

2019 foi de 0,9% (n = 12.460 doadores), janeiro de 2020 foi de 0,9% (n = 1.221 doadores). Descarte sorológico por Sífilis teste treponêmico, método quimioluminescência no período de fevereiro a dezembro de 2020 foi de 2,7% (n = 12.662 doadores) e de janeiro a julho de 2021 foi de 2,71% (n = 8.732 doadores). **Discussão:** Os testes não treponêmicos são realizados pela metodologia de floculação. Os resultados, quando positivos, são liberados na forma clássica de títulos. Os resultados falso-positivos são as principais desvantagens deste teste, que podem acontecer devido à reação cruzada com outras infecções, gravidez, doenças autoimunes e uso de drogas ilícitas. Resultados falso-negativos podem ocorrer em casos de infecção muito precoce ou tardia. Os testes treponêmicos detectam anticorpos específicos que podem permanecer positivos por toda a vida. Observou-se que em virtude da especificidade do método, o aumento do descarte sorológico por Sífilis era esperado. Isso fez com que o IHEBE, no momento do planejamento para mudança de teste, estabelecesse um aumento da meta de comparecimento e coleta/dia; logo, novas estratégias na captação foram implementadas para garantia e segurança no atendimento aos pacientes. Em virtude deste aumento, o número de doadores inaptos em investigação também se elevou, e o consultório de atendimento aos inaptos precisou rever seus procedimentos operacionais padrão – POP. **Conclusão:** Após análise, observou-se incremento considerável de descarte por sífilis com a mudança de metodologia. Apesar da boa sensibilidade do teste não treponêmico e de seu baixo custo, optou-se pela mudança para o teste treponêmico devido a especificidade. Quando o Instituto decidiu que estava no momento de automatizar a pesquisa para Sífilis, fez-se necessário uma reunião de planejamento envolvendo os setores de captação, coleta, e liberação para elaboração de um plano de ação visando minimizar os impactos previsíveis da mudança de metodologia.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.714>

HEMATOLOGIA LABORATORIAL

HEMATOLOGIA LABORATORIAL

A IMPORTÂNCIA DO PCR DIGITAL NA DETECÇÃO DA MUTAÇÃO D816V DO GENE KIT NO DIAGNÓSTICO DA MASTOCITOSE SISTÊMICA

L Nardinelli^{a,b}, EA Ramos^c, EDRP Velloso^{a,c,d}, LL Marchi^d, V Rocha^{a,d}, I Bendit^{a,b}

^a Laboratório de Investigação Médica em Patogênese e Terapia Alvo em Onco-Imuno-Hematologia (LIM-31), São Paulo, SP, Brasil

^b Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), Laboratório de Biologia Tumoral da Disciplina de Hematologia, São Paulo, SP, Brasil

^c Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), Laboratório de Citogenética da Disciplina de Hematologia, São Paulo, SP, Brasil

^d Hospital das Clínicas da Universidade de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil



Objetivo: Recentemente, a reação em cadeia da polimerase digital (dPCR) surgiu como um método sensível, rápido e de custo efetivo para detectar diferentes marcadores tumorais de baixa frequência alélica. Este estudo teve como objetivo padronizar e validar um teste para detecção da mutação D816V do gene KIT em pacientes com suspeita de mastocitose sistêmica (MS) por dPCR na rotina laboratorial. **Materiais e métodos:** Foram utilizadas amostras de DNA genômico extraídas do sangue periférico de 17 pacientes com suspeita de MS com o kit QIAamp® DNA Blood Midi Kit. A pesquisa da mutação D816V do gene KIT foi realizada pelo sequenciamento clássico de Sanger, utilizando-se o reagente BigDye Terminator v3.1™ em equipamento ABI3500 e pela técnica de dPCR, na plataforma QuantStudio 3D e utilizando-se o ensaio Taqman LiqBiopsy Digital Hs0000000039_rm. As amostras foram testadas em duplicatas e quando a frequência alélica estava próxima de 0,1%, em triplicatas. **Resultados:** Pelo método do sequenciamento de Sanger a mutação D816V foi detectada em apenas uma amostra. Já pela técnica da dPCR, a mutação foi detectada em 14 amostras, sendo que a média da frequência alélica foi de 2,1% (0,15% – 6,79%), sendo que houve boa concordância entre as replicadas. Das 4 amostras testadas em triplicatas, a presença da mutação foi confirmada em 2, com uma frequência alélica média de 0,15% (0,14% - 0,16%). **Discussão:** A MS tem origem na proliferação clonal de mastócitos anormais em órgãos extra-cutâneos. A apresentação clínica da MS é heterogênea, variando da doença indolente até uma variante mais agressiva. Atualmente, a Organização Mundial da Saúde classifica a mastocitose como uma categoria distinta de doença e mutações do gene KIT, particularmente a mutação D816V ocorre em quase todos os casos, independentemente do subtipo, sendo, desta forma, um marcador importante para o diagnóstico da doença, além de alvo terapêutico. O dPCR se mostrou uma técnica sensível, frente ao sequenciamento de Sanger, capaz de detectar a mutação D816V em sangue periférico, descartando assim a necessidade de punção medular. Além disso, proporciona a quantificação absoluta da frequência alélica da mutação, com boa concordância entre as replicatas, o que é importante para a estratificação de risco. O protocolo é rápido, com possibilidade de liberar o resultado em até 5 dias, sendo que a montagem dos chips utilizados e a análise são as etapas mais trabalhosas. O custo do teste também é efetivo, especialmente quando comparado com outras técnicas de sensibilidade semelhante, como o NGS. Uma limitação encontrada é que nesta técnica a reação é específica para cada mutação, não abrangendo desta forma as demais mutações do gene KIT, como V560G, D815K, D816Y, D816F, D816H e D820G que também podem ser encontradas na MS em cerca de 5% dos casos, o que pode explicar os 2 casos negativos encontrados.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.715>

A INTERFERÊNCIA DO FATOR REUMATOIDE NA DOSAGEM ANTIGÊNICA DO FATOR DE VON WILLEBRAND

MCL Falco, AA Garcia, VG Freitas, CCI Streicher, NR Ziolla, IG Vitoriano, MS Urazaki, I Garbin, GM Raitz, NF Beccari

