

expressão de CD56, CD57, CD81, CD9, CD90 e ausência de expressão de CD99 e CD45, características típicas de células de neuroblastoma. A análise morfológica evidenciou 60,6% de células mononucleares de grande tamanho, dispostas isoladamente e em grumos, citoplasma escasso e discretamente basofílico, núcleo globoso com cromatina moderadamente reticulada e com nucléolos evidentes, semelhantes às células não hematológicas. Diante das características dessas células, concluiu-se que se tratava de infiltração medular por neoplasia não hematológica sugestivo de neuroblastoma. **Discussão:** O diagnóstico precoce do câncer pediátrico é fundamental para o manejo adequado do paciente. Embora a citometria de fluxo multiparamétrica tenha se mostrado de grande utilidade no diagnóstico e classificação de neoplasias hematológicas, sua aplicação em tumores não hematopoiéticos permanece limitada. O neuroblastoma é o tumor sólido extracraniano mais frequente na infância e para o seu diagnóstico são necessários vários métodos complementares (radiológicos, biológicos e bioquímicos), sendo a citometria de fluxo um potencial método de diagnóstico. As características imunofenotípicas evidenciadas nesse paciente tais como ausência de CD45 e CD99 e co-expressão de CD56+, CD90+, CD81+ e CD9+ são concordantes com os dados descritos na literatura, assim como o padrão morfológico de células mononucleares com características semelhantes a células blásticas. **Conclusão:** A imunofenotipagem de medula óssea com um painel ampliado, juntamente com a análise morfológica permitiu fazer o diagnóstico laboratorial de forma rápida e efetiva, sendo fundamental para a implementação de uma conduta terapêutica adequada para o paciente.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.962>

PROTOCOLO MODIFICADO PARA ANÁLISE DA HEMORRAGIA FETO MATERNA POR CITOMETRIA DE FLUXO

SSA Nishio, JM Azanha, MA Golim, AMM Braz, ALV Rocha, PL Silva, E Deffune

Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (UNESP), São Paulo, SP, Brasil

A hemorragia feto materna (HFM) é definida quando há passagem de mais de 20% da volemia do feto, para a circulação materna. Afeta 1 a cada mil nascidos vivos e tem graves complicações tanto para o feto como para a mãe. As causas são diversas: trauma abdominal, pré-eclampsia, HELLP syndrome. O diagnóstico é baseado na identificação de hemácias fetais na circulação materna. A utilização do teste diagnóstico e triagem baseado no método descrito por Kleihauer-Betke (KB) eluição ácida da hemoglobina como uma ferramenta de triagem na previsão de hemácias fetais adversos associados à hemorragia feto-materna (HFM) ainda é utilizado como padrão ouro, mesmo diante de tecnologias disponíveis de citometria de fluxo (CF), e das limitações apresentadas por esta última. Estudo recente de coorte retrospectivo de centro único avaliou um resultado composto primário de complicações fetais associadas à FMH entre os grupos de teste KB-negativo e KB-positivo: a sensibilidade, especificidade, valor preditivo

positivo e valor preditivo negativo. Os resultados associados à HFM não foram significativamente diferentes entre as coortes de teste KB-positivos e KB-negativos; O teste KB não oferece precisão diagnóstica na avaliação de triagem de emergência de mulheres com suspeita de HFM. O uso da CF também apresenta suas limitações utilizando o anticorpo anti-hemoglobina fetal. A principal dificuldade neste último é a necessidade de permeabilização das células e o fato de que este teste tem um viés com pacientes heterozigotas para hemoglobinopatias. Diante desta dificuldade este trabalho se propôs a utilizar a detecção do receptor de transferrina (anti-CD71) em células mononucleares de gestantes. O aumento da expressão do CD71 nestas mulheres pode ser um indicador de “transfusão feto materna” ou hemorragia feto materna. Após aprovação em comitê de ética em pesquisa e aplicação do TCLE, amostras de sangue de cordão umbilical (SCU) e sangue periférico adulto (SPA) foram obtidos e analisadas. As células foram preparadas, isoladas por gradiente de densidade e analisadas por citometria de fluxo utilizando o marcador anti-CD71. Na presente análise observou-se variação na detecção de células positivas para CD71, sendo as amostras de SCU positivas para o marcador com alta expressão, em torno de 35 a 74% (controle positivo) do volume total, contra menos de 3% no SPA (controle negativo). Com esta análise podemos concluir que é possível estabelecer o limiar de células fetais na circulação materna em gestações normais e definir o ponto de corte para identificação da hemorragia feto materna em gestações de risco.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.963>

CONTROLE DE QUALIDADE INTERNO PARA IMUNOFENOTIPAGEM DE SUBPOPULAÇÕES LINFOCITÁRIAS

JC Silva, AP Moro

DB Medicina Diagnóstica LTDA, Brasil

Objetivos: Atualmente, todo laboratório busca pelo desenvolvimento e melhoria contínua de seus processos, estabelecendo padrões e normas de qualidade, a fim de garantir a confiabilidade e qualidade de seus processos. Este estudo tem como principal objetivo avaliar o controle de Qualidade Interno para rotina de imunofenotipagem de subpopulações linfocitárias em laboratório de apoio de grande porte acreditado, correlacionando amostra transportada e interequipamentos. **Material e Métodos:** Este estudo teve como base a avaliação de dados de um laboratório de apoio de grande porte sobre controle de qualidade interno realizado no período de junho de 2022, onde foram avaliados os analitos: CD4, CD8, CD3, CD19, CD56, Linfócitos totais e Leucócitos totais, valores absolutos e percentuais. **Resultados:** Foram avaliados 26 dias, em rotina de 6 dias por semana, onde diariamente é processada amostra transportada, qual é selecionada após a passagem do controle comercial e repetida em um espaço de tempo de no máximo 12 horas em uma mesma plataforma, a fim de garantir a qualidade do controle comercial e a estabilidade do equipamento. Semanalmente é realizado o interequipamentos, onde é processada a mesma

amostra em todos os equipamentos que realizam o teste, a fim de garantir a reprodutibilidade dos dados. Todos os analitos citados são liberados diariamente com controle comercial, em dois níveis, normal e patológico. Avaliando o mês de junho de 2022 obtivemos os seguintes dados: - Para o intequipamentos, apenas 2,88% dos resultados obtidos apresentaram divergência nos parâmetros CD45%, CD4 Absoluto e CD8 Absoluto. - Para a amostra transportada, dos 26 dias avaliados, apenas 20% apresentaram 100% de concordância entre os resultados, os outros 80% apresentaram pelo menos um parâmetro em divergência entre os processamentos, sendo eles: CD56 Absoluto (4,73%) e CD56 % (3,25%), Leucócitos totais (2,07%), CD19 Absoluto (1,48%), CD3 Absoluto (1,48%), CD8 Absoluto (1,48%), CD8% (1,18%), CD19% (1,18%), CD4% (0,89%), Linfócitos Totais (0,89%), CD3% (0,59%), CD4 Absoluto (0,59%) e Linfócitos % (0,30%). **Discussão:** Diante dos dados obtidos podemos observar que, devido à estabilidade celular da amostra o intequipamentos apresentou concordância superior ao da amostra transportada, devido ao tempo de processamento das análises, pois apresenta uma diferença curta de tempo entre os equipamentos avaliados, o que não observamos na amostra transportada, uma vez que a amostra é repetida em um período de 8 a 12 horas após a primeira passagem, havendo perda da estabilidade celular da amostra. Por se tratar de um laboratório de apoio, as amostras são processadas próximo do limite da estabilidade de 24 horas e até o segundo processamento para o controle de qualidade interno perderam a viabilidade celular. **Conclusão:** Nos dados estudados no período de 30 dias pudemos evidenciar a importância da estabilidade celular para o controle de qualidade, pois seguindo as diretrizes aplicadas pelo Programa de Acreditação ao exame Imunofenotipagem, dificilmente será obtido 100% de concordância entre os resultados. Atualmente, como tratativa para os parâmetros que apresentam divergência entre os processamentos, é realizado o reproprocessamento do controle comercial interno, garantindo assim o controle de qualidade dos resultados.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.964>

DIAGNÓSTICO DE LINFOMA HEPATOESPLÊNICO GAMA-DELTA EM PACIENTE IMUNOSSUPRIMIDO

AP Azambuja, F Gevert, RM Oliveira, M Queiroz

Hospital Nossa Senhora das Graças, Curitiba, PR,
Brasil

Objetivo: Descrever um caso de Linfoma Hepatoesplênico Gama-Delta (LHGD) com diagnóstico após imunossupressão crônica. **Introdução:** O Linfoma Hepatoesplênico Gama-Delta é uma neoplasia muito rara e de rápida progressão, derivada de células T citotóxicas duplo-negativas (CD4-CD8-), usualmente positivas para o receptor TCR gama-delta, que podem expressar marcadores de células NK. O pico de incidência é em adultos jovens do sexo masculino. Apesar de rara, há uma associação conhecida com imunossupressão crônica, como pacientes receptores de órgãos sólidos ou uso de azatioprina e ifliximab em pacientes com doenças inflamatórias intestinais (Pro et al., 2020). **Caso clínico:** Paciente masculino, 56

anos, com diagnóstico de retocolite ulcerativa há 3 anos, em uso crônico de azatioprina, procurou serviço hematologia em setembro/2021 pois exame admissional mostrou leucopenia e plaquetopenia discretos. Ao exame físico apresentava esplenomegalia discreta, sem outras alterações. Fez exame de medula óssea com imunofenotipagem que foi considerado normal. Na época suspendeu o imunossupressor por suspeita de ser leucopenia relacionada a droga, e fez tratamento empírico com um curso de corticosteroide via oral (sic). O paciente não voltou ao serviço de saúde até fevereiro/2022 quando procurou hepatologista por quadro de icterícia associada a febre, perda de peso e piora do estado geral. Ao exame observou-se aumento da esplenomegalia, sem linfonodomegalias ou outras massas. Hemograma com 1070 leucócitos e neutropenia severa (menos de 100/uL). Foi solicitado um exame de subpopulações linfocitárias onde foi confirmada neutropenia e vistos 25% de linfócitos T/ NK (CD2, CD3, CD7 e CD56 fortes), duplo-negativas (CD4 e CD8 negativos), positivas para o receptor do TCR gama-delta. Enquanto aguardava o resultado da biópsia hepática, a avaliação da medula óssea confirmou infiltração por células anormais de aspecto imaturo, positivas para CD3, CD2, CD7 e CD56 fortes, também positivas para CD16 e CD94. Apesar da dúvida em se tratar de linfoma T/NK, confirmou-se a presença de expressão forte do TCR gama-delta. A biópsia hepática mostrou necrose hepática extensa em pontes e colestase moderada. Com a piora rápida da neutropenia e falência hepática progressiva, foi optado por tratamento com quimioterapia intensiva. O paciente encontra-se com discreta melhora clínica há uma semana. **Discussão:** O linfoma hepatoesplênico de células T gama-delta é caracterizado por uma proliferação de células T maduras infiltrando-se nos sinusóides do fígado e baço. Clinicamente os pacientes apresentam dor abdominal, fraqueza, hepatoesplenomegalia e trombocitopenia acentuada, além de sintomas sistêmicos e ausência de linfadenopatia. Na avaliação bioquímica é possível observar alterações hepáticas como aumento das transaminases e da fosfatase alcalina, anemia, pancitopenia e o aumento da LDH. As citopenias podem ser devidas a hiperesplenismo, infiltração da medula óssea, liberação de citocinas, ou ainda imuno-mediadas. Embora linfocitose seja incomum, uma pequena população de linfócitos T anormais pode ser detectada por citometria de fluxo. Foram relatados mais de 30 casos deste linfoma envolvendo pacientes com doença inflamatória intestinal desde 1996, a qual está especialmente relacionada ao uso de terapias anti-TNF e imunomoduladores como azatioprina e 6-mercaptopurina. **Conclusão:** Descrevemos aqui um caso raro de LHGD após uso crônico de azatioprina para retocolite ulcerativa, diagnosticado através da análise de sangue periférico.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.965>

A CITOMETRIA DE FLUXO COMO FERRAMENTA DIAGNÓSTICA EM TUMOR SÓLIDO - OSTEOSSARCOMA

CO Pereira, F Fava, JVB Siqueira, KLB Assis,
GMS Quadros, B Veroneze, JSH Farias,
MI Kozonoe, SO Ioshii, MP Beltrame

Hospital Erasto Gaertner, Curitiba, PR, Brasil