

2019 foi de 0,9% (n = 12.460 doadores), janeiro de 2020 foi de 0,9% (n = 1.221 doadores). Descarte sorológico por Sífilis teste treponêmico, método quimioluminescência no período de fevereiro a dezembro de 2020 foi de 2,7% (n = 12.662 doadores) e de janeiro a julho de 2021 foi de 2,71% (n = 8.732 doadores). **Discussão:** Os testes não treponêmicos são realizados pela metodologia de floculação. Os resultados, quando positivos, são liberados na forma clássica de títulos. Os resultados falso-positivos são as principais desvantagens deste teste, que podem acontecer devido à reação cruzada com outras infecções, gravidez, doenças autoimunes e uso de drogas ilícitas. Resultados falso-negativos podem ocorrer em casos de infecção muito precoce ou tardia. Os testes treponêmicos detectam anticorpos específicos que podem permanecer positivos por toda a vida. Observou-se que em virtude da especificidade do método, o aumento do descarte sorológico por Sífilis era esperado. Isso fez com que o IHEBE, no momento do planejamento para mudança de teste, estabelecesse um aumento da meta de comparecimento e coleta/dia; logo, novas estratégias na captação foram implementadas para garantia e segurança no atendimento aos pacientes. Em virtude deste aumento, o número de doadores inaptos em investigação também se elevou, e o consultório de atendimento aos inaptos precisou rever seus procedimentos operacionais padrão – POP. **Conclusão:** Após análise, observou-se incremento considerável de descarte por sífilis com a mudança de metodologia. Apesar da boa sensibilidade do teste não treponêmico e de seu baixo custo, optou-se pela mudança para o teste treponêmico devido a especificidade. Quando o Instituto decidiu que estava no momento de automatizar a pesquisa para Sífilis, fez-se necessário uma reunião de planejamento envolvendo os setores de captação, coleta, e liberação para elaboração de um plano de ação visando minimizar os impactos previsíveis da mudança de metodologia.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.714>

HEMATOLOGIA LABORATORIAL

HEMATOLOGIA LABORATORIAL

A IMPORTÂNCIA DO PCR DIGITAL NA DETECÇÃO DA MUTAÇÃO D816V DO GENE KIT NO DIAGNÓSTICO DA MASTOCITOSE SISTÊMICA

L Nardinelli^{a,b}, EA Ramos^c, EDRP Velloso^{a,c,d}, LL Marchi^d, V Rocha^{a,d}, I Bendit^{a,b}

^a Laboratório de Investigação Médica em Patogênese e Terapia Alvo em Onco-Imuno-Hematologia (LIM-31), São Paulo, SP, Brasil

^b Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), Laboratório de Biologia Tumoral da Disciplina de Hematologia, São Paulo, SP, Brasil

^c Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), Laboratório de Citogenética da Disciplina de Hematologia, São Paulo, SP, Brasil

^d Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil



Objetivo: Recentemente, a reação em cadeia da polimerase digital (dPCR) surgiu como um método sensível, rápido e de custo efetivo para detectar diferentes marcadores tumorais de baixa frequência alélica. Este estudo teve como objetivo padronizar e validar um teste para detecção da mutação D816V do gene KIT em pacientes com suspeita de mastocitose sistêmica (MS) por dPCR na rotina laboratorial. **Materiais e métodos:** Foram utilizadas amostras de DNA genômico extraídas do sangue periférico de 17 pacientes com suspeita de MS com o kit QIAamp® DNA Blood Midi Kit. A pesquisa da mutação D816V do gene KIT foi realizada pelo sequenciamento clássico de Sanger, utilizando-se o reagente BigDye Terminator v3.1™ em equipamento ABI3500 e pela técnica de dPCR, na plataforma QuantStudio 3D e utilizando-se o ensaio Taqman LiqBiopsy Digital Hs0000000039_rm. As amostras foram testadas em duplicatas e quando a frequência alélica estava próxima de 0,1%, em triplicatas. **Resultados:** Pelo método do sequenciamento de Sanger a mutação D816V foi detectada em apenas uma amostra. Já pela técnica da dPCR, a mutação foi detectada em 14 amostras, sendo que a média da frequência alélica foi de 2,1% (0,15% – 6,79%), sendo que houve boa concordância entre as replicadas. Das 4 amostras testadas em triplicatas, a presença da mutação foi confirmada em 2, com uma frequência alélica média de 0,15% (0,14% - 0,16%). **Discussão:** A MS tem origem na proliferação clonal de mastócitos anormais em órgãos extra-cutâneos. A apresentação clínica da MS é heterogênea, variando da doença indolente até uma variante mais agressiva. Atualmente, a Organização Mundial da Saúde classifica a mastocitose como uma categoria distinta de doença e mutações do gene KIT, particularmente a mutação D816V ocorre em quase todos os casos, independentemente do subtipo, sendo, desta forma, um marcador importante para o diagnóstico da doença, além de alvo terapêutico. O dPCR se mostrou uma técnica sensível, frente ao sequenciamento de Sanger, capaz de detectar a mutação D816V em sangue periférico, descartando assim a necessidade de punção medular. Além disso, proporciona a quantificação absoluta da frequência alélica da mutação, com boa concordância entre as replicatas, o que é importante para a estratificação de risco. O protocolo é rápido, com possibilidade de liberar o resultado em até 5 dias, sendo que a montagem dos chips utilizados e a análise são as etapas mais trabalhosas. O custo do teste também é efetivo, especialmente quando comparado com outras técnicas de sensibilidade semelhante, como o NGS. Uma limitação encontrada é que nesta técnica a reação é específica para cada mutação, não abrangendo desta forma as demais mutações do gene KIT, como V560G, D815K, D816Y, D816F, D816H e D820G que também podem ser encontradas na MS em cerca de 5% dos casos, o que pode explicar os 2 casos negativos encontrados.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.715>

A INTERFERÊNCIA DO FATOR REUMATOIDE NA DOSAGEM ANTIGÊNICA DO FATOR DE VON WILLEBRAND

MCL Falco, AA Garcia, VG Freitas, CCI Streicher, NR Ziolla, IG Vitoriano, MS Urazaki, I Garbin, GM Raitz, NF Beccari



Fundação Faculdade Regional de Medicina de São José do Rio Preto (FUNFARME), São José do Rio Preto, SP, Brasil

Objetivo: Relatar caso de doença de von Willebrand (DVW) do tipo 3 com níveis de antígeno de Von Willebrand (FVW:Ag) falsamente elevados pela presença de fator reumatoide (FR). **Metodologia:** Dados obtidos por meio de entrevista clínica em consulta ambulatorial no Hemocentro de São José do Rio Preto e revisão de prontuário eletrônico, após autorização prévia do paciente. **Relato de caso:** Homem, 63 anos, hipertenso, portador de hepatite C tratada (RNA-HCV não detectável) e de artrite reumatóide (AR), encaminhado ao nosso serviço para acompanhamento de doença de von Willebrand do tipo 3. O paciente realizava seguimento em outro serviço, sendo admitido no Hemocentro de São José do Rio Preto em 2020. No documento de encaminhamento, os testes FVW:Ag e atividade do cofator de ristocetina (FVW:Rco) encontravam-se em níveis indetectáveis e a dosagem do FVIII reduzida, corroborando com a classificação de DVW tipo 3. Na sua admissão, foi solicitada nova coleta de exames, na qual a dosagem FVW:Ag realizada por método de imunoturbidimetria foi de 158% (referência 50-160%), ao passo que os testes FVW:Rco e FVIII:C mantiveram o mesmo padrão encontrado no momento do diagnóstico. Realizados exames laboratoriais complementares, tal como a dosagem de FR, por ensaio imunoturbidimétrico, cujo resultado foi de 378 UI/mL (referência 0-14 UI/mL). Paciente relatou que não estava realizando acompanhamento reumatológico de AR. Considerada, dessa forma, a detecção e a dosagem elevada do FVW:Ag como secundária a presença do fator reumatoide. **Discussão:** O tipo 3 é uma apresentação rara da DVW que representa menos de 5% dos casos dessa patologia. O referido tipo tem padrão autossômico recessivo e apresenta como manifestações clínicas sangramentos que envolvem tecido subcutâneo e articulações, tal como ocorre nas hemofilias. Laboratorialmente é caracterizado por níveis indetectáveis de FVW:Ag e níveis muito baixos de FVIII, bem como pela ausência de aglutinação no teste FVW:Rco. Um dos métodos de detecção de FVW:Ag é a imunoturbidimetria. Nesse método, microesferas de látex revestidas por uma ligação covalente com anticorpos específicos do FVW são misturadas ao plasma pobre em plaquetas, cujo nível FVW se quer avaliar, de modo a gerar uma reação antígeno-anticorpo e a aglutinação das microesferas. Esse fenômeno propicia o aumento da turbidez da solução que é mensurado por fotometria e reflete a quantidade de FVW presente no plasma. A imunoturbidimetria consiste em um ensaio de análise rápido e é utilizado também no diagnóstico da AR, visto a possibilidade da detecção do FR por esse método. Nesse contexto, pacientes com AR podem, pela presença do FR, apresentar aglutinação das micropartículas de látex e aumento da turbidez da mistura no ensaio predito, superestimando, assim, a dosagem de FVW:Ag. **Conclusão:** A presença de elevados níveis de FR pode colaborar para uma falsa avaliação quantitativa do FVW:Ag pelo ensaio imunoturbidimétrico. Assim, quando há desproporção entre função e antígeno de FVW, é importante descartar esta interferência do FR, tornando o diagnóstico e classificação da DVW mais precisos.

ANÁLISE DA AMPLITUDE DE DISTRIBUIÇÃO DOS ERITRÓCITOS (RDW-CV E RDW-SD) EM DIFERENTES INTERVALOS DE VOLUME CORPUSCULAR MÉDIO (VCM)

VM Ferraz^a, BR Cruz^b, MF Moss^b, DC Kalva-Borato^b

^a Hospital Universitário dos Campos Gerais, Ponta Grossa, PR, Brasil

^b Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), Ponta Grossa, PR, Brasil

Objetivos: A amplitude de distribuição eritrocitária (RDW, do inglês *Red Blood Cell Distribution Width*) demonstra aplicações únicas de diagnóstico que podem ser incorporadas à prática clínica, contribuindo para uma melhor compreensão sobre a condição do paciente, tanto para patologias hematológicas como não hematológicas. O RDW expresso como coeficiente de variação (RDW-CV) e como desvio-padrão (RDW-SD) são dados matemáticos e estatísticos, calculados a partir do histograma eritrocitário, que apresentam diferenças em sua forma de obtenção pelo analisador hematológico. Portanto, o objetivo desse estudo foi avaliar as variações do RDW-CV e RDW-SD de acordo com diferentes intervalos do volume corpuscular médio (VCM): microcítico, normocítico e macrocítico.

Material e métodos: Foram selecionados do analisador hematológico XN-1000® (Sysmex, Kobe, Japan): contagem de eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, VCM, RDW-CV e RDW-SD. Idade e sexo foram obtidos do prontuário médico eletrônico. Os pacientes foram divididos em três grupos de acordo com diferentes intervalos do VCM: microcítico, normocítico e macrocítico. O grau de variação de anisocitose detectado pelas diferentes expressões de RDW foi calculado em porcentagem de aumento em relação aos valores de referência, pelas seguintes equações: i) $RDW-CV = (\text{valor encontrado} - 15.5) \times 100 / 15.5$, para o sexo feminino; ii) $RDW-CV = (\text{valor encontrado} - 15.6) \times 100 / 15.6$, para o sexo masculino e iii) $RDW-SD = (\text{valor encontrado} - 47.0) \times 100 / 47.0$, para ambos os sexos. **Resultados:** Foram avaliados 150 indivíduos com idade média de $60,36 \pm 17,17$ anos, sendo 72 (48%) do sexo feminino e 78 (52%) do sexo masculino; 51 (34%) apresentaram microcitose, 52 (35%) normocitose e 47 (31%) macrocitose. Nos hemogramas com microcitose, 30 (58%) indivíduos não exibiram alteração para o RDW-SD, no restante houve discrepância entre o grau de variação de anisocitose detectado pelo RDW-CV e RDW-SD. Na normocitose observou-se maior congruência entre RDW-CV e RDW-SD. Na macrocitose o RDW-SD demonstrou grau de variação de anisocitose superior ao RDW-CV na maioria das amostras. Na avaliação da correlação entre o RDW-CV, RDW-SD e os outros parâmetros eritrocitários, o grupo com microcitose não apresentou nenhuma relação. Na normocitose houve forte correlação ($r = 0.760$, $p < 0.001$) entre RDW-CV e RDW-SD e fraca correlação entre RDW-SD com VCM ($r = 0.390$, $p = 0.004$). Na macrocitose houve fraca correlação negativa ($r = -0.463$, $p = 0.001$) entre RDW-CV e RDW-SD e fraca correlação entre RDW-SD e VCM ($r = 0.310$, $p = 0.034$). **Discussão:** Ao interpretar anisocitose eritrocitária, o uso do RDW-CV em conjunto com o RDW-SD é altamente recomendado. A literatura demonstra que o RDW-CV apresenta maior sensibilidade em detectar anisocitose em VCM

