara

Background. Multiple myeloma (MM) represents a disease of great interest either through his increasing frequency nor after the introduction of new therapeutical methods which prolonged significantly the patients survival.

Are. We proposed an analysis of the complications occurred in the course of the evolution in myeloma patients and their influence in report to the survival.

Materials and Methods. We analyzed a group of 86 patients with MM which were hospitalized in the last years (2000 - 2005) in the Clinic of Hematology Timisoara. The group was composed of 58% male, and 42 female; with a medium age of 65 years (with limits between 42 and 80 years). Most of the patients were diagnosed in stage III of disease (48% in stage IIIA and 32% in stage IIIB).Also, a percent of 65 of the patients presented IgG type multiple myeloma. We









LGC.La diagnostic: leucocitoza importanta 134.000/mm<sup>3</sup>, cu deviere la stanga a formulei leucocitare cu pana la 2% mieloblasti, splenomegalie 18 cm, examen histopatologic M.O.: aspect de LGC faza cronica, examen citogenetic 100% cromozom Ph(+), in metafazele studiate, examen biologie moleculara: bcl abl pozitiv, ratio bcrabl/abl = 1. S-a administrat initial hidree, iar din februarie 2007 Glivec 400 mg/zi. La 6 luni de la tratament cu Glivec pacientul este in remisiune hematologica completa, cu raspuns citogenetic major, cu raspuns molecular foarte bun rotio bcrabl/abl = 0,001.

#### Rezultate si discutii:

De obicei dupa radioterapie si chimioterapie pentru tumori solide sau hemopatii maligne apar leucemii acute sau sindroame mielodisplazice. Sunt foarte rare publicatiile referitoare la aparitia LGC-lui cronic ( de obicei dupa radioterapie ).

Ne punem problema daca sarcomul paratesticular nu a fost defapt un sarcom granulocitar, o tumora extramedulara rara, cu celule granulocitare imature ce poate apare de novo sau in asociere cu dezordni hematologice, cel mai frecvent cu SMD sau LAM dar poate apare inainte, concomitent sau dupa dezvoltarea LGC-ului

### THE APPEARANCE OF LGC AT 3 YEARS AFTER SURGICAL CURE AND CHEMOTHERAPY OF A TESTICULAR FIBROSARCOMA- SINGULAR CASE IN SPECIALITY LITERATURE.

Catana Alina (a), Iancu Daniela (b), Patran Monica (c), Valeanu Valeria (c), Moicean Andreea (d), Teleanu Veronica (d), Olteanu Ariela (e), Draghila Livia (e), Zaharie S.(f), Dobrea Camelia (g), Mihaela Mihai (g) Mihaila R.(a), Deac M.(h), Flucus Ofelia(a) Catana I. F.(i)

a-Compartiment hematologie, Spital Clinic Judetean Sibiu, b- U.M.F. Carol Davila, Bucuresti, c- Sectia Oncologie, Spital Clinic judetean Sibiu, d- Clinica Hematologie Fundeni, Bucuresti, e- Laborator, Spital clinic Judetean Sibiu, f- Anatomopatologie, Spital clinic Judetean Sibiu, g- Anatomopatologie Fundeni, Bucuresti, h- Sectie Clinica Medicala II, Spital clinic Judetean Sibiu, I- Student an VI, M.G, Arad,

#### Introduction

LGC is a chronic myeloproliferative disease, wich represents 15-20% from adult leukemias. Rarely LGC appears after radiotherapy and chemotherapy for other cancers and patients with renal transplant under immunosuppressive treatment of long duration.

#### Case report

We present the case of a 54 y.o. patient, diagnosed in 2003 with paratesticular fibrosarcoma. It was performed unilateral orhiectomy, 6 cures of chemotherapy with cisplatin 90mg/m<sup>2</sup> and farmorubicina 90mg/m<sup>2</sup> after witch the treatment was stopped, the patient being without signs of relapse at following tests. In sept 2006 was diagnosed in the hematology Department Sibiu with LGC. At the diagnostic moment: important leukocytosis, with left deviation of leukocytes formula, with 2% myeloblast, slenomegaly 18 cm. Hysthopathological exam of bone marrow aspect of chronic LGC. Cytogenetic exam 100% chromosome Ph<sup>+</sup> in studied metaphases. Biological molecular exam: bcr abl/abl ratio=1. Initially it was administreted hydree and from February 2007 Glivec 400mg/day. At 6 months from Glivec treatment the patient is in complete hemathologic remission, with major cytogenetic response and very good molecular response ratio bcrabl/abl=0,01.

#### Results and discutssion

Usually after radio and chemotherapy for solid tumours or malignant hemopathies appear acute leukemias or myelodisplasic syndromes. There are very rare the reports regarding the appearance of LGC (usually after radiotherapy). We take into consideration the possibility that paratesticular sarcoma was in fact a granulocytes, witch can appear de novo or in association with a hemathological disorder, most frequently with SMD or LAM. It can appear before in the same time or after the development of LGC.

>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>>

### APARITIA UNUI CAZ DE LGC FAZA CRONICA LA UN COPIL DE 17 ANI, CE LOCUIESTE INTR-O ZONA INTENS POLUATA COPSA MICA, A CAREI SORA IN VARSTA DE 21 ANI A DECEDAT PRIN NEOPLASM OVARIAN. INFLUENTA FACTORILOR DE MEDIU SI GENETICI.

Catana Alina (a), Olteanu Ariela (b), Draghila Livia (b), Mocanu Liliana (b), Zaharie S. (c), Mihaila R. (a), Deac M. (d), Flucus Ofelia (a), Catana I. F. (e)

a-Compartiment hematologie, Spital Clinic Judetean Sibiu, b- Laborator, Spital clinic Judetean Sibiu, c- Anatomopatologie, Spital clinic Judetean Sibiu, d- Sectie Clinica Medicala II, Spital clinic Judetean Sibiu, e- Student an VI, MG, Arad,

#### Introducere:

LGC-ul este o boala clonala ce rezulta din transformarea neoplazica a celulei stem pluripotente. Un studiu efectuat pe cazuri de LGC intre 2000-2004 de SEER ( Surveillance Epidemiology and End Results), Institutul National de Cancer, evidentiaza o varsta medie de aparitie de 66 ani , cu 2,6 % persoane sub 20 ani, 7,3% intre 20-34 ani, 10% intre 35-44 ani, 12,9% intre 45-54 ani, 13,8% intre 55-64 ani, 19,5% intre 65-74 ani, 23,9% intre 75-84 ani, 9,9% peste 85 ani. Mortalitatea sub 20 ani este de 1,2%, cea mai mare mortalitate fiind intre 75-84 ani de 27,1%.

#### Material si metoda:

Prezentam cazul unui pacient de 17 ani care s-a prezentat in serviciul de hematologie cu suspiciunea de leucemie acuta, sindrom dureros abdominal. Pacientul avea starea generala buna, fara hepatosplenomegalie, adenopatie axilara dreapta sub 1 cm, hipertrofie amigdaliana importanta- aspect de amigdalita cronica criptico-cazeoasa. La endoscopia digestiva superioara s-a evidentiat ulcer duodenal cronic, gastroduodenita acuta, esofogita de reflux. Biologic prezenta leucocitoza moderata 28.100/mm<sup>3</sup>, devierea formulei leucocitare pana la promielocit, fara cele doua varfuri caracteristice, 2% bazofile. FAL = 4. Examenul morfologic si histopatologic al M.O. pleda mai mult pentru reactie leucemoida decat pentru LGC. Examenul de biologie moleculara calitativ si cantitativ a evidentiat bclabl major pozitiv cu raport bclabl/abl = 1. S-a stabilit diagnosticul de LGC. S-a inceput tratamentul cu Glivec 400 mg/zi din martie 2007 cu obtinerea remisiuni hematologice complete si a unui raspuns molecular bun, ratio bclabl/abl = 0,005.

#### Rezultate si discutii:

Particularitatea cazului este varsta tanara sub 17 ani, dificultatea stabilirii corecte a diagnosticului in absenta examenului de biologie moleculara datorita criteriilor incomplete clinice, biologice si al examenului morfologic si histopatologic cu atat mai mult cu cat pacientul prezenta predominant criterii de reactie leucemoida secundara infectiei si inflamatiei amigdalene si gastroduodenale.

O alta particularitate a cazului este provenienta pacientului dintr-un mediu toxic- Copsa Mica- (cunoscut pentru cazurile de intoxicatie cu plumb), in zona noastra geografica fiind descoperite si cazuri de sindrom limfoproliferativ cronic, la cei cu intoxicatie cu plumb ceea ce ridica problema implicarii etiologice a acestuia in transformarea clonala a CSP.

Pacientul a avut de asemenea o sora de 17 ani cu cancer de ovar decedata in urma cu 2 ani. Prezenta a 2 neoplazii intr-o familie, la varste tinere aduce in discutie factorul ereditar.

APPEARANCE OF LGC CASE CHRONIC PHASE AT A 17 Y.O. CHILD, WHO LIVES IN A HIGH POLLUTED AREA ( COPSA MICA) WHOSE 21 Y.O. SISTER DIED DUE TO AN OVARIAN CANCER. ENVIROMENT AND GENETIC FACTOR INFLUENCE.

Catana Alina (a), Olteanu Ariela (b), Draghila Livia (b), Mocanu Liliana (b), Zaharie S. (c), Mihaila R. (a), Deac M. (d), Flucus Ofelia (a), Catana I. F. (e)

a-Compartiment hematologie, Spital Clinic Judetean Sibiu, b- Laborator, Spital clinic Judetean Sibiu, c- Anatomopatologie, Spital clinic Judetean Sibiu, d- Sectie Clinica Medicala II, Spital clinic Judetean Sibiu, e- Student an VI, MG, Arad,

#### Introduction

LGC is a clonal disease which appears from neoplastic transformation of pluripotent stem cell. A study on LGC performed between 2000-2004 by SEER revealed mean age of appearance 66 years with cu 2,6 % persons under 20 years, 7,3% - 20-34 y, 10% - 35-44 y, 12,9% - 45-54 y, 13,8% - 55-64 y, 19,5% - 65-74 y, 23,9% - 75-84 y, 9,9% -over 85 ani. The mortality under 20y is 1,2% the greater mortality being between 75 and 84 y (27,1%)

#### Case report

We present the case of a 17 y o patient who presented in the Hemathology Department With the suspicion of acute leukemia and abdominal pain syndrome.

The patient had a good general condition without hepatosplenomegaly, right axillary adenopathy of 1 cm, important tonsillary hypertrophy aspect of chronic caseous tonsillitis. Gastroendoscopy revealed chronic duodenal ulcer, acute gastroduodenitis, reflux esophagitis. Biologic: moderate leukocytosis, deviation of leukocyte formula to promyelocyte, without the two characteristic peaks, 2% bazofiles, FAL 4. Morphological and hystopathological exam of bone marrow





c-Institut Clinic Parhon, Bucuresti, d-Spitalul Clinic de Urgenta Floreasca, Chirurgie Generala, Bucuresti, e-Laborator, Spital clinic Judetean Sibiu f-Anatomopatologie, Spital Clinic Judetean Sibiu, g-Sectie Clinica Medicala II, Spital Clinic Judetean Sibiu, h-student an VI MG, Arad

#### Introducere:

Mielomul multiplu (M.M.) este o tumora maligna de limfocit B.

Asocierea sa cu alte tumori maligne este din ce in ce mai frecventa dar de obicei apare in cursul evolutiei sale dupa tratament cu agenti citostatice, in special melfalanul si ciclofosfamida. Asocierea sa cu feocromocitomul este o raritate. Feocromocitomul este o tumora cu celule cromatofine secretante de epinefrina si norepinefrina care se poate asocia cu hiperparatiroidismul si carcinomul medular tiroidian in cadrul sindromului MEN 2a (neoplazie endocrina multipla). Poate fi malign (malignitatea fiind data de invazia locala directa in tesuturi ce nu au celule cromafine), evolutia este lenta legata de complicatiile HTA: cardiomiopatie catecolica, colaps, ileus functional, stenoza de artera renala. Supravietuirea la 5 ani a feocromocitomului malign este 23-44%.

#### Material si metoda:

Prezentam cazul unei paciente tinere de 49 ani, diagnosticata cu MM Ig G, stadiul III A lambda secretor in decembrie 2005. Prezenta valori crescute a TA pana la 280/130 mmHg si valori crescute ale glicemiei mai ales dupa administrare de cortizon cand a dezvoltat doua episoade de encefalopatie hipertensiva, insuficienta ventriculara stanga si tahiaritmie. Pacienta afirma existenta unei matusi cu tumora suprarenaliana. Toate aceste date au ridicat suspiciunea de feocromocitom, confirmat prin aspectul CT-ului abdominal si acidului vanil mandelic crescut. Pacienta a refuzat interventia chirurgicala astfel ca pentru afectiunea hematologica cure VAD nu s-au mai administrat iar curele VMPC au fost incomplete fara cortizon. Orice incercare de introducere a cortizonului s-a soldat cu puseu de encefalopatie hipertensiva. S-a obtinut doar o scadere a CM cu 25%, iar fluctuatiile TA si valorilor glicemiei au devenit tot mai mari. Existenta unei matusi cu feocromocitom, a nodulilor tiroidieni au ridicat si suspiciunea de MEN 2a. In aprilie 2007 s-a practicat ablatia unei tumori suprarenaliene drepte de 10 cm dura invadanta in peretele posterior si lateral al venei cave inferioare si al unui chist hepatic de 6 cm. Postoperator valorile TA s-au mentinut sub 130/70 mmHg, cu doze reduse de hipotensoare, s-a renuntat la tratamentul cu insulina, apoi la cel cu antidiabetice orale, pacienta avand glicemii sub 100 mg/dl. Valorile catecolaminelor serice au fost normale, VSH, calcemia au fost normale, CM a scazut cu 72%. In prezent se afla intr-o faza de platou, in tratament cu interferon.

#### Concluzii:

Din cunostiintele noastre in literatura de specialitate este descris un singur caz de MM. asociat cu feocromocitomul malign si cu o tumora mielomatoasa maxilara, in 1958.

O alta particularitate a cazului este monitorizarea si tratarea dificila a unei paciente cu valori tensionale foarte mari, la care s-ar fi impus tratament cortizonic la care celula mielomatoasa este sensibila, dar in absenta administrarii lui rezultatele au fost nesatisfacatoare.

Sanctiunea terapeutica a oricarui feocromocitom este chirurgicala. Chimioterapia prin utilizarea melfalanului si ciclofosfamidei a avut foarte probabil efect pozitiv asupra tumorii suprarenaliene. Invazia venei cave inferioare si examenul histopatologic au pledat pentru feocromocitom malign ceea ce aduce in discutie riscul de recidiva postoperator, la aceasta adaugandu-se si incarcatura ereditara. Monitorizarea pacientei este obligatorie pentru ambele afectiuni chiar daca in acest moment ambele sunt in remisiune.

#### THE ASSOCIATION BETWEEN IGG MM STAGE IIIA WITH FEOCHROMOCITOMA- THERAPY CONDUCTION PROBLEMS

Catana Alina(a), Podia Claudia(b), Mihaila R(a), Paun Diana(c), Paun S(d), Gherlan Iuliana(c), Hortopan D(c), Olteanu Ariela(e), Draghila Livia(e), Zaharie Alina(e), Zaharie S(f), Beca Maria(g), Deac M.(g), Flucus Ofelia (a), Solomon Adelaida(g) Catana I. F.(h)

a-Compartiment hematologie, Spital Clinic Judetean Sibiu, b-Policlinica Endocrinologie, Spital Clinic Judetean Sibiu, c-Institut Clinic Parhon, Bucuresti, d-Spitalul Clinic de Urgenta Floreasca, Chirurgie Generala, Bucuresti, e-Laborator, Spital clinic Judetean Sibiu f-Anatomopatologie, Spital Clinic Judetean Sibiu, g-Sectie Clinica Medicala II, Spital Clinic Judetean Sibiu, h-student an VI MG, Arad

#### Introduction

Multiple Myeloma (MM) is a lymphocytes B malignant tumor. Its association with other malignant tumor is more and more frequent but the tumor usually appears after the treatment with cytostatic agents such as cyclophosphamide and melphalan. The association between MM and feocromocitoma is very rare. Feocromocitoma is a chromaffin cell tumor that secretes epinephrine and norepinephrine and it can be associated with hyperparathyroidism and medullary thyroid







## Introducere:

Mielomul multiplu (M.M.) este o afectiune maligna de limfocit B., reprezentand a-2-a malignitate ca frecventa dupa LMNH, 10% din afectiunile maligne, 1% din toate cancererele. Supravietuirea la 5 ani s-a imbunatatit mult in ultimi 5 ani datorita noilor agenti terapeutici.

Alegerea unui agent sau combinatii, depinde de mai multi factori, incluzand varsta, statusul de performanta, factorii de prognostic, stadiul bolii; cei mai multi pacienti cu mielom primesc in cursul bolii lor mai multe linii terapeutice si in general eficacitatea si durata raspunsului diminueaza cu fiecare regim folosit. Tratamentul cu Velcade reprezinta o noua sansa pentru pacienti cu mielom.

## Material si metoda:

Prezentam doua cazuri cu mielom multiplu (52 ani, 53 ani) care au beneficiat de terapia cu Velcade si putem spune ca aceasta a constituit pentru ei o terapie de salvare.

Cazul I: Un pacient diagnosticat in 2004 cu MM micromolecular, stadiul III B, nefropatie mielomatoasa, insuficienta renala cronica stadiul II, cardiostimulare electrica permanenta pentru boala de nod sinusal. S-au administrat cure Alexanian, patologia cardiaca nu a permis cure VAD. In ianuarie 2007 pacientul prezenta boala progresiva cu dureri osoase, osteolize costale, de omoplati, fracturi costale stangi de la coasta 5 la coasta 11. In martie 2007 apar osteolize vertebrale importante C3, C4, tasare si telescopare pe os patologic cu luxatie C2, cu osteoliza C5, C6, L2-L5, pareza plex brahial stang. S-a facut radioterapie cervicala 8 grey, corticoterapie, s-a intervenit neurochirurgical pentru a se preveni tetraplegia ce era iminenta. S-a practicat excizie vertebra C3, grefon osos tricostat din creasta iliaca stanga, placuta cu 3 suruburi. In martie 2007 prezenta dureri osoase, fractura pe os patologic, sindrom anemic (9,5 gr/dl), infiltrare medulara 60% cu celule mielomatoase, sindrom de retentie azotata ( uree=125 mg/dl, creatinina 2,8 mg/dl; clearance la creatinina 18,9 ml/minut, VSH 103 mm/ h) s-au administrat doua cicluri Velcade 1 mg/m<sup>2</sup>, doza ajustata datorita clearanceului renal-- sub care infiltratul medular a scazut sub 3 %, VSH= 20mm/ora, functia renala s-a imbunatatit- uree 43 mg/dl, creatinina 1,6mg/dl, permitand tratament cu Zometa.

Cazul II . Diagnosticat in iunie 2006 cu MM IgG, stadiul III, cu ablatie de corp vertebral (T9), fractura subtrohanteriana femur drept pe os patologic, osteosinteza cu tija metalica Ender , la care s-a obtinut un raspuns partial initial cu scaderea componentului monoclonal cu 65 % dupa care, pacientul a recazut in martie 2007 cand au aparut dureri atroce, osteolize extinse, predominant costale, refractare la antialgice, necesitand administrare continua de Fentanil. Dupa doua cicluri Velcade 1,3 mg/m<sup>2</sup>, componentul monoclonal a scazut cu 84%, durerile osoase au devenit suportabile, fara necesar de antialgice.

## Concluzii:

Optiunile terapeutice la acesti pacienti au fost limitate iar complicatiile osoase foarte grave. Pentru primul pacient transplantul de maduva osoasa nu intra in discutie, insuficienta renala si afectarea cardiaca limita paleta terapeutica. Inceperea concomitenta a tratamentului cu Velcade (2 cicluri obtinute prin donatie de la firma Janssen Cilag), a permis cuplarea celor doi pacienti, care au primit impreuna 3,5 mg (1 flacom / adm), Sansa de utilizare a acestui medicament a fost sansa de supravietuire a acestor pacienti.

THE IMPRESSING EVOLUTION OF TWO CASES OF MM RESISTANT TO CHEMOTHERAPY- CASE1: LUXATION OF THE C2 VERTEBRA, SURGICAL EXCISION OF THE C3 VERTEBRA AND REPLACEMENT WITH A PIECE OF THE ILIAC BONE, LEFT RIB FRACTURES (RIBS IV-XI). CASE2: RIGHT SUBTROHANTERIAN FEMUR FRACTURE AND SURGICAL REMOVAL OF T9- THORACAL VERTEBRA

Catana Alina (a), Boca Liliana (b), Secelean M. (b), Draghila Livia (d), Olteanu Ariela (d), Zaharie Alina (d), Zaharie S.(e), Mihaila R. (a), Deac M. (f), Flucus Ofelia (a), Solomon Adelaida (f) Catana I. F. (g)

a-Compartiment hematologie, Spital Clinic Judetean Sibiu, b-Neurochirurgie, Spital Clinic Judetean Sibiu, c- Neurochirurgie Cluj, d- Laborator, Spital clinic Judetean Sibiu, e- Anatomopatologie, Spital clinic Judetean Sibiu, f- Sectie Clinica Medicala II, Spital clinic Judetean Sibiu, g- Student an VI, M.G., Arad

## Introduction

MM is a malignant B lymphocyte tumora, second in frequency after the LMNH, representing 10% of all malignant conditions; 1% of all cancers. The surviving after 5 years improved very much in the last 5 years due to new therapeutical agents. The choice for one agent or combination depends on many factors including age, performing status, prognostic, degree of disease; most of the patients with MM receive more than one therapy line and generally the effectiveness and the duration of the response diminishes with every line that is used. The treatment with Velcade represents a new chance for the patients with MM





**INTRODUCERE:**

Leucemia cu "celule cu peri", HAIRY CELL LEUKEMIA (HCL) este o forma rara de limfoproliferare cronica a adultului caracterizata prin splenomegalie,pancitopenie frecventa si prezenta de celule mononucleare anormale in sange,maduva osoasa,splina.

Metoda: Studiul a fost efectuat pe un lot de 50 de bolnavi internati in Clinica de Hematologie a Institutului Clinic Fundeni in perioada 1998-2007.

REZULTATE: Din acest lot 14% sunt femei si 86% sunt barbati;clinic 40% au splenomegalie usoara(<5cm) si 32% splenomegalie marcata(>5cm);58% hepatomegalie;26% adenopatii.

DATELE DE LABORATOR au evidentiat:50% Hb<10g/ul;38% trombocitopenie(<50.000/ul) ;68%Leucopenie (<4.000/ul);66%Neutropenie (12%-Ne<1500/ul si 54%Ne<1.000/ul.)Din punct de vedere morfologic tipul de nucleu ovoid~74%,tipul convolut~18% si tipul identat~8%.

Chitochimic: TRAP pozitiv la 98% dintre bolnavi; FAL crescut peste limita superioara a normalului (100 U Kaplow ) la~88% la la 88 % dintre pacienti. Histologic gradul de infiltrare al maduvei osoase a fost variabil:>50%(la 60% dintre pacienti) 20-50%(la 20 -50%(la 16% dintre pacienti);< 20 % (la 24 % dintre pacienti ).

CONCLUZII: Rezultatele pe lotul studiat confirma:

- Boala predomina net la sexul masculin
- Morfologic tipul de nucleu ovoid este predominant colerat cu o durata medie de supravietuire mai mare
- Neutropenia este trasatura hematologica majora a bolii
- Scorul FAL mult crescut(>180 u K)la majoritatea pacientilor
- Izoenzima 5 a fosfatazei acide rezistenta la denaturarea cu acid tartric are specificitate mare
- Biopsia de os-obligatorie pt diagnosticul,clasificarea in functie de aspectul nucleului si monitorizarea bolii.

**CORRELATIONS BETWEEN CLINICAL AND CITO-MORPHOLOGICAL PARTICULARITIES IN "HAIRY CELLS LEUKEMIA"**

Violeta Moraru, Daniela Ostroveanu, Didona Vasilache, Codruta Tatu, Viorica Iacob  
Clinic of Hematology, Fundeni Clinical Institute, Bucharest

Introduction: Hairy celles leukemia is a rare form of cronical limphoproliferation characterized by frequent splenomegaly and frequent pancitopeny and by the presence of abnormal mononuclear cells in the blood, marrow of bone and spleen.

Method: The study have been done on 50 seek people hospitalised to the Clinical Research Institute Fundeni, between 1998-2007.

Result: From this lot of individuals 14% are female and 86% male;clinical 40% suffer from a light form of splenomegalia (<5) and 32% suffer from a severe form of it (.5); 58% hepatomegalia; 26% ADENOPATII.

The laboratory test result show that:50%Hb<10g/dl; 38% thrombocytopenia(<50.000/ul);68%leucopenia(<4000ul) 66% 66 66 66 %neutropenia (12%Ne<1500/ul and 54% Ne<1000/ul.

From the morphological point of view:~74% the ovoid nucleus type,~18% convolucional type,~8% sameness type.

Citochemical: -positiv trap at 98% from the ill persons

-high FAL over the superiour limit of normal (100U. Kaplow) at~88% from the patiens.

Histology: the amount of infiltrarion of marrow was variable:>50%(at 60% from the patiens);20-50%(at 16%);<20% (at 24%)

Conclusions:The results on the studied percentage confirm:

- The illness prevails to the male sex
- Morphologicaly,the type of ovoid nucleus predominates correlated with a longer survival period
- Neutropenia is the major hematological feature of the illness
- The FAL is highly over (180uk) at most patiens
- The bone biopsy-obligatory for the diagnostic,clasification term the aspect of nucleus and the detection of the disease.



## TRANSPLANTULUI DE CELULE STEM HEMATOPOIETICE

A.D. Moicean, T. Puscariu

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

Tehnica de clonare a celulelor progenitoare ale tesutului hematopoietic in vitro in vederea obtinerii unui anumit tip de colonii celulare a fost imaginata in urma cu cativa zeci de ani. S-a observat ca progenitorii hematopoietici introdusi in medii de cultura semisolide (cu suport de agar, metilceluloza sau fibrina) pot genera colonii (clone) granulocitare, monocitare, eritroide, megacariocitare si limfocitare in prezenta unor factori stimulatori specifici (factori de crestere hematopoietici).

In Romania metoda amintita a fost adaptata si aplicata in laboratorul de hematopoeza al Institutului Clinic Fundeni in anul 1980 pentru studiul unor afectiuni hematologice clonale. Din anul 2000 aceasta metoda modificata dupa standardele laboratoarelor de referinta din strainatate, este aplicata si pentru testarea capacitatii functionale a celulelor grefonului conservat prin congelare controlata in azot lichid in vederea transplantarii in Departamentul de Transplant Medular.

Ipoteza de lucru este aceea prin care modelul de crestere a coloniilor de celule hematopoietice in vitro si studiul celulelor formatoare de colonii granulo-monocitare (CFC-GM) si a celulelor formatoare de colonii eritroide (CFC-E si CFC-EB) permite anticiparea refacerii hematopoezei in vivo la pacientul transplantat si atribuirea standardului de calitate grefonului recoltat.

Material si metoda: In perioada 2000-2005 au fost efectuate teste de viabilitate cu albastru de tripan la celulele recoltate in grefoanele a 19 pacienti cu boli maligne hematologice si la 4 donatori sanatosi de celule stem hematopoietice. Celulele din 39 de grefoane au fost pregatite pentru a fi cultivate in mediu semisolid imediat dupa recoltare. Din esantionul recoltat celulele mononucleare au fost separate in gradient de densitate, intr-un amestec ficoll-hypaque cu densitate de 1.077g/ml. Dupa doua spalari succesive celulele au fost resuspendate in mediul de cultura si au fost numarate intr-o camera de numarare (hemocitometru). Dupa calcularea numarului de celule pentru o placuta de cultura, s-au cultivat celulele in monostrat de metilceluloza, in prezenta factorilor de crestere hematopoietici. Culturile au fost incubate 12-14 zile la 37°C in atmosfera de 5%CO<sub>2</sub> si umiditate maxima. Pentru citirea coloniilor aparute s-a folosit un microscop inversat. Aglomerarile de mai mult de 40 de celule s-au considerat colonii, iar acelea formate din mai putin de 40 de celule s-au considerat grupuri (clusters).

Rezultate: In 3 cazuri de grefoane cu numar mic de celule CD34+ numarul de colonii obtinute in vitro a fost foarte bun, intervalul de timp asteptat pana la grefare fiind comparabil cu cel observat la grefoanele cu numar mare de celule recoltate (7-11 zile).

Intr-un caz s-a observat o discrepanta intre numarul crescut de celule CD34+ in grefonul recoltat numarate prin tehnica citometriei in flux si numarul extrem de scazut de colonii in cultura, ceea ce ar putea fi explicat printr-un numar mare de celule in apoptoza recoltate, incapabile de a reface hematopoeza. Numarul de CFC-GM este factor de prognostic de mare fiabilitate pentru capacitatea de refacere a hematopoezei de catre grefonul transplantat

## VALUE OF HEMATOPOIETIC COLONIES IN VITRO ASSAY FOR HEMATOPOIETIC STEM CELLS TRANSPLANTATION PRACTICE.

A.D. Moicean, T. Puscariu

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

Modern treatment of hematologic diseases comprises also stem cell transplantation. The two main goals of this treatment approach are to substitute the defective hematopoiesis (insufficient or neoplastic) and to allow an aggressive treatment which produces a prolonged or definitive myelosuppression in order to eradicate the malignant cell clone.

The main steps of a stem cell transplantation are: obtaining a good graft, preparing the patient for receiving and accepting the transplantation procedure, the stem cell transplantation itself and early and late medical care after transplantation. The graft is a stem cell concentrate obtained frequently from hematogenous bone marrow or from peripheral blood. The outcome of a patient who has undergone a bone marrow transplantation depends critically on the quality of the graft. There were developed different strategies for appreciating the grafts quality. Of these, the most important is to obtain in vitro hematopoiesis cell cultures. In this way, we can evaluate in vitro growth modalities of the graft cells and the potential for in vivo recovering of the hematopoiesis. The growth pattern of the hematopoietic cell colonies in vitro is an important prognostic factor for transplanted patients. The aim of this project is to develop a standardized method to appreciate the growth pattern of the graft.

Material and methods: Between 2000-2005 peripheral stem cells grafts was harvested from 19 patients with malignant hematopoietic diseases and from 4 related donors. Cells from 39 grafts were prepared for cultivating in semi-solid medium just after harvesting. Harvested mononuclear-cells were separated in density gradient ficoll-hypaque mixture,













## COMUNICARI ASISTENTE MEDICALE

### ROLUL PROFESIONAL IN MANAGEMENT AL ASISTENTEI MEDICALE

Doina Mircea  
Eugenia Bontea, Marcela Dumitrescu

Centrul de Hematologie și Transplant Medular “Stefan Berceanu”, Institutul Clinic Fundeni, Bucuresti

Viitorul, nu mai este ceea ce eram obișnuiți să fie.

Unii oameni se dezvoltă prin schimbare, iar alții mai degrabă o evită, dar toți pot beneficia de ea și cu o pregătire adecvată se pot bucura de ea.

Schimbarea este o oportunitate atât pentru succes cât și pentru eșec.

Să ne concentrăm pe alternativa succesului și să-i încurajăm și pe alții să facă la fel.

Scoicilor nu le place prea mult nisipul, dar fac perle minunate din el.

Poti să vrei să faci lucrul potrivit și chiar să dorești să îl faci din motive juste.

Degeaba însă dacă nu aplici principiile corecte.

Dacă lucrând mai mult, mai inteligent și mai repede, nu rezolvăm nimic, atunci care e soluția?

O dată tratat timpul e pierdut definitiv, de aceea trebuie să învățăm să îl folosim cu înțelepciune.

Oamenii care-și ascultă conștiința și trăiesc așa cum le dictează ea, nu au satisfacții iluzorii, nu se gândesc niciodată să acționeze conform oglinzii sociale și nu-și extrag siguranța din faptul că sunt ocupați clipa de clipă. Au un simț aproape sacru al „responsabilității” de a contribui semnificativ și la calitatea vieții altora.

Sunt atâtea lucruri pe care le putem face pentru a le schimba în bine, indiferent de amploarea Sferei noastre de influență.

Sperăm ca fiecare dintre noi va reuși să se concentreze la propria-i conștiință dăruind și în focul său interior, lumina și căldura lumii care îl înconjoară.

### EFECTELE CHIMIOTERAPIEI ASUPRA BOLNAVIILOR DE LEUCEMIE

Mariana Filip

Mariana Marinică, Marcela Toma

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

Curele de chimioterapie sunt însoțite adesea și de efecte secundare neplăcute, care diferă foarte mult de la o persoană la alta, chiar în cadrul aceleiași "combinatii" de medicamente. Nimic nu-ți poate spune cu exactitate care vor fi simptomele și ce amploare vor avea. În marea majoritate a cazurilor, "neplăcerile" cauzate de tratament sunt autolimitate, organismul reușind să se recupereze integral înainte de cura următoare - acesta fiind și scopul distanțării de câteva săptămâni între două cure consecutive.

Pacienții aflați în tratament antineoplazic prezintă cel mai frecvent: oboseala, căderea părului, greață - vomă, pierderea poftei de mâncare, diaree sau constipație, afte bucale, modificarea aspectului pielii, tulburări nervoase periferice, afectarea maduvei osoase hematogene (cea care fabrică celulele sanguine).

Nu trebuie însă ignorate efectele secundare ireversibile ce se instalează insidios ducând la instalarea unor leziuni cardiace (adriamicina), pulmonare (bleomicina, busulfanul), renale (cisplatinul), nervoase (vincristina) etc.

Este posibil ca la distanță de ani de zile să apară un al doilea cancer indus de medicamentele folosite la tratarea primului cancer.

Chiar dacă această listă te poate speria, trebuie să ai foarte clar în minte și beneficiile pe care chimioterapia le poate aduce în viața ta. Vei putea trăi cel puțin zece ani fără probleme!

### ROLUL ASISTENTEI MEDICALE DE HEMATOLOGIE ÎN ASIGURAREA UNUI CLIMAT DE SIGURANȚĂ A PACIENȚILOR

Dorina Tilihoi, Daniela Olăreanu, Ana Măresescu, Laura Oprea  
Spitalul Clinic Județean Sibiu Compartiment Hematologie

“Nu luam cu noi decat binele pe care l-am facut”  
Saint-Lambert

Bolile hematologice, mai ales cele care presupun chimioterapie si spitalizari dese si indelungate nu sunt usor de suportat si de acceptat de catre pacient si au un impact puternic asupra acestuia.

De multe ori preocuparea asistentei este mai degraba centrata asupra sarcinilor de indeplinit decat asupra persoanei bolnave, mai ales in cazul pacientilor in stare grava cu multe tratamente cand asistenta este supraaglomerata.

De aceea pentru a asigura un climat de siguranta a pacientului asistenta trebuie sa fie capabila de disponibilitate, de vointa de a ajuta si de o deschidere fata de altii.

In cursul ingrijirilor asistenta discuta cu pacientul, raspunde la intrebarile sale, il asculta, il incurajeaza si ii comunica acestuia intelegerea sa empatica.

Acest contact cu pacientul este un pretext pentru a realiza relatii de incredere, respect reciproc, ceea ce confera ingrijirilor un caracter uman - o conditie a calitatii actului medical.

#### THE ROLE OF NURSE TO CREATE A SAFE ENVIRONMENT FOR PATIENTS IN HEMATOLOGY SECTION

Dorina Tilihoi, Daniela Olareanu, Ana Maresescu, Laura Oprea  
County Clinical Hospital Sibiu Hematologic Section

“We take with us only the good we've done”  
Saint-Lambert

The hematological diseases, especially those who need chemotherapy with often and long spitalization are not easily accepted by the patient and they have a great impact over him.

Many times the nurse's concern is pointed over the medical tasks rather than the person she has to cure. This fact happens especially when the nurse take care of patients in critical condition because the medical tasks are so many and she is overcrowded.

That's why, in order to create a secure environment for the patient, the nurse must have the disponibility and the desire to help and keep an open-mind towards the others.

In the act of nursing, the nurse talks with the patient, answers to his questions, puts an end to his worries and comfort him. She also emphasizes with him.

This kind of contact is a pretext to realize a trust wordly relationship based on mutual respect which confers a human touch to the act of nursing the condition of a qualified medical act.

#### ACCIDENTE POST TRANSFUZIONALE SI CONDUITA AISITENTEI MEDICALE IN PREVENIREA LOR

Nela Constantin  
Sanda Ristea, Ecaterina Stoica

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

Transfuzia de sange este, in prezent una dintre metodele de tratament cu cele mai grave riscuri.

Pericolul cel mai mare il constituie necunoasterea indicatiilor si limitele acestei metode de tratament.

Personalul medical trebuie sa respecte anumite reguli atat inainte cat si in timpul transfuziei, sa semnaleze imediat medicului eventualele accidente imediate sau tardive ale acesteia, si sa adopte o conduita necesara pentru a putea restabilii starea pacientului sau chiar pentru a-i putea salva viata.

Aceasta lucrare va evidentia cateva din accidentele transfuzionale si conduita necesara adoptata de om pentru solutionarea si nu in ultimul rand evitarea lor.

#### INGRIJIREA PACIENȚILOR CU HEMOFILIE

Lenuța Bratu  
Cornelia Ciocâlțeu, Georgeta Vlad

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

Hemofilia este o boală cunoscută încă din antichitate. Aceasta este o afecțiune congenitală ce se manifestă prin deficitul de factori de coagulare. Cele mai întâlnite forme de hemofilie (hemofilia A și B) au la bază deficitul de factor VIII

















Luminița Moldoveanu  
Doina Diaconiță, Paula Sârbu  
Clinica de Hematologie Inst.Cl.Fundeni Bucuresti

Infecția nozocomială este infecția care se produce în sanul unor colectivități. Apare fie prin contactul cu un bolnav necunoscut aflat în perioada de incubatie, fie prin întâlnirea unor bolnavi cu boli diferite sau prin organizarea defectuoasă a circuitelor.

În hematologie infecțiile reprezintă un factor important care duce la pierderea pacientului.

Strategia antiinfecțioasă în secția de hematologie include obligatoriu:  
controlul mediului, metode de prevenire, metode performante de diagnostic și strategii eficiente de terapie antiinfecțioasă.

Asistenta medicală ocupă un rol cheie în strategia de combatere și prevenire a infecțiilor nozocomiale: educa pacientul privind gesturile de igienă, supraveghează gesturile de autoîngrijire ale pacientului, recoltează probele pentru diagnosticul microbiologic și bacteriologic, respectă ea însăși un protocol foarte riguros de aseptie și antisepsie, sesizează medicul asupra primelor semne de infecție ale pacientului.

# HEMATOLOGIE TRANSFUZIONALĂ

Raport

## ASIGURAREA CALITĂȚII ÎN TRANSFUZIE

I. Culea, F. Vlădăreanu

Institutul Național de Hematologie Transfuzională București, România

Transfuzia sanguină este un domeniu în expansiune care se bazează pe interacția mai multor discipline. Monitorizarea întregului lanț „de la venă la venă” este o condiție pentru a se asigura atât calitatea și siguranța sângelui, componentelor sanguine cât și o terapie sanguină țintită. Legislația europeană: Directiva 2002/98/CE; Directiva 2004/33/CE; Directiva 2005/61/CE; Directiva 2005/62/CE; Ghidul UE-GMP; Directiva 2003/94CE și cea românească: Legea 282/2005; Ordinele Ministerului Sănătății Publice 1214/2006; 1228/2006; 1227/2006; 1226/2006; 1225/2006; 1237/2007; 1193/2007 ajută centrele de transfuzie sanguină să-și introducă un sistem al calității. Beneficiile majore ale acestui sistem sunt: definirea unei politici a calității; stabilirea obiectivelor calității; implicarea unui personal: calificat, instruit și responsabil; existența unui sistem de evaluare a riscurilor și erorilor; un management îmbunătățit al resurselor; o îmbunătățire continuă a calității. Realizarea obiectivelor calității depinde de un sistem de asigurare a calității bine proiectat. Conceptele de bază ale asigurării calității, bunele practici de producție și controlul calității sunt interrelate. Astfel, activitățile de asigurare a calității monitorizează performanța: a) proceselor, oferind informații despre modificările („shifts”) și tendințele („trends”) acestora; b) personalului implicat în diferitele etape ale procesului „de la venă la venă”; c) metodologiei de laborator, pe baza rezultatelor obținute în schemele de control extern al calității.

Raport

## ELEMENTE DE ASIGURARE A CALITĂȚII ÎN IMUNOHEMATOLOGIE

S. Sirian, Fl. Vlădăreanu

Institutul Național de Hematologie Transfuzională București, România

Transfuzia de sânge practică ce interferă cu toate specialitățile, implică, prin problematica sa, multiple riscuri, unul dintre acestea fiind incompatibilitatea eritocitară donator-primitor de sânge. De aceea, pentru a asigura un grad înalt de securitate transfuzională, este necesară implementarea unui program de Asigurare a Calității (QA) în imunoematologie, program care asigură performanțe conform cerințelor standard, care trebuie să se mențină constant la același nivel. Garanția realizării obiectivelor programului QA o constituie respectarea strictă a Procedurilor Operatorii Standard (SOP) privind testările imunoematologice, pentru donatorii și primitorii de sânge, tehnicile, algoritmurile, aparatura, reactivii, înregistrările, de către un personal permanent instruit. În perioada 1998-2006, programele variate de instruire inițială și continuă, testările imunoematologice efectuate conform algoritmurilor stabilite, cu reactivi și aparatură de bună calitate, au determinat creșterea securității transfuzionale. În prezent, această bună experiență va fi transpusă în programul QA de imunoematologie, pentru concordanța cu cerințele CE și ale legislației naționale.

Raport

## VIRUSURI HEPATITICE (HAV, HBV, HCV) ACTUALITĂȚI ȘI POSIBILITĂȚI DE REDUCERE ALE RISCULUI TRANSFUZIONAL

M. Pecec, A. Necula

Institutul Național de Hematologie Transfuzională București

Riscul rezidual de transmitere prin transfuzie al unei infecții virale este determinat pe de o parte de mărimea „ferestrei serologice negative”, care depinde de sensibilitatea testelor de triere și de rapiditatea creșterii și mărimea viremiei, care la rândul lor depind (într-un mod neclarificat încă) de mărimea dozei infectante primite, iar pe de altă parte de incidența infecțiilor în (sub)populația donatorilor. Infecțiile cu HBV sau/și HCV sunt cele mai frecvent întâlnite, atât pe plan local

cât și pe plan european. La 17 și respectiv 12 ani (1990 pentru HBV și 1995 pentru HCV) după introducerea trierii prin EIA, raportul dintre prevalențele sau/și cel dintre valorile riscului rezidual în cele două zone, deși s-a redus, este în continuare de ordinul 102, pe plan local raportul dintre prevalențele HBV și HCV diferind cu un factor de 5-10 în funcție de localitate. Unul din factorii care contribuie la menținerea diferențelor este faptul că pe plan local sensibilitatea testelor de triere, deși mult îmbunătățită față de momentul introducerii EIA, a rămas în urmă față de zona centru-Vest a UE în care s-a trecut în jurul anului 2000 la teste de tip NAT. Mai recent, în zona centru-Vest a UE tinde să se generalizeze suplimentarea trierii pentru HBV prin introducerea anti-HBc (EIA) și anti-HBs (EIA), în efortul de a asigura oarecum detecția VHB „variant” iar ultima și pentru orientarea plasmei recoltate către producerea de imunoglobuline specifice anti-HBs. În cel puțin o locație dintr-o zonă de endemie scăzută (DRK Baden-Wuerttemberg-Kassel) nu s-a putut documenta retrospectiv utilitatea/eficiența anti-HBc folosit alături de NAT în scăderea riscului rezidual. Întrucât situația într-zonă de endemie medie spre ridicată este potențial diferită și în absența unor date reprezentative, o alegere între introducerea directă a unei tehnici de tip NAT și suplimentarea/modernizarea trierii cu tehnici de tip EIA sau a unei combinații NAT+EIA, bazată pe eficiența în reducerea riscului rezidual, presupune un studiu experimental extensiv pe unui număr de donări de ordinul 104.

## Raport

### RETROVIRUSURI (HIV-1/HIV-2, HTLV-I/HTLV-II) ÎN PERIOADA 2000 - 2006: RISCUL TRANSFUZIONAL REZIDUAL

A. Necula, M. Pecec.

Institutul Național de Hematologie Transfuzională, București, România.

Introducere: Riscul rezidual de transmitere prin transfuzie a infecțiilor virale este legat în principal de existența „ferestrei serologice negative” și de incidența infecțiilor în populația țintă pentru selecția donatorilor. Conform EuroHIV (2006), monitorizarea prevalenței infecției HIV în rândul donatorilor de sânge este un instrument vital pentru evaluarea securității sângelui. În acest raport se prezintă bilanțul ultimilor șapte ani de triere pentru (anti-)HIV-1/HIV-2 care au apărut în zonă după 1985 și pentru (anti-) HTLV-I care este endemic. Metode: Trierea curentă se efectuează cu teste EIA combinate Antigen+Anti-HIV-1+2, respectiv de tipul captură-anticorpi, bazate exclusiv pe antigene recombinante, pentru HTLV-I/II. Reactivitățile repetabile sunt confirmate în Western Blot sau/și Line-Immuno-Assay (LIA), respectând criteriile OMS pentru HIV-1/HIV-2, respectiv ale H.E.R.N. pentru HTLV-I/HTLV-II. Prevalențe și incidențele se exprimă la 100.000 de cazuri, respectiv donări. Rezultate: În perioada considerată prevalența medie anti-HIV-1 în donatorii de sânge la prima donare (DSPD) a fost de 25,8 (din care 1,9  $\equiv$  7,3% seroconvertori recent) față de aproximativ 6 în țările vestice ale UE (EuroHIV, 2006). În donările repetate de sânge (DRS) incidența medie a fost de 2,4 la 100000 donări (din care 0,6  $\equiv$  25,5% seroconvertori recent) semnificativ mai mulți [ $p > 0.001$ ] decât la DSPD) față de sub 1 la 100000 în țările vestice ale UE. Numărul DRS potențial infecțioase a fost de 1,2 la 100000 reprezentând 51% din totalul cazurilor detectate în această categorie. Un singur caz de infecție cu HIV-2 a fost identificat în perioada considerată. Prevalențele maxime la DSPD au fost înregistrate în trei centre din zona de sud a țării, Argeș (95), București (84) și Constanța (50), care au cumulat 58% din totalul pozitivilor detectați, colectând 19% din totalul colectei provenite de la DSPD. Prevalența generală a anti-HTLV-I în DSPD a fost de 58 la 100,000 cu maxime locale peste 100 în Sud-Est, zonă în care s-au putut documenta câteva seroconversii la DDRS. Incidența generală în DRS a scăzut de la 118 la 100000 în trim.4 1999 și s-a stabilizat la aproximativ 1 la 100000. 3-16 cazuri de ATL sunt confirmate anual în București (5 în 2006). Concluzii: Față de momentul introducerii trierii specifice, riscul rezidual de transmitere prin transfuzie a HIV-1 și HTLV-I, deși considerabil mai mic, rămâne mult mai ridicat decât în zona de vest a UE. Dat fiind că virusurile par să circule mai rapid între DDRS riscul poate fi diminuat în continuare în primul rând prin îmbunătățirea criteriilor de selecție a donatorilor. Definirea profilului „donatorului seroconvertor” și evaluarea prevalenței infecțiilor în alte grupuri de populație, ca ținte potențiale, ar contribui la adoptarea de criterii îmbunătățite de selecție a donatorilor.

## Comunicare

### TEHNOLOGIA PRIN TESTAREA ACIZILOR NUCLEICI (NAT) FOLOSITĂ ÎN TESTAREA SÂNGELUI TRANSFUZAT. STADIUL IMPLEMENTĂRII METODEI ÎN EUROPA.



Francoise Le Flohic  
Director Regional Ilex Ltd.

Comunicare

#### EPIDEMIOLOGIA INFECȚIILOR CU HIV, HEPATITELE B ȘI C ÎN ROMÂNIA.

A. Streinu Cerceș, D. Oștea  
Institutul „Matei Balș” București

Comunicare

#### IMPACTUL ASUPRA SECURITĂȚII TRANSFUZIONALE A SCREENING-ULUI TESTĂRII ACIZILOR NUCLEICI (NAT) ÎN DONAREA INDIVIDUALĂ. CARACTERIZAREA INFECȚIILOR OCULTE CU HEPATITA B.

Nico Lelie  
Director Științific Chiron Novartis

Comunicare

#### TEHNICI DE EVIDENȚIERE A ANTICORPILOR ANTICERITROCITARI CU SEMNIFICAȚIE CLINICĂ.

S. Sirian, M. Radulian  
Institutul Național de Hematologie Transfuzională București, România

Introducere. Anticorpii antieritrocitari din sistemele OAB, Rh, Kell, Kidd, Duffy, MN, Ss, Lewis, Pp fixatori sau nefixatori de Complement, pot determina reacții hemolitice transfuzionale (RHT) și boală hemolitică a nou-născutului (BHNN). Obiectiv. Utilizarea în laboratorul de imunohematologie a tehnicilor adecvate pentru evidențierea anticorpilor cu semnificație clinică pentru evitarea reacțiilor hemolitice transfuzionale și managementul BHNN. Metode, tehnici, reactivi. Hemaglutinare în fază lichidă și în coloană (DiaMed, ScanGel, Ortho, BioVue) în mediu albuminos, salin, TCI cu ser antiglobulinic polivalent, teste enzimatiche și determinări de subclase IgG. Identificarea anticorpilor cu semnificație clinică conduce la selecție de sânge compatibil cu acești anticorpi. Cazuistică: 8034 primitori de sânge, gravide, nou născuți, donatori de sânge. Rezultate: frecvență aloimunizare : 11,51% din care anticorpi anti-D 32,5 %, anti-D+C 7,3%, anti-Kell 5,4%, anti-E 5,7%, anti-Ce, anti-D+C, anti-D+E 3,17%, urmați de anticorpi anti-JK, anti-Fya, anti-Ss simpli sau combinați 0,3%. Concluzii: Evidențierea corectă a anticorpilor antieritrocitari cu semnificație clinică, urmată de politica transfuzională adecvată, permite evitarea reacțiilor hemolitice transfuzionale și a strategiei eficiente în BHNN.

Comunicare

#### EVOLUTIA REACTIILOR POSTTRANSFUZIONALE PRIN UTILIZAREA PRODUSELOR SANGUINE DELEUCOCITATE SI IN FENOTIP EXTINS Rh-KELL LA PACIENTII POLITRANSFUZATI CU TALASEMIE MAJORA

M.D. Voicu, Fl. Vlădăreanu, S. Sirian, L. Nițu, C.I. Calotă  
Institutul Național de Hematologie Transfuzională București, România

Introducere:  $\beta$ -Talasemia majoră se caracterizează printr-o anemie severă dependentă de transfuzii sanguine pe toată durata vieții. Pentru o dezvoltare corespunzătoare a acestor pacienți s-a introdus regimul de hipertransfuzie cu menținerea hemoglobinei pretransfuzionale la valori peste 9g/dl. Material și metodă: Studiul se referă la cei 100 de pacienți cu talasemie majoră aflați în evidența INHT. Toți acești pacienți efectuează transfuzii cu concentrate eritrocitare deleucocitate, izo Rh și în fenotip Rh(D)-Kell la intervale de 2-6 săptămâni. Rezultate: Necesarul transfuzional

al acestor pacienți este în medie de 25 unități/an ajungându-se chiar și la 40 unități/an. Acest număr mare de transfuzii și frecvența lor la intervale de 2-3 săptămâni a determinat imunizarea acestor pacienți, atât împotriva antigenelor leucocitare cât și împotriva celor eritrocitare, cele mai frecvente reacții posttransfuzionale fiind cele de tip frison-febra, erupții cutanate. Din anul 2000 s-a început transfuzarea acestor pacienți în fenotip extins Rh(D)-Kell, iar din 2004 s-au introdus și concentrate deleucocitate, astfel încât, în prezent, toți acești pacienți cu talasemie majoră sunt transfuzați cu produse fenotipate și deleucocitate, reacțiile posttransfuzionale imediate disparând. Concluzii: Deși fenotiparea și deleucocitarea ridică mult costul unității de sânge transfuzat și, de multe ori există fenotipuri mai greu de găsit, beneficiile folosirii acestor produse pentru pacienții politransfuzati sunt extrem de mari, astfel încât este imperios necesară depunerea tuturor eforturilor pentru menținerea acestor standarde în terapia transfuzională.

Comunicare

#### COMPLIANȚA LA TRATAMENTUL CHELATOR DE FIER (DESFERAL) LA PACIENȚII CU TALASEMIE MAJORĂ AFLAȚI ÎN EVIDENȚA I.N.H.T. ÎN PERIOADA .2000-2006

Fl. Vlădăreanu, M. D. Voicu, L. Nițu, C.I. Calotă  
Institutul Național de Hematologie Transfuzională București, România

Introducere: La pacienții cu  $\beta$ -talasemie majoră care nu primesc chelator de fier, acumularea progresivă a fierului duce la complicații cardiace, hepatice și endocrine. Complanța la tratamentul chelator de fier este definită ca modalitatea în care comportamentul pacienților coincide cu prescripția medicului și anume modul în care acesta aderă la schema de injecții subcutanate prescrise cuprinzând doza de chelator, nr.ore/zi și nr.zile/săptămână. Material și metodă: Studiul cuprinde 100 pacienți cu  $\beta$ -talasemie majoră aflați în evidența INHT în tratament transfuzional și chelator de fier cronic. Monitorizarea încărcării cu fier și eficiența tratamentului chelator de fier a fost realizată prin determinarea periodică (semestrială sau trimestrială) a feritinei serice. Debutul tratamentului chelator a fost la valori ale feritinei serice de aproximativ 1000ng/ml și peste vârsta de 2,5 ani. Tratamentul chelator de fier constă în administrarea subcutanată de Desferal, în perfuzii lente de 8-12 ore, 5-7 zile/săptămână în doze medii de 20-50 mg/kgc în funcție de vârsta pacientului și nivelul feritinei serice. Rezultate: Introducerea Programului Național din 1996 ce asigură accesibilitatea la tratamentul chelator și punerea la dispoziție a dispozitivelor de infuzie și a consumabilelor a dus pentru o scurtă perioadă la o foarte bună complianța la tratament. Totuși, terapia chelatoare este dificilă și împovărătoare, procesul este consumator de timp și se repetă zilnic pe toată durata vieții. Beneficiile se acumulează pe termen lung astfel încât, nici efectele pozitive, nici cele negative ale tratamentului nu sunt resimțite imediat.

Factorii asociați unei proaste complianțe au fost: lipsa conștientizării efectelor secundare ale supraîncărcării cu fier; faptul ca renunțarea la câteva doze nu are consecințe imediate, ci din contră permite o reducere a efectelor secundare locale; tratamentul este consumator de timp restricționând astfel activitățile zilnice; aspectele psihologice; reacții locale la tratament; aspecte materiale legate de costul consumabilelor. Concluzii: O bună complianță la tratamentul chelator asigură o supraviețuire îndelungată, o reducere semnificativa a complicațiilor supraîncărcării cu fier și o calitate bună a vieții.

Este foarte importantă identificarea tuturor aspectelor ce reduc complianța la tratament și conștientizarea pacienților și a familiilor acestora în legătură cu beneficiile tratamentului.

Introducerea cât mai rapidă a tratamentului chelator oral ar îmbunătăți semnificativ aderența la terapia chelatoare.

Comunicare

#### TULBURĂRILE DE CREȘTERE ȘI HIPOGONADISM PREZENTE LA PACIENȚII POLITRANSFUZAȚI CU $\beta$ TALASEMIE MAJORĂ

Fl. Vlădăreanu, M.D. Voicu, L. Nițu, C.I. Calota  
Institutul Național de Hematologie Transfuzională București, România

Introducere. Programul transfuzional în regim de "hipertransfuzie" și o bună complianță la tratamentul chelator de fier au condus o îmbunătățire semnificativă a speranței de viață și a calității vieții pacienților cu talasemie majoră. În ciuda progreselor terapeutice, tulburările de creștere și hipogonadismul hipogonadotrop au rămas cele mai frecvente complicații ale perioadei de adolescență a acestor pacienți. Material și metodă. Studiul se referă la pacienții cu  $\beta$  talasemie majoră, cu vârste peste 12 ani fetele și 13 ani băieții, politransfuzati și în terapie chelatoare de fier (Desferal)

monitorizată prin determinarea periodică a feritinei serice. Rezultate. Principalele cauze implicate în tulburările de creștere și de maturare sexuală sunt hipoxia tisulară cronică și toxicitatea fierului. Un tratament transfuzional corect asigură o creștere normală a copilului talasemic în prima decadă de viață. După această perioadă și în absența tratamentului chelator de fier corect apar tulburări de creștere și de dezvoltare sexuală. Câțiva pacienți din cei urmăriți au prezentat niveluri anormale ale hormonului de creștere. Hipogonadismul hipogonadotrop este cea mai frecventă complicație endocrină la pacienții cu talasemie și o cauză importantă a tulburărilor de creștere. 20% din adolescenți au prezentat deficit staturo-ponderal și la 60% dintre ei s-a identificat hipogonadism. La 45% din pacienții adulți s-a constatat deficit staturo-ponderal și 75% dintre ei au prezentat hipogonadism. Concluzii. Aderarea la regimul de hipertransfuzie și o bună complianță la tratamentul chelator duc la o limitare a complicațiilor endocrine pentru acești pacienți. Există totuși pacienți, care deși au nivele scăzute ale încărcării cu fier, prezintă tulburări de creștere și/sau hipogonadism hipogonadotrop, implicați fiind factori ca: toxicitatea chelatorului, anemia cronică, boli cronice hepatice și variația susceptibilității la încărcarea cu fier.

Comunicare

## ESTIMAREA FRECVENȚEI GRUPELOR DE SÂNGE OAB ȘI Rh PE TERITORIUL MUNICIPIULUI BUCUREȘTI

A. Zăgrean, M. Hoinărescu, D. Vuculescu  
Centrul de Transfuzie Sanguină București, România

În anul 1914 soții Hirszfild au descoperit, pe soldații frontului din Salonic, o diferență în ceea ce privește grupele de sânge, de la o populație la alta. Mc. Arthur și Penrose au estimat frecvența grupelor A, B, O în populația de pe glob la următoarele valori: O=62,3% A=21,5% B=16,2% dar aceste procente diferă mult în funcție de zona geografică, rasă, structura populației. Frecvența grupelor de sânge pe teritoriul României a fost estimată ultima dată, în urmă cu 36 ani, cu ocazia statisticii din 1971. Această estimare se prezenta astfel: O= 32,68% A=43,15% B=16,50% AB=7,65%. Prezenta lucrare are ca scop verificarea în ce măsură datele actuale se încadrează în aceleași estimări procentuale. Statistica a fost realizată la nivelul Municipiului București, urmând să fie extinsă la nivel de țară. A fost luat în studiu un lot de 5000 donatori de sânge prezentați la CTSMB într-un interval de 72 de zile. Rezultatele au fost următoarele: O=34,30% A=40,86% B=16,86% AB=7,98%. În privința sistemului Rh, procentul de negativi în populație este de 11,7% iar corelat cu sistemul ABO se prezintă astfel: pentru Grup O 4,28%, A 4,82%, B 1,66%, AB 0,94%. Studiul cuprinde și o evaluare a repartiției sistemelor ABO și Rh pe sexe cât și frecvența antigenului D=0,54% în lot. În urma acestui studiu s-a observat că frecvența grupelor sanguine, pentru Municipiul București, nu diferă semnificativ de cea din 1971. În concluzie, nu au intervenit schimbări majore în structura populației în ultimii 36 de ani. Pentru o evaluare la nivel de țară se impune extinderea studiului pe un lot mai mare de donatori, din diverse centre urbane ale României.

Comunicare

## IMPLEMENTAREA SISTEMULUI DE MANAGEMENT AL CALITĂȚII ÎN CTSMB

M. Hoinărescu, E. Negoită  
Centrul de Transfuzie Sanguină al Municipiului București, România

Introducere : Urmare a Directivei 2002/98/CE prin articolul 11 se impune un sistem de management al calității în toate centrele de transfuzie, inclusiv în România. Evaluarea situației din Centrul de Transfuzie Sanguină al Municipiului București (C.T.S.M.B.) s-a făcut în comparație cu Centrul de Transfuzie Johannes Gutenberg din Mainz, Germania (CT Mainz). Material și metodă: S-a pornit de la documentația elaborată privind implementarea sistemului de management al calității în CTSMB, materialul prezentat de directorul Centrului de Transfuzie Johannes Gutenberg din Mainz Germania dr. Walter Hitzler, materialele prezentate de personalul medical în vizita de studiu în acest centru, documentația privind aparatura, reactivii, metodele de lucru și situația statistică 2006 în ce privește numărul de donatori și de componente sanguine obținute în acest an în CTSMB. Evaluarea CTSMB față de CT Mainz s-a făcut în ceea ce privește circuitul donatorilor, dotarea laboratoarelor cu aparatură și reactivi, testele obligatorii, componentele sanguine și metoda de obținere, recompensarea donatorilor. Rezultate, concluzii: În urma evaluării CTSMB în comparație cu CT Mainz a rezultat necesitatea implementării cât mai rapide a unui sistem de management al calității în CTSMB, pentru creșterea securității în transfuzie și îmbunătățirea continuă a calității produselor transfuzionale. Putem considera că

activitatea CTSMB se desfășoară la un nivel apropiat de cel al unui centru de transfuzie din Germania, în condițiile în care nu beneficiază de aceleași mijloace financiare.

Comunicare

#### STUDIUL COMPARATIV PRIVIND TIPURILE DE GERMI IDENTIFICAȚI ÎN ULTIMII ANI ÎN PRODUSELE SANGUINE LABILE TESTATE DIN ROMANIA FAȚĂ DE DATELE RAPORTATE PE PLAN INTERNAȚIONAL

O. Coban<sup>1</sup>, M. Dobreanu<sup>1</sup>, T. Lazăr<sup>2</sup>

1) Institutul Național de Hematologie Transfuzională București, România

2) Facultatea de Biologie București, România

Ca urmare a experienței din ultimii ani a laboratorului de control bacteriologic, în identificarea germeilor contaminanți ai produselor sanguine labile (PSL), se remarcă o diferență semnificativă între tipurile de germeni raportați pe plan internațional și cei identificați în România. Principalii germeni care contaminatează produsele de sânge raportați pe plan internațional sunt: *Yersinia enterocolitica*, *Klebsiella* sp, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas* sp, *Flavobacterium* Sp, *Campilobacter jejuni*, etc. În România s-au identificat următoarele tipuri de germeni contaminanți: *Staph. aureus* coag.+, *Eubacterium* sp, *Propionibacterium acnes*, *Staph. hominis*, *Bacillus cereus*, *Clostridium* sp, *Bacillus* sp, *Listeria monocytogenes*, *Chryseomonas luteola*, *Erysipelotrix rhusiopathiae*, etc. Cauzele acestor diferențe s-ar putea rezuma astfel: pentru identificarea microorganismelor psicrofile (*Yersinia enterocolitica*, ș.a.), care cresc lent la 4°C, este necesar controlul bacteriologic al produselor de sânge după 25-30 de zile sau la expirare, ceea ce nu este încă o practică curentă în România. În timp ce pe plan internațional sunt raportate contaminări cu germeni cu rezistență crescută la factorii fizico-chimici utilizați la dezinfecția locului venopuncției și foarte bine adaptați multiplicării în diverse medii derivate din sânge (*Yersinia enterocolitica*, *Serratia* ssp, *Pseudomonas* ssp), în România germeni identificați aparțin florei mezofile și care se caracterizează printr-o mare varietate, inclusiv sporogeni, precum și germeni sensibili la factori fizici: *Staphilococcus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Chryseomonas*, *Erysipelotrix*, *Listeria*, *Propionibacterium*. O posibilă explicație ar fi lipsa unui sistem de monitorizare permanentă a procedurii de venopuncție la donatori în condiții de asepsie în România.

Comunicare

#### ETAPELE PE CARE LE PARCURE COMPARTIMENTUL DE CONTROL DE CALITATE ÎN CENTRUL DE TRANSFUZIE SANGUINĂ BRĂȘOV ÎN VEDEREA VALIDĂRII BIOLOGICE A HEMOCOMPONENTELOR

L.A. Munteanu,

M. Foca, L. Florea

Centrul de Transfuzie Sanguină Brașov, România

Introducere. Controlul de calitate hematologic și bacteriologic al produselor sanguine labile (PSL), împreună cu celelalte teste de calificare a donării, reprezintă principalele instrumente care asigură securitatea și calitatea sângelui total și a componentelor sanguine. Scopul acestui control este confirmarea faptului că PSL obținute și distribuite de către CTS îndeplinesc parametrii hematologici și microbiologici specificați în normativele naționale și internaționale. Material și metodă. Pentru controlul hematologic se controlează 1% din fiecare tip de produs sanguin pe lună, prin metoda nedistructivă, pentru valorile hemoglobinei (Hb), hematocritului (Ht), numărul de leucocite și trombocite prin folosirea metodei clasice de numărare cu camera Burker-Turk. Pentru controlul bacteriologic se utilizează pungile satelite BACTIVAM, unitățile de sânge validate și expirate (mai ales concentrate trombocitare) și unități rebutate (negative pentru markerii virali), care se însămânțează pe medii de hemocultură Bio-Merieux HEMOLINE PERFORMANCE DIPHASIQUE pentru izolarea bacteriilor aerobe și HEMOLINE PERFORMANCE ANAEROBIE pentru izolarea bacteriilor anaerobe. Flacoanele se incubează la termostat la 37°C, citindu-se rezultatele la 48h și la 14 zile. Rezultate. În cursul anului 2006 în vederea controlului hematologic s-au testat 293 unități PSL: 43 sânge total, 106 concentrate eritrocitare, 44 plasmă proaspătă și 100 concentrate trombocitare. Toate plasmă testate s-au încadrat în standardele cerute. Din unitățile de sânge total doar una nu a corespuns din punctul de vedere al nivelului de Hb/unitate (minim 45g/unitate). 9 concentrate trombocitare nu au corespuns din punctul de vedere al numărului total de trombocite/unitate, situându-se sub standardul de  $0,5 \times 10^{11}$  trombocite/unitate. 45 de concentrate eritrocitare au fost neconforme din punctul de vedere al nivelului de Hb/unitate. În cadrul controlului bacteriologic, în cursul anului 2006

s-au testat 339 unități PSL. Probele au fost urmărite zilnic, cu citire la 48h și citire finală la 14 zile. Din totalul probelor testate, s-a înregistrat o probabilă creștere bacteriană la 22 de probe. Nu s-au înregistrat rezultate pozitive la 48h. La 14 zile au apărut pozitive 16 probe pe mediu pentru germeni aerobi și 6 probe pentru germeni anaerobi. Nici unul din concentratele trombocitare testate nu a apărut contaminat bacterian (deși sunt cele mai supuse riscului iar unele dintre ele au fost însămânțate după termenul de expirare). Toate unitățile de sânge total au rămas negative. O singură unitate de plasma a apărut pozitivă la 14 zile, datorită tulburării bulionului aerob. Restul probelor pozitive au fost concentrate eritrocitare : 2 au prezentat colonii bacteriene crescute pe agarul de pe peretele flaconului, 1 a prezentat hemoliză, restul au determinat tulburarea mediului aerob. 2 probe au apărut pozitive pe ambele flacoane de hemocultură, datorită tulburării mediilor, sugerând contaminarea accidentală la însămânțare. Concluzii. Devierea de la standardele hematologice nu a fost atât de semnificativă în nici unul din cazuri pentru a necesita invalidarea produsului din această cauză. Unitățile PSL pozitive la controlul bacteriologic au fost retrase din circuit, unele fiind oricum rebutate anterior însămânțării.

Comunicare

## STUDIUL FRECVENȚEI ANTIGENELOR HLA IN POPULAȚIA DE DONATORI POTENȚIALI DE MĂDUVA OSOASĂ IN VEDEREA ALCĂTUIRII REGISTRULUI NAȚIONAL (STUDIUL PRELIMINAR)

D.Ilinca, M. Duțescu, A. Bardan, R. Tranulis, L. Ulea, R. Caisân  
Institutul Național de Hematologie Transfuzională București, România.

Distribuția antigenelor HLA în Registrul Național este un parametru important în dezvoltarea acestuia. Acest parametru este în strânsă legătură cu frecvența antigenelor HLA în populația locală. Autorii au studiat frecvența antigenelor HLA la un număr de 595 persoane neînrudite, 95% caucazieni, 5 % populație cu alte origini etnice. Antigenele au fost determinate în anul 2006 prin tehnica serologică CDC pentru locusurile ABDRDQ (550 persoane) și SSP (45 persoane) în 2007. Antigenele cel mai frecvent întâlnite au fost HLA- A2 (48,9%), A1 (26,7%), A24 (20,3%), A11 (15%), B35 (30,4%), B51 (20,8%), B18 (20%), B44 (13,6%), B60 (12,9%). Frecvența din populația noastră a fost comparată cu date din literatura de specialitate pentru populația caucaziană. Antigenul HLA B27 întâlnit la 90% din persoanele cu afecțiuni reumatismale (spondilita anchilozantă, sindrom Reiter, boala Crohn, uveită anterioară acută), a avut o frecvență de 8,5 % în lotul studiat, asemănătoare cu frecvența citată în literatură pentru populația caucaziană. Antigenele HLA- A34, A66, B46, B53, B58, B63 au fost găsite cu o frecvență sub 1%. Cu frecvență sub 5 % au fost antigenele HLAA28, A29, A33, A31, A30, B37, B47, B61, B45, B49, B50. Antigenele DR cu frecvență crescută au fost DR11 (37,8%), DR15 (24,5%), DR17 (19,8%), DR1 (15,6%), DR7 (15,2%), DR13 (14,6%), DR14 (8,9%). Cu frecvență sub 5% sunt: DR12, DR10, DR8, iar pentru DR18 și DR9 frecvența a fost sub 1%. Datele pentru DQ sunt asemănătoare cu cele din literatură. Frecvența cea mai mare o are DQ1 (30,5%), DQ7 (28,6%), DQ2 (15,4%) și DQ4 (1,6%). DQ8 și DQ9 au frecvențe sub 1%. Datele actuale privind frecvența antigenelor HLA în populație sunt în concordanță cu rezultatele testării a 182 de bolnavi în așteptarea unui transplant de măduvă osoasă (MO) și a 476 de persoane înrudite, efectuate în anul 2006, în care am găsit 57 de donatori compatibili (29 %). Pentru restul de 70 % din bolnavi, care nu au donator în familie, registrele de donatori voluntari rămân unica speranță. Pentru pacienții cu fenotipuri rare găsirea unui donator compatibil rămâne o problemă atât în familie cât și în Registrul Național de donatori. Creșterea numărului de donatori voluntari de MO reprezintă unica șansă de compatibilitate pentru cei cu antigene rare.

Comunicare

## RECRUTAREA DE DONATORI VOLUNTARI NEINRUDITI DE MADUVA OSOASA PENTRU REGISTRUL NATIONAL. SONDAJ DE OPINIE.

I.M.Duțescu1, R.Caisân1, L.Ulea1, A.Bardan1, R.Tranulis1, D.Ilinca1, Fl.Vlădăreanu1, M.Hoinărescu2, D.Goșa2, M.Popa2, A.Cârstea2, D.Ureche3, D.Florea4, L.Florea5, D.Ilcenco6, M.Iugulescu7, D.Crișan8  
1) Institutul Național de Hematologie Transfuzională - București; 2) CTSMB; 3) CTS Sibiu; 4) CRTS Tg.Mures; 5) CTS Brașov; 6) CRTS Iași; 7) CTS Brăila; 8) CTS Maramureș

Introducere: Transplantarea de celule stem reprezintă un procedeu terapeutic relativ răspândit la ora actuală, fiind folosit cu succes în tratarea multor boli maligne. Pentru pacienții eligibili este singura metodă cu potențial de vindecare.

Transplantul constituie de fapt procedura de susținere și reanimare hematologică pentru refacerea hematopoiezei pe baza celulelor stem din grefon după chimio- și radioterapie mieloablative. Găsirea unui donator cu o buna compatibilitate HLA este una din condițiile esențiale pentru reușita unei grefe de măduvă. Prima căutare începe în familie, dar numai 25% din pacienți beneficiază de un astfel de donator, pentru restul fiind nevoie de găsirea unui donator neînrudit. Realizarea de alogrefe de la donator neînrudit necesită existența unui Registru de Donori Voluntari Neînruditi. Un astfel de registru presupune o activitate complexă, obiectivul principal fiind atragerea donatorilor. Acestora trebuie să li se explice că donarea de celule stem nu este periculoasă, fiind asemănătoare din multe puncte de vedere cu donarea de sânge. De asemenea este gratuită, confidențială și voluntară, se efectuează numai cu consimțământ scris. Material și metodă : In studiul de față ne-am propus să realizăm o primă evaluare a gradului de disponibilitate pentru a dona măduvă osoasă, cu scopul de a identifica atât posibilele motivații în favoarea donării cât și cele mai frecvente bariere pentru a deveni donator. Studiul a fost realizat pe un grup țintă omogen, reprezentat de donatori de sânge din 7 centre de donare din București și din țară. Au fost introduși în studiu subiecți cu vârste cuprinse între 20 și 49 ani eligibili pentru alcătuirea unui astfel de registru. Sondajul s-a realizat sub forma unui chestionar anonim completat cu ocazia donării de sânge. Răspunsurile au fost analizate pe subgrupe și anume : sex , nivel de instruire, mediul de viață. Rezultate și concluzii : Sondajul a scos în evidență faptul că, deși majoritatea subiecților au auzit de donarea de măduvă (70% din donatorii cu studii medii și 86,8% din donatorii cu studii superioare), o mare parte din aceștia recunosc că nu știu ce reprezintă acest procedeu (67,2% din donorii cu studii medii și 43,5% din cei cu studii superioare). In ceea ce privește interesul acordat acestui subiect, răspunsul a fost DA în cazul a 73,5% și respectiv 78,8% din subiecții interogați. La întrebarea directă privind acordul pentru donarea voluntară și anonimă de măduvă, aprox. 20% au răspuns negativ, 27% au răspuns ferm pozitiv și 53% au solicitat lămuriri suplimentare pentru a putea răspunde la această întrebare. Studiul arată clar faptul că unul din principalele obstacole în activitatea de constituire a unui registru de donatori de măduvă îl constituie lipsa de informare. Este nevoie de o acțiune susținută de informare folosind mijloace scrise, video ș.a., prin care să se explice clar pentru ce este necesar acest registru, cine se poate înscrie pentru donare, când se donează, cum și unde se poate face înscrierea, cum se desfășoară selecția unui donator, etapele donării, cum se face prelevarea, care sunt obligațiile donatorului , care sunt rezultatele transplantului. Statisticile arată că numărul maxim de combinații HLA este estimat la  $11.4 \times 10^{18}$  iar în cadrul unui singur grup etnic numărul de combinații HLA este estimat la  $2,6 \times 10^6$ . Se estimează că un registru de donatori, pentru a fi eficient, are nevoie de cel puțin 200 000 persoane înscrise pentru a putea asigura găsirea unui donator compatibil pentru 85% din pacienții cu antigene relativ frecvente.

Comunicare

#### CREȘTEREA MOTIVAȚIEI PENTRU FIDELIZAREA DONATORILOR . CERCETAREA A 700 DONATORI DE SÂNGE DIN DOUĂ CENTRE DE TRANSFUZIE SANGUINĂ DIN ȚARĂ.

A. Bugner<sup>1</sup>, L. Burta<sup>2</sup>, A.M. Dobrotă<sup>3</sup>

- 1) Institutul Național de Hematologie Transfuzională București
- 2) Centrul de Transfuzie Sanguină Arad
- 3) Centrul de Transfuzie Sanguină - Constanța

S-a alcătuit și s-a aplicat un chestionar de 15 întrebări unor donatori care aveau minimum 3 donări sau mai mult de 3 donări. Numărul subiecților pe care s-a aplicat chestionarul a fost de 700. Chestionarul urmărea în principal, să discearnă mecanismul prin care un donator devine donator neremunerat, motivele fidelizării și motivele renunțării la donare. Cele mai importante concluzii ale chestionarului au fost: a) In procesul recrutării de donatori, cei mai importanți recrutori sunt chiar înșiși donatorii de sânge, ceea ce ne conduce la ideea realizării unor seminarii pentru donatori, seminarii care au fost un succes în țările europene. b) Condițiile de donare sunt considerate de asemenea foarte importante, ca și întregul traseu parcurs de donator. Foarte importantă este relația personal - donator, ceea ce conduce la ideea necesității susținerii unor cursuri pentru personalul implicat în donarea de sânge.

Comunicare

#### INCIDENTA ALOIMUNIZĂRII PRIN SARCINA ȘI DIAGNOSTICULEI

D. P. Florea

Boala hemolitică a noului născut este încă o cauză frecventă de morbiditate și mortalitate perinatală chiar dacă incidența ei a scăzut în ultimii ani prin efectuarea imunoprofilaxiei cu imunoglobulina anti D, la gravidele Rh (D) negativ care au născut un copil Rh pozitiv. În România pe primul plan în ceea ce privește specificul anticorpilor responsabili de boala hemolitică neonatală este antigenul Rh(D). Motivul principal pentru persistența acestei configurații etiologice este incompleta protecție conferită de administrarea imunoglobulinei anti- D. Scopul studiului nostru este acela de a arăta importanța testelor de depistare a aloanticorpilor antieritrocitari materni în cursul sarcinii precum și prevalența cazurilor de izoimunizare la gravidele Rh D negativ monitorizate în laboratorul nostru. Perioada de studiu a fost martie 2006 aprilie 2007, pacienții gravide Rh negativ și nou născuți proveniți din mame imunizate. Protocolul de lucru a cuprins: 1.Determinarea grupei sanguine A,B,O, Rh. 2.Determinarea fenotipului Rh Kell. 3.Determinarea Rh D slab prin testul Coombs indirect. 4. Depistarea anticorpilor iregulari antieritrocitari în serul pacientei. 5. Identificarea anticorpilor iregulari antieritrocitari în cazurile cu depistare pozitivă. 6. Evaluarea cantitativă a anticorpilor prin titrare.7.Determinarea grupului A B O , Rh , testul Coombs direct la nou născut din sângele de cordon. În intervalul studiat s-au efectuat 1636 determinări la 545 gravide Rh negative. Depistarea a fost pozitivă în 27 de cazuri ( 4,9 %) din totalul gravidelor testate. În privința specificității anticorpilor am găsit : 74 % cazuri cu anticorpi anti Rh (D), 11 % cazuri cu anticorpi anti Kell, 7,5% cazuri cu anticorpi anti Lewis, 7,5 % cazuri cu anticorpi nespecifici. Din analiza datelor prezentate se constata ca cea mai mare parte a cazurilor de aloimunizare se datorează antigenului Rh (D), în timp ce în țările în care imunoprofilaxia anti D se practica riguros de foarte mulți ani procentul aloimunizării anti (D) 1 2 % din cazuri. Credem ca situația din România poate fi îmbunătățită prin : a)implicarea serioasă a Ministerului Sănătății în elaborarea regulamentelor și normelor privind diagnosticul și tratamentul Bolii Hemolitice a Noului născut; b)efectuarea corectă a imunoprofilaxiei anti D urmată de monitorizarea eficienței profilaxiei; c)practicarea de rutină a unui test de evaluare a hemoragiei fetο-materne.

Comunicare

#### EVALUAREA HEMORAGIEI FETO-MATERNE PRIN ELUTIA ACIDA

D. P. Florea

Centrul Regional de Transfuzie Sanguină Tg-Mureș, România

Introducere. Mecanismul etiologic cheie în cazul aloimunizării prin sarcina este transferul transplacentar al eritrocitelor fetale în circulația maternă sau hemoragia fetο-maternă. Determinarea volumului de eritrocite fetale este un element de bază al monitorizării și profilaxiei corecte a bolii hemolitice a noului născut . În România aceasta evaluare nu se efectuează în nici o instituție de profil. Unul din cele mai utilizate teste screening pentru aprecierea hemoragiei fetο-materne este testul Kleihauer bazat pe rezistența hemoglobinei fetale la eluția acidă ; acest test se practică de foarte mulți ani în toate țările în care există prevederi legale în domeniul profilaxiei bolii hemolitice a noului născut. Scopul lucrării este de a prezenta protocolul de validare al metodei alese de noi (în literatura de specialitate există mai multe variante pentru acest test). Material și metodă. Validarea metodei s-a efectuat în mai multe etape : 1. Stabilirea caracteristicilor necesare pentru reactivii utilizați, calibrarea echipamentelor (microscop, centrifugă) ; 2. Elaborarea S.O.P.- ului (Procedura de operare standard) , pe baza Bunelor practici de laborator , Standardelor de calitate și recomandărilor internaționale. 3. Instruirea urmată de evaluarea personalului din laborator pentru executarea operațiunilor. 4. Realizarea a patru serii de control : a)control negativ; b)control slab pozitiv 0,2% ; c)control slab pozitiv 0,3% ;d)control intens pozitiv 1%. 5. Realizarea a mai multor probe din eșantioane de cercetat provenind de la gravide Rh negativ. 6. Analiza și compararea datelor rezultate din interpretările celor 5 serii de teste. Protocolul de lucru pentru validarea metodei a fost întocmit, aprobat și pus în practică în perioada mai noiembrie 2006. După efectuarea unui mare număr de testări s-au găsit rezultate concordante în ceea ce privește aspectul frotiului colorat ca și a proporției de hematii fetale găsite cu ocazia aplicării formulei de calcul. Concluzii: este că această metodă este un test simplu care necesită echipament de laborator obișnuit și datorită faptului că nu implică costuri deosebite poate fi utilizată cu succes în orice laborator spitalicesc ca metodă screening pentru evaluarea hemoragiei fetο-materne.

Comunicare

## ALOIMUNIZAREA ANTIERITROCITARĂ ÎN ANEMIA HEMOLITICĂ AUTOIMUNĂ

M. Radulian, S. Sirian

Institutul Național de Hematologie Transfuzională București, România.

Scopul lucrării: estimarea eficacității tehnicilor imuno-hematologice utilizate la bolnavii cu Anemie hemolitică autoimună (AHAI) și identificarea allo-anticorpilor în vederea asigurării securității transfuzionale a acestora. Material și metodă: Lotul investigat 411 pacienți cu diagnosticul de anemie hemolitică autoimună idiopatică sau secundară unei hemopatii maligne. Metode: fenotipaj OAB-Rh-Kell, test antiglobulinic direct (TCD) efectuat cu seruri antiglobulinice poli și monospecifice, determinări subclase IgG, screening și identificare de anticorpi prin metodele standard pe seruri nediluate și seruri diluate 1/5 în ser fiziologic, testul de eluție, teste de auto-absorbție și absorbții diferențiale. Rezultate: TCD pozitiv în toate cazurile (>2) a fost de tip IgG (224 cazuri), C3d (81cazuri), IgG+C3d (89 cazuri), IgG+C3d+IgA(12 cazuri) sau IgG+IgA+IgM (5 cazuri). În 73 seruri nu s-a depistat prezența nici unui anticorp prin nici una din tehnicile utilizate. În 223 seruri s-a identificat numai prezența de autoanticorpi. În 97 seruri s-au identificat atât auto- cât și allo anticorpi prin screening de anticorpi efectuat pe seruri diluate 1/5 în SF (52 seruri), prin metoda auto-absorbției (20 seruri) sau prin metoda absorbțiilor diferențiale (25 seruri). 18 seruri conțineau numai allo-anticorpi, detectați prin tehnici standard. Autoanticorpii erau anticorpi de tip „la cald” (257 cazuri) anti-e, anti-ce, anti-D, anti-Ce, anti-nl, anti-K) și de tip „la rece” 63 cazuri anti-H, anti-HI, anti-I). Allo-anticorpii depistați aveau specificitate Rh(43 cazuri) sau în alte sisteme eritrocitare : Duffy, Kidd, Kell, Lewis, MnSs ( 40 cazuri). În 32 cazuri nu s-a putut stabili specificitatea allo-anticorpilor. Pentru evaluarea riscului de hemoliză produsă de autoanticorpi, s-au determinat subclasele IgG prin Testul Coombs Indirect (TCI). Concluzii: Investigarea serurilor pacienților cu AHAI trebuie efectuată în laboratoare cu înaltă specializare, capabile de a utiliza pe lângă tehnicile uzuale și tehnici speciale pentru identificarea allo-anticorpilor mascați de auto-anticorpi, în vederea asigurării securității transfuzionale a acestor bolnavi.

Comunicare

## ANEMIE HEMOLITICĂ IMUNĂ INDUSĂ MEDICAMENTOS PREZENTARE DE CAZ

C Posea<sup>1</sup>, A Ursachi<sup>1</sup>, A M Vladareanu<sup>2</sup>, I G Voican<sup>1</sup>, H Muresianu<sup>1</sup>

- 1) Spitalul Universitar de Urgență București, România
- 2) Institutul Național de Hematologie Transfuzională-București, Romania

Cefalosporinele se asociază frecvent cu pozitivarea testului Coombs direct dar rareori duc la anemie hemolitică de tip imun. Prezentăm un caz de hemoliză imună severă după administrarea intravenoasă a sulperazonei în doză de 2g/zi timp de 14 zile. Pentru evidențierea anticorpilor antimedicament investigarea imunohematologică s-a făcut cu eritrocite test tratate cu cefoperazona și cu eritrocite netratate, dar în prezența antibioticului în mediul de reacție. În serul pacientei au fost identificați atât anticorpi care reacționau cu eritrocitele tratate cu medicament (mecanismul adsorbției) cât și cu eritrocite netratate, dar în prezența drogului (mecanism de tip “complexe imune”). Întreruperea medicamentului a oprit procesul hemolitic și a prevenit instalarea insuficienței renale. Acest caz subliniază importanța monitorizării pacienților tratați cu cefalosporine pentru recunoașterea hemolizelor imune postmedicamentoase și pentru prevenirea sechelelor produse de acestea.

Comunicare

Cercetarea variabilelor de D parțial, la donatori, cu ajutorul cartelelor DiaMed ID Partial RhD-Typing Kit

L.Florea, M.Stoian

Centrul de Transfuzie Sanguină- Brașov, România

Introducere: Antigenul D din sistemul Rh, este considerat acum un mozaic de epitopi (30 de epitopi, dar, pentru scopuri practice, relevanța clinică, au doar 9 tipuri). Părțile absente ale mozaicului D de pe celulele individului pot, atunci când sunt expuse la un antigen D complet, să stimuleze producerea de anticorpi față de epitopii care lipsesc. Variantele D parțial au lipsă unul sau mai mulți epitopi față de RhD normal, situsurile antigenelor pot fi prezente în număr redus sau normal pe celulă. Anticorpii anti-D parțial au fost semnalati la pacienții cu categoria DVI care este cea mai importantă categorie de antigen D parțial cu importanță clinică. Această categorie a fost adesea clasificată drept D slab (Du) și



transfuzat cu componente sanguine Rh negative. Este bine de știut că 6% dintre "Du" testate au fost DVI. Material și metoda: Reactivii folosiți sunt cartelele DiaMed-ID "Partial Rh-Typing" cu 6 microtuburi care conțin antiglobulina umana polispecifică (anticorpi de iepure anti-IgG și anti-D monoclonal) incluse în gel. Kitul de grupaj ID-partial RhD-Typing cuprinde 6 seruri anti-D monoclonal care pot diferenția categoriile D parțial: II, IV, V, VI, VII, DFR, DBT, și RoHar. Începând cu 23.05.2007 am introdus testările pentru RhD parțial acestea efectuându-se conform procedurilor standard de operare atât pentru donatori cât și pentru gravide. S-au testat conform algoritmului de lucru 1811 donatori și 91 gravide. Rezultate: Din cei 252 donatori RhD negativi testați conform procedurilor standard de operare, 3 donatori au fost identificați ca fiind cu D parțial, respectiv DIII. În literatura de specialitate, la această categorie nu s-a observat imunizarea, având structura antigenică cea mai apropiată de antigenul D complet; acești donatori sunt înregistrați ca RhD pozitiv. Concluzii: Pentru evitarea unor conflicte transfuzionale datorită imunogenității antigenului D, este importantă cercetarea variabilelor de D parțial la donatori pentru identificarea variabilei DVI.

Comunicare:

## INCIDENȚA IZOIMUNIZĂRII LA GRAVIDE

E. Savuly, C. Roșu, M. Stoian, L. Florea  
Centrul de Transfuzie Sanguină Brașov, România

Introducere: Boala hemolitică a nou-născutului este o afecțiune determinată de un conflict imunologic feto-matern, prin imunizarea organismului mamei față de un antigen eritrocitar fetal. Condițiile de instalare a imunizării mamei survin ori de câte ori pe eritrocitele copilului se găsește un antigen care lipsește de pe eritrocitele materne, indiferent de sistemul de grupe sanguine în cauză. Astfel de incompatibilități feto-materne au fost descrise aproape pentru majoritatea antigenelor din sistemele de grupe eritrocitare. Materiale și metode: S-a folosit tehnica de aglutinare pe placă de opalin (pentru determinarea grupei sanguine și a factorului RhOD), tehnica de aglutinare în tub (pentru decelarea și titrarea anticorpilor imuni), tehnica de aglutinare în coloană de gel ID-DIAMED MICRO TYIPING SISTEM (pentru fenotip, depistarea, identificarea și titrarea anticorpilor imuni). S-au testat un număr de 701 gravide care s-au prezentat la CTS Brașov. Rezultate: Din 123 gravide cu factor RhOD, 1 caz de imunizare cu anticorpi anti-A (0,81%), restul fiind neimunizate. Din cele 578 gravide cu RhOD negativ:

\* 21 cazuri imunizare cu anticorpi anti-D (3,63%);      \* 2 cazuri imunizare cu anticorpi anti-C (0,34%);  
\* 1 caz imunizare cu anticorpi anti-CW (0,17%);      \* 4 cazuri imunizare cu anticorpi anti-A (0,69%);  
\* 2 cazuri imunizare cu anticorpi anti-B (0,34%);      \* 2 cazuri imunizare cu anticorpi anti-Lea (0,34%).

În 2 cazuri s-a identificat prezența unui amestec de anticorpi imuni anti-D + anti-C. Concluzii: Incompatibilitatea de sarcină, prin intermediul factorilor D, C, duce în anumite procente la diverse grade de boală hemolitică a nou-născutului. Profilaxia cu imunoglobuline anti-D a diminuat considerabil alloimunizarea feto-maternă, dar nu și alte imunizări.

Comunicare

## BOALA HEMOLITICĂ A NOU-NĂSCUTULUI ȘI SELECȚIA DE SÂNGE COMPATIBIL

C. Roșu, E. Savuly, M. Stoian, L. Florea  
Centrul de Transfuzie Sanguină - Brașov, România

Introducere: Boala hemolitică a nou-născutului prezintă un interes deosebit în hematologie, și în general, în patologia umană. Boala a fost descrisă încă din secolul trecut. Curând după descoperirea sistemului Rh s-a putut preciza legătura între acest factor și boala hemolitică a nou-născutului, înlăturându-se orice suspiciune etiologică. Incompatibilitatea imunologică între mamă și făt s-a impus definitiv ca factor determinant în declanșarea bolii hemolitice a nou-născutului, precizându-se un nou capitol în patologie, acela al bolilor fătului și nou-născutului legate de o izoimunizare maternă. Până în prezent, tratamentul cel mai eficient rămâne cel aplicat copilului; acesta constă în naștere prematură, exsanguinotransfuzie și în unele cazuri speciale, transfuzia de sânge la făt intrauterin. Materiale și metode: S-a folosit tehnica de aglutinare în coloană de gel ID-DIAMED MICRO TYIPING SISTEM. Determinările s-au realizat utilizând diverse cartele: pentru grup sanguin ABO/Rh, fenotip Rh/K, test Coombs direct poli și monospecific, pentru aprofundarea diagnosticului de hemoliză mediată imun, pentru determinarea calitativă și cantitativă a anticorpilor și pentru selecția de sânge compatibil. Rezultate: Au fost testați 10 pacienți cu diagnostic ferm sau prezumtiv de boală

hemolitică a nou-născutului. Testările au confirmat diagnosticul de boală hemolitică a nou-născutului prin incompatibilitate în sistem Rh, în toate cele 10 cazuri; a fost necesară selecția de sânge compatibil pentru exsanguinotransfuzie în 4 cazuri. Într-un singur caz de boală hemolitică alături de anticorpii anti-D au fost implicați și anticorpii anti-Leb. Concluzii: Aceste tehnici serologice standardizate relevă implicarea anticorpului anti-D, din sistemul Rh, în marea majoritate a cazurilor de boală hemolitică a nou-născutului.

Raport

#### QUALITY ASSURANCE IN TRANSFUSION.

Ioana Culea, Florentina Vladareanu.

National Institute of Transfusion Hematology , Bucharest, Romania.

Blood transfusion is an expanding field based on interaction of more disciplines. Monitoring of the entire chain “vein to vein” is a condition for ensuring both the quality and safety of blood, blood components and the targeted blood therapy. European legislation: Directive 2002/98/EC; Directive 2004/33EC; Directive 2005/61/EC; Directive 2005/62/EC; Guide EU-GMP, Directive 2003/94 and Romanian legislation:282/2005; Orders of the Ministry of Public Health 1214/2006; 1228/2006; 1227/2006; 1226/2006; 1225/2006; 1237/2007; 1193/2007 support blood establishments to implement a quality system. The major benefits of this are: defining of a quality police; establishing of the quality objectives; involvement of all personal qualified, trained and responsible; existence of an errors and risks assessment system, an improvement management of the resources, a continuous improvement of the quality. Accomplishment of the quality objectives depends on a well designed system of quality assurance. The basic concepts of the quality assurance, good manufacturing practices and quality control are interrelated. So, quality assurance activities monitor the performance of the: a) processes, giving information about their trends and shifts; b) personal involved in different stages of the vein to vein chain; c) laboratory methodology according to their results got in external quality control scheme.

Raport

#### ELEMENTS OF QUALITY ASSURANCE IN ERYTHROCYTIC IMMUNHEMATOLOGY

S. Sirian, Fl. Vladareanu

National Institute of Transfusion Hematology Bucharest, Romania

Blood transfusion, discipline that interfere with all medical specialties, involves, through its problems, multiple risks, one of residual major risk being the immunological incompatibility donor blood recipient. There for to guarantee a high level of transfusion security it is necessary to introduce a program of Quality assurance (QA) in immunohematology. The best guarantee to achieve all objectives of QA is to be strictly respectful of Standard Operating Procedures (SOP) by a trained staff. QA programs states flow-charts of immunohematological testing on donors and blood recipients, the quality of techniques, reagents, equipment and records-keeping and monitors whether personal perform all procedures in a approved, reproducible fashion. During 1998-2006 period, a variety forms of initial and continuous education, immunohematological testings on donors and recipients by appropriate flowcharts, the good quality of reagents and equipments, led to a rising in the transfusional security. Now, we must transpose that good experience in a QA Program in order to be in accordance with the CE requirements and national law.

Raport

#### HEPATITIS VIRUSES B AND C RECENT PROGRSSES AND POSSIBILITIES TO REDUCE THE TRANSFUSION RISK.

M. Pecec , A. Necula,

National Institute of Transfusion Hematology Bucharest - Romania

The residual risk of transfusion transmitted infections varies with the magnitude of the negative window period, which depends on the sensitivity of the screening tests and on the speed of the ramp up viremia which in turn depends (in an unknown/undocumented way) on the magnitude of the infecting inoculum on one hand and on the other hand on the prevalence of the infection in the donor population. HBV and HCV are the most frequent TTI locally as well as in the whole EU zone. Since the introduction of EIA screening, the registered prevalence continues to be higher than that in the Centre-West EU countries by a factor of 102, with five to tenfold differences between HBsAg and anti-HCV in different locations. One of the reasons is that EIAs, although the sensitivity of these tests greatly improved since their introduction (HBsAg 1990, anti-HCV - 1995), are inherently less sensitive than the NATs introduced in Centre-West EU around the year 2000. More recently, in this later zone supplemental screening for anti-HBc and anti-HBs (the later for fractionation purposes also) was almost generalized in an effort to provide for the detection of „variant" HBV, although the usefulness/proficiency in lowering the residual risk for HBV could not be ascertained (c.f. results by the DRK Baden-Wuerttemberg-Kassel). The characteristically higher local endemic status is prone to provide for a more evident proficiency of the introduction of NAT. However, in order to determine the optimal alternative (either some variant of NAT or a combination of NAT and EIAs), the lack of representative data mandates for an extensive experimental study on a number of donors/donation around 104.

## Raport

### RETROVIRUSES (HIV-1/HIV-2, HTLV-I/HTLV-II) 2000-2006- THE RESIDUAL TRANSFUSION RISK.

A. Necula, M. Pecec  
National Institute of Transfusion Hematology Bucharest - Romania

Introduction: Residual risk of transfusion transmitted viral infections is mainly linked to the „window period" and to the incidence of infection in the targetted population for donor selection. According to EuroHIV (2006) monitoring HIV prevalence among blood donations is a vital tool for evaluating the safety of blood supply. We report here the results of the last seven years of screening for (anti-)HIV-1/HIV-2 which appeared after 1985 in our area and for (anti-)HTLV-I which is endemic. Methods: Current screening uses combined, Antigen+Antibody EIAs for HIV-1/2 and antibody-capture EIAs based exclusively on recombinant antigens for HTLV-I/II. Repeat reactives are confirmed in Western Blot and/or Line-Immuno-Assay (LIA), in keeping with WHO criteria for HIV-1/2 and according to H.E.R.N. recommendations, respectively. Prevalence and incidence are expressed for 100.000 donors/ donations, respectively. Results: During the considered period the prevalence of anti-HIV-1 in 1-st time blood donors (FTBD) was 25.8 (with  $1.9 \equiv 7,3\%$  early seroconvertors as compared to aprox. 6 in the western part of the EU (EuroHIV,2006) . In repeat blood donations (RBD) the mean incidence was 2.4 in 100000 donations (with  $0.6 \equiv 25,5\%$  early seroconvertors - significantly more [ $p>0.001$ ] than in FTBD), as compared to under 1 in 100000 donations for the western countries of EU. The number potentially infectious RBDs was 1.2 in 100000 donations representing 51% of all cases detected in this category. Only one case of HIV-2 infection was identified during the period under consideration. The highest prevalences in FTBD were registered in three districts in the southern area, Arges (95), Bucharest (84) and Constanta (50), which cumulate 58% of all detected positives, while accounting for 19% of all blood collection from FTBD. The general prevalence of anti-HTLV-I in FTBD was 58 in 100000 donors with local spikes over 100 in the South East, where a few seroconversions in RBD could be documented also. The general incidence in RBD dropped from 118 during the 4-th qrt 1999 to, and stabilised at about 1 in 100000 donations. ATL cases are regularly confirmed in Bucharest (3 to 16 per year; 5 in the last year). Conclusions: As compared to the moment of the introduction of specific screening, the residual risks for transfusion transmitted HIV-1 and HLTV-I, although considerably lowered, remain well above the levels registered in western EU. As it appears that the virus trafficking is faster in RBD, further reduction of risk would occur only through improving standards for donor selection. Defining the profile of the „seroconverting donor" and the assessment of the prevalence in different population groups, as potential targets, would contribute to improving donor selection criteria.

Comunicare

N.A.T. TECHNOLOGY IN TESTING THE TRANSFUSED BLOOD. PRESENT STEADY OF IMPLEMENTATION IN EUROPE.

Francoise Le Flohic

Regional Director Ilex Ltd.

Comunicare

#### THE EPIDEMIOLOGY OF INFECTION WITH HIV, HEPATITIS B & C IN ROMANIA.

A. Streinu Cerceș, D. Oțelea

Institute "Matei Balș" Bucharest, Romania

Comunicare

#### THE IMPACT OF THE SCREENING TESTS BY NAT TECHNOLOGY IN INDIVIDUAL DONATION UPON THE BLOOD TRANSFUSION SAFETY.

Nico Lelie

Director Șt. Chiron-Novartis

Comunicare

#### IMMUNOLOGICAL TECHNIQUES USED IN DETERMINATION OF CLINICAL SIGNIFICANT ANTIERYTHROCYTE ANTIBODIES

S. Sirian, M. Radulian

National Institute of the Transfusion Hematology, Romania

Background: ABO, Rh, Kell, Kidd, Duffy, MNSs, Pp, Lewis, erythrocyte antibodies are involved in hemolytic transfusional reaction (HTR) and in hemolytic disease of the newborn (HDN). Objectives: using in routine immunohematology practice all appropriate methods and techniques in detection of clinical significant antierythrocytic antibodies, in order to prevent HTR and for the management of HDN. Methods, reagents: hemagglutination technique (tube and in column) in saline, albumin, indirect antiglobulin test (IAT) with polyspecific antiglobulin serum and enzymes, correlated with RhK and other erythrocytic phenotypings and elution-absorption techniques. Investigated 8034 cases (patients, pregnant women, newborns, blood donors) for the immunohematological diagnostic and for the selection of compatible blood. Results: Immunised 11.51%, anti-D 32.5%, anti-D+C 7.3%, anti-Kell 5.4%, anti-E 5.7%, anti-c 5.3% and anti-cE, anti-D+E, anti-D+C 3.17%, other antibodies (anti-Jk, anti-Fy, anti-S, anti-s, anti-M) 0.3%. Conclusion: Utilization of appropriate techniques in routine practice for the detection of clinical significant antierythrocytic antibodies, prevents HTR and helps in a good HDN management.

Comunicare

#### EVOLUTION OF POSTTRANSFUSIONAL REACTIONS BY USING LEUKODEPLETED PHENOTYPED RED CELL CONCENTRATES IN MAJOR THALASSAEMIA POLYTRANSFUSED PATIENTS

M.D. Voicu, Fl. Vladareanu, S. Sirian, L. Nitu, C. Calota

National Institute of Transfusion Haematology, Romania.

Introduction:  $\beta$  Thalassaemia major is characterized by a severe haemolytic anaemia dependent of regular blood transfusions for whole life. For a proper development of those patients hypertransfusion regimen was introduced in order to maintain pretransfusion haemoglobin above 9g/dl. Material & Method: Our study group was formed of 100 patients with  $\beta$  thalassaemia major registered at National Institute of Transfusion Haematology level. All those patients were transfused with leukodepleted red cell concentrates Rh(D)-Kell phenotyped between 2-6 weeks.

Results: Transfusion requirements of those patients was in average of 25 units/year, reaching even 40 units/year. This large number of transfusions and their frequency at 2-3 weeks leads to immunization of those patients against leukocyte and red cell antigens, the most frequent posttransfusion reactions were chills-fever and rash. Beginning with year 2000 those patients were transfused with Rh(D)-Kell phenotyped blood products and since 2004 leukodepleted red cell concentrates were introduced, thus, nowadays, all our patients were transfused with phenotyped and leukodepleted products and posttransfusional reactions disappeared. Conclusions: Although phenotyping and leukodepleting rises

the price of blood unit and there are also rare phenotype hard to find, the benefit of using those products for polytransfused patients is extreme high, thus is necessary to maintain this standard in transfusion therapy.

Comunicare

#### COMPLIANCE TO IRON CHELATION THERAPY WITH DESFERAL IN MAJOR THALASSAEMIA PATIENTS REGISTERED AT NATIONAL INSTITUTE OF TRANSFUSION HAEMATOLOGY LEVEL BETWEEN 2000-2006

Fl. Vladareanu, M. D. Voicu, L. Nitu, C. Calota,  
National Institute of Transfusion Hematology, Romania

**Introduction:** In not iron chelated patients with major  $\beta$  thalassaemia, progressive iron accumulations leads to cardiac, liver and endocrine complications. Compliance to iron chelation therapy is defined as the extend to which patient's behavior coincides with medical's prescription, more specifically defined as the extend to which the patient adheres to the prescribed infusions scheme including dose of Desferal, number oh hours per day and number of days per week. **Material and Method:** Our study group includes 100 patients with major  $\beta$  thalassaemia registered at NITH level in chronic transfusion and iron chelation therapy. Monitoring iron overload and chelation efficacy was achieved by periodical assessment of serum ferritin. Chelation therapy started when serum ferritin level reach about 1000mg/ml, near 2,5 years of age. Iron chelation treatment consist in subcutaneously administration of Desferal in continuous infusions for 8-12 hours given 5-7 times per week at mean daily dose of 20-50 mg/Kg body weight according with serum ferritin level and patient age. **Results:** Introduction of National Program since 1996 providing accessibility to iron chelation and infusion devices leads for a short period of time to a very good compliance and treatment. However, chelation therapy is difficult and overwhelming, the process is time-consuming and must be repeated daily for the rest of patient's life. The benefits accumulate over the long-term, thus neither the positive effects not the negative effects are readily apparent, the factors associated with bad compliance were: lack of awareness about side effects of iron overload, the fact of giving up doses provides short-term comfort, relief and diminish local side effects; treatment is time consuming leading to a restrictions on a patient's activities; psychological burden; unwanted local reactions; material aspects of consumables cost. **Conclusion:** A good compliance to chelation therapy provides a long survival, a significant decreasing of complications due to iron overload and a good quality of life. It is verry important to identify all aspects reducing compliance and rise the awareness of patients and their families about the treatment benefits. The quickest introduction of oral chelators will lead to a significant improvement of patient adherence to therapy.

Comunicare

#### GROWTH DISORDERS AND HYPOGONADISM IN MAJOR $\beta$ THALASSAEMIA PATIENTS

Fl. Vladareanu , M.D. Voicu, L. Nitu, C. Calota  
National Institute of Transfusion Hematology, Romania

**Introduction.** "Hipertransfusion" regime and a good compliance to iron chelation treatment lead to a significant improvement of life expectation and quality of life for major  $\beta$  thalassaemia. Despite therapeutical progress, growth disorder and hypogonadotop hypogonadism remain the most frequent complications for adolescents with major  $\beta$  thalassaemia. **Material and Method:** Our study group is formed of major  $\beta$  thalassaemia patients aged 12years old girls and 13 years old boys, polytransfused and chelated with Desferal, iron chelation therapy is monitorised by periodic assessment of serum ferritin. **Results:** Main causes involved in growth disorders and sexual maturation are chronic tissular hypoxia and iron toxicity. A proper transfusion therapy ensure a normal development of thalassaemic child for the first decade of life. After this period of time and in lack of proper iron chelation growth disorders and sexual development appear. Some of the followed patients had abnormal levels of growth hormone. Hypogonadotrop hypogonadism is the most frequent endocrine complication in major  $\beta$  thalassaemia major and an important cause of growth disorders. 20% of thalassaemic adolescents had high-weight deficiency and 60% of them were identified with hypogonadism. 45% of thalassaemic adults were find with high-weight deficiency and 75% had hypogonadism. **Conclusion:** Adherence to hypertransfusion regime and a good compliance to iron chelation lead to a limitation of endocrine complication for this patients. Nevertheless, there is patients with low body iron burden who had growth disorders and/or hypogonadotrop hypogonadism, factors as chelator toxicity, chronic anaemia, chronic liver diseases and variation of iron burden susceptibility being involved in this process.

Comunicare

## THE ESTIMATION OF BLOOD GROUPS AND Rh FREQUENCY IN BUCHAREST POPULATION

A. Zagrean, M. Hoinarescu, D. Vuculescu  
The Blood Transfusion Center, Bucharest, Romania

In 1914, Hirszfeld discovered a difference among the blood groups of populations in soldiers stationed in Salonic. Mc. Arthur and Penrose have estimated the frequency of the A, B and O blood groups around the world as follows: O = 62,3%, A = 21,5%, B = 16,2%, but these figures vary with geographical areas, race and population structure. The frequency of blood groups in Romania was last estimated 36 years ago, in 1971. These statistics showed: O=32,68%, A=43,15%, B=16,5%, AB=7,65%. Our work verifies the nature in which actual data concurs with these past estimations. The statistics have been realized only in the Bucharest area but they will be applied to the entire country. The study contains a lot of 5000 blood donors present at the Blood Transfusion Center during an interval of 72 days. The results were: O=34,3%, A=40,86%, B=16,86%, AB=7,98%. Regarding the RH system, the negative percentage of the population is 11,7%, and along with ABO system, we have: O 4,28%, A - 4,82%, B- 1,66%, AB 0,94%. The study also contains an evaluation of the gender repartition of ABO and RH systems and also the frequency of the D antigen in the lot as follows: D= 0,54%. As a conclusion of this study, it has been observed that the frequency of the blood groups in Bucharest hasn't changed significantly since 1971. Therefore, there had been no major changes in the population's structure in the last 36 years. For a country-wide evaluation, a larger lot of donors must be studied.

Comunicare

## IMPLEMENTING QUALITY MANAGEMENT SYSTEM IN BUCHAREST B.T.C.

M. Hoinarescu, E. Negoita  
Blood Transfusion Center in Bucharest, Romania

Introduction: The effect of article 11 in the 2002/98/CE Directive is the need for introducing a quality management system in all transfusion centers, including the ones in Romania. The evaluation of the Blood Transfusion Center in Bucharest (B.T.C. Bucharest) status has been made by comparison with Johannes Gutenberg Blood Transfusion Center in Mainz, Germany (BTC Mainz). Means and methods. The following have been used as starting point: the documents on the quality management system implementation in B.T.C. Bucharest: the presentation made by dr. Walter Hitzler, the director of Johannes Gutenberg B.T.C. Mainz, the presentations made by the medical staff on study visit at this Center, the documentation concerning instruments, reactive, working methods and the 2006 statistics on donor count and this year's B.T.C. Bucharest blood components productivity. In order to compare the two transfusion centers, focus was put on donor circuit, instruments and reactive lab equipment, mandatory tests, blood components and obtaining methods, donor rewards. Results, conclusions: Comparing the two transfusion centers results in the necessity of a quality management system implementation in B.T.C. Bucharest, as soon as possible, in order to increase security in transfusion and further develop the quality of transfusion products. We can consider that B.T.C. Bucharest activity takes place on a level close to that of a German transfusion center, since it does not benefit from the same financial funds.

Comunicare

## COMPARATIVE STUDY OF DIFFERENT KINDS OF BACTERIA IDENTIFIED IN ROMANIA VS. INTERNATIONAL REPORTS OF CONTAMINATED BLOOD PRODUCTS

O. Coban<sup>1</sup>, M. Dobreanu<sup>1</sup>, T. Lazar<sup>2</sup>  
1) National Institute of Transfusion Hematology Bucharest;  
2) Bucharest University - Biology

Following last years experience of our Quality Control Laboratory in identification of blood products bacterial contaminants we found a semnificative difference between types of bacteria reported in international literature and those found in Romania. The most important microorganisms, which contaminates blood products, reported in other countries, are: *Yersinia enterocolitica*, *Klebsiella* sp, *Escherichia coli*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii*, *Pseudomonas* sp, *Flavobacterium* Sp, *Campilobacter jejuni*, etc. In Romania there have been identified the following kinds of bacterial contamination: *Staph. aureus* coag.+, *Eubacterium* sp, *Propionibacterium acnes*, *Staph. hominis*, *Bacillus cereus*, *Clostridium* sp, *Bacillus* sp, *Listeria monocytogenes*, *Chryseomonas luteola*, *Erysipelotrix rhusiopathiae*, etc. The causes of such differences may be resumated as following: For psychrophilic germs determinations (i.e. *Yersinia enterocolitica*), with growth at 4°C, blood products bacteriological control is necessary to be done after 25-30 days of storage, or at the end of storage, but this isn't a usual practice in Romania yet. While other countries reported blood products contaminations with high resistance bacteria to antiseptic methods used in venipuncture procedures and very well adapted for multiplication in blood environment (*Yersinia enterocolitica*, *Serratia* spp, *Pseudomonas* spp), in Romania contaminant microorganisms belong to a great variety of mesophile species, including sporogens, as well as vulnerable bacteria to physical agents: *Staphilococcus*, *Bacillus*, *Clostridium*, *Chryseomonas*, *Erysipelotrix*, *Listeria*, *Propionibacterium*. Some possible explanation may be the lack of a permanent monitoring system of venipuncture procedure in order to minimize the risk of bacterial contamination in Romania.

Comunicare

#### THE STEPS OF BIOLOGICAL VALIDATION OF BLOOD COMPONENTS IN THE QUALITY CONTROL DEPARTMENT OF THE BRASOV BLOOD TRANSFUSION CENTRE

L.A.Munteanu, M.Foca, L. Florea

Blood Transfusion Center Brasov, Romania

Introduction. The haematological and bacteriological quality control of instable blood products (IBP), represent, near the other donating qualification tests, the main tools which assure the security and the quality of the blood and his components. The purpose of this control is the confirmation of the fact that IBP obtained and distributed by the Blood Transfusion Centre have the haematological and microbiological parameters in conformity with national and international standards. Materials and methods. For the haematological control, 1% of each blood product type is tested, every month, by non-destructive method, doing the following tests: the measurement of haemoglobin (Hb), using the HemoCue haemoglobin metre and of haematocritis (Ht); the counting of white cells and platelets using the classical Burker-Turk device. For the bacteriological control are used: the satellite bags BACTIVAM, the validated and expired blood units (especially platelet concentrates) and rejected units (negative for virus markers), which are tested on blood cultures Bio-Merieux HEMOLINE PERFORMANCE DIPHASIQUE (for aerobic organisms detection) and HEMOLINE PERFORMANCE ANAEROBIE (for anaerobic organisms detection). The bottles are incubated at 37°C in a bacteriology incubator, reading the results after 48 hours and 14 days. Results. In 2006, were haematologically tested 293 IBP units: 43 units of total blood, 106 units of red cells concentrates, 44 units of fresh plasma and 100 units of platelet concentrates. All tested plasma units had normal values. From total blood units, only one had not a normal Hb/unit level (at least 45g/unit), 9 platelet concentrates had less than  $0,5 \times 10^{11}$  platelets/unit and did not answer to the standard. 45 red cells concentrates had low level of Hb/unit. In 2006, for the bacteriological control, 339 IBP units were tested. The units were examined every day+, with first reading at 48h and final reading at 14 days. From all blood samples, 22 had a probably bacterial growth. After 48 hours all units were negatives. After 14 days, 22 units were positives (16 for aerobic organisms and 6 for anaerobic organisms). All platelet concentrates were negatives (although these units are the most exposed to contamination, and some of them were tested after the expiration period). All the units of total blood were negatives. A single unit of plasma was positive after 14 days, indicated by the appearance of turbidity in the broth. The rest of positive samples were red cells concentrates : 2 presented colonies on the agar covering the side of the bottle, 1 presented haemolysis, and the rest of them turbidity in the broth. 2 units were positives on both medium bottles, with the appearance of turbidity in the broth, suggesting accidental contamination during the testing. Conclusions. In none of the cases, the deviation from the haematological standards was not very significant, to invalidate the product. The positives IBP units at the bacteriological control were rejected, some of them being previously rejected by other meanings.

Comunicare

#### THE HLA FREQUENCY IN BONE MARROW UNRELATED POTENTIAL DONORS FOR NATIONAL

## REGISTRY (Preliminary study)

D.Ilinca, M. Dutescu, A.Bardan, R.Tranulis, L. Ulea, R. Caisan  
National Institute of Transfusion Hematology -Bucharest, Romania

HLA distribution in the National Registry is a key parameter for rationally planning its evolution. This parameter is very close to HLA frequency in local population. 595 unrelated persons, 95 % Caucasians, 5 % other ethnic groups were studied for HLA antigens frequencies. HLA - A, B, DR, DQ antigens were typed by CDC techniques (550 persons) and SSP (45 persons) in 2007. The HLA most frequent antigens were: HLA- A2 (48.9%), A1 (26.7%), A24 (20.3%), A11 (15%), B35 (30.4%), B51 (20.8%), B18 (20%), B44 (13.6%), B60 (12.9%). Our results were compared with the data from literature concerning the HLA antigens frequency in Caucasian population. HLA B27 antigen found in 90 % patients with rheumatic diseases (ankylosing spondylitis, Reiter syndrome, Crohn disease, acute anterior uveitis) had 8,5 % frequency in our group, very much alike with the frequency in Caucasian population mention in international publications. HLA antigens : A34, A66, B46, B53, B58, B63 had under 1 % frequency . Under 5 % frequency we found for HLA - A28, A29, A33, A31, A30, B37, B47, B61, B45, B49, B50. Concerning DR antigens we found 37.8% for DR11 (a higher value comparing with the data from literature) , 24.5 % for DR15, 19.8 % for DR17 , 15.6 % for DR1, 15.2 % for DR7, 14.6 % for DR13 and 8.9 % for DR14. Under 5% frequency were: DR12, DR10, DR8, and for DR18 and DR9 the frequency was under 1%. The results for DQ were similar with those found in literature: DQ1 (30.5%), DQ7 (28.6%), DQ2 (15.4%) and DQ4 (1.6%). For DQ8 and DQ9, split from DQ3, frequency was under 1 %. The data concerning HLA frequencies in our group confirm the results obtain on 182 patients waiting for a bone marrow transplant (BMT) and 476 related donors typed in 2006 when we found quite the same HLA frequencies. 57 patients had a HLA compatible donor in the family. For the remaining 70 % the National and International Register of Voluntary Bone Marrow Donors remain the only solution. For patients with rare phenotypes, founding a HLA compatible donor remain a problem in the family as in Registries. A high number of voluntary unrelated bone marrow donors in National and International Registries will solve the compatibility problem.

## Comunicare

### THE RECRUITMENT OF VOLUNTEER UNRELATED BONE MARROW DONORS FOR THE NATIONAL REGISRTY.PUBLIC TEST

I.M.Dutescu<sup>1</sup>,R.Caisan<sup>1</sup>,L.Ulea<sup>1</sup>, A.Bardan<sup>1</sup>,R.Tranulis<sup>1</sup>, D.Ilinca<sup>1</sup> F.Vladareanu<sup>1</sup>,M.Hoinarescu<sup>2</sup>, D.Gosa<sup>2</sup>, M.Popa<sup>2</sup>, A.Carstea<sup>2</sup>,D.Ureche<sup>3</sup>,D.Florea<sup>4</sup>,L.Florea<sup>5</sup>,D.Ilcenco<sup>6</sup>,M.Iugulescu<sup>7</sup>,D.Crisan<sup>8</sup>  
1)National Institute of Transfusion Hematology - Bucharest; 2)CTSMB; 3)CTS Sibiu; 4)CRTS Tg.Mures ; 5)CTS Brasov ; 6)CRTS Iasi ; 7)CTS Braila ; 8)CTS Maramures

Introduction : The stem cell transplantation is today a therapeutic tool quite common in the entire world, successfully used for the treatment of many malignancies. For the eligible patients is the only method for a possible recovery. The stem cell transplant actually represents a procedure for hematological support and recover, for hematopoiesis restoration based on graft stem cells, after chemo and radio-therapies. One of the most important condition for the success of a bone marrow transplant is the identification of a donor with a very good HLA compatibility. The first search begins in the family, but only 25% of the patients are able to have this kind of donor. The other of patients have to find an unrelated bone marrow donor. To perform an alotransplant from an unrelated donor, an Unrelated Donor Registry in necessary. This kind of registry requires a complex activity, one of the most important target beeing the donor recruitment. The potential donors must understand that the stem cells donation is not dangerous and is very like a blood donation. It is also free of charge, confidential and volunteer- is done only with a written consent. Material and method : The aim of this study was to realize a first evaluation of the willingness to donate in view to recognize the most important motives for and the most frequent barriers against becoming donor. The study was performed on a homogenous target group represented by registered blood donors from 7 blood donor centers from Bucharest and the country. Only the eligible subjects for this kind of register, with age between 20 and 49, were taken in the study. The test was performed like an anonymous questionnaire filled in the same time with blood donation. The answers were analyzed in subgroups : sex, donors level studies, urban/rural.Results and conclusions: The test emphasized the fact that the majority of the subjects have already heard about bone marrow donation ( 70% of donors with medium studies and 86,8% from those with high level studies).The problem is that a big part of them don't know what this procedure is (67,2% of donors with medium studies and 43,5% from those with high level studies).As for the interest for the subject of donation, the answer was YES in 73,5% respectively 78,8% of the examined subjects. To the direct question



regarding the agreement for anonymous and volunteer bone marrow donation, we had approx. 20% negative and 27% positive answers, and 53% who asked for more explanations in view to give an answer to this question. The study proves that one of the most important obstacle for a bone marrow donors registry set up is the knowledge deficiency. An important activity to inform the public in write or video tools is obligatory. It must be clearly explained what for is this registry necessary, who can join this file, how and where can they be put in the registry, when the donation can be done, how a donor can be selected, the steps of the donation, how the procedure is done, what are the duties of the donor, what are the expected results of the transplant. Statistics show that maximum estimate number of HLA combinations is  $11.4 \times 10^{18}$  and the realistic estimation of number of HLA combinations within a single ethnic group is  $2.6 \times 10^6$ . A donor registry needs at least 200 000 typed persons to assure the selection of a compatible bone marrow donor for 85% of the patients with frequent HLA antigens.

Comunicare

#### INCREASING MOTIVATION AND CREATING REGULAR BLOOD DONORS RESEARCH ON 700 DONORS FROM TWO BLOOD CENTERS IN THE COUNTRY

A. Bugner<sup>1</sup>, L. Burta<sup>2</sup>, A.M. Dobrotă<sup>3</sup>

1) National Institute of Transfusion Hematology, Romania

2) Blood Transfusion Center Arad

3) Blood Transfusion Center - Constanța

A fifteen question questionnaire was created and applied on 700 regular donors (donors with at least 3 blood donations). The reason for this was to find out what the mechanism that creates a regular blood donor is, what makes a non-remunerated blood donor and why some donors give up on the blood donation. These are some of the most important conclusions that were extracted from the questionnaire results: a) In the process of recruiting blood donors, the most important recruiters are the blood donors themselves. This brings up the idea of creating blood donation promotion courses for donors, method which has been successfully used in all the European countries. b) Conditions at the blood center and the way the donors are approached are very important. This includes the way the donor is received, the room where the donor waits before giving blood, the way the nurses approach the donor and the doctor-donor relationship. Blood donation promotion courses could be useful for the blood transfusion personnel as well.

Comunicare

#### THE INCIDENCE OF ALLOIMMUNISATION THROUGH PREGNANCY AND ITS DIAGNOSIS

D. P. Florea

Regional Center of Blood Transfusion Tg. Mureș, Romania

The hemolytic disease of newborn is a frequent cause of morbidity and mortality even if its incidence has dropped during the last years as a result of immunoprophylaxy with IgG anti-D, performed on pregnant women Rh(D) negative who gave birth to an Rh(D) positive child. In Romania, the most important antibody responsible for hemolytic disease of newborn is Rh(D). The main reason for the persistence of, this etiological configuration is the incomplete protection offered by IgG anti D. The purpose of our study is to demonstrate the importance of screening tests for finding alloanticorps during pregnancy and prevalence of alloimmunisation cases in our laboratory. The period of study was mars 2006 April 2007, performed on pregnant women and newborns of immunized mothers. The work protocol consisted of:

1. Typing blood group ABO, Rh. 2. Typing Rh-Kell group. 3. Typing weak D by Indirect Coombs Test. 4. Screening irregular antibody on maternal serum. 5. Identifying irregular antibody on positive screening tests. 6. Titration of the antibody. 7. Typing ABO, Rh group and Coombs direct test on newborn in cord blood. During the period of study, a number of 1636 tests were performed on 545 Rh negative pregnant women and 107 newborn. Screening was positive on 27 cases (4,9%); concerning the type of antibody:

74% anti Rh (D); b) 11% anti Kell; c) 7,5% anti Lewis; d) 7,5 % unspecified. By analyzing data, we found that in most cases the alloimmunisation is caused by anti Rh(D); in others countries in which anti-D prophylaxy is being carried for

many years the immunization by anti-D is very low (1-2%). We believe the situation in Romania could be improved by : a)the serious involvement of the Health Ministry in providing proper Guidelines for the diagnosis and treatment of the hemolytic disease of the newborn; b)monitoring the efficiency of IgG anti/D prophylaxy; c) implementing a routine test for assessing feto-maternal hemorrhage.

Comunicare

## ASSESSING OF THE FETOMATERNAL HAEMORRHAGE THROUGH ACID - ELUTION TECHNIQUE

D.P. Florea

Regional Center of Blood Transfusion Tg. Mureş, Romania

The key mechanism of alloimmunisation through pregnancy is the transplacental transfer of fetal red cells in to the maternal circulation. Quantifying fetal red cells volume is the most important element of monitoring and preventing hemolytic disease of the newborn. In Romania no profile institution does this evaluation. One of the most frequent screening test used for determinating fetomaternal hemorrhage is the Kleihauer test, based on the fetal hemoglobin resistance to acid elution. The purpose of this study is to present the protocol of validation for the method used by us (there are several other methods). This protocol was created, approved and validated during May-November 2006 in our laboratory. The method validation was performed through the next steps: 1. Choosing the necessary characteristics for the reactive, calibrating the medical equipment (centrifuge, microscope), standard operating procedures. 2. Elaborating procedures for testing, based on Good manufacturing practice, Quality standards and international recommendations. 3. Teaching and evaluating laboratory personnel to properly execute necessary operations. 4. Performing four control test : a)negative control; b)mildly positive control 0,2%;c)mildly positive control 0,3%; d)intensely positive control 1%. 5. Performing several tests with samples from pregnant women after a well documented protocol. 6. Analyzing and comparing results from the five series of tests. After a large number of tests we carried, we found identical results concerning the colour of slides as well as fetal red cells proportion after applying the calculating formula. As a conclusion, we can say this method is a simple test which utilizes regular laboratory equipment and as it is not expensive it can be performed successfully in any hospital laboratory as a screening method for assessing fetomaternal hemorrhage.

Comunicare

## RED-CELL ALLO-IMMUNIZATION IN AUTOIMMUNE HAEMOLYTIC ANAEMIA (AHA).

M.Radulian, S. Sirian

National Institute of the Transfusion Hematology

The purpose of the work : to estimate the efficiency of the methods used in Autoimmune Haemolytic Anaemia (AHA) investigations in order to identify the allo-antibodies hidden by auto-antibodies. Material and methods.: Subjects : 411 patients with idiopathic or secondary of malignant diseases AHAI. Methods: ABO-Rh-Kell grouping, direct antiglobulin test (DAT) with poly and monospecific sera, IgG subclasses routine screening and identification of the antibodies by special procedures: undiluted and diluted 1/5 patient's sera in saline, the elution, auto-absorption and differential absorption methods. Results: DAT was positive in all cases (>2+), type IgG (224 sera), C3d(81 sera), IgG+C3d (89 sera), IgG+C3d+IgA (12 sera), IgG+IgA+IgM (5 sera). In 73 sera we didn't find any antibody neither by standard methods nor by the others methods; in 223 sera we identified only auto-antibodies; in 97 sera we identified both auto and allo-antibodies by 1/5 dilution sera in saline (52 sera) and also by auto-absorption method (20 sera) and by differential absorption method (25 sera); 18 sera contained only allo-antibodies detected by usual techniques. The auto-antibodies were warm antibodies in 257 sera (anti-e, anti-ce, anti-D, anti-Ce, anti- nl, anti-K) and cold auto-antibodies (anti-H, anti-HI, anti-I) in 63 sera. The allo-antibodies belonged to all blood group systems : Rh-43 sera, others systems (Duffy, Kidd, Kell, Lewis, MnSs) 40 sera. In 32 sera we couldn't identify the specificity of the allo-antibodies. Conclusions: The investigation of the sera from patients with Autoimmune Haemolytic Anaemia must be performed in a specialist laboratory able to use not only the standard methods, but some others special techniques in order to assure a safe blood in transfusion of this patients.

Comunicare

## AUTOIMUNE HAEMOLYTIC ANAEMIA DRUG INDUCED CASE REPORT

C. Posea<sup>1</sup>, A. Ursachi<sup>1</sup>, A. M. Vladareanu<sup>2</sup>, I. G. Voican<sup>1</sup>, H. Muresianu<sup>1</sup>

1) Emergency University Hospital-Bucharest, Romania

2) National Institute of Transfusion Hematology, Bucharest, Romania

Cephalosporins are frequently associated with positive direct antiglobulin test (DAT) and may rarely cause immune hemolytic anemia. We present a case report with severe hemolytic anemia after intravenous cephoperazone 2 g daily for 14 days. Immunohematologic studies of drug-dependent antibodies were performed by using cephoperazone treated red blood cells (RBC) and untreated RBC in the presence of drug. The patient's serum contained antibodies that reacted with both drug-coated RBC (adsorption mechanism) and with uncoated RBC when cephoperazone was added to the serum (immune complex mechanism). Discontinuation of the drug rapidly resolved the hemolytic reaction and prevented the onset of renal failure. Our report underlines the importance of close laboratory and immunohematologic monitoring of patients treated with cephalosporins in order to recognize hemolytic reaction due to these antibiotics thus reducing the chance of serious sequels.

Comunicare

Research of the D partial variables, on blood donors

L. Florea, M. Stoian

Blood Transfusion Center - Brasov, Romania

**Introduction:** The D antigen of the Rh system, is now considered a mosaic of epitopes (30 epitopes, but for practical purposes, the 9-epitope model is clinically satisfactory). Individuals whose cells lack parts of the D mosaic, when exposed to a complete D antigen, can start the production of antibody to the epitopes that are lacking on the individual's cells. The anti-D partial antibody had been noticed on patients within the category DVI which remains the most important category, with clinical importance. This category was often classified as "weak" D (Du) and was often transfused as RhD negative individuals. It should be known that 6% of the "Du" were actually DVI. **Materials and procedure:** The reactivities used are Dia Med-ID Card "Partial RhD-Typing" with 6 microtubes containing polyspecific antihuman globulin (rabbit anti-IgG and monoclonal anti-C3d), within the gel matrix. The ID-Partial RhD-Typing kit consists of 6 monoclonal anti-D which can aid further characterization of the RhD antigen: II, IV, V, VI, VII, DFR, DBT and RoHar. Starting from 23.05.2007 we have introduced partial RhD testing done following the standard operational procedures on both blood donors and pregnant woman. There have been tested a number of 1811 blood donors and 91 pregnant woman. **Results:** From a total of 252 RhD negative donors that have been tested following the standard operational procedures, 3 were identified as having D partial, more exactly DIII. We know, from specialized literature, that immunization hasn't been observed at this particular category, because of having the most resembling antigenic structure as the complete D antigen. These donors have been registered as RhD positive. **Conclusions:** In order of avoiding transfusional conflicts that may appear because of the immunogenicity of the D antigen, it is important to research for the partial D variables on donors in order of identifying the DVI category.

Comunicare

## MOTHER'S RHESUS ISOIMMUNIZATION, HEMOLYTIC DISEASE OF THE NEWBORN

C. Roșu, E. Savuly, M. Stoian, L. Florea

Blood Transfusion Center Brașov, Romania

**Introduction:** Hemolytic disease of the newborn (HDN), also known as erythroblastosis fetalis, occurs when there is an incompatibility between the blood types of the mother and baby - involves incompatibility of the Rh factor or ABO blood groups. It was not until the 1950s that the underlying cause of HDN was clarified; namely, the newborn's red blood cells are being attacked by antibodies from the mother. This kind of isoimmunization occurs between the mother

and fetus in the course of ABO group system incompatibility. Methods: Agglutination technology by means of opalin plate (for ABO blood groups and Rh0D identification), tube agglutination (in order to detect and titrate the immune antibodies), and also agglutination by means of Gel Test ID-Micro Typing System (phenotype, detect, identify and titration of the immune antibodies) where used. Seven hundred one cases of pregnancy where studied in CTS Brasov. Results: From the total of 701 cases we studied, we discovered: \* 123 subjects with Rh0 D positive, from witch 1 with anti-A antibodies isoimmunization (0.81%). \* 578 subjects with Rh0 D negative, from witch: 21 cases with anti-D antibodies isoimmunization (3.63%); 2 cases with anti-C antibodies isoimmunization (0.34%); 1 case with anti-CW antibodies isoimmunization (0.17%); 4 cases with anti-A antibodies isoimmunization (0.69%); 2 cases with anti-B antibodies isoimmunization (0.34%); 2 cases with anti-Lea antibodies isoimmunization (0.34%). Also in 2 cases, a mixture of anti-D+ and anti-C antibodies where identified. Conclusions: Pregnancy incompatibility, by means of D and C factor, concludes some times to HDN. The anti-D prophylaxis has decreased the alloimmunization.

Comunicare

## HEMOLITIC DISEASE OF THE NEWBORN AND BLOOD COMPATIBILITY SELECTION

C. Roşu, E. Savuly, M. Stoian, L. Florea  
Blood Transfusion Center - Braşov , Romania

Introduction: Hemolytic disease of the newborn (HDN), also known as erythroblastosis fetalis, occurs when there is an incompatibility between the blood types of the mother and baby - involves incompatibility of the Rh factor or ABO blood groups-. The first description of HDN is thought to be in 1609 by a French midwife who delivered twins. It was not until the 1950s that the underlying cause of HDN was clarified; namely, the newborn's red blood cells are being attacked by antibodies from the mother. Once HDN is diagnosed, treatment may be needed. This may include: intrauterine blood transfusion of red blood cells into the baby's circulation, early delivery if the fetus develops complications; or, after birth: blood transfusions, intravenous fluids, help for respiratory distress using oxygen or a mechanical breathing machine, exchange transfusion to replace the baby's damaged blood with fresh blood. Methods: Agglutination technology was used, by means of Gel Test ID-Micro Typing System. Determination was made using few test cards: for blood type ABO/Rh, Rh/K phenotype, direct antiglobulin test (DAT with polyspecific and monospecific AHG reagents), for qualitative and quantitative antibodies test, for blood type selection. Results: Ten patients with HDN diagnose where tested. Tests confirmed the initial HDN diagnose by Rh factor incompatibility, and four out of ten cases required blood replacement. In another particular case, we discovered that the anti-D antibodies where found near the anti-Leb antibodies. Conclusions: These techniques proved once again the anti-D antibodies involvement in the Hemolytic disease of the newborn.

## POSTERE

Poster

REPARTITIA PE SEXE SI VARSTAA DONATORILOR CU A.L.T. MAI MARE DE 70 U.I. LA DONATORII NOI SI FIDELIZATI IN ULTIMII 3 ANI SI IN PRIMUL SEMESTRU AL ANULUI 2007, LA C.T.S. BRAILA

M. Iugulescu, L. Ionescu, E. Mihăilă  
Centrul de Transfuzie Sanguină Brăila, România

Introducere. Creșterea activității ALT în ser sau în plasma este un indicator al apariției și evoluției unor leziuni hepatocelulare. Maladiile care pot cauza creșterea activității ALT sunt : hepatita acută și virală, mononucleoza infecțioasă, infecțiile parazitare, bruceleza, febra galbenă, tumori maligne ale ficatului, hemocromatoza, leucemia. ALT poate crește de asemeni ca rezultat al alcoolismului sau obezității. Nivelul ALT poate fi influențat de vârsta, sex sau rasa iar nivelul normal al ALT poate fi variat la populații diferite. Obiectiv. Cercetarea creșterii activității ALT în sângele donat, îndepărtarea din transfuzie a pungilor de sânge care prezintă creșteri peste valoarea normală a ALT și urmărirea donatorilor. Material și Metodă. Pentru a pune în evidență creșterea activității ALT se utilizează trusa cu reactivi ALT SENTINEL (ALT Color Microwell). Probele de sânge care prezintă valori crescute ale ALT sunt repetate în dublet a doua zi. Donatorilor, care prezintă valori crescute ale ALT în sânge, li se recoltează, când se prezintă la următoarea donare, 5 ml sânge de control. În anul 2004 au fost 11.730 de donatori. Din acest total, 243 de donatori au prezentat valori peste cea normală ale ALT ( 2,07% din numărul total de donatori). În anul 2005, numărul total de donatori a fost de 11.801, din aceștia, 262 prezentând valori peste limita normală a ALT (2,22% din numărul total de donatori). În anul 2006, numărul total al donatorilor a fost 11.101, din care 166 dintre ei au avut o valoare crescută a ALT, peste limita normală (1,49% din numărul total de donatori). Acest lucru a fost posibil datorită introducerii controlului obligatoriu înainte de donare și la donatorii care prezentau valori situate în “zona gri” (50-70 U.I.) și recomandarea unei pauze de 6 luni de la donare cu repetarea analizei și educație sanitară corespunzătoare Concluzii: a) din numărul total de donatori care prezintă ALT cu valori crescute peste limita normală ponderea o reprezintă donatorii fidelizați (peste 75%); b) peste 80% dintre donatorii cu valori ALT crescute sunt de sex masculin; c) pe măsură ce înaintează în vârsta persoanele (născute în anii 1950 și 1960) reprezintă un procent de aproximativ 60% din numărul totalul donatorilor cu valori ALT peste limita normală; d) controlul ALT la toți donatorii care au prezentat valori crescute ale ALT la donarea anterioară și la cei cu valori situate în “zona gri” este un factor important al scăderii numărului de rebuturi cu repercusiuni și asupra îmbunătățirii stării de sănătate a populației prin educația sanitară primită din partea personalului C.T.S.

Poster

EVOLUTIA NUMARULUI DE DONATORI DE SANGE REPARTIZATI PE GRUPE DE VARSTA SI SEX LA CTS BRAILA IN PERIOADA 2000 2006

E. M. Butnaru, M. Iugulescu  
Centrul de Transfuzie Sanguină Brăila, România

Introducere. Donarea de sânge este un profund act umanitar față de semenii, este un gest nobil de ajutor al omului aflat în suferință. Donarea de sânge nu poate fi înlocuită de nici un fel de tratament, fiind de maximă eficiență. CTS Brăila promovează donarea de sânge benevolă, neremunerată și anonimă, selectarea cât mai corectă a donatorilor, creșterea numărului de donatori fidelizați, clinic sănătoși, selectați din grupul de populație cu riscul cel mai redus de a avea diverse boli ce se transmit prin sânge, îngrijirea donatorilor prin consiliere pre și post donare. Obiectiv: Obiectivul lucrării de față este analizarea evoluției numărului de donatori de sânge repartizați pe grupe de vârstă și sex în perioada 2000-2006 în C.T.S. Brăila. Material și metode: La baza datelor din prezenta lucrare stă evidența zilnică din registrele de consultație a donatorilor, situațiile centralizate pe grupe de vârstă și sex, zilnice, lunare, trimestriale și anuale și

programele de înregistrare a datelor. Rezultate: A crescut în timp numărul donatorilor fidelizați și în special în perioada 2005 - 2006 numărul donatorilor tineri cu grupa de vârstă cuprinsă între 20-30 de ani. Numărul total al donatorilor a crescut progresiv din 2000 până în 2005, apoi s-a stabilizat în jurul valorii de 11.500. Din repartitia pe sexe se observa ca din 2000 și până în prezent donatorii de sex masculin au fost mai mulți decât cei de sex feminin în 2000-70%, 2001-69%, 2002-67%, 2003-66%, 2004-64%, 2005-62%, 2006-61% dar în timp procentul a scăzut de la 70% în 2000 ajungând la 61% în 2006 iar procentul de donatori de sex feminin a crescut de la 30% în 2000 la 39% în 2006. În ceea ce privește donatorii fidelizați, procentul celor de sex masculin a scăzut, în timp ce procentul donatorilor de sex feminin a crescut de la 25% în 2000 la 33% în 2006, procentul total pentru donatori fidelizați masculin și feminin menținându-se în ultimii 3 ani la 83 % din totalul donatorilor. În ultima perioadă numărul donatorilor fidelizați cu grupa de vârstă 31-40 ani a crescut, în timp ce grupele de vârstă 41-50 și 51-62 au scăzut, ceea ce semnifică întinerirea masei de donatori de sânge. Numărul donatorilor cu o donare anterioară de cel puțin 5 luni, a crescut progresiv în perioada analizată. Concluzii: În perioada analizată (2000-2006) la CTS Brăila: numărul donatorilor de sânge a crescut progresiv, stabilizându-se la 11.101; numărul donatorilor fidelizați s-a menținut constant în ultimii 3 ani în jurul valorii de 83%; numărul donatorilor de sex masculin este mai mare decât cel al donatorilor de sex feminin; din 2000 până în 2006 procentul de donatori de sex feminin a crescut de la 25% la 33%. Numărul donatorilor ocazionali a crescut progresiv, ceea ce înseamnă o revenire a acestora la donare, aspect pozitiv pentru C.T.S. Brăila. A crescut numărul de donatori tineri în corelație cu scăderea celor cuprinși în grupa de vârstă 41-62 de ani.

Poster

#### INCIDENTE ALE DONĂRII DE SÂNGE ÎN PERIOADA 2004 - 2006 LA C.T.S. BRĂILA.

E.M. Butnaru, M. Iugulescu, A.Găitan  
Centrul de Transfuzie Sanguină Brăila, România

Introducere. Considerate ca incidente ale donării de sânge, cu o frecvență relativă scăzută, dar prezente și deloc neglijabile, sunt lipotimia și hipotensiunea arterială. Obiectiv. Studiarea incidenței cazurilor de lipotimie și hipotensiune arterială în ultimii trei ani (2004, 2005, 2006) a cauzelor acestora și realizarea unui plan de prevenire a acestor incidente. Se observa o incidență crescută a cazurilor de hipotensiune arterială și lipotimii în special la donatorii noi și în special la persoane tinere de sex masculin. De asemenea se observa scăderea progresivă a acestor incidente post donare, în anul 2006 înregistrându-se cele mai puține cazuri. Concluzii. Se observa incidența mai mare la donatorii de sex masculin, a cazurilor în special de lipotimie, comparative cu donatorii vechi. În primele zile ale săptămânii și de asemenea în zilele călduroase se observa o creștere a acestor incidente.

Poster

#### REPARTIȚIA PE SEXE ȘI VÂRSTĂ A DONATORILOR NOI DEPISTAȚI CU HBV ȘI HCV LA C.T.S. BRĂILA ÎN ULTIMII 7 ANI

M. Iugulescu, C. Babeș, G. Antohi, T. Brat  
Centrul de Transfuzie Sanguină Brăila, România

Introducere. În România primele centre de transfuzie apar în anul 1949 iar în anul 1952 la 1 noiembrie se înființează Centrul de Transfuzie Sanguină Brăila având ca personal un medic și două surori medicale. După 1990 și până în prezent la C.T.S. Brăila a fost adusă aparatură modernă, recoltarea de sânge se face în sistem închis în pungi de plastic, se depistează markeri virali HBV, HCV, HIV, HTLV prin testarea serului donatorilor prin metoda ELISA, se fac depistări de anticorpi iregulari, fenotipare în alte sisteme eritrocitare decât în sistemul ABO și Rh, fracționarea sângelui în șase subproduse, se face propagandă pentru donarea benevolă și neremunerată și există o preocupare permanentă pentru creșterea calității produselor și a tuturor serviciilor oferite donatorilor și spitalelor. Obiectiv. Lucrarea de față are ca obiectiv prezentarea distribuției markerilor virali HBV și HCV la donatorii noi pe grupe de vârstă și sexe începând din anul 2000. Material și metode. Depistarea markerilor virali se face prin metoda ELISA, alternând la două donări consecutiv două truse de lucru. Rezultatele...se confirmă la Laboratorul Central de Referință pentru VTS. Rezultate. Total donatori 2000-2006: din care: raportat la donatorii noi: donatori noi = 7923 (masculin = 5214: HBV poz.=359=4,531%, HCV poz. = 122= 2,340%; feminin = 2709: HBV poz.= 139=21,754%, HCV poz. = 83=3,064%). În total: HBV poz = 6,285% (din DN); HCV poz. = 2,587% (din DN). Raportat la numărul total de

donări: HBV poz.: 498 donatori : 0,705% (masculin = 359 =0,508%; feminin= 139 = 0,197%); HCV poz. = 205 donatori : 0,290% (masculin = 122= 0,173% ; feminin = 83 = 0,118%). Concluzii finale. Donări fidelizate validate pentru HBV și HCV 2000-2006 = 69.931 din care donări invalidate = 703.

Poster

#### PREZENȚA ANTICORPILOR IREGULARI ANTIERITROCITARI LA DONATORII DIN C.T.S. BRĂILA ÎN PERIOADA 2000-2006 (POSTER)

M. Iugulescu, C. Negutu, G. Demergian  
Centrul de Transfuzie Sanguină Brăila, România

Introducere. Evidențierea anticorpilor iregulari antieritrocitari în serul unei persoane vizează prevenirea accidentelor hemolitice post-transfuzionale. Obiective : Cercetarea anticorpilor iregulari în sângele donatorului, îndepărtarea din transfuzie a pungilor de plasmă depistate cu anticorpi iregulari. Material și metodă: Pentru a evidenția prezența anticorpilor se testează serul donatorilor cu hematii test cu configurație antigenică cunoscută. Există două etape în cercetarea anticorpilor iregulari: 1) Depistaj (RAI ) Test Coombs/Enzima combinat. pozitiv la două determinări succesive; 2) Identificare (stabilirea specificității) la INHT București: a) Test enzimatic (papaina); b) Test Coombs Indirect. Rezultate: În perioada 2000-2006 s-au efectuat 9307 testări din care: 53 cazuri au fost depistate cu RAI pozitiv; 44 cazuri au fost confirmate de INHT București. Concluzii: Procentul de RAI pozitiv la donatorii de sânge în perioada cercetată a fost de 0,569%.

Poster

#### FRECVENȚA GRUPELOR OAB ȘI AFENOTIPURILOR Rh ÎNTR-UN LOT POPULAȚIONAL DIN ZONA BUCUREȘTI

M. Radulian, S. Sirian, Fl. Vlădăreanu  
Institutul Național de Hematologie Transfuzională București, România

Scopul lucrării: o încercare de a estima frecvența grupelor OAB și a fenotipurilor Rh prin investigarea unui număr de 6.000 de persoane. Material și metodă. Subiecții: pacienții cu boli hematologice , persoane politransfuzate, femei gravide, soții și nou-născuții acestora. Metode: tehnica aglutinării pe lamă folosind diferite seruri comerciale (DaiMED, BioRAD) și micrometoda aglutinării în coloană (DiaMED, BioVue, ScanGel). Rezultate:Frecvența grupelor OAB: O = 34,72%, A= 44,12% (subgrup A1=37,20%, subgrup A2=6,82%), B=14,36%, AB= 6,71% (subgrup A1B = 5,12%, subgrup A2B=1,05%). Frecvența fenotipurilor Rh: Dcee=31.15%, DCCee = 20,21%, ddccee= 15,83%, DccEe=14,30%, DccEe= 11,70%, Dccee0 2,80%, dccEc=1,095, ddccee=15,83%, DccEe=14,30%, DccEe=11,70, Dccee=2,80%, dccEe=1,09%, dCcee=1,03%, DccEE=1,03%, dCee=0,24%, dccEE=0,23%, dCcEe=0,12%, DCCee=0,12%. Concluzii: rezultatele noastre sunt foarte apropiate de datele din literatură referitoare la aria noastră geografică. Micile diferențe pot fi explicate prin particularitățile lotului investigat de noi. Poster

#### TESTĂRI IMUNOHEMATOLOGICE ERITROCITARE CU ERITROCITE MAGNETIZATE

S. Sirian, M. Radulian, Fl. Vlădăreanu  
Institutul Național de Hematologie Transfuzională București, România

Introducere. Determinările imunohematologice cu eritrocite magnetizate (Diagast) utilizează hemaglutinarea în microplăci, cu eritrocite magnetizate permițând sedimentarea lor rapidă, fără necesitatea centrifugării. Tehnică și reactivi: Fenotipări eritrocitare în sistemul OAB și RhKell, depistajul (screening-ul de anticorpi iregulari antieritrocitari prin TCI cu ser AG anti IgG, linia Diagast Freelys-Nano, comparativ cu tehnica de rutină a laboratorului (DiaMed). Rezultate: Evidențierea cu acuratețe a fenotipurilor OAB , RhD standard și a celorlalți factori ai sistemului Rh și K. Evidențierea anticorpilor antieritrocitari din clasa IgG(antiD, antiD+C, antiD+E, antiK, antiM). Concluzii: Tehnica cu eritrocite magnetizate, utilizând linia Diagast Freelys, este utilă în determinările obligatorii pretransfuzionale, pentru evitarea reacțiilor hemolitice transfuzionale.

Poster

## FRECVENTA ANTICORPILOR ANTIERITROCITARI LA DONATORII DE SANGE DIN C.R.T.S.CLUJ-NAPOCA IN 2006

C. Zdrenghea, E. Chiorean  
Centrul de Transfuzie Sanguină Cluj, România

Introducere : In vederea asigurării securității transfuzionale din punct de vedere imunohematologic, în conformitate cu legislația internă și internațională, pe lângă determinarea/verificarea grupului OAB și RhD, ca metodă de rutină la toți donatorii de sânge se efectuează cercetarea anticorpilor iregulari antieritrocitari. Material și metode : In anul 2006 au fost testați 16248 donatori de sânge pentru prezența de anticorpi iregulari antieritrocitari. Ca metode de lucru s-au folosit : macrometoda de hemaglutinare în fază lichidă și micrometoda hemaglutinării în gel, cu reactivi DiaMed și ScanGel. Rezultate : 242 donatori (1,50%) sunt cu anticorpi antieritrocitari iregulari prezenți. Pentru 80 s-au făcut identificări de anticorpi, cu următoarele rezultate :anticorpi anti-Rhesus 34 (42,5%); anticorpi anti-Lewis 35 (43,75%); anticorpi anti-Kell 3 (3,75%); anticorpi anti-papaină 4 (5,0%); anticorpi anti-Duffy 1 (1,25%); autoanticorpi 3 (1,25%). Concluzii : Deși frecvența anticorpilor iregulari antieritrocitari este redusă (1,50%) ,faptul că au fost identificați anticorpi cu semnificație în transfuzia sanguină ( ex. anti-D) denotă importanța acestor teste, contribuind la prevenirea unor reacții transfuzionale de incompatibilitate și aloimunizării posttransfuzionale.

Poster

## DISTRIBUTION ON SEX AND AGE FOR BLOOD DONORS WITH ALT OVER 70U.I. AND NEW AND FAITHFULLY DONORS IN LAST 3 YEARS AND FIRST HALF OF 2007 AT CTS BRAILA

M.Iugulescu, L. Ionescu, E. Mihăilă  
Blood Transfusion Center Brăila - Romania

Introduction. Growing the activity of ALT in serum or in plasma is an indicator of apparition and evolution of lesions of cells of liver The diseases who causes grow activity ALT are acute and chronic hepatitis ,mononucleosis ,parasitical diseases, brucellosis , yellow fever, neoplasm of liver, hemochromatosis leukemia . ALT grow in alcoholism in obesity too . The level of ALT in function by age, sex or race and the normal level of ALT can be different for different populations. Objective. The research of growing activity ALT in blood ,elimination of blood transfusion a bags of blood who presents value for ALT over normal and following of blood donors. Material and methods. For following activity of ALT use kit of reactive ALT SENTINEL. Samples of blood with ALT over normal are repeat in doublet next day. For donors with value for ALT over normal in blood , before the next donation will be take 5 ml blood for testing. In 2004 were 11730 donors. Of this number 243 donors presents value for ALT over normal in blood(2,07%). In 2005 were 11801 donors. Of this number 262donors presents value for ALT over normal in blood(2,22%). In 2006 were 11101 donors. Of this number 166 donors presents value for ALT over normal in blood(1,49%). This is possible because introduction compulsory control before donation for donors who present value for ALT situated in “gray zone”(50-70UI) and recommendation a break for 6 months of donation and then repeating test and sanitary education. Conclusions. There are donors with value for ALT over normal particularly faithfully donors (over 75%). Over 80% donors with value for ALT over normal are male donors. People was born in 1950-1960 presents a percent 60% of total number of donors with value for ALT over normal. The control for ALT for all donors who presents value for ALT over normal and for donors who present value for ALT situated in “gray zone”(50-70UI) is a very important because in this way rejected is reduce and level of health for people is improve through sanitary education by staff of CTS Brăila.

Poster

## THE EVOLUTION OF NUMBER OF DONORS OF BLOOD DISTRIBUTES IN GROUP OF AGE AND SEX AT CENTER OF BLOOD TRANSFUSION-BRAILA IN 2000-2006

E. M. Butnaru , M. Iugulescu



Donation of blood is a deep humanitarian act for fellow creatures ,it is a noble gesture of help for the human being in suffering. Donation of blood can't be replace by another treatment and it is of maxim efficiency. Center of blood transfusion Brăila promote donation of blood voluntary , unremunerated and anonymous, selection as well as possible of donors of blood , growing of number of faithfully donors, clinical health, care of donors through advising pre and post donation. Objective. Objective of present paper is analyzed of evolution of number of donors of blood distributes in group of age and sex at Center of blood transfusion-Brăila in 2000-2006. Material and methods. At base of dates in present paper is daily evidence from consultation registers of donors, centralization situations on group of age and sex daily, monthly, quarterly and yearly and programs of recording dates. Results. Growing in time number of faithfully donors and particularly in this period 2005-2006 number of youth donors with ages from 20 at 30 years. The total number of donors grow gradual from 2000 to 2005 and then it was stabilization around at number 11101 in 2006. From distribution on sex, we see that number of male donors from 2000 at present was more than female donors in 2000-70%, 2001-69%, 2002-67%, 2003-66% , 2004-64%, 2005-62%, 2006-61% but in time the percent failing from 70% in 2000 at 61% in 2006 and the percent of female donors raise from 30% in 2000 at 39% in 2006. About faithfully donors, percent of male donors failed and female donors raised from 25% in 2000 at 33% in 2006, Total percent of faithfully male and female donors maintaining in last 3 years at 83% of total number. In last time, the number of faithfully donors of group age 31-40 raised what means a great number of youth donors in time group of age 41-50 and 51-62 reduced. In this time, the number of occasionally donors gradual grow. Conclusions. In this time 2000-2006 in CTS Braila. The number of blood donors grow gradual and then it was stabilization at 11101. Total percent of faithfully donors maintaining in last 3 years at 83% of total number. The number of male blood donors is more than female blood donors. From 2000 to 2006 the percent of female donors grow from 25% at 33%. In this time the number of occasionally donors gradual grow. The number of youth donors grow while the number of donors in group of age 41-62 fail .

Poster

#### INCIDENTS OF BLOOD DONATION IN 2004, 2005 AND 2006 AT BTC BRAILA

E. M. Butnaru , M. Iugulescu , A.Găitan  
Blood Transfusion Center Brăila, Romania

Introduction. There are incidents of blood donation , with low frequency , but present and not negligible lipothymia and low blood pressure. Objective. Studying of incidents of cases of lipothymia and low blood pressure in last years and their causes and realizing one plan of prevention of these incidents. We see a growing incidents of cases of lipothymia and low blood pressure especially to new donors of blood particularly at youth male persons. From 2004 until 2006 these cases low gradual .Conclusions. Growing incidence for new male donors of blood particularly lipothymia. Growing these incidents especially in first days of week and warm days.

Poster

#### DISTRIBUTION ON SEX AND AGE FOR NEW BLOOD DONORS WITH HBV AND HCV AT CTS BRAILA IN LAST 7 YEARS

M. Iugulescu, C.Babes, G. Antohi, T. Brat  
Center of Blood Transfusion Braila

Introduction. First centers of transfusion appeared in Romania in 1949; and in 1952 to first November establishment the Center of blood transfusion Braila with one physician and two nurses. After 1990 to present in CTS Braila was bring modern equipment ,collection of blood made in close system in plastic bags , discover infectious markers HBV, HCV,HIV, HTLV through testing donor's serum with ELIZA method, discover irregular antibodies, made phenotype in another system except ABO and Rh , dividing blood in six produces, made advertising for voluntary, unremunerated and there is permanent care for improve of quality of produces and services for donors and for hospitals. Objective. This paper has got objective the presents distribution infectious markers HBV and HCV for new blood donors on the group of age and sex, beginning with year 2000. Material and methods. Discovering infectious markers through ELIZA

method use two kits of work for two consecutive donations, alternative. Results are confirmed at Central Laboratory of Reference for VTS. Results. Total number of donors in 2000-2006 for new donors 7923 (male-5214-HBV 359-4,531%, HCV-122-2,340%; female 2709-HBV-139-2,754%,HCV-83-3,064% ).Total HBV-6,285% , HCV2,587%. For total number of donations HBV 498 donors -0,705%-( male -359-0, 508%, female-139-0,197%); HCV -205 donors -0,209%(male -122-0,173%, female-83-0,118%). Conclusions. Of total number of faithfully donations in 2000-2006 are validated 69931 and only 703 invalidated.

Poster

#### THE PRESENCE OF IRREGULARS ANTI-ERYTHROCYTE ANTIBODIES FOR BLOOD DONORS AT CTS BRAILAIN 2000-2006

M. Iugulescu, C. Negutu, G. Demergian  
Blood Transfusion Center Brăila, Romania

Introduction. Made evidence the irregular anti-erythrocyte antibodies in person's serum is important for preventing hemolytic accidents post - transfusion. Objective. Researching of irregular antibodies in donor's blood , removal of transfusion all bags of plasma with irregular antibodies. Material and methods. For made evidence the presence antibodies we test donor's serum with red cells with know configuration antigenic. There are two stages in the researches irregular antibodies. 1 Finding out(RAI) Coombs Test enzyme aggregate works positive at two successive determinations. 2 Identification (specification settlement) at INHT Bucharest. A) enzymatic test (papayna). B)Coombs test indirect. Results. In this period of 2000-2006 there were 9307 testing made which 53 cases with RAI positive ,44 cases were confirmed of INTH Bucharest. Conclusions. The percentage of RAI positive for blood donors in this time was 0,569%.

Poster

#### DISTRIBUTION OF OAB BLOOD GROUPS AND Rh GENOTYPES IN A GROUP OF PEOPLE FROM BUCHAREST AREA

M. Radulian, S. Sirian, F. Vladareanu  
National Institute of Transfusion Hematology, Romania

The purpose of the study an attempt to estimate the frequency of OAB blood groups and Rh genotypes by investigation of a group of 6000 persons. <br/> Material and methods. Subjects: patients with haematological disease, politransfused people, pregnant women, their husbands and newborns. <br/> Methods: haemagglutination on the plate using different series of commercial blood group serum (DiaMed, BioRad) and column haemagglutination micromethods (DiaMed, BioVue, ScanGel). <br/> Results: the frequency of ABO blood groups: group O = 34,72%, group A=44,12% (subgroup A1=37,29%, subgroup A2=6,82%), group B=14,36%, group AB=6,17% (subgroup A1BB=5,12%, subgroupAB=1,05). <br/> The frequency of Rh genotypes: Dccee=31,15%, DCCee=20,21%, ddccee=15,83%, DccEe=14,30%, DccEe= 11,70%, Dccee=2,80%, dccEe=1,09%, dCcee=1,03%, DccEE=1,03%, dCCee=0,24%, dccEE=0,23%, dCcEe=0.12%, DCCEe=0,12%.<br/> Conclusions: Our results are approximatively in correlation with the data from literature for our geographical area. However some various can be explained by the peculiarities of our investigated group of people. <br/>.

Poster

#### IMMUNOHEMATOLOGICAL TESTINGS WITH MAGNETIZED-ERYTHROCYTES

S.Sirian, M. Radulian, F. Vlădăreanu  
National Institute of Transfusion Hematology, Romania

Background: immunoematological testings with magnetized erythrocytes (Diagast, Freelys) is a microplate method for blood grouping and antibody screening. In this technology red cells are coated with magnetic particles, which

allowed their rapid sedimentation when they are placed on a magnet replacing the centrifugation. Methods, reagents: ABO and RhD blood grouping, RhK phenotyping, and antibodies screening by Indirect Antiglobulinic Test (IAT) with anti IgG serum, with Diagast FreelysNano Workstation, comparatively with DiaMed as routine laboratory technology. Results: The same results in ABO, RhD, RhK phenotyping. In antibody screening, IAT with anti IgG serum, detected some clinically significant IgG class antibodies such as anti D, anti D+C, anti D+E, anti Kell, anti M. Conclusion. Diagast Freelys Nano Workstation is useful in pretransfusional testings for the increasing of the transfusional safety.

Poster

#### ANTI-RED CELLS ANTIBODIES FREQUENCY IN BLOOD DONORS AT BTS CLUJ-NAPOCA IN 2006

C. Zdrengea, E. Chiorean

Blood Transfusion Center - Cluj, Romania

**Introduction:** In order to ensure the transfusion safety from immunohaematologic point of view, in compliance with the domestic and international laws, and besides the determination/verification of the OAB/RhD group all blood donors are submitted to a routine checking of the irregular anti-red cell antibodies. **Material and methods:** In 2006 the presence of irregular anti-red cell antibodies have been tested on 16248 blood donors. The methods used have been: haemagglutination in liquid stage, as well as micromethod of haemagglutination in gel with DiaMed and ScanGel reagents. **Results:** A number of 242 donors (1,5%) proved the presence of the irregular anti-red cell antibodies. Antibodies have been identified in 80 blood donors with following results: anti Rhesus antibodies 34 (42,5%); anti-Lewis antibodies 35 (43,75%); anti-Kell antibodies 3 (3,75%); anti-papain 4 (5,0%); anti-Duffy 1 (1,25%); auto antibodies 3 (1,25%). **Conclusions:** Even the frequency of the irregular anti-red cell antibodies is reduced (1,5%), the identification of the presence of antibodies with great significance for the blood transfusion (e.g. anti-D) reveals the importance of these tests, contributing to prevent the post transfusion reactions of incompatibility and alloimmunization.