

SEQUENCIAMENTO DE DNA PARA CONCLUSÃO DE DIAGNÓSTICO NA TRIAGEM NEONATAL: PRIMEIRO RELATO NO BRASIL DA HEMOGLOBINA BASKING RIDGE

LA Souz-Junior^a, ACM Berti^{a,b},
GA Bernardino^a, IS Dias^a, ABN Souza^c,
M Zanchin^c, JSP Oliveira^c, VS Ramos^a,
DGH Silva^{a,b}, E Belin-Junior^a

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

^b Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita
Filho (UNESP), Botucatu, SP, Brasil

^c Instituto de Pesquisas, Ensino e Diagnósticos da
APAE, Campo Grande, MS, Brasil

Objetivo: Descrever a importância do Sequenciamento de DNA para conclusão de diagnóstico de hemoglobinas (Hb) raras em recém-nascidos relatando o primeiro caso descrito no Brasil de Hb Basking Ridge. **Materiais e métodos:** Amostras de sangue total, procedente do centro de triagem neonatal, APAE/IPED- Campo Grande/MS, da probanda (22 dias) e da mãe (25 anos) foram enviadas para o Laboratório de Genética e Biologia Molecular da UFMS/CPTL afim de identificar perfis de Hb inconclusiva triadas na triagem neonatal. Os perfis cromatográficos foram avaliados por HPLC (Ultra2, Trinity Biotech, Kit Resolution) e o estudo molecular foi realizado, após a extração de DNA genômico, por sequenciamento do gene *HBB* (método Sanger - sequenciador 3730xl DNA analyser). **Resultados:** A análise cromatográfica da probanda evidenciou a presença de Hb F (71,3%), Hb A0 (14,4%), Hb A2 (0,2%) e uma variante com o Tempo de Retenção Relativo a Hb A (RRTA) de 0,99 (11,7%). A mãe apresentou Hb A0 (42,8%), Hb A2 (2%) e Hb variante com RRTA de 1,00 (32,4%). O sequenciamento completo do gene *HBB* demonstrou a presença da mutação *HBB*: c.250G>A em heterozigose, tanto na probanda quanto na mãe. A mutação no éxon 2 do gene *HBB* correspondente a Hb Basking Ridge. **Discussão:** De acordo com os dados relatados, nós sugerimos a presença de Hb variante de cadeia beta devido a concentração apresentada na amostra da mãe (Hb variante proporcional à Hb A) e ausência de pico híbrido na amostra do recém-nascido (pico híbrido = frações formadas por globinas alfa mutante com gama normal). Avaliando os exemplares de cromatografia presentes no manual do fabricante, o RRTA de 0,99 (probanda) e RRTA de 1,00 (mãe) foram compatíveis com as Hb variantes: Hb Calais e Hb La Desirade (ambas de cadeia beta). Descartando a possibilidade de Hb variante de cadeia alfa, realizamos o sequenciamento do gene *HBB* e identificamos a presença da Hb Basking Ridge, ou seja, o primeiro relato no Brasil desta Hb. Essa variante é resultante da substituição do aminoácido glicina (apolar) pela serina (polar não carregada) na posição 83; portanto sugere-se que alterações nas propriedades estruturais e/ou funcionais da hemoglobina possam estar presentes. No entanto, não há relatos na literatura que corroborem essa hipótese, até o presente momento. **Conclusão:** Os métodos de triagem neonatal para as hemoglobinopatias disponíveis atualmente são sensíveis e permitem a detecção de perfis de Hb anormais em diferentes combinações. Entretanto, a conclusão de diagnóstico só é possível perante a associação de técnicas laboratoriais e

pessoal qualificado. Diante disso, a identificação da Hb Basking Ridge só foi possível pela alta sensibilidade do HPLC na triagem, conhecimento profissional sobre diagnóstico e a utilização do sequenciamento de DNA.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.258>

O ESTADO DA ARTE DA APLICAÇÃO DA INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL NO ESFREGAÇO DE SANGUE PERIFÉRICO

DE Carvalho^a, MV Montenegro^a,
MLV Montenegro^a, RC Braga^a, LCC Furtado^a,
LDP Santana^a, DM Luna^a,
ACAMVF Medeiros^{b,c}, EPL Rodrigues^a,
MTC Muniz^a

^a Universidade de Pernambuco (UPE), Recife, PE,
Brasil

^b Universidade Federal de Pernambuco (UFPE),
Recife, PE, Brasil

^c Centro de Oncohematologia Pediátrica, Hospital
Universitário Oswaldo Cruz (HUOC), Universidade
de Pernambuco (UPE), Recife, PE, Brasil

Objetivos: Na sociedade atual, é perceptível uma expansão cada vez mais significativa das diferentes utilizações da inteligência artificial (IA). A aplicação do aprendizado de máquina na medicina possui um enorme potencial, no que tange à sistematização da análise diagnóstica, por meio da criação de diferentes algoritmos com elevado poder de precisão. O esfregaço de sangue periférico permite a complementação diagnóstica de muitas doenças hematológicas, porém o seu uso é limitado por possuir caráter técnico-dependente. Logo, o presente estudo buscou identificar o estado da arte sobre a automatização da análise citomorfológica do esfregaço de sangue periférico. **Material e métodos:** Trata-se de uma revisão feita por meio das bases de dados Scopus, Web of Science e PubMed, sendo guiada pela estratégia de busca do PRISMA Statement 2020. Foram utilizados os seguintes descritores: “Machine Learning”, “Peripheral blood smear” e “Artificial Intelligence”. Como critérios de inclusão, foram usados ensaios clínicos, na língua portuguesa e inglesa. **Resultados:** O sistema apresentado por um dos estudos obteve média de 25,60 s de discriminação de hemácias, demonstrando maior rapidez e eficácia quando comparado ao método manual. Outro modelo utilizou rede neural a partir de scores médios de acurácia, precisão, recall e F-score, evidenciando boa capacidade discriminatória de leucócitos. Plaquetas foram classificadas em outro estudo, que demonstrou melhor pontuação de validação e precisão das redes neurais VGG 19 e ResNet50. Em geral, anemia, dengue, malária e leucemia foram avaliadas pelos estudos, com bons resultados de classificação das células, diferenciação dos subtipos das patologias, precisão, sensibilidade e especificidade. **Discussão:** O classificador perceptron multicamadas obteve como métricas 95,09% de valor preditivo positivo, 93,13% de especificidade, 91,07% de sensibilidade e 86,59% de precisão geral, bom desempenho atribuído aos recursos de pré-processamento, segmentação e seleção desenvolvidos. Ao analisar a aplicação

da IA na detecção automatizada da dengue, o sistema Python Open CV foi utilizado para detectar plaquetas, visando o diagnóstico de trombocitopenia, sendo o melhor desempenho de classificação atribuído ao SVM com precisão de 94,96%. A rede neural que obteve melhor resultado na validação da identificação da Malária foi a VGG-16 com 99,75% de acerto. O classificador SVM obteve alta sensibilidade e especificidade na diferenciação de subtipos de malária. Tal classificador foi usado em estudos envolvendo diferenciação de subtipos de leucemias e de LLA, com grande eficiência encontrada. O classificador NN obteve alta precisão (99,5%) na identificação de células sanguíneas anormais em método que identifica leucemia a partir de glóbulos brancos, e outro estudo categorizou os classificadores SVM e AMN como os de maior eficiência na diferenciação de subtipos de LLA. **Conclusão:** A IA agrega na análise celular do esfregaço de sangue periférico, automatizando eficientemente essa identificação. Foi demonstrada grande contribuição no diagnóstico de anemia, dengue, malária e leucemias agudas, podendo implicar em melhor prognóstico diante da rapidez diagnóstica. É necessário realizar um estudo primário com um mesmo conjunto de dados, utilizando algoritmos que se destacaram para criar um sistema capaz de classificar diferentes tipos de doenças hematológicas em larga escala.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.259>

PSEUDOPLAQUETOPENIA: IMPORTÂNCIA DA IMPLEMENTAÇÃO DA REVISÃO DE LÂMINAS HEMATOLÓGICAS POR MICROSCOPIA PARA CORREÇÃO DA CONTAGEM DE PLAQUETAS E NO CONTROLE INTERNO DA QUALIDADE FRENTE ÀS MODERNAS TECNOLOGIAS DOS CONTADORES AUTOMATIZADAS EM UM PRONTO SOCORRO UNIVERSITÁRIO DE PERNAMBUCO

AEL Barros, BBC Gandra, NV Rodrigues,
IF Domingos, JGMM Junior, VC Furtado,
TMB Ramos

Universidade de Pernambuco (UPE), Recife, PE,
Brasil

Introdução/Objetivos: O setor de hematologia é fundamental em um laboratório clínico, uma vez que o hemograma, principal exame da área, permite a avaliação qualitativa e quantitativa dos parâmetros hematológicos, considerados essenciais no diagnóstico e no acompanhamento de diversas doenças. Tendo em vista a relevância desse exame na esfera clínica, faz-se necessário estabelecer um controle de qualidade (CQ) nos laboratórios. A adoção do controle interno de qualidade em conjunto com ensaios de proficiência, calibradores e análises realizadas por profissionais qualificados, promove um maior controle da fase analítica, auxiliando na identificação de erros no processo, facilitando a adoção de medidas corretivas que irão assegurar um diagnóstico mais preciso, além de garantir um melhor atendimento e um retorno mais eficiente à população. A contagem de plaquetas por microscopia é uma ferramenta fundamental na medida em que

complementa e corrobora as informações fornecidas pelos analisadores hematológicos, além de servir de parâmetro de controle interno da qualidade das contagens automatizadas de plaquetas. O Objetivo do trabalho é demonstrar a importância da contagem de plaquetas por microscopia (Método de Fônio) como medida corretiva na liberação do resultado do hemograma diante de casos de pseudotrombocitopenia, satelitismo plaquetário. **Materiais e métodos:** Foi realizada uma revisão da literatura de metodologias para correção de pseudoplaquetopenia para aplicação na rotina laboratorial assim como no controle de qualidade interno em hematologia utilizando as seguintes bases de dados eletrônicas: MEDLINE via PubMed, LILACS via BVS, SciELO. Como descritores foram utilizados: contagem de plaquetas, controle de qualidade, trombocitopenia, pseudotrombocitopenia, satelitismo, revisão. **Resultados e discussão:** Determinados critérios e condutas foram estabelecidos tais como: diante de hemogramas com contagem de plaquetas por métodos automatizados abaixo de 100.000 e com volume plaquetário médio (VPM) normal realiza-se a contagem das plaquetas por microscopia pelo método de Fônio, corrigindo, quando se comprova a falsa plaquetopenia no exame do paciente. **Conclusão:** Diante disso se faz necessário realizar a contagem de plaquetas pelo método de Fônio no hemograma do laboratório clínico que não apresentam análise automatizada de plaquetas por fluorescência.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.260>

AValiação DO ÍNDICE DE GRANULÓCITOS IMATUROS (IMG) NOS HEMOGRAMAS

DAB Puggina, MF Aquinos, HG Teodoro,
BA Rosa, CFF Oliveira, ACP Souza, NCN Barreto,
OMS Duarte

Laboratório São Marcos, Belo Horizonte, MG, Brasil

O hemograma é um dos principais exames laboratoriais solicitados, sendo importante nos diagnósticos que podem estar relacionados, ou não, às patologias hematológicas. Ele avalia os elementos do sangue através da contagem de eritrócitos, plaquetas e leucócitos. A automação do hemograma permite maior agilidade e sensibilidade na liberação de resultados no laboratório. E além dos índices hematimétricos automatizados usuais, existem parâmetros avançados que permitem realizar análises específicas sobre determinada série hemológica baseando-se no conteúdo do interior das células em análise, como parâmetro de granulócitos imaturos (IMG). Os IMG são células encontradas na medula óssea e podem estar no sangue periférico devido a alguma alteração do organismo. São precursores neutrofílicos que são divididos de acordo com o grau de maturação oriundo dos mieloblastos. A contagem do IMG automatizado mostra um aumento da atividade medular e pode ser utilizado com indicador precoce de infecções agudas, respostas inflamatórias e distúrbios mieloproliferativos, resultando em diagnóstico precoce e a devida intervenção médica. Os estudos sobre esse parâmetro não são amplos e em muitos casos não são utilizados durante a análise. Portanto, o intuito desse artigo foi analisar os