

resultados para um mesmo paciente, foram superiores a 10% em 86% dos casos. Variações maiores que 20% e 50% entre os valores foram vistos em, respectivamente, 69% e 40% dos indivíduos. Daqueles que apresentaram dosagem de dímeros D alterada na primeira visita, somente 17% tiveram a normalização de seus valores nas visitas subsequentes ao longo da internação e, ao analisarmos apenas os pacientes com dosagem inicial acima de 1.000 ng/mL, esse percentual cai para menos de 9% ao longo do seguimento. **Discussão:** A dosagem de dímeros-D, em pacientes admitidos pelo serviço de emergência, tem seu papel reconhecido como excelente ferramenta para excluir o diagnóstico de evento tromboembólico quando a probabilidade pré-teste não é elevada. No entanto, para pacientes internados o seu papel torna-se questionável, pois vários confundidores clínicos e laboratoriais estão presentes. Contudo, durante a pandemia da CoViD-19, esse exame passou a ser utilizado nesse grupo de pacientes para escores prognósticos, uma vez que, quando alterado à admissão, poderia predizer maior gravidade da doença e estar relacionado a desfechos indesejados. Apesar disso, seu uso seriado ao longo da internação dos pacientes não está bem estabelecido na literatura e o valor dessa estratégia é questionável, uma vez que condutas clínicas específicas não deveriam ser tomadas amparadas unicamente pelos valores encontrados. Além disso, cabe ressaltar, trata-se de exame de elevado custo nas análises clínicas. Os achados aqui expostos mostram, porém, não ser rara a repetição do exame em ambiente hospitalar, com intervalos menores que 30 dias, elevada variação dos valores encontrados e incomum normalização ao longo da internação. **Conclusão:** A dosagem dos dímeros-D mostrou-se alterada em 80% dos pacientes internados. A repetição do exame ocorreu em elevado número de pacientes, com intervalos curtos entre as dosagens, grande variação dos valores encontrados no mesmo indivíduo e infrequente normalização dos que foram elevados inicialmente.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.929>

ALTERAÇÃO DO HEMOGRAMA E CARGA VIRAL EM SARS-COV-2: ESTUDO UNICÊNTRICO

MJL Watanabe^a, AAR Villarinho^a,
CB Monteiro^a, CEA Mendes^a, ES Junior^a,
EDRP Velloso^{a,b}, LC Bento^a, MM Maluf^a,
RMC Penteado^a, JCC Guerra^a

^a Sociedade Beneficente Israelita Albert Einstein,
São Paulo, SP, Brasil

^b Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da
Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

Objetivos: Alterações em parâmetros laboratoriais são descritos na infecção por SARS-Cov-2. O objetivo deste trabalho foi analisar o comportamento de parâmetros do hemograma em relação a infectividade do vírus determinada pelo número de ciclos (CT) do PCR, realizados em um laboratório de referência no período de fevereiro a junho de 2020. **Material e métodos:** Foram incluídos 1.218 portadores de SARS-Cov-2 detectados por RT-PCR (plataformas Roche 6800, Cepheid, protocolo Charité e kit Xgen), e 288 controles (síndromes gripais com

RT-PCR negativo para SARS-Cov-2). O hemograma foi realizado no equipamento XN-10 (SYSMEX) com revisão em lâmina e foram analisados os seguintes parâmetros: nível de hemoglobina (Hb), número de eritroblastos, leucócitos totais, neutrófilos, linfócitos, eosinófilos, desvio à esquerda (presença de metamielócitos), número de linfócitos atípicos e níveis plaquetários. Os pacientes foram divididos em grupos a partir do CT: grupo 1 (1 a 20), grupo 2 (21 a 30), grupo 3 (31 a 40) e grupo 4 (> 40). Para comparação entre grupos foram utilizados os testes ANOVA ou Kruskal-Wallis e comparações múltiplas pelos testes de Tukey e Dunn. **Resultados:** Das 1.218 amostras de infectados, 322 pertenciam ao grupo 1 (alta carga viral), 554 ao grupo 2 (moderada carga viral), 328 ao grupo 3 (baixa carga viral) e 14 ao grupo 4 (muito baixa carga viral). Houve diferença significativa entre todos os parâmetros de hemograma com exceção do número de eritroblastos em relação a todos os grupos (controle e infectados em diferentes grupos de CT). A taxa de Hb foi menor nos grupos 2 e 3 em relação ao controle. O número de leucócitos foi menor no grupo 1 e 2 em relação ao controle, e o número de neutrófilos e leucócitos foram menores no grupo 1 em relação a 2 e 3. O número de linfócitos foi menor em 1, 2 e 3 em relação ao controle, sendo menor no grupo 1 e 2 em relação ao 3. O número de eosinófilos foi menor nos grupos 1, 2 e 3 em relação ao controle sendo menor nos grupos 1 e 2 em relação a 3 e 4. A contagem plaquetária dos grupos 1 e 2 foi menor em relação ao grupo controle e apresentaram menores taxas em relação aos demais grupos de infectados. **Discussão:** Os parâmetros laboratoriais do hemograma mostraram padrão semelhante ao observado em várias infecções virais com queda de Hb, leucócitos, eosinófilos e plaquetas nas fases com maior carga viral, com posterior recuperação destes parâmetros. Entretanto, salienta-se que o grupo controle foi constituído por pacientes com síndrome gripal não SARS-Cov-2, e, assim, é possível considerar que o grupo de infectados pelo SARS-Cov-2 mostrou alterações mais significativas do hemograma desde o momento de alta carga viral até a recuperação em relação ao grupo controle SARS-Cov-2 negativo. Estes dados refletem a fase inicial da pandemia durante a qual as linhagens predominantes foram B.1.1.28 e B.1.1.33 e na ausência de imunização vacinal. **Conclusão:** Concluímos que ao se comparar os resultados laboratoriais de pacientes infectados pela primeira cepa do vírus SARS-Cov-2, esses apresentaram maiores tendências a queda dos parâmetros hematológicos durante o período com maior CV em comparação a infecções por outros agentes etiológicos causadores de síndrome gripal.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.930>

COMPARAÇÃO DE DUAS METODOLOGIAS DE PREPARO DE BIBLIOTECA DE SEQUENCIAMENTO DE NOVA GERAÇÃO PARA A DETECÇÃO DE MUTAÇÕES EM NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS

MS Basqueira, PHS Rodrigues, RC Petroni,
SEA Rosa, RS Reis, FM Malta, KO Pelegrino,
MC Cervato, NH Muto, PV Campregher

Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE), São Paulo, SP, Brasil

Objetivo: O objetivo do trabalho foi comparar a performance de 2 painéis de preparo de biblioteca de sequenciamento de nova geração (NGS), um que utilizava barcodes moleculares (MBC) e o outro sem, no diagnóstico de neoplasias hematológicas, dentre as quais: leucemia mieloide aguda, síndrome mielodisplásica, neoplasia mieloproliferativa, leucemia mielomonocítica crônica e leucemia mielomonocítica juvenil. Trata-se de 2 painéis comercialmente disponíveis, cujo desenho é baseado em genes e regiões de relevância clínica, que apresentam, e /ou estão frequentemente mutados em malignidades hematológicas, de acordo com a literatura científica, com foco em leucemia e desordens mieloproliferativas.

Material e métodos: Foram selecionadas 21 amostras com resultado prévio de um painel mieloide (A), para a validação de um novo painel com MBC (B). As 21 amostras foram destinadas a acurácia do teste e 5 delas também foram utilizadas para a reprodutibilidade sendo, 3 amostras em triplicata interensaio e 2 amostras em duplicata intraensaio. Para o preparo das bibliotecas foram utilizados 2 kits comerciais: kit A que contempla 54 genes e não possui barcodes moleculares e outro kit B de 75 genes que utiliza barcodes moleculares. Para o kit A também foi realizado em paralelo à amplificação dos genes TP53 e CEBPA, para complementação do teste. O sequenciamento das bibliotecas foi realizado na plataforma Nextseq 550 da Illumina. A análise dos dados e das variantes foram realizados em uma plataforma online do fabricante.

Resultados: As métricas gerais do sequenciamento de ambas as metodologias foram satisfatórias. Na acurácia 21/21 (100%) das amostras apresentaram resultados concordantes com os resultados prévios do kit A, onde 75/75 (100%) das variantes reportadas foram identificadas. Além das 75 variantes, outras 85 foram identificadas como verdadeiras pelo kit B e dessas 74/85 (87%) não foram reportadas na análise do kit A, sendo 38 sem cobertura, 30 strand bias, 5 de regiões sujas e 1 de baixa cobertura. As outras 11/85 (13%) variantes verdadeiras estavam presentes nas análises de ambos os kits, só não foram reportadas pois, eram variantes classificadas como benignas ou de significado incerto (VUS). **Discussão:** Os resultados indicam que o MBC é de extrema relevância em análise somática, aumentando a confiabilidade na identificação de variantes verdadeiras, além da melhor performance na uniformidade de cobertura dos genes, inclusive os genes ricos em CG como o caso do CEBPA, dispensando a adição de outros testes confirmatórios para esse gene. **Conclusão:** O kit com barcodes moleculares apresentou uma melhor performance e parece ser o mais indicado no diagnóstico de neoplasias hematológicas.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.931>

OTIMIZAÇÃO DA METODOLOGIA DE SEQUENCIAMENTO DO GENE TP53 PARA A DETECÇÃO DE MUTAÇÕES EM NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS

PM Oliveira, MS Basqueira, LB Lima, GS Oliveira, SEA Rosa, RS Reis, CN Silveira, NH Muto, MC Cervato, PV Campregher

Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE), São Paulo, SP, Brasil

Objetivo: O objetivo do trabalho foi otimizar o procedimento técnico do exame sequenciamento somático do gene TP53 para menor tempo de processamento. A presença de mutações patogênicas em TP53 é um indicador de mau prognóstico em neoplasias hematológicas em geral. Além disso atualmente, existem tratamentos específicos, em casos de leucemia linfóide crônica, que estão indicados especificamente para pacientes portadores de mutações patogênicas em TP53.

Materiais e métodos: Para a otimização do tempo de processamento técnico do preparo de biblioteca para sequenciamento de nova geração (NGS) do gene TP53, foram realizadas algumas alterações na metodologia em rotina: A) substituição de reagentes de amplificação por um mix de amplificação pronto; B) diminuição do número de reações de amplificação de 07 para 03 reações cobrindo todas as porções codificantes e junções éxon-intron do gene; C) substituição da visualização de bandas dos produtos de amplificação pela quantificação dos produtos por fluorimetria. O preparo de biblioteca foi realizado com o Nextera XT DNA Library Preparation Kit (Illumina) de acordo com instruções do fabricante, e o sequenciamento foi realizado na plataforma Illumina, 300 ciclos paired-end. A análise bioinformática foi realizada com pipeline interno, desenvolvido e disponível na plataforma Varsomics. Para a validação das melhorias foram selecionadas 26 amostras com resultado prévio de sequenciamento do gene TP53 por NGS. Das 26 amostras: 20 foram destinadas a acurácia do teste e para a reprodutibilidade, 3 amostras em triplicata interensaio e 3 amostras em triplicata intraensaio. Para o teste de sensibilidade foram selecionadas 03 amostras, as quais foram misturadas em um pool diluindo a frequência alélica das variantes para um range de 2 a 15% e o pool foi testado 20 vezes para determinação do limite de detecção do teste.

Resultados: As alterações aplicadas na metodologia levaram a diminuição do tempo de processamento técnico: a) substituição do mix amplificação de 15 para 5 minutos; B) redução no número de reações de 30 para 10 minutos; C) substituição do gel de agarose pela quantificação dos produtos por fluorimetria de 120 minutos por 10 minutos. Na acurácia 20/20 (100%) das amostras apresentaram resultados concordantes com os resultados prévios, sendo identificadas nessas amostras 100% das variantes esperadas. Os testes de reprodutibilidade intra e interensaio apresentaram 100% de correlação das variantes encontradas no gene TP53, reproduzidas em triplicata 3 intra e 3 interensaio. A sensibilidade ficou mantida em 5% de frequência alélica, considerando as 20 replicatas do pool. **Discussão:** Os dados da validação foram analisados para estudo de: acurácia, reprodutibilidade intraensaio, reprodutibilidade interensaio e sensibilidade para o teste de Sequenciamento do gene TP53. As alterações realizadas no método apresentaram mesma performance de qualidade em comparação com método anterior, com menor tempo de execução do teste. **Conclusão:** As otimizações aplicadas na técnica foram efetivas permitindo maior agilidade no processamento técnico da amostra para a identificação de variantes somáticas do gene TP53.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.932>