

confirmatório evidenciando a presença de mutações correspondentes a Hb S e Hb PA. A Hb PA é uma variante estrutural rara que possui um grupo tiol extra reativo devido à substituição de uma serina por cisteína, o que induz a formação de oligômeros de Hb, entretanto seu portador é assintomático. O perfil cromatográfico dessa Hb muda conforme aumenta-se o período entre a análise e a coleta da amostra, havendo uma diminuição gradual da área do pico que elui no RRT de Hb A e um aumento da área dos diferentes picos em que eluem os oligômeros. **Conclusão:** A associação de diferentes metodologias laboratoriais é fundamental para diagnóstico preciso de hemoglobinopatias. No caso relatado, a combinação das análises realizadas foi crucial para identificação acurada das hemoglobinas variantes, evitando assim a interpretação equivocada dos resultados que poderia levar a tratamentos inadequados dos seus portadores.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.937>

ALTERAÇÕES MUTACIONAIS NA LEUCEMIA LINFÓIDE CRÔNICA

SC Longatti^a, YAR Barros^a, CES Ferreira^a,
RW Silva^b

^a Universidade Católica de Brasília (UCB), Brasília, DF, Brasil

^b Universidade de Brasília (UnB), Brasília, DF, Brasil

Introdução: A Leucemia Linfocítica Crônica é caracterizada pela proliferação clonal e acúmulo de células B maduras ocasionado pelo aumento desordenado na sua produção. Assim, ocorre progressivamente a infiltração de células clonais na medula óssea e outros órgãos do sistema imunológico, como o baço, fígado, e os linfonodos. No hemograma, avalia-se alterações no sangue periférico com a presença de linfocitose de células maduras, pró linfócitos, alguns casos com anemia, trombocitopenia e as manchas de Gumprecht. **Objetivo:** O objetivo desse trabalho é relatar as alterações cromossômicas associadas a Leucemia Linfóide Crônica e como essas mutações podem interferir no prognóstico dessa doença hematológica. **Material e Métodos:** A metodologia utilizada na realização desse trabalho foi pautada em uma pesquisa bibliográfica nas bases de dados eletrônicas: PubMed, Scielo, LILACS e portal da Capes. As palavras-chaves utilizadas para a busca foram: “Leucemia linfóide crônica”, “alterações cromossômicas”, “proliferação clonal”. Para elaboração dessa análise, foram considerados artigos publicados de 2017 a 2022. **Resultado:** Dentre as principais alterações cromossômicas na LLC está a deleção do cromossomo 17, localizado o gene supressor TP53 na banda 17p13. O TP53 codifica a proteína supressora de tumor p53, responsável pela regulação do ciclo celular, apoptose e promoção do reparo do DNA. Ou seja, em condições normais após o dano no DNA, o p53 codificado desencadearia a apoptose ou a parada do ciclo celular até que a célula complete os processos de reparo do DNA. Portanto, devido a alteração do TP53, a proteína p53 não é codificada e por isso, não desenvolve suas diversas funções nas atividades celulares, assim ocorre a replicação de anormalidades genéticas potencialmente prejudiciais. Contudo, existem outras

mutações relacionadas à LLC, como a deleção do 13q, região onde são codificados pequenos genes que regulam a expressão gênica. Há também a trissomia do 12 que pode ocasionar mutações em NOTCH1 e FBXW7, levando a parada da proliferação celular, evasão da apoptose e a deleção do braço longo do cromossomo 11 que abrange o gene supressor de tumor, ATM que está envolvido na ativação e reparação do DNA e regulação do ciclo celular. Além disso, é importante enfatizar que há outro gene envolvido na deleção do 11q, BIRC, quando ativo, promove a proliferação celular. **Discussão:** No caso da LLC, o diagnóstico é feito para avaliar as alterações celulares, o grau de invasão da medula óssea, além de determinar antígenos celulares de superfície, como a expressão dos antígenos das células B, CD5, CD23, baixos níveis de CD20, juntamente com CD43 e CD200. Ademais, revelar as alterações cromossômicas, por meio da técnica de hibridização in situ por fluorescência (FISH), capaz de detectar deleções e adições do material genético, por exemplo, deleção 13q, deleção 11q, deleção do 17p e trissomia do 12 que podem mudar o curso clínico da doença tornando-as mais agressivas, pois essas mutações genéticas estão associadas com a super-expressão ou supressão de genes, os mesmos afetados influenciam na patogênese da doença. **Conclusão:** As mutações associadas aos desfechos da Leucemia Linfocítica Crônica, são encontradas nos genes ATM, BIRC, NOTCH1 e TP53, responsáveis por diferentes atividades celulares que incluem a regulação do ciclo celular, remoção de danos no DNA, indução da apoptose, inibição da proliferação celular e outros. Mas, a mutação causa anormalidades genéticas prejudiciais no desenvolvimento das atividades celulares, por conseguinte ocorrem falhas na reparação do DNA, regulação do ciclo celular, além da infiltração de células e proliferação clonais. Portanto, é necessário avaliar a citogenética de forma efetiva, para analisar a mutação do gene afetado e assim, realizer o tratamento adequado.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.938>

DESEMPENHO DOS SISTEMAS DE CROMATOGRAFIA LÍQUIDA DE ALTA PERFORMANCE (HPLC) NOS MODELOS ULTRA2 RESOLUTION E PREMIER RESOLUTION (TRINITY BIOTECH) PARA OS PERFIS DE HEMOGLOBINAS ANORMAIS

ACM Berti^a, VS Ramos^a, GA Bernardino^b,
E Belini-Júnior^a

^a Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Três Lagoas, MS, Brasil

^b Centro de Hematologia e Hemoterapia do Maranhão (HEMOMAR), São Luís, MA, Brasil

Objetivo: Avaliar o desempenho dos sistemas de Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC) nos modelos Ultra2 Resolution e Premier Resolution para os perfis de hemoglobinas (Hbs) anormais. **Material e Métodos:** O estudo envolveu 74 amostras de indivíduos adultos enviadas ao Laboratório de Genética e Biologia Molecular – UFMS/CPTL, no período de 2019 a 2021, para diagnóstico laboratorial de

hemoglobinopatias. As amostras foram submetidas à análise cromatográfica (HPLC - modelos *Ultra2 Resolution* e *Premier Resolution*, Trinity Biotech) e todos os perfis foram confirmados por análises moleculares (PCR-RE e sequenciamento do gene beta globina – *HBB*, sequenciador 3730 xl DNA Analyzer). Os cromatogramas foram avaliados quanto ao tempo de retenção relativo (RRT) e quanto às concentrações das frações detectadas, traçando-se a correlação entre as Hbs. **Resultados:** Os RRT observados para Hb A, Hb S, Hb F e Hb C estiveram dentro do esperado, enquanto Hb A2, Hb D-Los Angeles e Hb Korle Bu apresentaram valores de RRT fora do intervalo esperado, necessitando de ajuste nos arquivos INI dos softwares. A sensibilidade de ambos os equipamentos foi de 100% para todos os perfis identificados, e todas as Hbs apresentaram correlação forte e estatisticamente significativa entre os equipamentos. **Discussão:** A HPLC de troca catiônica é um método comumente utilizado em laboratórios para o direcionamento no diagnóstico de hemoglobinopatias, e a avaliação dos diferentes equipamentos disponíveis é essencial para a validação do método. Nesse âmbito, as análises realizadas demonstraram o ótimo desempenho de ambos os equipamentos para a identificação de perfis de hemoglobinas anormais. Todavia, é importante ressaltar que os equipamentos de HPLC fornecem apenas uma indicação da hemoglobina anormal, e a confirmação do perfil por métodos complementares, como análises moleculares, é necessária. **Conclusão:** Conclui-se, portanto, que os modelos *Ultra2 Resolution* e *Premier Resolution* obtiveram alto desempenho na identificação de Hbs anormais e são válidos para o direcionamento do diagnóstico de hemoglobinopatias.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.939>

CORREÇÃO DA CONTAGEM DE LEUCÓCITOS EM PACIENTE COM NEOPLASIA MIELOPROLIFERATIVA E FRAGMENTOS DE MEGACARIÓCITOS CIRCULANTES NO SANGUE PERIFÉRICO

ARP Menezes, TZ Ferreira, CF Matias, LA Oliveira, AF Sandes, MLC Arantes

Grupo Fleury, Brasil

Objetivo: Relatar o caso de um paciente com neoplasia mielo-proliferativa e os achados morfológicos visualizados através da microscopia e automação digital em amostra de sangue periférico. **Metodologia:** Recebida amostra de hemograma para avaliação automatizada e morfológica. A análise foi realizada em equipamento automatizado, por citometria de fluxo fluorescente e impedância, que possui tecnologia com avançada precisão, especificidade e produtividades. O equipamento conta com a quantificação dos eritroblastos (NRBC) no canal de leucócitos para todas as amostras, o que elimina a necessidade da correção da contagem dos mesmos. Conta ainda com análise de plaqueta fluorescente, eliminando possíveis interferentes. **Resultado:** Paciente do sexo masculino, 68 anos, com antecedentes de trombocitose e fragmentos de megatrombócitos em exames prévios, cuja investigação com pesquisa da mutação V617F no gene *JAK2* resultou positiva.

Durante a avaliação hematológica laboratorial foram detectados anemia (Hb 10,1 g/dL, Ht 31,6%), leucocitose (25.760/mm³) com o seguinte diferencial: neutrófilos (9.390/mm³), linfócitos (6.200/mm³), monócitos (8.060/mm³), eosinófilos (1.800/mm³), basófilos (310/mm³) e plaquetas de 595.000/mm³. Ao realizar a avaliação morfológica digital, observamos numerosos megatrombócitos, núcleos livres de megacariócitos e megacariócitos jovens circulantes. A presença destes fragmentos nucleares pode elevar falsamente o número de leucócitos quantificados pela automação, sendo necessário realizar a correção da contagem global dos mesmos. A fórmula utilizada para correção da contagem global dos leucócitos teve o objetivo de subtrair a quantidade de fragmentos de megacariócitos, contada como linfócitos. Então, multiplicamos o número de leucócitos totais por 100 e dividimos pela contagem da soma de restos nucleares e leucócitos contados diferencialmente, chegando à correção do resultado de leucócitos igual a 19.510/mm³. **Discussão:** Os analisadores hematológicos automatizados possuem metodologia por citometria de fluxo fluorescente e impedância. No caso em questão, a análise por impedância favoreceu a contagem dos restos nucleares como leucócitos e a análise citométrica classificou-os como linfócitos, o que elevou erroneamente o número total de leucócitos. **Conclusão:** Para avaliação correta do hemograma é necessário o domínio das ferramentas automatizadas de análise do contador hematológico, além de observação criteriosa do esfregaço de sangue periférico pelo morfolologista. O conhecimento das limitações e interferentes na avaliação das células sanguíneas é de extrema importância para evitar a liberação de contagens que não correspondem à verdadeira celularidade dos pacientes.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.940>

FACTOR VIII – CHROMOGENIC - LOW ACTIVITY SAMPLE ANALYSIS IN A LOW CALIBRATION CURVE MODEL

GR Ramos^a, M Yanquen^a, C Borella^b

^a Reference Lab. in Hemostasis and Hematology (H&H LAB SAS), Bogotá, Colombia

^b Siemens Healthineers, São Paulo, SP, Brazil

Introduction: Hemophilia is a bleeding disorder that causes affected people to bleed longer and, in severe cases, spontaneously. A genetic defect in the X chromosome causes decreased activity of circulating factors. Adequate lab. diagnostics is essential and could be done by different methodologies, such as the determination of factor activity by chromogenic and one-stage assays based on APTT. Treatment has improved significantly over the past few decades, and state-of-the-art treatment is more efficient, safe, and convenient than ever. Adverse effects of medications became less severe in recently, but it remains important to be aware of to ensure that treatment is effective and ensure the best possible conditions for affected individuals. The classification of hemophilic patients is divided into 3 categories, according to the activity of FVIII: mild 25% - 5%; moderate, 5% - 1% and severe when the activity is < 1% of normal FVIII. New