

com infiltração nodular de plasmócitos detectada na biópsia. A concordância (índice Kappa) entre a BMO e o mielograma, imprint e CF foi de 0,501, 0,408 e 0,017, respectivamente; entre o mielograma e o imprint e CF foi de 0,738 e 0,541 respectivamente e entre o imprint e a CF foi de 0,573%. **Discussão:** A concordância na quantificação plasmocitária foi fraca a moderada entre a maioria dos métodos. Além disso, observou-se maior infiltração na biópsia de medula óssea do que nos outros exames. O acometimento focal das doenças plasmocitárias, que cursam com infiltração nodular, prejudicando a contabilização dos plasmócitos em exames de dispersão; a evolução dessas doenças com fibrose moderada a acentuada, o que inviabiliza o diagnóstico por exames que não mostrem a arquitetura tecidual e a contaminação da amostra do mielograma com sangue periférico, ocasionando diluição e redução da concentração de plasmócitos, são explicações para esse resultado. Apesar disso, é importante ressaltar que o resultado do mielograma, do imprint e da citometria de fluxo demandam menos tempo e podem fornecer informações úteis para o diagnóstico diferencial. **Conclusão:** Apenas o mielograma e o imprint mostraram concordância no percentual de plasmócitos. A biópsia de medula óssea evidenciou maiores infiltrações, podendo ser importante para critério diagnóstico e início de tratamento, achado apoiado em consensos da literatura.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.934>

#### DELEÇÃO TALASSEMICA ALFA0 NOVA (–MOCOCA) DETECTADA EM CRIANÇA COM DOENÇA DA HB H (–A3.7/–MOCOCA)

GA Pedrosa<sup>a</sup>, AM Soler<sup>b</sup>, APM Geraldo<sup>c</sup>,  
BB Oliveira<sup>a</sup>, FF Costa<sup>d</sup>, MNN Santos<sup>a</sup>,  
CL Harteveld<sup>e</sup>, SE Jorge<sup>a</sup>, MF Sonati<sup>a</sup>, J Luz<sup>b</sup>

<sup>a</sup> Departamento de Patologia Clínica, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

<sup>b</sup> Laboratório de Genética Molecular Humana, Departamento de Ciências Biológicas, Centro Universitário Regional (CENUR) Litoral Norte. Universidade da República do Uruguai (UDELAR), Salto, Uruguai

<sup>c</sup> Centro Integrado de Pesquisas Oncohematológicas na Infância (CIPOI), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

<sup>d</sup> Centro de Hematologia e Hemoterapia, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

<sup>e</sup> Departamento de Genética Humana e Clínica, Centro de Especialistas em Hemoglobinopatias, Centro Médico da Universidade de Leiden (LUMC), Leiden, Holanda

Pedrosa e Soler contribuíram igualmente para o trabalho. **Objetivos:** Descrevemos aqui deleção talassêmica  $\alpha^0$  nova, detectada em uma criança de 3 meses do sexo feminino, branca, proveniente da cidade de Mococa (SP), encaminhada

para investigação de talassemia  $\alpha$  após detecção de hemoglobina (Hb) Bart's em triagem neonatal. **Metodologia:** Índices hematimétricos realizados a partir de sangue periférico coletado da criança e pais (XN-3000, Sysmex). Análises proteicas: eletroforese de Hb em acetato de celulose (pH alcalino e neutro) e cromatografia líquida de alta eficiência (HPLC) de troca catiônica (Variant II, Bio-Rad). Análises moleculares a partir de DNA genômico extraído de leucócitos (QIAamp DNA Blood, Qiagen): *Multiplex-gap-PCR* para triagem das deleções mais comuns de talassemia  $\alpha$  e *Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification* (MLPA) para investigação de deleções raras (SALSA MLPA P140-HBA, MRC Holand). Também foi realizado o sequenciamento de DNA pelo método de Sanger (ABI PRISM 3500, Applied) e por NGS (NextSeq1000, Illumina). **Resultados:** A criança apresentava anemia microcítica e hipocrômica com discreta reticulocitose e presença de Hb Bart's (17,3%) e Hb H (6,1%). Seus pais apresentavam alterações hematológicas sugestivas de talassemia (microcitose e hipocromia) sem anemia. *Multiplex-gap-PCR* revelou homozigose da deleção  $-\alpha^{3.7}$  na criança ( $-\alpha^{3.7}/-\alpha^{3.7}$ ), heterozigose na mãe ( $\alpha\alpha/-\alpha^{3.7}$ ) e não foram detectadas mutações no pai. Devido à incompatibilidade genotípica / fenotípica da criança, bem como genótipo paterno aparentemente normal realizou-se a técnica de MLPA, que detectou, em um dos alelos, extensa deleção de 10,6 a 20,3 Kb correspondente à remoção de 19 sondas, em que foram deletados os genes HBM, HBA2 e HBA1, enquanto permaneceram os genes HBZ, HBZP e HBQ e o elemento regulatório do cluster  $\alpha$ , tanto na criança quanto no pai. Particularmente na criança, esta deleção foi detectada em *trans* à deleção  $-\alpha^{3.7}$  ( $-\alpha^{3.7}/-$ ), compatível com o fenótipo de doença da Hb H. A região 5do breakpoint da deleção localiza-se entre o gene HBZP e o gene HBM, enquanto a região 3está entre o gene HBA1 e o gene HBQ. Para a efetiva caracterização dos breakpoints, foi realizado *Long-PCR* com primers que flanqueiam a deleção. O fragmento de aproximadamente 4,0 Kb foi posteriormente sequenciado por sequenciamento direto de Sanger, o que permitiu determinar a extensão da deleção (17.067 pb), bem como dos breakpoints. Devido a uma divergência entre o tamanho do amplicon resultante da reação de *Long-PCR* esperado (3,2 Kb) e o encontrado (4,0 Kb), realizou-se o sequenciamento do fragmento por NGS. Constatou-se que a diferença é resultante da inserção/polimorfismo de aproximadamente 32 repetições de 37 pb na região *upstream* ao breakpoint, uma região altamente polimórfica. Estas alterações foram encontradas tanto na criança como em seu progenitor. **Discussão:** O ponto de corte/ligação da deleção está localizado em duas regiões homólogas (posições 16:152,039-152,058 e 16:169,106-169,125#), nas quais há uma sequência de 20 nucleotídeos comum a ambas (GCCTGTAATCCAGCTACTC), o que leva à hipótese de que a deleção foi gerada a partir de um crossover desigual entre essas duas regiões. **Conclusão:** De nosso conhecimento, esta deleção não corresponde a outras previamente descritas. Nós a denominamos –Mococa, cidade localizada na região sudeste do Brasil de onde a família portadora é proveniente. #Genbank NG\_000006.1

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.935>