

mediana 57 anos (10 meses a 89 anos); 31(10,9%) amostras não possuíam indicação do motivo para a realização do exame. Dos 254(89,1%) exames que possuíam tal dado, 33(13%) tinham Mieloma Múltiplo(MM) como principal suspeita diagnóstica, 19(7,5%) pancitopenia, 19(7,5%) anemia, 17(6,7%) plaquetopenia, 9(3,5%) leucopenia, 22(8,6) Leucemia Aguda (LA), 20(8%) Doença Mieloproliferativa Crônica (DMPC), 13(5,1%) doença linfoproliferativa crônica/linfoma, 5(2%) leucocitose, 1(0,4%) calazar e 2(0,8%) pesquisa de metástase. Trinta e nove pacientes (15,3%) realizaram mielograma na pesquisa de doença residual mensurável (DRM): 13(33,4%) para leucemia linfoblástica aguda, 8(20,6%) leucemia mieloide aguda; 6(15,4%) para leucemia promielocítica aguda, 5(12,8%) MM, 5(12,8%) Leucemia Mieloide Crônica e 1(2,5%) exame foi referenciado como DRM, porém não havia descrição da doença de base na solicitação médica. O resultado do mielograma mais frequente foi o hipocelular/hemodiluição, correspondendo a 49(17,2%) do total de exames avaliados, seguido por 39(13,7%) mielogramas normais. A presença de displasia de uma ou mais linhagens hematopoéticas esteve presente em 50(17,5%) das amostras analisadas, 6(2,1%) síndrome mielodisplásica, 27(9,5%) LA, 22(7,7%) DMPC; 8(2,8%) hiperplasia megacariocítica, 2(0,7%) metástase de tumor sólido. Das 39 pesquisas de DRM, 19 (48,7%) estavam em remissão morfológica pelo mielograma. Devido a heterogeneidade do grupo analisado, os valores hematimétricos médios encontrados no hemograma não foram estatisticamente significativos. **Conclusão:** Os mielogramas em nossa instituição foram realizados para uma ampla gama de condições hematológicas que variam desde diagnóstico de malignidades altamente agressivas até doenças não malignas. A presença de um ou mais tipos de citopenias foi a indicação mais comum, seguida pela pesquisa de DRM e suspeita de MM. A alta frequência de exames hipocelulares/hemodiluídos pode ser atribuída a dificuldades anatômicas ou mesmo da patologia de base dos pacientes. Entretanto, não exclui a necessidade de treinamento e capacitação de profissionais para a realização da coleta de forma adequada. Assim, o mielograma é uma técnica manual importante ferramenta complementar na avaliação diagnóstica de muitas patologias hematológicas. O sucesso de sua análise depende diretamente desde a adequada indicação do exame, preenchimento de hipótese diagnóstica até adequadas técnicas de coleta, confecção do esfregaço, coloração da amostra.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.721>

AVALIAÇÃO DE ENSAIOS PARA DIAGNÓSTICO E ACOMPANHAMENTO DA DOENÇA DE VON WILLEBRAND APÓS CONGELAMENTO DE AMOSTRAS

DRC Silva, LC Resende, VE Oliveira, NDSR Santos, ANL Prezotti, MPSV Orletti, AR Neto, DMDC Rocha, JSM Duarte, SS Marcondes

Centro Estadual de Hemoterapia e Hematologia
Marcos Daniel Santos (HEMOES), Vitória, ES, Brasil



Introdução: A influência dos eventos pré-analíticos é um tema vastamente abordado em testes laboratoriais e particularmente de maneira mais enfática para amostras de plasma destinadas aos ensaios de hemostasia. Especialmente na Doença de von Willebrand (DvW) a influência dos fatores pré-analíticos merece destaque devido à complexidade desse diagnóstico. As publicações sobre a estabilidade das amostras destinadas a estes ensaios são mais frequentes e referem-se aos testes de rotina básica e em segundo plano alguns ensaios especiais, porém poucos são os dados sobre ensaios incluindo a fase pré-analítica. **Objetivo:** Avaliar a viabilidade de amostras congeladas aplicadas para diagnóstico e monitoramento da DvW, referente a dosagem dos testes de Fator de von Willebrand Antígeno (vWF-Ag) e Atividade de Fator von Willebrand (vWF-AC). **Métodos:** Foram comparados resultados de 109 amostras analisadas em dois tempos distintos, armazenadas em freezer a -80°C. Foi selecionado inicialmente, os dados referente as amostras destinadas a rotina laboratorial, onde o tempo máximo entre coleta e execução do ensaio é de 15 dias. A segunda fase foi realizada com intervalo de tempo de armazenamento entre 2 meses a 1 ano, em análise cega, ou seja, processados indistintamente sem identificar qual período de armazenagem de cada amostra. **Resultados:** Nos ensaios para vWF-Ag e vWF-AC, o valor de $R^2 = 0,99$. Considerando que o valor do R^2 foi superior a 0,95, isso mostra que existe correlação linear entre os métodos, nos dois ensaios processados. **Discussão:** Os dados estatísticos encontrados são favoráveis, ratificando a forma de armazenagem e estabilidade da temperatura, que proporcionaram a reprodutibilidade das amostras e assim, foi possível constatar que os dois ensaios para DvW poderão ser efetuados mesmo até 1 ano de armazenados em freezer a -80°C. **Conclusão:** As amostras armazenadas em freezer a -80°C em conformidade com os guidelines Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) e recomendações da Federação Mundial de Hemofilia (WFH), preservaram os analitos destes ensaios para análise posterior e estão adequadas para serem utilizados no diagnóstico e acompanhamento do paciente com DvW.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.722>

CIRCULATING CELL-FREE DNA (CCFDNA) ISOLATION FROM PATIENTS WITH DIFFUSE LARGE B-CELL LYMPHOMA (DLBCL): COMPARATIVE ANALYSIS OF COMMERCIAL KITS

KS Oliveira^a, HF Culler^a, D Levy^a, JRA Filho^a, D Nogueira^a, LH Silva^a, FLA Fonseca^b, SIPMDN Alves^a, LAPC Lage^a, J Pereira^a

^a Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brazil

^b Faculdade de Medicina do ABC (FMABC), Santo André, SP, Brazil

Introduction: Isolation of circulating cell-free DNA (ccfDNA) and circulating tumor DNA (ctDNA) are useful methodologies for studies of neoplastic genetic material and can provide information about cancer heterogeneity, prognosis and



minimal residual disease (MRD). Therefore, the recovery of ccfDNA in sufficient quantity and adequate purity is crucial to provide accurate and reproducible results. In this study, we investigate the efficiency of four different commercial kits to recover short fragments of DNA compatible with the ccfDNA.

Methods: Ten mL of total peripheral blood from seven patients with Diffuse Large B-Cell Lymphoma (DLBCL) were collected in EDTA and were immediately processed. Plasma was obtained by centrifugation at $1.900 \times g$ for 10 min at 4°C , followed by other centrifugation at $20.000 \times g$ for 10 min at 4°C to remove cellular debris. Aliquots of 1.0 mL of plasma were stored at -80°C until ccfDNA extraction. The ccfDNA extraction was performed using the same samples by the following kits: QIAamp MinElute ccfDNA kit (CFDNA - Qiagen, Hilden, Germany), QIAamp DNA Mini Kit (QBLOOD - Qiagen, Hilden, Germany), Illustra Blood GenomicPrep Mini Spin Kit (GE - GE Healthcare Bio-Sciences Corp, UK) and ccfDNA isolation kit Quick-ccfDNA Serum & Plasma Kit (ZYMO - Zymo Research, Irvine, USA) according to the manufacturer's recommendations. The ccfDNA obtained was eluted in $30 \mu\text{L}$ of elution buffer for the subsequent experiments. The measurement of the ccfDNA obtained for each kit was performed in a Qubit 2.0 fluorometer using Qubit dsDNA HS assay kit (Thermo Fischer Scientific, Waltham, USA). The analysis of integrity, purity and the size of the fragments of DNA were performed in the Agilent 2100 Bioanalyzer (Agilent Technologies, Germany) equipment using the High Sensitivity DNA kit (Agilent Technologies, Germany). **Results:** The results obtained for each commercial kit in the Qubit-analysis were: CFDNA ($0.27 \text{ ng}/\mu\text{L}$), QBLOOD ($0.26 \text{ ng}/\mu\text{L}$), ZYMO ($0.03 \text{ ng}/\mu\text{L}$) and GE ($0.02 \text{ ng}/\mu\text{L}$). The Bioanalyzer electrophoresis showed that CFDNA kit was able to recover two different fragments sizes of ccfDNA one of 360–380 bp ($0.114 \text{ ng}/\mu\text{L}$) and other of 160–180 bp ($1.808 \text{ ng}/\mu\text{L}$). The DNA recovered with QBLOOD revealed sizes of 360–380 bp ($0.031 \text{ ng}/\mu\text{L}$) and 160–180 bp ($0.079 \text{ ng}/\mu\text{L}$). Both kits, GE and ZYMO were not able to isolate fragments of DNA smaller than 10.380 pb. **Conclusion:** We demonstrated that QIAamp MinElute ccfDNA kit (CFDNA) was capable to recovery high quantity of small fragments of DNA compatible with ccfDNA. This result supports the use of protocols based in magnetic beads in experiments working with ccfDNA. Additionally, we highlight the importance to verify the quality and not only the quantity of the DNA extracted to confirm the presence of ccfDNA.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.723>

COEXISTENCE OF ACUTE MONOBLASTIC LEUKEMIA IN A CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUCEMIA: CASE REPORT

P Vicari, VM Sthel, VC Queiroz, SS Ioguy, KMS Lacerda, CC Cabral, S Tufik

Associação Fundo de Incentivo à Pesquisa (Afip) - Medicina Diagnóstica, São Paulo, SP, Brazil

Background: Chronic lymphocytic leukemia (CLL) is associated with an increased risk of other malignancies, such as skin and second hematological malignancies. In the majority

of cases, this usually involves a disease transformation to an aggressive non-Hodgkin lymphoma, multiple myeloma or prolymphocytic lymphoma. CLL patients can rarely develop acute myeloid leukemia (AML). We have reported a case in which there was simultaneous presentation of AML and CLL. **Case report:** A 78-year-old man presented with tiredness and mucosal bleeding. Laboratory evaluation revealed a white blood count of $220,970 \mu\text{L}^{-1}$ with 4% of blasts, 69% lymphocytes and 20% monocytes, hemoglobin of $6.7 \text{ g}/\text{dL}$, platelet count of $29,000 \mu\text{L}^{-1}$. A bone marrow aspirate revealed markedly hypercellular bone marrow with 21% blasts and promonocytes and 47% mature lymphocytes. A peripheral blood flow cytometry demonstrated a mature CD5 and CD23 positive B-cell population expressing CD19, low-density CD 20, CD11c, CD25, CD81, CD39 and lambda light chains at 53.02% of lymphocytes, consistent with B-CLL.; In addition, a second population showed CD33, CD13 low-density, CD11b, CD64, CD14, CD36, HLA-DR, CD56, CD123, CD11c, CD38 and CD9 positives in 39.35% of immature monocytes, consistent with acute monoblastic leukemia. Cytogenetics on bone marrow aspirate showed 48,XY,+4,+8[18]/46,XY [2]. **Conclusion:** The present report highlights the rare possibility of the development of a myeloid malignancy in a patient with lymphoid malignancy. Most of these cases more frequently present as a secondary event in patients receiving chemotherapeutic agents for CLL. Knowledge of this rare association is the key to timely and accurate diagnosis, particularly in patients with atypical presentation. Existing literature demonstrates that AML may also develop concurrently or even after the diagnosis of treatment-naïve CLL patients. Further studies of such patients have potential to provide insight into the pathogenesis of myeloid as well as lymphoid malignancies.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.724>

COMPARAÇÃO ENTRE DUAS DIFERENTES CALCULADORAS ONLINE DE FARMACOCINÉTICA (WAPPS-HEMO VERSUS MYPKFIT)

DRC Silva, LC Resende, VE Oliveira, NDSR Santos, ANL Prezotti, AR Neto, DMDC Rocha, MPSV Orletti, JSM Duarte, SS Marcondes

Centro Estadual de Hemoterapia e Hematologia Marcos Daniel Santos (HEMOES), Vitória, ES, Brasil

Introdução: A farmacocinética (PK) de fatores FVIII e FIX é essencial para a individualização da profilaxia em pacientes hemofílicos. O cálculo da meia-vida e do tempo superior à 1% são estimados por diferentes programas de farmacocinéticas, onde são introduzidos algoritmos matemáticos e podem ser utilizados para várias drogas. Nos últimos anos foram desenvolvidos softwares que realizam uma modelagem multicompartmental de uma derivação Bayesiana para estimativa de dados. **Objetivo:** Avaliar o desempenho e comparar curvas farmacocinéticas utilizando duas calculadoras diferentes, disponibilizadas na Web, para determinar a meia-vida e o tempo superior a 1% do Fator VIII recombinante (rFVIII)

