

**Objetivo:** A Hemoglobínia Paroxística Noturna (HPN) é uma doença clonal rara que ocorre nas células-tronco hematopoiéticas caracterizadas por uma mutação somática adquirida do gene *PIG-A*. A Citometria de Fluxo (CF) é um método sensível para a detecção de células deficientes em glicosilfosfatidilinositol (GPI), útil para identificar diversos tamanhos de clones HPN. O objetivo deste estudo foi realizar uma enquête com laboratórios (labs) de análises clínicas a fim de verificar quem realiza o teste para HPN por CF, quais os painéis e protocolos utilizados. Esta enquête foi realizada por provedor de avaliação externa da qualidade para fins de planejamento dos programas e atividades de educação continuada. **Resultados:** A enquête foi respondida por 86 labs sendo que 32 (37,0%) realizam análises por CF para o diagnóstico de HPN. Para os que realizam, foram abordadas perguntas relacionadas à quantidade de eventos adquiridos para as populações analisadas (neutrófilos, monócitos e eritrócitos), quais os marcadores utilizados para a definição da linhagem das populações e quais os marcadores para a pesquisa de clones HPN sendo permitido, nestas duas últimas perguntas, a seleção de mais de uma opção de resposta. Quanto aos resultados dos eventos adquiridos na população de neutrófilos: 3,1% responderam 100 eventos; 53,1% entre 10.000 e 100.000; 37,5% entre 100.000 e 500.000 e 6,3% acima de 500.000. Na população de monócitos: 3,1% responderam 100 eventos; 68,7% entre 5.000 e 100.000; 21,9% entre 100.000 e 500.000 e 6,3% acima de 500.000; e na população de eritrócitos: 15,6% responderam até 100.000 eventos; 34,4% entre 200.000 e 500.000; 46,9% entre 500.000 e 1.000.000 e 3,1% acima de 1.000.000. Em relação aos marcadores da linhagem de neutrófilos, o CD15 e o CD45 foram os mais utilizados (85,2%); linhagem de monócitos, CD64, CD33 e CD45 (87,3%) e da linhagem de eritrócitos, CD235a e CD45 negativo (73,3%). Para a pesquisa de clone HPN na população neutrófilos: 35,7% utilizam aerolisina fluorescente (FLAER); 23,8% CD157; 17,9% CD24; 7,2% CD16; 5,9% CD55; 4,7% CD59 e 3,6% CD66b. Para clone HPN na população monócitos: 37,7% utilizam FLAER; 26,0% CD157; 23,3% CD14; 3,9% CD55 e 2,6% CD59. E para clone HPN na população eritrócitos, 84,3% utilizam CD59 e 10,5% CD55. **Discussão:** A enquête permitiu verificar que os labs usam diferentes estratégias de aquisição de eventos, marcadores de linhagens e de células deficientes de GPI para pesquisa de clone HPN. Há uma pequena parcela de labs que adquirem poucos eventos, e esta estratégia pode resultar em perda da sensibilidade prejudicando a detecção de pequenos clones, importantes para o risco de eventos trombóticos. O FLAER e o CD157, utilizado pela grande maioria dos labs, mostram maior desempenho para detectar células anormais em neutrófilos e monócitos quando comparados a outros anticorpos ancorados a GPI. **Conclusão:** A padronização da técnica para pesquisa de clone HPN é desafiadora, já que é necessário validar diversas etapas. A despeito da existência de diretrizes publicadas com a padronização da técnica, ainda há grande variação nas estratégias de análise realizadas pelos labs. Seguir diretrizes publicadas está diretamente relacionada a maior confiança nos resultados. Por isso, conhecer as condutas usuais para estas análises no EP permite melhor planejamento de atividades de educação continuada pelo provedor, bem como melhoria na qualidade dos resultados e maior segurança para os pacientes.

## REAÇÃO LEUCO-ERITROBLÁSTICA POR CRIPTOCOCOSE DISSEMINADA DIAGNOSTICADA POR INFILTRAÇÃO MEDULAR: RELATO DE CASO

VA Bastos, BB Arnold, MG Zanellato, CM Pereira, MAC Domingues, SPF Filho, Niero-Melo L.

Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil

**Introdução:** Criptococose é uma das principais infecções fúngicas invasivas, distribuída mundialmente, causada por leveduras encapsuladas do gênero *Cryptococcus*. A apresentação clínica é variada, sendo possível a doença disseminada, geralmente em imunossuprimidos. O presente trabalho relata caso de Reação Leuco-Eritroblástica pela infiltração medular por criptococose. **Relato do caso:** Homem, 31 anos, há 5 meses: tosse crônica, febre e cefaleia; perda ponderal de 12 kg, associada a dispneia progressiva, sudorese noturna e fadiga. Teste para COVID-19 negativo. À admissão, saturava 70% em ar ambiente, taquidispneico, com crepitações bilaterais, hipocorado, desidratado e taquicárdico. Hemograma de entrada: GV 4.170.000/mm<sup>3</sup> Hb 11,2 g/dL Ht 35% VCM 84,1fl RDW 14,8% HCM 26,9% CHCM 32 pg/dL Plaquetas 162.000/mm<sup>3</sup> GB 15.500/mm<sup>3</sup> (neutro 13.070\_linfo 1.250\_mono 1000\_eosi 60\_baso 20/mm<sup>3</sup>), e 3% de eritroblastos circulantes. Evoluiu com insuficiência respiratória e instabilidade hemodinâmica, necessitando de cuidados intensivos. TC com linfonodomegalias mediastinais e retroperitoneais, hepatoesplenomegalia. Hipótese inicial de Doença Linfoproliferativa, sendo avaliado pela Hematologia. **Medula Óssea (MO):** citologia hiperclular para idade, representação dos 3 setores do parênquima, sem dispoe/atípias, reação estromal exuberante, importante infiltrado histiocitário e numerosas formas arredondadas, de tamanhos variados, agrupadas, de membrana birrefringente e corpo nuclear arredondado, formando colônias, consistentes com fungos tipo *Coccus* sp., representando grande carga fúngica à amostra. Iniciada imediatamente Anfotericina B, porém paciente evoluiu com rápida deterioração clínica e parada cardiorrespiratória. Declarado óbito em 24 horas após internação hospitalar. Resultado de hemoculturas coletadas à admissão constataavam *Cryptococcus neoformans*. Laudo Anatomopatológico (posterior à citologia) do Coágulo e da Biópsia de MO, após coloração histoquímica Alcian-Blue e Mucicarmim, confirmou alta carga fúngica caracterizada por esporos de diversos tamanhos e gemulação compatível com *Cryptococcus* sp. **Discussão:** Há duas espécies patogênicas em humanos: *Cryptococcus neoformans* e *Cryptococcus gatii*. Após primo-infecção pulmonar, por via inalatória, a doença pode permanecer localizada ou se disseminar, comumente para o sistema nervoso central e pele, sendo importante fator de risco o status imune. Relatos em MO são raros. No caso descrito, o paciente teve rápida evolução a óbito, sem tempo hábil para avaliar o comprometimento imune, porém sem antecedentes significativos. A mortalidade é elevada. O diagnóstico pode ser estabelecido identificando-se o organismo por cultura, citologia (como no caso descrito), histopatologia (na qual a coloração Alcian-Blue ou Mucicarmim são úteis para a

classificação fúngica) ou pelo antígeno capsular polissacarídeo. **Conclusão:** O presente relato evidencia acometimento incomum por micose profunda, com manifestação hematológica de infiltração medular como primeiro achado laboratorial indicativo. Tais situações são desafios clínicos, uma vez que doenças fúngicas invasivas podem mimetizar doenças mielo-linfoproliferativas, demandando alta suspeição. O atraso no diagnóstico contribuiu para um desfecho sombrio. A morfologia da MO teve papel decisivo para o diagnóstico e protagonismo inequívoco para o entendimento do presente caso.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.245>

#### ACHADOS EM SANGUE PERIFÉRICO E ASPIRADO DE MEDULA ÓSSEA QUE CORROBORAM PARA DIAGNÓSTICO DE SÍNDROME MIELODISPLÁSICA COM SIDEROBLASTOS EM ANEL

CFR Rossetto<sup>a</sup>, FA Tavares<sup>a</sup>, JM Azanha<sup>a</sup>, LN Melo<sup>b</sup>, PFC Magalhães<sup>a</sup>, AB Castro<sup>a</sup>, CL Miranda<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina de Botucatu, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Botucatu, SP, Brasil

<sup>b</sup> Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Botucatu, SP, Brasil

**Objetivo:** Este trabalho teve o objetivo de demonstrar que os achados laboratoriais encontrados no sangue periférico podem auxiliar e complementar os laudos de mielogramas de pacientes com suspeita de Síndrome Mielodisplásica com Sideroblastos em Anel. **Material e métodos:** O presente estudo teve aspecto experimental com revisão de literatura, onde elencou-se os principais aspectos encontrados na Síndrome Mielodisplásica para compor o embasamento teórico deste estudo. Foi realizado no laboratório de Citoquímica a metodologia da coloração Azul da Prússia (PERLS) em esfregaço de sangue periférico e em aspirados de Medula óssea. Inicialmente corou-se as lâminas no corador automatizado SPS® pela coloração de May-Gruwald-Giemsa para posteriormente realizar a coloração de PERLS. As lâminas permaneceram em imersão em álcool metílico por 24 horas. Em seguida realizou-se a hidratação das lâminas em água corrente e em água destilada. Foi realizada a imersão das lâminas em uma solução de ácido clorídrico a 2,5% e ferrocianeto de potássio a 2,5%, após lavagem e secagem das lâminas, estas foram submetidas em imersão em uma solução de vermelho rápido nuclear. Por fim, realizou-se a desidratação do material em cubas contendo álcool metílico e xilol. **Resultados:** Foi observado no esfregaço de sangue periférico corado por May-Grunwald-Giemsa a presença de corpúsculos de Pappenheimer reportados em laudo. No mielograma foi evidenciado a presença de precursores eritróides. Para confirmar os achados em questão, foi realizada a coloração PERLS nos dois materiais (sangue periférico e mielograma), que evidenciou respectivamente a presença de grânulos de depósitos de ferro nas hemácias (corpúsculo de Pappenheimer) e Sideroblastos em Anel.

**Discussão e conclusão:** O presente estudo evidenciou que a avaliação morfológica do esfregaço sanguíneo é extremamente importante para complementar o laudo, sendo relatado quando observado a presença de corpúsculos de Pappenheimer (em sangue periférico) e Sideroblastos em Anel (em aspirados de medula óssea), ambos evidenciados de forma específica pela coloração de PERLS. Sendo assim, devido à sensibilidade desta técnica, destacou-se a sua importância como ferramenta auxiliar no diagnóstico preciso da Síndrome Mielodisplásica com Anemia Sideroblástica, permitindo assim, intervenções terapêuticas mais adequadas para os pacientes.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.246>

#### DIVERSITY OF $\beta$ -GLOBIN HAPLOTYPES IN SICKLE CELL DISEASE PATIENTS FROM BRAZIL

ESR Sandoval<sup>a</sup>, J Milhomens<sup>a</sup>, LB Viana<sup>a</sup>, JS Borges<sup>a</sup>, RA Panepucci<sup>a</sup>, KTM Grilo<sup>b</sup>, KTM Grilo<sup>b</sup>, CL Prochaska<sup>b</sup>, R Haddad<sup>c</sup>, LE Leite<sup>c</sup>, J Elion<sup>d</sup>, WE Nemer<sup>d</sup>, ACS Pinto<sup>a</sup>, FLS Santos<sup>a</sup>, M Romana<sup>d</sup>, DT Covas<sup>a,e</sup>, S Kashima<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Centro de Terapia Celular (CTC), Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto (FUNDHERP), Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, Brazil

<sup>b</sup> Centro de Hematologia e Hemoterapia do Paraná (HEMEPAR); Secretaria de Estado da Saúde do Paraná (SESA), Curitiba, Brazil

<sup>c</sup> Núcleo de Medicina Tropical (NMT), Universidade de Brasília (UnB)/Faculdade UnB, Brasília, Brazil

<sup>d</sup> Unité Biologie Intégrée du Globule Rouge, Université des Antilles, Inserm 1134, Laboratoire d'Excellence GR-Ex, Guadalupe, France

<sup>e</sup> Department of Clinical Medicine, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, Brazil

The characterization of beta globin ( $\beta$ -Hbb) gene haplotypes in sickle cell anemia patients continues to be a valuable source of information for understanding the heterogeneity of the clinical manifestations of this disease and for the regional and global interpretation of human migrations. In this work, we performed the characterization of the main  $\beta$ -Hbb gene haplotypes in 327 sickle cell disease patients from the South, Midwest and Southeast of Brazil, applying a multiplex system of single nucleotide polymorphisms (SNP). In addition, a comparative historical investigation was carried out on the distribution of  $\beta$ -Hbb haplotypes in Brazil and in twelve Brazilian states. Our results revealed that the Central African Republic (CAR) or Bantu haplotype was the most common in the Southeast (68%), Midwest (64%) and South (74%) regions of Brazil, followed by Benin (BEN), found in 28%, 35% and 19% respectively. The distribution of genotypes revealed a predominance of CAR/CAR in the Southeast (51%) and South (58%) regions, but in the Midwest region, the most patients