

cador sorológico para sífilis foi o mais comumente encontrado (2,0%), seguido por anti-HBC (1,44%) e Chagas (0,3%). Dados de uma pesquisa nacional em 2016 sobre a distribuição da inelegibilidade sorológica a infecções transmitidas com eficiência por marcadores transfusionais de sangue relataram prevalência de anti-HBc (1,13%), seguida de sífilis (1,077%) e HCV (0,33%). A alta sensibilidade dos testes sorológicos utilizados para a triagem sorológica de doadores visa aumentar a segurança para o receptor. No entanto, a sensibilidade de 100% resulta no aumento de resultados falso-positivos, o que pode trazer desconforto aos doadores de sangue que terão que lidar com o estigma de um teste supostamente reativo até que o diagnóstico seja esclarecido. **Conclusão:** Um dos principais desafios enfrentados pelos hemocentros brasileiros refere-se à alta frequência de falso-positivos e reações indeterminadas, o que implica perdas que precisam ser avaliadas a partir de outro enfoque. Além da perda financeira, o aumento do percentual de descarte implica uma perda intangível no relacionamento com o doador, especialmente os de repetição. As dificuldades em abordar e conduzir doadores com reações indeterminadas evidenciam a necessidade de implementar estratégias para identificar com segurança o doador que apresenta marcadores reagentes e minimizar ou mesmo eliminar os sorológicos falsos-positivos ou indeterminados.

1094 RELATO DE CASO DE DOADOR COM INFECÇÃO POR HIV COM DETECÇÃO DE ANTÍGENO P24 + ANTICORPO NA TRIAGEM SOROLÓGICA

Vale NMRD, Parreira RM, Facioli PAS, Miquelin JS, Rocha BASS, Cortez AJP, Arnoni CP, Latini FRM

Associação Beneficente de Coleta de Sangue (COLSAN), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: De acordo com a portaria vigente para banco de sangue, o teste para detecção do HIV deve ser um teste de detecção de anticorpo contra o HIV ou de detecção combinada do anticorpo contra o HIV + antígeno p24 do HIV. Os testes de 4ª geração são capazes de detectar, simultaneamente, a presença de antígenos e/ou anticorpos em uma amostra e reduzem o tempo de janela imunológica. O ensaio Elecsys HIV DUO (Roche) realiza a detecção de antígeno p24 e anticorpo separadamente, o que permite uma maior sensibilidade e especificidade quando comparado a outros ensaios de 4ª geração. O primeiro marcador detectado é o RNA viral, seguido do antígeno p24 do HIV que pode ser detectado entre duas a três semanas após a infecção, enquanto os anticorpos anti-HIV são detectados cerca de quatro semanas após a infecção. Com o aumento da produção de anticorpos, os antígenos desaparecem, tornam-se indetectáveis. **Objetivo:** Descrever caso de reatividade para antígeno p24 e anticorpo contra HIV na primeira amostra e posterior desaparecimento do antígeno p24 na segunda amostra. **Material e método:** O teste HIV DUO (Roche) de 4ª geração foi realizado no laboratório de sorologia da Associação Beneficente de Coleta de Sangue (Colsan), no equipamento Cobas e801 Roche que utiliza a metodologia eletroquimioluminescência. Além dos testes sorológicos, a primeira amostra foi testada no kit NAT HIV/HCV/HBV Bio-Manguinhos e NAT Roche Cobas TaqScreen MPX Test v2.0. O NAT da segunda amostra foi realizado apenas no kit NAT HIV/HCV/HBV Bio-Manguinhos. **Resultados:** Doador WSO, sexo masculino, 36 anos de idade, solteiro, doador de primeira vez. Realizou uma doação de sangue no dia 6 de junho de 2019 e obteve resultado reagente para HIV com relação DO/CO de 8,70 – 7,98 de antígeno e 3,47 de anticorpo. O teste NAT Bio-Manguinhos apresentou resultado detectável para HIV com valor de CT de 20,28, com resultado confirmado pelo NAT Roche (Cobas TaqScreen MPX Test v2.0). Foi solicitada uma segunda amostra do doador, e a bolsa foi descartada. O doador retornou para coleta de nova amostra no dia 26 de junho de 2019 e a coleta foi submetida ao mesmo teste inicial em duplicata da triagem sorológica para HIV, que confirmou resultado reagente com relação DO/CO de 37,80 – 0,412 (não reagente) de antígeno e 37,8 de anticorpo e NAT Bio-Manguinhos detectável para HIV com valor de CT de 24,99. **Discussão e conclusão:** Os resultados observados na primeira amostra são característicos de um possível início de infecção, pois o antígeno p24 é reativo e apresenta valor de leitura maior do que o anticorpo, o que indica que o organismo está no início do processo de resposta imune. Já na segunda amostra, o antígeno p24 torna-se não reagente e a quantidade de anticorpos aumenta, indicando resposta imune ativa. O doador foi encaminhado para centro de diagnóstico para realização de exames confirmatórios e posterior tratamento. Por

conta da tecnologia de identificação separada de antígeno e anticorpo, o ensaio de 4ª geração Elecsys HIV DUO (Roche) garante alta sensibilidade e especificidade.

1095 RELATO DE CASO DE JANELA IMUNOLÓGICA PARA HEPATITE C DETECTADA PELO TESTE DE BIOLOGIA MOLECULAR

Vale NMRD, Parreira RM, Facioli PAS, Cortez AJP, Arnoni CP, Latini FRM

Associação Beneficente de Coleta de Sangue (COLSAN), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: De acordo com a portaria vigente para banco de sangue, é obrigatória a realização de exames sorológicos de alta sensibilidade e testes de detecção de ácido nucleico (NAT) em todas as doações. A triagem sorológica é muito importante na segurança transfusional, no entanto não é possível a exclusão de todos os riscos inerentes à doação e as possíveis contaminações devido às janelas imunológicas. Os testes sorológicos de triagem para HCV detectam a presença de anticorpos contra o vírus da hepatite C, que demoram em média 72 dias para tornarem-se reagentes, e os NAT, que utilizam a técnica de biologia molecular de PCR, detectam diretamente a presença do RNA viral, indicativo de infecção ativa, diminuindo o tempo de janela para 10 a 12 dias. Os testes moleculares são uma alternativa para a detecção cada vez mais precoce da infecção pelo HCV, aumentando a qualidade e a segurança transfusional. **Objetivo:** Descrever caso de janela imunológica para hepatite C detectada em dezembro de 2018 na Associação Beneficente de Coleta de Sangue (Colsan). **Material e método:** Os testes sorológicos foram realizados no laboratório de sorologia da Colsan, no equipamento Cobas e801 Roche, que utiliza a metodologia de eletroquimioluminescência. Além dos testes sorológicos, a primeira amostra foi testada no kit NAT HIV/HCV/HBV Bio-Manguinhos e NAT Roche Cobas TaqScreen MPX Test v2.0. O NAT da segunda amostra foi realizado apenas no kit NAT HIV/HCV/HBV Bio-Manguinhos. **Resultados:** Doador ADX, sexo masculino, 45 anos de idade, amasiado, doador esporádico. Realizou uma doação de sangue no dia 19 de dezembro de 2018 e obteve todos os resultados não reagentes na sorologia para todos os parâmetros. O teste NAT Bio-Manguinhos apresentou resultado detectável para HCV, com resultado confirmado pelo NAT Roche (Cobas TaqScreen MPX Test v2.0). Foi solicitada uma segunda amostra, e a bolsa foi descartada. O doador retornou para coleta de segunda amostra no dia 1º de fevereiro de 2019, e a coleta foi submetida ao mesmo teste inicial em duplicata da triagem sorológica para HCV, que confirmou resultado reagente nas duas realizações com uma relação DO/CO de 134 e 137 e NAT Bio-Manguinhos detectável para HCV. O doador foi encaminhado para centro de diagnóstico para realização de exames confirmatórios e posterior tratamento. **Discussão e conclusão:** Na presença de vírus, como o HCV, a resposta do organismo que leva à produção de anticorpos não é imediata e os testes sorológicos apresentam resultado reagente apenas quando os níveis dos anticorpos são detectáveis. A detecção do NAT é a presença do vírus no organismo, e pode sinalizar a infecção mais precocemente. Por isso, o NAT se mostra de extrema importância na segurança transfusional, devendo ser utilizado como complemento dos testes sorológicos.

TERAPIA CELULAR

1096 REGULAÇÃO DA TRANSIÇÃO EPITÉLIO-MESENQUIMAL MEDIADA PELO MIRNA-29

Souza FC^{a,b,c}, Corveloni AC^{a,b,c}, Schiavinato JL^{a,b,c}, Panepucci RA^{a,b,c}

^a Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

^b Departamento de Genética, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^c Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, SP, Brasil

Os microRNAs (miRs) são pequenos fragmentos de RNA de fita simples, não codificantes, que participam da regulação celular via controle pós-transcricional de genes, promovendo a degradação de RNAs

mensageiros (mRNAs) ou inibindo sua tradução em proteína. Crítico na patogênese do câncer, o miR-29 representa uma família composta por três miRs (miR-29a, b e c), os quais têm sido reportados como supressores tumorais hipoeexpressos em diversos tipos de câncer. Estudos em diferentes subtipos de câncer de mama têm demonstrado, por sua vez, resultados conflitantes quanto ao papel regulatório dessa família sobre genes envolvidos em processos de proliferação, transição epitélio-mesenquimal (EMT) e migração celular. Diante do exposto e considerando que a manipulação de miRNAs aberrantemente expressos e envolvidos com o desenvolvimento e progressão do câncer tem grande potencial terapêutico, o presente trabalho teve como objetivo avaliar em ensaio funcional proteínas-chave da EMT diferencialmente expressas após transfecção de miRs da família miR-29, por imunofluorescência quantitativa. Para tanto, foram utilizadas as linhagens tripla negativa (TNBC) (ER-, PR-, EGFR-) e Luminal A de adenocarcinoma de mama, MDA-MB-231 e MCF-7, respectivamente. Após atingirem 70% de confluência, por meio do agente transfectante lipofectamina 2000®, 8 x 10³ células/poço foram transfectadas com 30 nM de miRNAs miméticos ou antagomirs da família miR-29, além de seus respectivos controles, em placa preta de 96 poços de fundo chato. Após 72 horas da transfecção, as células foram fixadas com formol/metanol e submetidas à imunomarcação com anticorpos primários para Vimentina (SC7578), N-Caderina (SC271386), Snail/Slug (AB180714) e incubadas *overnight*. Em seguida, foram adicionados os anticorpos secundários conjugados com fluorocromos distintos, além dos marcadores nuclear (Hoechst) e de citoplasma (CellMask Blue). Assim, após diferentes etapas de incubação, as imagens foram adquiridas junto ao microscópio de imunofluorescência (Mol.Devices) por meio do software de aquisição ImageXpress. Para a quantificação das imagens foi utilizado o software MetaXpress, gerando inúmeros parâmetros previamente configurados e que proporcionaram análise estatística dos resultados por meio do software GraphPad Prism 5.0. Os resultados obtidos demonstraram efeitos distintos da família miR-29 sobre ambas as linhagens. Em MDA-MB-231, a redução de miR-29a induziu diminuição (-11,97%) dos níveis proteicos de Snail/Slug. O mesmo efeito foi observado (-10,7%) com a adição de miR-29b mimético. No entanto, em MCF-7, a redução de Snail/Slug (-4,53%) se deu com o aumento da concentração de miR-29a. Ainda, o aumento de miR-29a na MDA-MB-231 induziu diminuição (-5,0%) dos níveis de Vimentina. Já para MCF-7, a redução de miR-29a induziu diminuição (-7,29%) de N-Caderina. Todavia, contrapondo tais resultados, a hiperexpressão de miR-29a é descrita por favorecer a proliferação e migração celular em TNBC. Tendo em vista que Snail é peça central nos estágios de EMT, a regulação pós-transcricional deste, mesmo que indiretamente pela família miR-29, infere um possível controle da migração celular. Assim, novos ensaios serão necessários para compreensão e possível utilização desse mecanismo para ação terapêutica.

1097 ANÁLISE DA QUALIDADE DAS USCUP ARMazenadas em Centro de Processamento Celular Privado Após a Entrada em Vigor da RDC 214/2018 (ANVISA), SEGUNDO CRITÉRIOS DE CELULARIDADE (CÉLULAS Nucleadas Totais Viáveis e Células CD34+ Viáveis)

Machado JJS, Pereira MS, Costa APM, Nicola MHA, Cruz E

Cryopraxis Criobiologia Ltda., Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Objetivos: Analisar a qualidade das unidades de sangue de cordão umbilical e placentário (USCUP) armazenadas entre julho 2018 a junho 2019 em um Centro de Processamento Celular (CPC) privado quanto a n° de células viáveis nucleadas totais e progenitoras CD34+. **Material e método:** Estudo retrospectivo do banco de dados de 1.309 USCUP armazenadas no período de julho 2018 a junho 2019. A contagem do número de células nucleadas totais foi realizada por contador hematológico automatizado, e a viabilidade celular foi analisada pelo método de exclusão pelo corante Azul de Trypan. O número de células CD34+ viáveis foi quantificado segundo o método de ISHAGE, e foi utilizado na marcação das células o corante 7AAD para a avaliação da viabilidade. **Resultados:** A análise das 1.309 USCUP mostrou que a média de células nucleadas totais viáveis foi de 9,4 x 10⁸ (2,0-3,8 x 10⁸) e de células progenitoras hematopoiéticas viáveis CD34+ foi de 4,8 x 10⁶ (0,2-35 x 10⁶). **Discussão:** A RDC 214/2018 que regula-

menta os CPC e que inclui os bancos de armazenamento de sangue do cordão umbilical públicos e privados estabelece como critérios para a utilização de USCUP para transplante convencional de células progenitoras hematopoiéticas (TCCPH) o número de células nucleadas totais viáveis $\geq 5,0 \times 10^8$ e no número de células progenitoras hematopoiéticas viáveis CD34+ $\geq 1,25 \times 10^6$. No TCCPH, a quantidade de células nucleadas totais, células CD34+ e a correspondência dos antígenos leucocitários estão associados ao sucesso da pega. Em geral, USCUP com $> 2,5 \times 10^7$ células nucleadas totais/kg e $> 1,5 \times 10^5$ células CD34+/kg são as escolhidas para evitar o risco de falha no enxerto (Hough et al., 2016). No entanto, se não houver disponibilidade de uma USCUP com a dose celular ideal, o TCCPH usando USCUP com baixo número de células nucleadas totais, mas alto número de células CD34+, está associado a uma pega mais rápida e a um aumento da sobrevida, pelo menos equivalente ao transplante de SCUP com alto número de células nucleadas totais. (Barker et al., 2019). **Conclusão:** Os dados apresentados neste estudo corroboram que os processos implementados pelo CPC estão em conformidade com o Sistema de Garantia da Qualidade certificado nacional e internacionalmente e conduzem a obtenção de um produto final de acordo com as especificações do órgão regulamentador.

1098 AVALIAÇÃO DA UTILIZAÇÃO DAS CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOIÉTICAS CRIOPRESERVADAS EM RELAÇÃO AO TEMPO DE ARMAZENAMENTO

Schmalfuss T, Angeli MH, Salton GD, Araújo AB, Furlan JM, Sekine L, Röhsig LM

Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: O transplante de células progenitoras hematopoiéticas (CPH) é indicado para restabelecer as funções da medula óssea após a utilização de quimioterapia em pacientes com diferentes tipos de doenças hematológicas, imunológicas e oncológicas. Muitas vezes o transplante não ocorre imediatamente após a coleta das CPH, exigindo que essas sejam criopreservadas. A utilização de CPH após longos períodos de criopreservação não é uma prática comum e não há consenso sobre o efeito do tempo de criopreservação na viabilidade e na capacidade funcional das CPH. **Objetivo:** Avaliar a taxa de utilização de unidades de CPH criopreservadas por intervalo de tempo após a coleta para transplantes autólogos e alogênicos no Centro de Processamento Celular (CPCel) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). **Materiais e métodos:** Foi realizada análise retrospectiva dos dados das unidades de CPH criopreservadas em freezer mecânico a -80 °C no CPCel do HCPA no período de 2014 a 2018. Os parâmetros avaliados foram número total de coletas, número de coletas criopreservadas, número de coletas criopreservadas infundidas, tipo de transplante e tempo de armazenamento. O tempo de armazenamento foi estratificado em intervalo de dias. **Resultados:** Entre os anos de 2014 e 2018, foram coletadas 515 CPH autólogas e 290 alogênicas, das quais 506 e 51 criopreservadas, respectivamente. Das coletas criopreservadas, 373 (73,7%) autólogas e 27 (53,0%) alogênicas foram infundidas. Um total de 91,7% das CPH criopreservadas autólogas e 92,9% das alogênicas foram infundidas em até 90 dias após a coleta. Nesse período de 90 dias, a taxa de utilização (infusão) das CPH criopreservadas autólogas e alogênicas, respectivamente, por intervalo de tempo foi: 8% e 0% entre 1-4 dias; 22,3% e 46,4% entre 5-11 dias; 19,6% e 7,1% entre 11-20 dias; 15,3% e 14,3% entre 21-30 dias; 8% e 14,3% entre 31-40 dias; 5,4% e 3,6% entre 41-50 dias; 4,6% e 0% entre 51-60 dias; 3,8% e 7,1% entre 61-70 dias; 4,0% e 0% entre 71-80 dias; 0,8% e 0% entre 81-90 dias. O tempo máximo de criopreservação foi de 226 dias para transplante autólogo e 152 dias para alogênico. **Discussão e conclusão:** No HCPA, o CPCel é responsável pela criopreservação e pelo controle de estoque, qualidade e estabilidade de CPH para transplantes autólogos e alogênicos. Nossos resultados demonstram que 65% dos transplantes autólogos e 68% dos alogênicos ocorrem dentro nos 30 dias após a coleta, e para ambos, mais de 90% ocorrem em até três meses de criopreservação. Apenas uma coleta de CPH foi infundida após um período de seis meses de armazenamento, mostrando que a probabilidade de utilização após esse período é rara. A avaliação da taxa de utilização de unidades de CPH criopreservadas em relação ao tempo pós-coleta é uma análise importante para a organização do estoque físico no laboratório e para auxiliar na definição de critérios de descarte, uma vez que não

há regulamentação específica em legislação ou em padrões de qualidade sobre o tempo máximo de armazenamento. Periodicamente, deve-se reavaliar a necessidade de manter unidades de CPH armazenadas que, eventualmente, não necessitem mais permanecer criopreservadas, como no caso de pacientes que foram a óbito ou que não têm mais indicação ou condições clínicas de realizar o transplante. Regularmente, testes de controle de qualidade e estabilidade das CPH também devem ser realizados para averiguar a viabilidade e funcionalidade das células.

1099 AVALIAÇÃO DO IMPLANTE DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS MURINAS DA MEDULA ÓSSEA E DO OSSO COMPACTO COM BIOMATERIAL E CÉLULAS ENDOTELIAIS PARA A FORMAÇÃO DE NICHOS HEMATOPOIÉTICO HETEROTÓPICO

Rossetti R^{a,b}, Rós FA^{a,b}, Ferreira FU^{a,b}, Costa PNM^{a,b}, Maçonetto JM^{a,b}, Borges JS^b, Morotti NP^b, Beloti MM^c, Kashima S^{b,d}, Covas DT^{a,b}

^a Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^b Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto (FUNDHERP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^c Faculdade de Odontologia de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^d Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Entre as características descritas das células-tronco mesenquimais (CTMs) está a capacidade de gerar um nicho hematopoietico heterotópico. Mimetizar o nicho por meio da sua geração artificial pode contribuir para melhor compreensão desse microambiente e seus componentes celulares. Assim, o uso das CTMs para geração do nicho hematopoietico heterotópico poderá fornecer informações sobre a participação dessas células no estabelecimento e na manutenção desse microambiente. O objetivo deste trabalho foi avaliar os organoides formados a partir do implante de CTMs murinas isoladas da medula óssea (MO-CTMs) e do osso compacto (OC-CTMs) visando a geração de um nicho hematopoietico. A estratégia experimental para a geração do nicho foi baseada na adaptação de protocolos já descritos, principalmente em relação à fonte das CTMs. As CTMs foram isoladas de camundongos C57BL/6^{GFP}, cultivadas em condição de hipóxia (5% O₂) até a quarta passagem e implantadas no subcutâneo de camundongos da linhagem NOD.Cg-Prkdc^{scid}IL2rg^{tm1Wjl}/SzJ (NSG). Para tal, 7 x 10⁵ CTMs e/ou células endoteliais da veia umbilical humana (HUVEC) foram inseridas em um biomaterial esponjoso à base de gelatina absorvível de 6,6 x 7,0 x 7,5 mm e implantadas na região do flanco do animal. A proteína morfogenética óssea 4 (BMP-4) foi utilizada como indutor osteogênico e adicionada no biomaterial no momento do implante. Os testes *in vitro* demonstraram que as CTMs permaneceram aderidas ao biomaterial até três dias de cultivo. Foram realizados implantes de biomaterial com BMP-4 acrescidos de: HUVEC; MO-CTMs; MO-CTMs e HUVEC; OC-CTMs; OC-CTMs e HUVEC. Além disso, foi implantado biomaterial sem BMP-4 ou células. Os implantes foram mantidos nos animais por 70 dias. No 63º dia, os animais foram submetidos a exame radiográfico para avaliar a deposição de matriz óssea na região dos implantes, porém não foram observados indícios de formação óssea detectável. No 70º dia, os organoides foram retirados e a análise macroscópica não mostrou diferença no tamanho dos mesmos nas diferentes condições testadas. Além disso, foi possível observar uma coloração avermelhada nos organoides implantados com HUVEC, sugerindo um processo de vascularização tecidual. A análise histológica com coloração de hematoxilina e eosina revelou a manutenção parcial do arcabouço de colágeno do biomaterial, intensa vascularização nos organoides derivados do implante com HUVEC e preenchimento do biomaterial com tecido conjuntivo frouxo nos implantes que receberam CTMs. A análise imuno-histoquímica utilizando o anticorpo antifosfatase alcalina demonstrou presença de células estromais positivas principalmente nos organoides dos implantes com OC-CTMs. Portanto, o processo de vascularização tecidual sugerido na análise macroscópica foi confirmado por histologia. A vascularização é um processo importante para o estabelecimento do nicho hematopoietico, uma vez que os vasos sanguíneos são componentes relevantes desse microambiente.

Não foram observadas regiões com formação óssea. Desse modo, uma vez obtida a vascularização, as próximas etapas do trabalho envolvem adaptações do protocolo que visem à formação de tecido ósseo mais eficiente, como o uso de hidroxiapatita.

1100 CARACTERIZAÇÃO DE ORGANOIDES HETEROTÓPICOS GERADOS *IN VIVO* A PARTIR DO IMPLANTE DE CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS ISOLADAS DE DUAS REGIÕES DO NICHOS HEMATOPOIÉTICO INTRAMEDULAR

Ferreira FU^{a,b}, Rós FA^a, Costa PNM^a, Borges JS^b, Fogagnolo F^c, Beloti MM^d, Kashima S^b, Covas DT^{a,b}

^a Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^b Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, SP, Brasil

^c Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (HCFMRP-USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^d Faculdade de Odontologia, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

O nicho hematopoietico é um microambiente dotado de diferentes tipos celulares, fatores solúveis e específicas tensões de oxigênio que, juntos, regulam e sustentam as células-tronco hematopoieticas (CTHs). Entre as diferentes populações, as células-tronco mesenquimais (CTMs) exercem grande contribuição na regulação desse microambiente, por meio de sua atividade parácrina e seu potencial de diferenciação em linhagens mesodérmicas. É possível adaptar o cultivo de CTMs em *scaffolds* que mimetizam a estrutura tridimensional do microambiente das CTHs e induzir a formação de um nicho heterotópico *in vivo*. Este trabalho tem como objetivo produzir um nicho hematopoietico heterotópico humanizado a partir de CTMs humanas isoladas de dois compartimentos medulares, medula óssea (MO) e osso esponjoso (OE). Para tanto, as CTMs da MO e CTMs do OE foram cultivadas sob condições de hipóxia (5% de O₂) e caracterizadas quanto ao perfil imunofenotípico, capacidade de diferenciação mesodérmica e expressão de genes (qPCR) e proteínas (Luminex) relacionadas à manutenção e suporte do nicho hematopoietico. Para a construção do nicho heterotópico, as CTMs da MO, as CTMs do OE e as duas juntas foram implantadas com células endoteliais derivadas da veia umbilical (HUVECs) em biomaterial com indutor osteogênico BMP4. Posteriormente, o biomaterial foi implantado em camundongos NSG, e após 60 dias, os implantes foram coletados para análise histológica. O perfil imunofenotípico de ambas CTMs demonstrou populações com altos níveis (mais de 90%) dos marcadores mesenquimais CD73, CD90, CD105, HLA-ABC e CD146 e baixos níveis ou ausência (menos de 2%) dos marcadores hematopoieticos CD45, CD14, CD34, HLA-DR. Em relação à capacidade de diferenciação mesodérmica, tanto as CTMs da MO quanto CTMs do OE foram capazes de se diferenciar em adipócitos, osteócitos e condrócitos. Ambas as populações de CTMs expressaram transcritos gênicos (PTGES, FGF-2, VEGF-C, GREM-1 e BMP-4, TGF-β1, HGF, VEGF-A, VCAM, RUNX-2, BGLAP e CXCL12) e proteicos (SCF, SDF-1, FGF2, IL6, VEGF, FLT3L e IFNα) relacionados ao nicho hematopoietico. De acordo com o processamento de imagem baseado em bioluminescência pelo sistema IVIS, as CTMs permaneceram alojadas no organoide *in vivo* por 60 dias. Os organoides derivados do implante de CTM + HUVEC + BMP4 apresentaram um aspecto mais rígido quando comparado com os controles (biomaterial com HUVEC + BMP4 e biomaterial + BMP4). Acredita-se que a rigidez observada decorra de um maior depósito de tecido conjuntivo por parte da CTM. Análises imuno-histoquímicas revelaram regiões com marcação positiva para SMAD-4 (proteína efetora do indutor osteogênico BMP), mais intenso nos organoides que receberam CTMs, além da marcação positiva para CD146 (marcador progenitor estromal), para fosfatase alcalina e para o CD15 (marcador de granulócitos maduros). A neovascularização foi evidenciada pela presença do marcador endotelial CD31 humano. Assim, ambas CTMs isoladas do mesmo microambiente medular, porém de diferentes regiões, apresentam peculiaridades promissoras para seu uso em estudos de bioengenharia tecidual e terapia celular. O desenvolvimento de um nicho hematopoietico humanizado auxiliará estudos de xenotransplante que melhorem a compreensão da atuação/comportamento das CTHs saudáveis e malignas no nicho hematopoietico.

1101 DEFINIÇÃO DE PARÂMETROS MORFOLÓGICOS E FENOTÍPICOS PARA SELEÇÃO EM LARGA ESCALA DE COMPOSTOS SINTÉTICOS POTENCIALIZADORES DA AÇÃO IMUNOSSUPRESSORA DE CÉLULAS ESTROMAIS MESENQUIMAIS

Costa PNM^a, Santos EVD^a, Rós FA^a, Ferreira FU^a, Souza FC^a, Panepucci RA^a, Meirelles AFG^b, Faccioli LH^b, Covas DT^a, Kashima S^a

^a Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto (FUNDHERP), Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^b Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Para a seleção de compostos sintéticos potencializadores das propriedades imunossupressoras de células estromais mesenquimais do cordão umbilical (UC-MSC) foi proposto o desenvolvimento de uma plataforma para a triagem em larga escala de uma biblioteca de compostos aprovada pelo FDA. Para tanto, foi escolhida a técnica baseada em microscopia confocal que torna possível a análise multiparamétrica de características celulares morfológicas e fenotípicas denominada *High Content Screening* (HCS). Como base da plataforma, foi escolhido o eixo fator de necrose tumoral α (TNF- α) e ciclooxigenase-2 (COX-2), responsável pela síntese de prostaglandina E2, principal fator solúvel produzido pelas MSC na condição de imunomodulação. A partir de uma linhagem de UC-MSC foram determinados os principais parâmetros para uma análise de HCS como densidade celular (placas de 96 e 384 poços), concentração de dimetil sulfoxido (DMSO) e o tratamento com TNF- α para modulação de COX-2. Resultados mostraram que a densidade celular adequada (até 50% da área ocupada) dentro de um período de 24 horas para as placas de 96 e 384 poços foi $4,75 \times 10^3$ e $1,5 \times 10^3$ células/poço, respectivamente. A faixa de concentração de 0,5% a 2% de DMSO não comprometeu a proliferação de UC-MSC ($p < 0,05$, t de Student). A avaliação do TNF- α como indutor de COX-2 sugeriu que a concentração de 100 ng/mL foi capaz de aumentar a expressão da proteína sem comprometer a viabilidade (> 85%) e características como proliferação e área nuclear e celular. A seguir, foram analisadas três linhagens primárias de UC-MSC. As linhagens foram subdivididas em três condições: controle sem DMSO, controle DMSO 0,5% e TNF- α 100 ng/mL. Os experimentos foram realizados em triplicata na placa de 384 poços a uma densidade de 1.500 células/poço em um volume de 50 μ L de meio de cultura α -MEM 10% plasma humano convertido em soro. No dia seguinte ao plaqueamento, cada grupo recebeu seu respectivo tratamento por 24 horas e em seguida foram fixadas/permeabilizadas para marcação com anticorpo anti-COX2. Em paralelo, a viabilidade das UC-MSC foi avaliada nas mesmas condições. O tratamento com 100 ng/mL de TNF- α aumentou cerca de quatro vezes a porcentagem de células marcadas com o anticorpo anti-COX-2 ($p < 0,05$, Kruskal Wallis). A análise da intensidade de fluorescência no citoplasma indicou o aumento de 20% de COX-2 em relação aos grupos controle ($p < 0,05$, Kruskal Wallis). Não houve o comprometimento da viabilidade (cerca 90%) e a área nuclear se mostrou homogênea entre os tratamentos. Já a proliferação e a área celular se mostraram menores no tratamento com TNF- α quando comparados aos controles; contudo, essa diferença não foi significativa de acordo com a análise estatística ($p < 0,05$, Kruskal Wallis). Até o momento, os resultados demonstraram que a área celular e nuclear, proliferação, viabilidade e a quantificação de COX-2 são parâmetros para plataforma de triagem em larga escala para seleção de compostos sintéticos. A próxima etapa deste trabalho baseia-se na validação dos tratamentos com TNF- α a 100 ng/mL e DMSO a 0,5% como controles, positivo e negativo, respectivamente. Nesse contexto, será calculado o fator Z, uma abordagem estatística que leva em consideração a média e o desvio dos controles, desenvolvida para determinar a confiabilidade de ensaios em larga escala.

1102 DESENVOLVIMENTO DE UMA METODOLOGIA PARA IDENTIFICAÇÃO DE LENTIVÍRUS COMPETENTES PARA REPLICAÇÃO EM PRODUTOS DE TERAPIA GÊNICA

Brand H^{a,b}, Sandoval ESR^{a,b}, Silvestre RN^{a,b}, Mizukami A^{a,b}, Fantacini DMC^{a,b}, Souza LEB^{a,b}, Castro VPE^{a,b}, Covas DT^{a,b}, Kashima S^{a,b}

^a Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto (FUNDHERP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^b Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

Os vetores lentivirais são uma importante ferramenta para a transferência de genes de interesse em células-alvo, e essa metodologia está sendo aplicada tanto para pesquisa quanto para ensaios clínicos de terapia gênica, como a modificação de linfócitos T para expressar os receptores de antígeno quiméricos (CAR). A utilização de vírus para a modificação de células pode gerar riscos de biossegurança e o produto deve ser validado antes da realização do ensaio clínico. Um desses riscos é a geração de lentivírus competentes para replicação (RCL), que são partículas do vetor lentiviral com capacidade teórica de recombinação entre o vírus e os componentes da célula utilizada para a produção do vetor. Apesar de algumas medidas de biossegurança terem sido incluídas na produção do vetor lentiviral, o teste de RCL é um requisito regulamentar utilizado para confirmar a ausência de qualquer vírus competente para replicação. Devido à necessidade da validação da ausência de RCL nos produtos de terapia gênica de forma rápida e segura, o objetivo do projeto foi estabelecer uma metodologia capaz de identificar partículas virais por meio da reação em cadeia da polimerase quantitativa (qPCR). Foram realizados testes de RCL em linfócitos T-CAR em diferentes tempos após a exposição ao sobrenadante viral não tratado com DNase. Para o ensaio de qPCR e identificação de partículas lentivirais, foram utilizados *primers* para a sequência da glicoproteína do vírus da estomatite vesicular humana (VSV-G), que é um componente do sistema vetorial empregado na produção dos lentivírus. Houve amplificação da sequência codificante do VSV-G tanto nas células quanto no sobrenadante da cultura em todas as amostras analisadas. Observou-se uma queda na detecção de sequências codificantes do VSV-G nos sobrenadantes das culturas ao longo do cultivo. Esses dados indicam que parte dos plasmídeos utilizados na produção dos lentivírus contaminam os sobrenadantes virais após as etapas de filtração e concentração. Observou-se ainda que esses contaminantes também são propagados após a transdução dos linfócitos T. Portanto, essa contaminação plasmidial deve ser corrigida por meio da utilização de DNase durante a produção do vetor, a fim de minimizar a possibilidade de gerar resultados falso-positivos nos testes de RCL.

1103 EXPANSION OF NATURAL KILLER CELLS FROM INTOLERANT OR REFRACTORY CHRONIC MYELOGENOUS LEUKEMIA PATIENTS

Silva MAL, Bosi G, Valim V, Silva AMP, Amorin B, Wilke I, Sehn F, Kilian ND, Rodrigues RM, Ramos J, Silla LMR

Centro de Tecnologia e Terapia Celular (CTTC), Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Porto Alegre, RS, Brazil

Introduction: Natural Killer (NK) cells are a fundamental part of innate immunity, with a major role in rapid response against infectious agents and activating immune system against tumoral cells. They represent a large supply of cytotoxic or secreting lymphocytes quickly reacting when sensitized with or stimulated by a strange molecule or biophysical environment. They circulate, and probably home, in different biological stages. Some are predominantly secretive — immunomodulatory cells; some are predominantly cytotoxic; and some are both. Chronic myelogenous leukemia (CML) is a clonal myeloproliferative disorder in which the neoplastic transformation of hematopoietic stem cells causes accumulation of myeloid cells and their progenitors. The genetic abnormality responsible for this neoplastic transformation is called Philadelphia chromosome. Introduction of the tyrosine-kinase inhibitors (TKIs), which act directly on the resulting oncoprotein BCR-ABL, has drastically changed clinical outcomes of patients diagnosed with CML. Despite all the advances, hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) is still considered as the only treatment capable of promoting the cure for CML. Patients with CML, however, seem to have lower NK cell counts as disease progresses from chronic phase to blast crisis, as well as diminished cytotoxicity in those NK cells remaining. Adoptive NK cell therapy may have a potential role in treatment of CML patients. **Objective:** To demonstrate an ex-vivo expansion platform using co-cultured mIL-21-expressing cells to expand NK cells for immunotherapy from patients that were refractory or intolerant to TKIs. **Methods:** Peripheral blood samples were collected from 11 CML patients. NK cells were expanded from peripheral blood mononuclear cells after depletion of T cells. They were co-cultured with clone 9 K562 artificial antigen presenting cells (aAPCs). Cell count and viability were evaluated using Trypan Blue and also using 7-AAD marker in cell

flow cytometry. In addition, immunophenotyping of NK cells and cytotoxicity activity was performed by chromium release assay. **Results:** We got clinically grade expansion of NK cells. Seemingly, there is no difference for NK cell expansion according to TKI in use. Immunophenotypic evaluation of all cultures demonstrates a predominance of CD56+/CD16+/CD3- cells. **Conclusion:** This study demonstrated the effectiveness of the mL-21 platform for NK cell expansion in CML patients refractory or intolerant to TKIs. These results are promising and generate the prospect of the possibility of using autologous NK cells in CML patients.

1104 IMPROVED TIMESAVING TECHNIQUE FOR OBTAINING MESENCHYMAL STEM CELL DERIVED FROM ADIPOSE TISSUE

Pola L^{a,b}, Nahas FX^c, Nascimento F^b, Santos TR^b, Alves A^b, Ferreira LM^c, Melaragno MI^a

^a Departamento de Morfologia e Genética, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brazil

^b Techlife Cell Technology Center, Nijmegen, Netherlands

^c Departamento de Cirurgia Plástica, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brazil

Human mesenchymal stem cells derived from adipose tissue (ADSC) have become increasingly interesting as they may be an accessible source for different clinical applications. The ADSC are considered great candidates for application in cell therapy, since a considerable number of cells with a strong capacity for expansion *ex vivo* can be easily obtained with a high yield from a minimal invasive procedure, in addition to exhibiting a greater capacity of providing mesenchymal stem cells compared to bone marrow and umbilical cord tissue. Other benefits are that ADSC have multipotent capacity of differentiation, being poorly immunogenic and having high ability of integration in the host tissue and of interaction with the surrounding tissues. The importance of obtaining high initial cellularity in the isolation is pivotal because cryopreservation sessions are frequently required in the cellular therapy process, and it is well established that cryopreservation process results in significant cell loss, sometimes greater than 50%. To date, literature shows no standardized protocol to isolate ADSC aiming clinical applications, and most of the studies demonstrate complex time-consuming protocols. We describe an improved time-saving protocol in order to obtain a larger amount of viable mesenchymal ADSC for culture expansion aiming at the success of cell therapy. One hundred milliliters of adipose tissue have been collected using syringe liposuction from the abdominal area of nine female patients who subsequently underwent elective abdominoplasty. Adipose tissue was collected using a 26 cm three-hole and 3 mm caliber liposuction cannula and the stem cells' isolation was carried out with a series of washes with DPBS solution supplemented with calcium and with the use of collagenase with gentle agitation. Stromal Vascular Fraction (SVF) cells were cryopreserved, and viability was checked by immunophenotyping. The SVF cellularity found was 15.7×10^6 cells/mL, ranging from 6.1 to 26.2 cells/mL, with the average reported in literature ranging from 0.59 to 29.7 cells/mL. It was checked the minimal criteria to define human multipotent mesenchymal stromal cells proposed by The Mesenchymal and Tissue Stem Cell Committee of the International Society for Cellular Therapy. To the best of our knowledge, there is no previous study using this set of steps for the isolation of mesenchymal stem cells derived from adipose tissue, which resulted in a time-saving cost-benefit technique. In this study, each step of the methodology used was reasoned according to the literature that showed the highest final cell yield in the cellular isolation. The differential of the technique performed in this study was the use of manual aspiration allied to a series of adipose tissue washes, with the subsequent bag resting with a solution that potentiates the action of collagenase. In our study, the efficiency of the method versus the time demanded to complete the initial cellularity must be emphasized: about an hour and a half. According to literature, isolation of adipose-derived stem cells can take about 8 hours. Thus, the gain of time allied to the high cellular income is critical for regenerative medicine therapeutics advancement. The use of the DPBS solution supplemented with calcium and bag resting times for fat precipitation, with shorter time of digestion with collagenase, resulted in an increased stem cell final cellularity.

1105 INDICADORES DE QUALIDADE DO PROCESSAMENTO DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOIÉTICAS DE SANGUE DE CORDÃO UMBILICAL E PLACENTÁRIO DO CENTRO DE PROCESSAMENTO CELULAR DA FUNDAÇÃO HEMOPA

Amaral SRB, Seabra AD, Meileres ALLP, Lima AMB, Silva ELME, Castro JAA, Monte LB, Rodrigues MRRR, Chaves NML, Oliveira SA

Fundação Centro de Hemoterapia e Hematologia do Pará (Hemopa), Belém, PA, Brasil

Introdução: As células progenitoras hematopoiéticas de sangue de cordão umbilical e placentário (CPH-SCUP) são utilizadas no transplante de medula óssea (TMO), que permite a recuperação medular e o reestabelecimento da hematopoese. A determinação de indicadores para a avaliação da qualidade do processamento e criopreservação são indispensáveis para verificar o potencial proliferativo das CPH-SCUP. **Objetivo:** Descrever os indicadores utilizados no processamento das CPH-SCUP do centro de processamento celular (CPC) da Fundação Centro de Hemoterapia e Hematologia do Pará (Hemopa). **Material e método:** Foram avaliadas 893 unidades de CPH-SCUP com os dados completos coletadas e criopreservadas no período de dezembro de 2012 a junho de 2019. Analisaram-se os seguintes indicadores: celularidade inicial, celularidade final, recuperação, contagem de células CD34+, viabilidade celular e controle microbiológico. **Resultados:** A média de celularidade inicial foi de $13,17 \times 10^8$ – valor mínimo de $6,3 \times 10^8$ e máximo de $41,08 \times 10^8$; média de celularidade final: $10,32 \times 10^8$ – valor mínimo de $5,06 \times 10^8$ e máximo de $27,1 \times 10^8$; média de recuperação: 79,42% – valor mínimo de 51,10% e máximo de 98,82%; média de células CD34+: $1,6 \times 10^6$ – valor mínimo de $0,22 \times 10^6$ e valor máximo de $19,82 \times 10^6$; média de viabilidade celular: 98,29% – valor mínimo de 85% e máximo de 99%; apenas cinco amostras tiveram hemocultura positiva. **Discussão:** Quanto ao indicador de celularidade inicial, a tendência da média é aumentar, pois em 2018 o parâmetro de celularidade inicial para o processamento das CPH-SCUP foi alterado de 6×10^8 para 10×10^8 . É necessário estabelecer metas para o indicador de recuperação, como obter produtos a partir de 82% de recuperação e aumentar progressivamente esse índice, melhorando assim, a qualidade do buffy-coat. A média de contagem de células CD34+ está de acordo com o valor mínimo que a RDC 214/2018 exige: $1,25 \times 10^6$. O indicador de viabilidade celular atende satisfatoriamente ao processamento, visto que a viabilidade mínima para criopreservação é de 75%, e a média obtida foi acima desse valor. **Conclusão:** Os indicadores para avaliação da qualidade demonstram que o método de processamento das CPH-SCUP instituído no CPC-HEMOPA são satisfatórios aos requisitos necessários para a utilização em TMO.

1106 NOTCH PATHWAY INHIBITION IN HUMAN EMBRYONIC STEM CELLS PROMOTES CHANGES ASSOCIATED WITH NAIVE PLURIPOTENCY

Corveloni AC^{a,b}, Schiavinato JLDS^{a,b}, Lima IMS^b, Bezerra HLO^b, Souza FC^{a,b}, Coqueiro IL^b, Panepucci RA^{a,b}

^a Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

^b Instituto Nacional de Ciência e Tecnologia em Células-Tronco e Terapia Celular no Câncer (INCTC), Centro de Terapia Celular (CTC) e Hemocentro de Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, SP, Brazil

Mouse embryonic stem cells (mESCs), derived prior to embryo implantation, are in a state of "Naive" pluripotency, with a large capacity for self-renewal and a wide and unbiased potential for differentiation into all cell types of the three germ layers. In turn, ESCs derived from epiblast after implantation (EpiSC) undergo changes that pre-condition them to respond to differentiation signals, being in a "Primed" state. Human ESCs (hESCs) are derived from blastocysts obtained by *in vitro* fertilization, and based on multiple characteristics, are considered closer to mouse EpiSCs than to mESCs. The search for methods, allowing the conversion of hESCs from the Primed to the Naive state, has received growing interest in the field of tissue engineering, given their mentioned qualities. Our group recently showed that miR-363 promotes pluripotency in hESCs (at least in part) by post-transcriptionally inhibiting Notch pathway components, including NOTCH1/2 receptors and the gamma-secretase mediating

their activation. Recently, both receptors have been identified as markers associated with human ESCs in the Primed state. Thus, the objective of this work was to investigate the effect of Notch pathway inhibition (by the gamma secretase inhibitor DAPT) on molecular and phenotypic characteristics usually associated with the transition between Primed and Naive states. For this, hESCs of the primed H9 lineage were grown in mTESR medium in feeder-free condition ($n = 4$) in presence or absence of DAPT ($2 \mu\text{M}$) over 6 passages (22 days). As a control, the same lineage was cultivated for 8 passages (35 days) with RSET commercial medium, able to promote Primed-to-Naive conversion. Changes in expression of pluripotency factors and Primed and Naive markers were evaluated by qPCR and quantitative fluorescence microscopy using a High-Content Screening system (ImageXpress Micro, Molecular Devices). Fixed and permeabilized cells were stained with Hoechst and CellMask Blue to delineate nucleus and cytoplasm (respectively) and stained with antibodies for detection of markers associated with pluripotency (OCT4), and with the Primed (CD90 and SSEA3) and Naive states (CD130 and CD7). Neither RSET medium nor DAPT medium changed OCT4 or SSEA3 levels; however, both induced a reduction in Primed marker expression CD90. Only treatment with DAPT increased expression of CD7 Naive marker. Regarding gene expression, RSET cultivation led to reduced ZIC2 and OTX2 transcript levels (Primed markers) and to increase in KLF4 and DPPA3 levels (Naive markers), the latter being also induced in cells cultures with DAPT. Our preliminary results indicate that the simple pharmacological inhibition of the Notch pathway is able to promote molecular and phenotypic changes associated with the Naive pluripotency state (induction of DPPA3 and CD7, and repression of CD90). Understanding the role of the Notch pathway during this process may contribute to the optimization of protocols to convert human ESCs (or induced pluripotent stem cells, iPSCs) to a Naive state, endowed with higher self-renewal and differentiation potentials; thus, directly impacting the development of new therapies based on tissue engineering and regenerative medicine.

1107 O PAPEL DA CISPLATINA E DO TGF-1 NA INDUÇÃO DA TRANSIÇÃO EPITÉLIO-MESENQUIMAL EM TUMORES DE CÉLULAS GERMINATIVAS

Pereira LAB^{a,b}, Tufi LMB^{a,b}, Alves CFB^a, Reis RM^a, Lopes LF^a, Lengert AVH^a, Pinto MT^a

^a Centro de Pesquisa em Oncologia Molecular, Hospital de Câncer de Barretos, Barretos, SP, Brasil

^b Faculdade de Ciências da Saúde de Barretos Dr. Paulo Prata, Barretos, SP, Brasil

Introdução: Os tumores de células germinativas (TCGs) são neoplasias benignas ou malignas que podem ocorrer em sítios gonadais ou extra-gonadais. O tratamento é feito de acordo com a histogênese do tumor, e a cisplatina é um dos principais quimioterápicos utilizados. Entretanto, cerca de 15%-20% dos pacientes são resistentes a essa droga. Um dos mecanismos relacionados à resistência a drogas é a transição epitélio-mesenquimal (EMT), processo no qual a célula epitelial perde suas características e adquire fenótipo mesenquimal, bem como capacidade de migração e invasão. A EMT pode ser induzida por diversos fatores, principalmente pelo TGF- β . Além do TGF- β , os próprios agentes quimioterápicos, incluindo os compostos de platina, também são estimuladores da capacidade metastática das células tumorais por indução da EMT. **Objetivos:** Avaliar o efeito da cisplatina e do TGF- β 1 na indução da EMT em TCGs por meio da análise de marcadores epiteliais e mesenquimais. **Material e método:** A linhagem de carcinoma embrionário humano (NTERA-2) foi tratada em cinco condições distintas: 1) Controle; 2) TGF- β 1 (10 ng/mL); 3) Cisplatina na dose de $0,25 \mu\text{M}$; 4) Cisplatina na dose do IC50 $0,78 \mu\text{M}$; 5) TGF- β + cisplatina ($0,78 \mu\text{M}$). Após os tratamentos, a morfologia celular foi avaliada, bem como a expressão dos marcadores da EMT por qPCR. **Resultados:** As células NTERA-2 tratadas com a dose do IC50 da cisplatina perderam sua morfologia epitelial e adquiriram morfologia fibroblastoide, enquanto as células controle e TGF- β mantiveram seu fenótipo epitelial. A análise da expressão gênica mostrou um aumento nos marcadores mesenquimais vimentina, colágeno, α -SMA e fibronectina nas células NTERA-2 tratadas com cisplatina $0,25 \mu\text{M}$, em comparação às células CT e TGF- β , e um aumento ainda mais expressivo desses mesmos marcadores nas células tratadas com a maior dose de cisplatina ($0,78$

μM). Curiosamente, o tratamento concomitante (TGF- β 1 + cisplatina) causou diminuição na expressão dos marcadores mesenquimais em comparação com o tratamento com cisplatina na dose do IC50. Foi observada uma diminuição de E-caderina nas células tratadas com cisplatina $0,25 \mu\text{M}$ e um aumento da mesma nos grupos de células tratadas com cisplatina $0,78 \mu\text{M}$ e TGF- β 1 + cisplatina. Em relação aos fatores de transcrição Snail e Slug, houve uma diminuição de Slug no tratamento com cisplatina $0,25 \mu\text{M}$ e um aumento nos grupos cisplatina $0,78 \mu\text{M}$ e TGF- β 1 + cisplatina. **Discussão:** Embora os compostos de platina sejam quimioterápicos largamente empregados no tratamento dos TCGs, muitos pacientes que utilizam esses compostos apresentam recaídas. Alguns estudos têm demonstrado que os tratamentos com essas drogas aumentam as taxas de metástase e geram um fenótipo de resistência por meio da indução da EMT, com aumento dos marcadores mesenquimais e fatores de transcrição. **Conclusão:** Esses resultados indicam que o tratamento com doses maiores de cisplatina induzem um fenótipo resistente e a ocorrência de EMT, enquanto o tratamento combinando TGF- β + cisplatina pode ser capaz de atenuar a quimiorresistência por mecanismos ainda desconhecidos.

1108 PADRONIZAÇÃO DA DEPLEÇÃO DO MEIO DE CULTURA LIVRE DE XENOANTÍGENOS PARA PRODUÇÃO DE VESÍCULAS EXTRACELULARES DERIVADAS DE CÉLULAS ESTROMAIS MESENQUIMAIS HUMANAS USADAS EM TERAPIA CELULAR

Maçonetto JM^{a,b}, Lamarre Y^{a,b}, Rossetti R^{a,b}, Kashima S^{b,c}, Covas DT^{a,b}

^a Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^b Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto (FUNDHERP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^c Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

As vesículas extracelulares (EV) são estruturas limitadas por uma bicamada lipídica, semelhante à membrana celular, liberadas por diferentes tipos de células e contribuem com o mecanismo de tráfico intracelular de complexas mensagens biológicas, podendo alterar o fenótipo ou comportamento funcional das células-alvo. As EV derivadas de células estromais mesenquimais (MSC) têm demonstrado mediar os efeitos imunossupressores das MSC, suprimindo a proliferação de linfócitos T, B, células dendríticas e NK. Desse modo, as EV-MSC podem representar uma solução para algumas limitações das terapias baseadas em células, como a senescência induzida pela cultura, rejeição mediada por imunidade, instabilidade genética e perda de propriedades funcionais. Nesse contexto, é importante eliminar os componentes derivados de animais durante o cultivo das MSC e suas EV visando às aplicações clínicas, substituindo por meios definidos, livres de soro e xenoantígenos, para evitar a contaminação com patógenos que causam reações imunes nos pacientes. A alternativa utilizada neste trabalho é a suplementação do meio de cultura com plasma AB humano convertido em soro (PHCS), devido à sua disponibilidade e possibilidade de uso alogênico. Estudos do grupo de pesquisa do Hemocentro de Ribeirão Preto mostraram que o meio de cultura suplementado com 10% de PHCS foi capaz de suportar o crescimento das MSC quando comparado com o controle (10% de soro fetal bovino). No entanto, os meios de cultura utilizados na produção de EV-MSC devem ser desprovidos de EV derivadas do soro, pois essas vesículas são internalizadas nas células e influenciam a migração celular, proliferação e diferenciação, além de copulificarem com as EV de interesse, interferindo na caracterização das EV-MSC e nas futuras aplicações terapêuticas. Portanto, foi padronizado um protocolo de depleção do PHCS baseado em ultracentrifugação. Para avaliar o tempo de rotação necessário para maior depleção possível foi comparada a concentração de EV presentes no PHCS após diferentes tempos de rotação a $100.000 \times g$. A avaliação da concentração das EV presente no PHCS foi realizada com o uso da tecnologia de análise de rastreamento de nanopartículas, e foi possível observar que após 18 horas de ultracentrifugação foi reduzida a concentração de partículas em 6,3 vezes quando comparada com o PHCS sem ultracentrifugação. A avaliação do perfil bioquímico do PHCS após a depleção das EV revelou que não houve alteração significativa das dosagens quando comparado com o controle. Em seguida, foram cultivadas MSC derivadas do cordão umbilical, tecido adiposo e medula óssea no meio depleto, e foi observado que as células mantiveram a

expressão característica dos marcadores de superfície, a morfologia celular, viabilidade e o potencial de diferenciação adipogênico e osteogênico *in vitro*, quando comparadas com as células cultivadas em meio regular. As EV-MSC isoladas do sobrenadante da cultura apresentam perfil de exossomos com expressão das proteínas CD9, HSP70 e Alix, e diferença na concentração de partículas entre as fontes. Como conclusão, este protocolo de meio livre de xenoantígenos depletado de EV apresenta as características necessárias para ser utilizado na produção das células e purificação de EV-MSC destinadas à terapia celular.

1109 POSSÍVEL PAPEL DA DELEÇÃO 20Q11.21-Q13.32 EM IMPEDIR A GERAÇÃO DE CÉLULAS-TRONCO DE PLURIPOTÊNCIA INDUZIDAS

Gomez CE^a, P MA^a, Vieira RR^b, Zalberg I^b, Daumas GAH^c, Souza C^d, Rehe

^a Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^b Centro de Transplante de Medula Óssea (CEMO), Instituto Nacional de Câncer José Alencar Gomes da Silva (INCA), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^c Serviço de Hematologia, Hospital Universitário Antonio Pedro (HUAP), Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ, Brasil

^d Hemon Hematologia Clínica e Transplante de Medula Óssea, Universidade do Estado do Rio de Janeiro (UERJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^e D'Or Instituto de Pesquisa e Educação (IDOR), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^f Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^g Fundação Oswaldo Cruz (Fiocruz), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução e objetivo: Pacientes com mielofibrose primária (MFP) apresentam mutações *driver* em JAK2, CALR ou MPL e mutações adicionais foram identificadas em genes reguladores epigenéticos, assim como anormalidades cromossômicas, e são frequentes as deleções em 13q, 17q e 20q. Deleções no 20q impactam o prognóstico da MFP. As células-tronco de pluripotência induzida (iPSC) de pacientes representam uma plataforma interessante para o estudo *in vitro* do papel de alterações genômicas. Neste trabalho buscamos gerar iPSC a partir de células-tronco/progenitoras hematopoéticas (HSC) de um paciente com MFP portador de mutação JAK2 V617F, ASXL1 Y591fs1 e deleção no cromossomo 20q. **Material e método:** Células primárias HSC CD34+ do paciente (P1) foram purificadas e transduzidas com o vírus Sendai. As iPSC geradas foram avaliadas pela expressão de marcadores de células-tronco embrionárias (ES) e a capacidade de se diferenciar nas três camadas germinativas nos ensaios de formação de corpos embrioides; os marcadores específicos foram detectados por imunofluorescência. A caracterização molecular das iPSC e de granulócitos primários (GR) do P1 envolveu: a análise de marcadores STR por PCR para verificação de identidade celular; a análise de ploidia por *low-pass whole-genome sequencing*; estudo de alterações no cromossomo 20q por FISH e avaliação de mutações somáticas por *Next Generation Sequencing* e sequenciamento direto. **Resultados:** Em GR do P1 com MFP foi identificada a mutação *driver* JAK2 V617F e ASXL1 (p.Y591fs*1), além da deleção 20q11.21-q13.32. Foram geradas 19 colônias iPSC evidenciando dois genótipos diferentes: 17 iPSCs JAK2WT e ASXL1WT, enquanto duas iPSCs foram portadoras da mutação *driver* no gene JAK2V617F e do gene ASXL1Y591fs*1 (iPS.MFP5.5), além da deleção original identificada nos GR do P1. O resultado da análise da iPSC mutada mostrou que a deleção está presente em 66% das células. Após seleção manual e repique das iPSC mutadas, os clones diferenciam completamente. Porém, as iPSC WT foram repicadas e foi possível demonstrar que eram iPSC *bona fide*. No caso da iPS.MFP5.5, observamos na passagem 15 que os marcadores de superfície TRA-1-60 e TRA-1-81 se mostraram expressos parcialmente, à diferença dos marcadores OCT-3/4 e SSEA-4. Por meio de análise *in silico* identificaram-se genes associados à pluripotência na região correspondente ao fragmento deletado: DNMT3B, MYBL2, EIF2S2, entre outros. **Discussão:** Nesses últimos anos, evidências têm mostrado que alterações no cromossomo 20q poderiam estar impactando o estado de pluripotência das células iPSC, porém ainda pouco se sabe sobre seu papel na reprogramação celular. Trabalhos recentes têm mostrado que a duplicação do 20q poderia participar tanto na pluripotência quanto na resistência à apoptose das células ES. **Conclusão:** Os resultados sugerem que a mutação no gene ASXL1Y591fs*1 e/ou a deleção no cromossomo 20q poderiam ter um impacto negativo na reprogramação celular, bem como no estado de pluripotência alcançado pela linhagem.

1110 POTENCIAL DAS CÉLULAS-TRONCO MESENQUIMAIS NO TRATAMENTO DA DOENÇA HEPÁTICA GORDUROSA NÃO ALCOÓLICA

Nascimento TS^a, Brito JS^b, Rodrigues BFB^b, Nascimento TS^b, Sousa MLV^b, Garcia IS^b, Trindade SLF^b, Killesse CTSM^b, Silva DC^b, Prado EBB^a

^a Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora, MG, Brasil

^b Centro Universitário Atenas, Paracatu, MG, Brasil

Objetivo: A doença hepática gordurosa não alcoólica (DHGNA) é a segunda causa de transplante hepático nos Estados Unidos, apresentando prevalência de 20% a 50% em países ocidentais. A doença tornar-se-á, em duas décadas, a principal indicação de transplante hepático, único tratamento definitivo. Mediante a escassez de órgãos doadores, a terapia celular é vista como alternativa de grande potencial. Este estudo busca revisar os resultados apresentados pela terapia celular na DHGNA. **Material e método:** Pesquisaram-se os termos *Mesenchymal stem cells* OR *Wharton Jelly Cells* OR *Mesenchymal Stromal Cells* AND *nonalcoholic fatty liver disease* OR *NAFLD* OR *Fatty Livers*, *Nonalcoholic* OR *Nonalcoholic Fatty Liver* OR *Nonalcoholic Steatohepatitis* nas bases PubMed, SciELO e Lilacs. Foram incluídas pesquisas originais em animais e humanos, produzidas de 2010 a 2019, em inglês, espanhol ou francês, e foram excluídos estudos inconclusos, de impossível recuperação, que tratassem exclusivamente de outras doenças metabólicas e revisões. **Resultado:** A busca retornou 77 artigos, excluindo-se, após leitura de títulos e resumos, 65 artigos por não tratarem da patologia ou da terapia celular pesquisada e três revisões. Assim, foram selecionados nove artigos para leitura completa. Foram excluídos dois protocolos de estudo. A terapia com células-tronco mesenquimais em camundongos resultou na redução de citocinas inflamatórias, interleucinas 1 β , 6 e 17, interferon γ , fator de necrose tumoral α , fator de transformação do crescimento β , número de células de Kupffer, células hepáticas estreladas ativadas, relação CD8+/CD4+, marcadores de dano hepático, relação adiponectina/leptina, fibrose, resistência à insulina, peso corporal e hiperlipidemia. Nenhum estudo foi realizado em humanos. Os estudos avaliaram células-tronco oriundas do tecido adiposo animal e células-tronco mesenquimais humanas. **Discussão:** A terapia celular é promissora no tratamento de diversas doenças metabólicas, incluindo obesidade, síndrome metabólica e diabetes *mellitus* – fatores de risco para DHGNA. Os estudos demonstram que a terapia atua em diferentes locais da fisiopatologia da doença: no recrutamento celular, na expansão do processo inflamatório, na resistência à insulina e na progressão da fibrose e, *in vitro*, reduziu também a via de sinalização de lipopolissacarídeos/receptor Toll-like 4, um outro elemento da patogênese. A atuação em várias linhas fortalece um futuro papel da transfusão de células mesenquimais como terapêutica da DHGNA em humanos. As atuais evidências, contudo, partem de metodologias distintas, dificultando as possíveis conclusões. **Conclusão:** Os dados obtidos por diferentes estudos são promissores, embora sejam necessárias novas investigações em animais e humanos para se determinar os desfechos relacionados à inflamação e fibrose hepática.

1111 PRODUTOS DE TERAPIA CELULAR CRIOPRESERVADOS: COMPARAÇÃO DA VIABILIDADE NAS BOLSAS DE ARMAZENAMENTO COM A VIABILIDADE NOS SEGMENTOS ANEXADOS

Silva TCS, Battaglini RP, Alexandre W, Queiroz ELC, Assis JS, Costa SSM, Langhi DM

Biotec, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: É sabido que na criopreservação de células realizada em freezer mecânico de temperatura fixa (a -80°C) a taxa de congelamento varia com o tipo e o volume do produto, a área de superfície de troca de calor, bem como o tipo de material utilizado nas bolsas e nos estojos de armazenamento, com possíveis repercussões na função das células criopreservadas. Diferenças na viabilidade celular dos produtos criopreservados contidas nas bolsas de armazenamento em relação ao segmento anexado às mesmas têm sido relatados e podem representar um problema quando esses segmentos são utilizados na caracterização dos produtos pré-infusão no transplante de medula óssea (TMO). **Objetivo:** Comparar a viabilidade do produto de terapia celular criopreservado em bolsas de armazenamento com as células contidas no seg-

mento anexado às mesmas. **Material e método:** Foram avaliados 22 pares ($n = 44$) de segmentos e bolsas de produtos de terapia celular criopreservados (DMSO 5%, plasmin e albumina) e armazenados para transplantes de medula óssea autólogos ou alogênicos, coletadas entre 2013 e 2019 no Hospital São Camilo, São Paulo (SP). As bolsas foram descongeladas rapidamente a 37°C utilizando descongelador a seco automatizado (Plasmatherm, Barkey®), e um total de 0,5 mL do produto foi coletado da bolsa e de seu respectivo segmento para avaliação da viabilidade celular. Por meio da técnica do corante de exclusão *Trypan Blue*, a contagem das células viáveis e não viáveis foi realizada em câmara de Neubauer em microscópio óptico, e a porcentagem de células viáveis foi calculada. Foi aplicado o teste t de Student nos resultados encontrados. Diferenças foram consideradas significativas quando $p < 0,05$. Os cálculos estatísticos foram realizados usando o programa RStudio V. 1.2.1335. **Resultados:** A viabilidade celular nas bolsas variou entre 52% e 85%, e nos segmentos variou entre 52% e 92%. A média das viabilidades dos produtos contidos nas bolsas foi de 68,81% (desvio padrão = 11,39%), e dos produtos nos segmentos foi de 70,18% (desvio padrão = 11,35%); não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os dois grupos ($p = 0,6928$). **Discussão:** Comparamos a viabilidade de produtos de terapia celular para avaliar se as células contidas no segmento realmente representariam o conteúdo presente na bolsa principal, uma vez que ambos passaram pelos mesmos processos de criopreservação e armazenamento. Alguns estudos apontam diferenças entre a viabilidade do produto contido na bolsa e no respectivo segmento, o que não foi observado em nossas amostras, que evidenciaram variações semelhantes na viabilidade celular (par bolsa-segmeneto) e a média da viabilidade dos dois grupos não apresentou diferença estatisticamente significativa. **Conclusão:** Os resultados encontrados mostram que os produtos congelados e armazenados nos segmentos anexados às bolsas são representativos do conteúdo das mesmas. Entretanto, outros testes para avaliação da viabilidade celular, como contagem de CD34+, 7-AAD e CFU podem ser aplicados para melhor controle da qualidade dos produtos de terapia celular criopreservados.

1112 RED BLOOD CELL DEPLETION FROM BONE MARROW GRAFTS – A SINGLE CENTER EXPERIENCE USING A LOW SPIN CENTRIFUGATION TECHNIQUE

Hamasaki DT^a, Arruda LADP^b, Santos CZD^b, Rocha V^{a,b}, Mendrone-Junior A^a

^a Fundação Pró-Sangue, Hemocentro de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

^b Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (HCFMUSP), São Paulo, SP, Brazil

Objective: Successful hematopoietic stem cell transplantation (HSCT) does not require ABO compatibility between donor and recipient, as pluripotent hematopoietic progenitor cells (HPC) do not express ABO blood group antigens. However, while peripheral blood stem cell (PBSC) grafts by apheresis collection often have small red blood cell (RBC) content, large volume products from bone marrow (BM) source often require strategies as reduction of recipient's isoagglutinins by plasma exchange (TPEX) or immune adsorption and/or RBC removal from the graft to avoid acute hemolytic reactions. Here we describe our successful experience on manual RBC depletion of BM grafts prior to HSCT. **Material and methods:** RBC depletions of BM grafts performed at our institution from December 2016 to May 2019 were included in the analysis. RBC removal procedure was performed using a low spin centrifugation technique without adding a sedimenting agent, preferably on the same day of BM collection. Additional strategies to reduce recipient isoagglutinins may have been adopted according to physician's criteria. Data on indirect bilirubin, lactate dehydrogenase, haptoglobin and serum creatinine at the day of the infusion and on the following day were compared to assess laboratory signs of hemolysis. **Results:** Twenty patients received HSCT from RBC depleted BM grafts. Mean age of recipients was 8 years (range 1-29); 58% were female. Most common diagnosis were primary immunodeficiency disorders, followed by ALL and AML (45%, 20%, and 15%, respectively). Baseline product characteristics were: median total RBC volume of 288 mL (IQR 182.9-384.6), hematocrit 29% (IQR 27.9-32), total nucleated cell per recipient kg (TNC/kg) 6.69×10^8 (IQR 4.53-9.4), and CD34+/kg 4.67×10^6 (IQR 2.7-6.08). RBC depleted grafts had a median residual erythrocytes volume of 23.2 mL (IQR 16.6-41.3), hematocrit 4.1% (IQR 3.36-5.25), and TNC/kg of 5.77×10^8 (IQR 4.22-

7.53). It resulted on a median TNC recovery of 91.2% and a median reduction from the initial RBC content of 91.3%. No acute hemolytic reactions were reported back to our laboratory. Six patients presented only mild laboratory signs of hemolysis. There were no cases of acute kidney dysfunction secondary to major ABO incompatibility intravascular hemolysis. **Discussion:** RBC removal from BM grafts is a useful approach in major ABO-incompatibility HSCT because recipient focused techniques such as TPEX or immune adsorption often have to deal with large volumes of heterologous plasma exposure, risk of antibody rebound and difficulties with venous access and anticoagulant toxicity. We report data on erythrocyte depletion performed by a simple centrifugation technique with both satisfactory RBC removal and TNC recovery. Infusion of the RBC depleted BM was well tolerated, and aside from mild laboratory evidence of hemolysis no other significant infusion-related adverse events were reported. **Conclusion:** RBC depletion of bone marrow grafts by centrifugation technique is a feasible and effective approach when dealing with major ABO incompatibility in HSCT.

1113 TERAPIA COM CAR T-CELLS: UMA DISCUSSÃO ACERCA DO CUSTO-EFETIVIDADE EM UM POSSÍVEL CENÁRIO DE SAÚDE PÚBLICA BRASILEIRA

Pacheco AVTJM, Paula HI, Bezerra IC, Silva PRR, Oliveira ACPE, Sanches MDS, Gonzaga GM, Sousa MC, Rios IB, Cunha AC

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

Objetivos: Discutir, por meio de uma revisão sistemática, a viabilização econômica do possível acesso à terapia com CAR T-Cells (TCTC) no âmbito da saúde pública brasileira pelo Sistema Único de Saúde (SUS) e de seus benefícios. **Material e método:** As informações relativas ao estudo foram obtidas por meio da pesquisa de artigos publicados entre 2017 e 2019, utilizando a base de dados Medline. Foram utilizados como palavras-chave: "Car T-Cells therapy and cost and effectiveness". **Resultados:** A TCTC apresenta alto custo financeiro, próximo de 475.000 USD e de 373.000 USD em média, respectivamente, para o tisagenlecleucel e o axicabtagene ciloleucel nos Estados Unidos, onde foi aprovada pela Food and Drug Administration (FDA) para o tratamento da leucemia linfóide aguda (LLA) e do linfoma difuso de grandes células-B (LDGCB) refratários. A TCTC apresenta altas taxas de remissão da LLA e do LDGCB em estudos experimentais, porém está relacionada a muitos efeitos adversos, principalmente os associados à neurotoxicidade e à síndrome de liberação de citocinas (SLC). **Discussão:** A TCTC demonstrou, em estudos experimentais, boas taxas de remissão (de 82% para a LLA com o axicabtagene ciloleucel e 81% com o tisagenlecleucel) obtidas, há importantes efeitos adversos conhecidos em curto prazo, principalmente os associados à neurotoxicidade e a SLC, que demandam um manejo intensivo do paciente após a infusão das CAR T-Cells. Esses efeitos acometem uma grande parcela dos pacientes; 95% dos pacientes tratados com axicabtagene tiveram efeitos adversos grau 3 ou superior. Também pouco se sabe de seus efeitos adversos a longo prazo, visto que a literatura carece de estudos prospectivos. Assim, há uma certa obscuridade em seus reais benefícios a longo prazo. A recente liberação da TCTC por parte da FDA como terapêutica nos EUA para o tratamento da LLA e do LDGCB refratários levanta questionamentos acerca de uma possível adesão dessa terapêutica no Brasil por meio do SUS. As principais barreiras para o emprego da TCTC no SUS são: alto custo da terapia; necessidade de adaptação dos hospitais para uma estrutura capaz de manejar corretamente o procedimento e os efeitos adversos ou o desenvolvimento de centros especializados; necessidade de capacitação dos profissionais da saúde para o manejo da TCTC e de seus efeitos adversos, dúvidas acerca dos efeitos adversos e da efetividade do tratamento a longo prazo; carência de legislação específica. Porém, um maior incentivo a pesquisas com TCTC, no Brasil, permitirá avanços tecnológicos que podem diminuir as barreiras para o emprego da terapia no país. **Conclusão:** O emprego da TCTC atualmente por meio do SUS, no Brasil, apresenta muitas limitações, principalmente no que concerne: ao seu alto custo; a questionamentos acerca da sua real efetividade a longo prazo em comparação aos efeitos adversos; a necessidade de capacitação dos profissionais da saúde e de uma estrutura hospitalar específica. Porém, é possível especular que um aumento de pesquisas nacionais acerca de TCTC pode tornar a aplicação pelo SUS mais palpável.

1114 UNUSUAL HIGH INCIDENCE OF ACUTE KIDNEY INJURY AFTER AUTOLOGOUS CRYOPRESERVED HEMATOPOIETIC PROGENITOR CELLS INFUSIONS – INVESTIGATION OF ETIOLOGY AND STRATEGIES IMPLEMENTED

Hamasaki DT^a, Santos CZD^b, Arruda LADP^b, Bassolli L^b, Rocha V^{a,b}, Mendrone-Junior A^a

^a Fundação Pró-Sangue, Hemocentro de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

^b Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (HCFMUSP), São Paulo, SP, Brazil

Objective: Infusion of cryopreserved hematopoietic stem cell (HSC) products has been associated with mild to life-threatening adverse events (AEs). These AEs have been mainly attributed to the cryoprotectant agent Dimethylsulfoxide (DMSO), but there are other often overlooked contributing factors. Due to an unusually high incidence of infusion-related acute kidney injuries (AKI) from January to April 2019 at our institution, an investigation to assess a causal association was carried out. Our aim was to evaluate a possible correlation between HSC-product characteristics and AKI outcomes.

Material and methods: We performed a retrospective analysis of autologous cryopreserved PBSC-product infusions from January to May 2019, based on HSC product characteristics, patients' demographics and AEs. Before infusion, patients received intravenous hydration and pre-medication according to institutional protocol. HSC bags were thawed bedside by immersion in a water bath and immediately infused. **Results:** Thirty-two infusions were analyzed. Mean age was 46 years (range 29-66), and eighteen patients were female (56.2%), with no significant differences from the AKI and AKI-absent groups ($p = 0.142$ and $p = 0.703$, respectively). Most patients had multiple myeloma diagnosis (59.4%), followed by Hodgkin and non-Hodgkin lymphoma (both 15.6%) and germ cell tumor (9.4%). Mean estimated Glomerular Filtration Rate (eGFR) prior to infusion was 109.8 mL/min/1.73m² (SD = 41.3) for the AKI-absent group and 107.2 (SD = 24.5) for the AKI-group, with no statistical difference ($p = 0.833$). Median overall TNC/kg was 0.53×10^6 (IQR 0.35-0.76). We found a significant positive correlation between AKI incidence and both median DMSO volume (g/kg) — 0.128 (IQR 0.100-0.169) vs 0.330 (IQR 0.256-0.420), $p < 0.001$ — and RBC content (mL/Kg) — 0.252 (IQR 0.075-0.449) vs 0.812 (IQR 0.582-0.996). A ROC curve analysis demonstrated an optimal RBC volume cut-off point of 0.47 mL/kg to predict higher incidence of AKI (AUC = 0.917, 95% CI 0.82-1.0, $p < 0.001$). **Discussion:** Our analysis showed that both DMSO volume and RBC content were positively associated with AKI outcomes. However, it did not seem to be caused by excessive DMSO exposure, as even in the AKI group median DMSO volume was 0.330 g/kg — way under the maximum daily dose recommendation of 1 g/kg established by previous studies. The high AKI incidence was also related to a modification on the apheresis collection equipment brand and that may have been the reason for the remarkable changes in RBC content of HSC products. RBCs and granulocytes do not survive cryopreservation and thawing. Therefore, release of hemoglobin, electrolytes, and membrane fragments from RBC lysate and other damaged cell products may comprise an important and frequently neglected trigger for infusion-related AEs. Although there are studies suggesting a TNC/granulocyte daily dose limitation, this is the first report that we know of that associates RBC content in the HSC graft directly and in a very significant way with the incidence of infusion-related AKI. **Conclusion:** Based on this data, a policy change was implemented, and the maximum daily RBC dose limited to 0.4 mL/kg. Splitting infusions, RBC depletion prior to cryopreservation and PBSC collection adjustment are some of the strategies currently used to achieve this goal. We plan to assess the impact of this policy change by a prospective study.

1115 USO DE CÉLULAS-TRONCO DO ESTROMA DA MEDULA ÓSSEA HUMANA PARA CELULARIZAÇÃO DE ALOENXERTOS

Lopes TPEG^{a,b}, Rocha LR^a, Lima BCM^c, Pinto JS^c, Duarte MEL^a, Costa AFAP^a, Guimarães JAM^a, Dias RB^a

^a Instituto Nacional de Traumatologia e Ortopedia Jamil Haddad (INTO), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^b Pontifícia Universidade Católica do Rio de Janeiro (PUC-Rio), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^c Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Objetivo: Avaliar a capacidade osteoindutora e osteocondura de aloenxertos desvitalizados associados a células-tronco estromais da medula óssea (BMSCs – “Bone marrow stem/stromal cells”). **Material e método:** As BMSCs foram isoladas a partir de descartes cirúrgicos de osso esponjoso, após consentimento por escrito dos doadores. Após o processo de expansão *in vitro*, as células foram caracterizadas quanto à capacidade de diferenciação osteogênica, adipogênica e condrogênica e pela expressão dos antígenos de superfície CD73, CD90, CD105, CD146, CD11b, CD14, CD34 e CD45. Os aloenxertos foram cedidos pelo banco de tecidos do Instituto Nacional de Traumatologia e Ortopedia (INTO) e moldos mecanicamente em fragmentos de ± 3 mm. A qualidade do processo de desvitalização dos aloenxertos foi analisada por microscopia de varredura, histologia e quantificação de DNA. Após um tratamento de 24 horas com fribronectina, 30 mg do aloenxerto foi associado a 106 e 3 x 106 de BMSCs e introduzidos no subcutâneo de camundongos imunodeficientes. A neoformação óssea desse “constructo” foi avaliada após 12 semanas por histologia e histomorfometria. **Resultados:** As BMSCs isoladas atenderam aos parâmetros mínimos estabelecidos pela ISCT (International Society for Cell Therapy), ou seja, capacidade de adesão ao plástico, morfologia fibroblastóide, capacidade de diferenciação *in vitro* para as vias osteogênica, adipogênica e condrogênica e expressão positiva de CD73, CD90, CD105 e CD146 e negativa de CD11b, CD14, CD34 e CD45. A baixa quantidade de DNA, as imagens histológicas e de microscopia de varredura confirmaram a qualidade dos aloenxertos. Ainda, por microscopia de varredura, confirmamos que as BMSCs aderem e formam prolongamentos celulares sob o aloenxerto. Por fim, em um modelo *in vivo* de formação óssea heterotópica observamos a deposição de um novo tecido ósseo sob o aloenxerto. **Discussão:** Na busca de estratégias terapêuticas alternativas para a regeneração óssea, a pesquisa tem focado a associação de células osteoprogenitoras, “scaffold”/biomateriais e fatores de crescimento, uma abordagem conhecida como engenharia de tecidos. No entanto, a disponibilidade de “scaffolds” sintéticos, de fácil manipulação, capazes de preencher o espaço e promover a proliferação e/ou diferenciação das células é um fator limitante. Nesse sentido, o uso de matriz óssea desvitalizada (aloenxertos), proveniente de bancos de tecidos, tem sido visto como uma opção de “scaffold” para uso clínico. Nosso trabalho é pioneiro a elucidar o uso de associado de células-tronco da medula óssea com aloenxertos e mostrar que esse constructo tem o potencial de levar à formação óssea e assim, sendo um possível candidato para o tratamento de lesões ortopédicas. **Conclusão:** A associação do aloenxerto com células-tronco estromais da medula óssea mostrou-se um bom candidato para regeneração de tecido ósseo.

1116 USO DE CÉLULAS-TRONCO COMO TERAPIA CARDÍACA REGENERATIVA APÓS INFARTO AGUDO DO MIOCÁRDIO

Nascimento TS^a, Brito JS^b, Borges RIM^b, Silva NF^b, Mendes IS^b, Nascimento TS^b, Albernaz FF^b, Garcia IS^b, Sampaio BM^b, Prado EBB^a

^a Universidade Federal de Juiz de Fora (UFJF), Juiz de Fora, MG, Brasil

^b Centro Universitário Atenas, Paracatu, MG, Brasil

Objetivo: Em vista da alta prevalência e relevância epidemiológica da síndrome coronariana aguda, este trabalho objetiva revisar a efetividade da terapia celular em reverter, total ou parcialmente, a disfunção ventricular e o remodelamento cardíaco secundários ao infarto agudo do miocárdio (IAM). **Material e método:** Realizou-se análise de oito publicações encontradas nas bases de dado PubMed, SciELO e Google Acadêmico, utilizando os termos “Cell-and Tissue-Based Therapy” AND “Myocardial Infarction”. **Resultados:** No estudo Topcare, de Schachinger et al., foi realizada infusão intracoronariana de células progenitoras endoteliais e células mononucleadas da medula óssea (CMMO) em pacientes que sofreram IAM há quatro dias. Após um ano, a ressonância magnética evidenciou redução da área de necrose miocárdica e aumento da fração de ejeção do ventrículo esquerdo (FEVE), além da redução do volume sistólico final e ausência de hipertrofia reativa. Nogueira et al. submetem pacientes com IAM ao transplante autólogo de CMMO e observou-se que, em seis meses, houve melhora na FEVE. Por outro lado, outros estudos evidenciaram que a melhora da funcionalidade cardíaca pela terapia com células-tronco pode ser temporária e, até mesmo, ineficaz. Wollert et al., em seu estudo clínico randomizado, demonstrou que pacientes implantados com CMMO entre o primeiro e quinto dia após o IAM, apresentaram melhora da FEVE de

50,0% para 56,7%, destacando melhoria da função sistólica consequente do acréscimo da contratilidade do miocárdio adjacente à região infartada. Contudo, a reavaliação desses pacientes em 18 meses mostrou que a melhora da FEVE não se manteve, o que sugere que a terapia celular possa ter efeitos transitórios. Já no estudo Astami¹⁵, em um período de seis meses não houve quaisquer benefícios do transplante autólogo de CMMO quanto aos desfechos clínicos e à função sistólica do ventrículo esquerdo. **Discussão:** O IAM causa alterações anatômicas e funcionais irreversíveis que levam à insuficiência cardíaca, uma vez que os cardiomiócitos não têm capacidade mitótica regenerativa. Diante disso, o transplante de células-tronco, mesenquimais ou provenientes da medula óssea surgiu como uma possível estratégia terapêutica para restaurar tecidos cardiovasculares. Os estudos realizados com animais tornaram possível atestar que CMMO poderiam se diferenciar em células contráteis e em vasos sanguíneos de tecidos isquêmicos. Por outro lado, as pesquisas realizadas em humanos com IAM são extremamente divergentes quanto aos resultados, que variam entre desfechos positivos sem tempo determinado, desfechos positivos temporários e ausência de quaisquer resultados. Além de serem divergentes, os estudos existentes são duvidosos por apresentarem aspectos metodológicos limitantes, como amostra pequena, além do uso de diferentes quantidades e tipos de células-tronco transplantadas. **Conclusão:** Os estudos vigentes não descartam, tampouco comprovam, a efetividade da terapia celular para o IAM. Torna-se necessário realizar estudos randomizados, com desenho duplo-cego e cálculo amostral, para se avaliar melhor a eficácia desse tratamento.

1117 USO DE DIFERENTES COCULTURAS PARA EXPANSÃO DE CÉLULAS HSPCS

Silva MCM, Oliveira NR, Menechino BSB, Corat MAF

Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Pesquisas promissoras com provas de conceito demonstram um grande potencial terapêutico das células-tronco e progenitoras hematopoiéticas (HSPCs), mas metodologias de sua expansão ainda não são eficazes para testes clínicos. Muitas metodologias têm tido resultados pouco promissores com baixa proliferação celular, altos níveis de diferenciação e apoptose, e baixo poder de reconstituição medular após transplante. A experiência nos mostra que apesar de a adição de citocinas ao meio ajudar significativamente no cultivo e na manutenção das HSPCs *in vitro*, apenas a adição de citocinas parece ser simplista para mimetizar a complexidade existente no nicho medular. As citocinas muitas vezes não atingem concentrações ideais e são consumidas ao longo do tempo de cultivo. Estudos de coculturas utilizando células como “feeder layers” sugerem uma importante característica de comunicação célula-célula entre as HSPCs e as células participantes, mostrando ser uma promissora estratégia para o cultivo dessas células. Identificamos na literatura três tipos celulares que se destacaram por seu potencial de cocultivo com células HSPCs: células-tronco mesenquimais (MSC), células endoteliais de cordão umbilical (HUVEC) e fibroblastos embrionários (MEF). De modo geral, apenas um tipo dessas células é utilizado em coculturas com HSPCs, e sempre suplementados com citocinas. Esses estudos têm demonstrado resultados divergentes e ainda não totalmente conclusivos. Para conseguirmos verificar o potencial e a contribuição apenas das células para a manutenção de cultivo das células HSPCs, utilizamos de modo original cocultura desses três tipos celulares com HSPCs em meio não suplementado e seguimos as respostas de nível de apoptose, morte celular, proliferação e diferenciação das HSPCs cocultivadas. As células HSPCs foram extraídas da medula óssea (MO), de animais livres de patógenos, processadas e selecionadas por citometria para obtenção de células Lin⁻CD45⁺c-kit⁺. Foram cultivadas sobre as “feeder layer”, e mantidas a 37°C com 5% CO₂. Os dados nos mostraram uma variação significativa entre os valores dos dias em todos os fatores analisados. Podemos observar que a maior parte das combinações e dos tipos celulares tiveram uma taxa alta de proliferação, com exceção das cultivadas com MSC. Os dados de apoptose não variam muito em sua dinâmica; no entanto, quando observamos os dados de morte celular, verificamos que o comportamento das HSPCs foram diversos e que a mistura de células para “feeder layer” permitiu um comportamento intermediário. Já após 14 dias de cocultivo foi realizado o ensaio de diferenciação em meio semissólido para diferenciação hematopoiética por mais 14 dias. Observamos que apesar das condições extremas, as células MEF obtiveram um bom resulta-

do, apresentando um número maior de colônias em um estágio menor de diferenciação comparado com os outros tipos celulares. Enfim, podemos concluir que a MEF foi um tipo celular em destaque em todas as suas contribuições como “feeder layers”. Além disso, percebemos que apenas o uso de diferentes coculturas para dar suporte às HSPCs sem adição de qualquer citocina ainda não foi suficiente para garantir uma ótima condição de cultivo. Desse modo, estudos futuros com citocinas deverão ser realizados.

1118 VALIDAÇÃO DE ESTUDO CITOGÊNÉTICO DE PRODUTO PARA TERAPIA CELULAR

Kishimoto RK, Lucon DR, Costa CMV, Borri D, Cordeiro MG, Santos MFMD, Fernandes PF, Safranauskas RMSO, Santana RAF, Velloso EDRP

Sociedade Beneficente Israelita Brasileira Hospital Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

Objetivo: Validação do estudo citogenético em produto para terapia celular, levando em consideração quatro pontos: 1) Estabelecer um protocolo para recebimento das células mesenquimais (MSC) e condrócitos (CC) em sua melhor fase; 2) Validar a técnica de coleta (*harvest*); 3) Definir nomenclatura e interpretação para descrição do cariótipo; 4) Definir fluxograma para liberação de resultados. **Material e método:** Avaliação pré-analítica, analítica e pós-analítica de 40 amostras provenientes de culturas celulares a serem empregadas em terapia celular. **Resultados:** Foram estudados 34 casos de MSC e seis de CC, observando-se que: 1) Melhor fase da cultura foi definida de acordo com os aspectos morfológicos e biológicos das células, tendo como amostra ideal a confluência de 80% e morfologia das células alongadas com interação célula-célula e que apresentam células em divisão celular; 2) Foi utilizada a metodologia já empregada em cariótipo de cultura de longa duração em nosso setor e adaptado o tempo de 6 horas de colchicina, tripsinização por 2 a 4 minutos, hipotonização por 8 minutos e fixação com solução de Carnoy; 3) A análise e interpretação do cariótipo seguiu a nomenclatura ISCN para neoplasias (presença de pelo menos três metáfases com perda de um mesmo cromossomo ou duas metáfases com o mesmo cromossomo adicional ou mesma alteração estrutural em 20 metáfases analisadas); 4) Foi definido fluxograma de liberação de resultado em 72 horas, que inclui cariótipo e FISH seguindo as recomendações da Sociedade Internacional de Terapia Celular. **Discussão:** Devido ao potencial tumorigênico das células pluripotentes, é importante o estudo genético das células a serem utilizadas em terapia celular. A Anvisa adotou a RDC 214/2018, que preconiza a realização de estudo citogenético em cultura de manipulação extensa. Estabelecemos aqui a validação do protocolo adotado em nosso laboratório para a análise citogenética de MSC e CC. **Conclusão:** Foi possível validar a técnica de estudo citogenético para células MSC e CC após a adequação de protocolos descritos na literatura. Este trabalho pode ajudar outros laboratórios a realizar a validação dessa metodologia importante e requerida pelos órgãos regulatórios brasileiros.

HEMATOLOGIA LABORATORIAL

1119 A DIMINUIÇÃO DA ADESÃO DOS PACIENTES AO IMATINIBE

Simões BVCM, Cantarino CWL, Ueda EYK, Oliveira JC, Tavares LRS

Escola de Medicina Souza Marques da Fundação Técnico Educacional Souza Marques, Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Objetivos: Consagrado na literatura, o Imatinibe foi o primeiro fármaco para o tratamento da leucemia mieloide crônica devido ao seu mecanismo de ação contra a tirosina quinase BCR-ABL. Segundo o Instituto OncoGuia, 2018, a maioria dos pacientes com o quadro supracitado respondem a esse tipo de tratamento com eficácia a longo prazo com esta droga. No entanto, por mais que o fármaco apresente um potencial terapêutico elevado, sua eficácia se torna comprometida ao ser um tratamento com uma adesão não satisfatória. O objetivo desse estudo é compreender o motivo pelo qual os pacientes não estão

aderindo ao tratamento do modo esperado. **Material e métodos:** A pesquisa quantitativa, realizada por meio de uma consulta sistemática à base de dados: SciELO, INCA e Pubmed, utilizando-se os seguintes termos descritores: Leucemia Mieloide Crônica/ LMC/ Chronic Myeloid Leukemia, *Imatinibe*. Foram adotados os seguintes critérios para a inclusão dos artigos: estudos abordando o efeito do Imatinibe em pacientes com leucemia mieloide crônica, publicados entre 1990 e 2019. Como critério de exclusão, não foram considerados artigos que abordavam pacientes com outros tipos de leucemia. **Resultados:** De acordo com o estudo realizado por Dorneles P e Petry RQ, um número considerável de pacientes tem demonstrado resistência ao tratamento com Imatinibe, principal medicamento para o tratamento da LMC. O artigo divulgado por Cruz PS et al., vai ao encontro do estudo de Dorneles ao observar e registrar que há uma notável dificuldade à adesão ao tratamento com o Imatinibe devido à presença de efeitos adversos (como náuseas, câibras, dor muscular esquelética, hemorragia, trombocitopenia, leucopenia, erupções cutâneas, fadiga e retenção de fluidos) relacionados proporcionalmente em relação à dosagem, além da interrupção involuntária devido à indisponibilidade do produto no serviço de saúde. Segundo Faccioli PB, 2013, a não adesão do tratamento foi observada em 33% dos 100 pacientes. Dos pacientes que aderiram ao tratamento 88% obtiveram uma resposta ótima, 10% apresentaram uma resposta subótima e 3% demonstraram falha à terapêutica. Já dos pacientes que não aderiram ao tratamento, 55% demonstraram uma resposta ótima, 25% conquistaram uma resposta subótima e 20% obtiveram falha à terapêutica. **Discussão:** Segundo a OMS, a não adesão ao tratamento é uma das maiores causas de morbidade, mortalidade e altas despesas na área da saúde. Com isso, estes pacientes possuem maior probabilidade de apresentarem uma doença secundária, podendo resultar em uma hospitalização. Além disso, o emocional do paciente encontra-se fragilizado, sendo necessário o acompanhamento de um profissional da área de Psicologia, enfocando um tratamento multiprofissional ao paciente com diagnóstico de câncer, mesmo sendo este com evolução crônica e em tratamento ambulatorial é fundamental. **Conclusão:** Pode-se concluir que a resistência dos pacientes ao aderir o tratamento com Imatinibe engloba aspectos psicossociais, físicos e governamentais. Com isso é possível perceber a importância de uma equipe disposta a analisar o paciente de forma integral e na sua totalidade, respeitando seus limites e suas complexidades. Nesse sentido, ao saber mais sobre esses fatores determinantes, é possível a criação de políticas intervencionistas, com o objetivo de melhorar o quadro apresentado e, com isso, melhorar o prognóstico e a qualidade de vida dos pacientes.

1120 A IMPORTÂNCIA DA ANÁLISE DA SÉRIE VERMELHA NO DIAGNÓSTICO LABORATORIAL ILUSTRADA POR RELATO DE CASO

Souza EF, Barros TA, Barbosa IV, Monteiro DA, Alves RL

Grupo Fleury, Brasil

Introdução: Mesmo com a evolução da automação no cenário laboratorial, ainda se faz necessária e relevante a análise microscópica do analista. Nesse ponto em especial, destacamos a necessidade da avaliação da série vermelha com um olhar crítico, minucioso e objetivo em benefício do cliente. Entre as patologias a serem diagnosticadas através dessa análise podemos citar: hemoglobinopatias, doenças hemolíticas e doenças parasitárias intraeritrocitárias. **Objetivo:** Valorizar a avaliação de excelência da série vermelha, com o intuito de identificar alterações que possam ser relevantes no diagnóstico de diversas patologias. **Material e métodos:** O sangue foi analisado no equipamento XN, sendo indicada a realização lâmina por distensão sanguínea, para ser avaliada pelo analista. A obtenção das imagens foi gerada pelo Cellavision®. **Relato de caso:** No dia 06/11/2018 deu entrada em nosso laboratório amostra de sangue para a realização de hemograma completo de I.D.R, 22 anos, com a indicação clínica de investigação de dengue. Graças à análise minuciosa e detalhada, foram evidenciadas estruturas anormais em anéis e em formas irregulares intraeritrocitárias. O médico hematologista foi, então, acionado e, após discussão com os demais colaboradores da área da hematologia, foi aventada a hipótese diagnóstica principal de malária, por *Plasmodium vivax*. Realizado contato telefônico com o paciente que confirmou viagem recente ao estado do Pará, em área endêmica para malária. Paciente procurou, então, a Fundação Oswaldo Cruz (referência nacional) e confirmou por biologia

molecular a infecção por *P. vivax*. **Resultados:** Através da análise das imagens obtidas pelo Cellavision® e, posteriormente, das lâminas obtidas, a partir de esfregaço, no microscópio pelos analistas, foi aventada a hipótese, posteriormente confirmada por teste específico, de infecção por *Plasmodium vivax*. **Discussão:** A evolução dos aparelhos e dos processos em automação é fundamental para a entrega de resultados de forma mais rápida e confiável. No entanto, essas inovações não substituem a análise crítica e minuciosa do esfregaço de sangue periférico pelo especialista. **Conclusão:** Somente com capacitação de técnicos analistas em hematologia avançada e valorização da análise atenta da distensão de sangue periférico, garante-se a qualidade da análise e gera-se conclusão diagnóstica que auxilia médicos solicitantes e pacientes atendidos pelo laboratório.

1121 A IMPORTÂNCIA DA UTILIZAÇÃO DO MÉTODO DE PERLS EM LÂMINAS COM PRESENÇA DE FERRO NO DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Silva IOA, Nascimento SB, Kang HC

Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ, Brasil

Introdução: A desregulação da homeostase do ferro mitocondrial nos precursores eritroides geram um acúmulo do metal em mitocôndrias perinucleares, formando os chamados sideroblastos. Esses depósitos de ferro podem ser visualizados por colorações específicas, como o método de Perls (azul da Prússia). Segundo a classificação da OMS 2016, acima de 15% de sideroblastos entre a linhagem eritroide é característico de síndrome mielodisplásica. Por isso a importância do método, que não é disponibilizado pelo serviço do Hospital Universitário Antônio Pedro. **Objetivo:** Padronizar uma adaptação do método de Perls no HUAP, para fim de utilização no diagnóstico de malignidades hematológicas, buscando o aperfeiçoamento da técnica. **Material e métodos:** Foram confeccionadas 10 lâminas de medula óssea, entre elas, duas eram de pacientes com mielodisplasia. As lâminas foram fixadas inicialmente em metanol por 15 minutos; em seguida, ficaram submersas em partes iguais da junção proporcional de ferrocianeto de potássio diluído em água deionizada e ácido clorídrico (1:10), em câmara escura por aproximadamente 1h30. Posteriormente, foram lavadas com água deionizada. Na finalização, em duas lâminas foi utilizada a contracoloração da safranina juntamente com etanol, diluída em água deionizada (1:10). Nas outras lâminas, foram utilizados a safranina com etanol diluída em tampão Dulbecco, imergindo a lâmina em torno de 15 a 20 segundos e no fim lavados com a água deionizada. **Resultados:** Nas duas primeiras lâminas em que foi utilizada a safranina diluída em água deionizada, ocorreram precipitações nos resultados da contracoloração, por causa do pH da água. Nas outras oito lâminas, foi utilizada a safranina diluída com Dulbecco em que obtemos bons resultados, não tivemos precipitações e a coloração de ferro (azul da Prússia) ficou bem visível. **Discussão:** Há mais de seis décadas que existem referências esparsas na literatura a várias entidades relacionadas à SMD. A coloração de Perls nos possibilita ter uma visualização precisa para auxiliar no diagnóstico; é possível encontrar na literatura variáveis de contracoloração, como exemplo, utilizar 0,1 g de Nuclear Fast Red para 100 mL de sulfato de alumínio; encontramos também a contracoloração sendo utilizada a eosina. Entretanto, entre as técnicas utilizadas observamos que a mais adequada e que obteve melhor observação sem precipitações foi a utilização da safranina modificada com Dulbecco. **Conclusão:** A técnica modificada com Dulbecco permitiu uma melhor detecção de ferro em lâminas de medula óssea. A melhoria da técnica será de grande ajuda no processo de diagnóstico de doenças hematológicas, principalmente da SMD.

1122 ACOMPANHAMENTO HEMATOLÓGICO E PREVENÇÃO DE COMPLICAÇÕES EM GESTANTES COM DOENÇA FALCIFORME

Garcia JRS, Freitas ACMS, Roda DC, Souza IS, Oliveira BC, Saraiva TES, Hack FTS, Staggemeier R

Universidade Feevale, Nova Hamburgo, RS, Brasil

A anemia falciforme é uma doença hematológica genética grave, sem cura, que gera complicações sérias e pode levar ao óbito, quando não há assistência adequada. A triagem neonatal mostra que, no Brasil, a cada 1.000 nascimentos, uma criança é portadora da doença falcifor-

me. O diagnóstico precoce, acompanhamento regular com equipe de saúde, além de suporte social, podem reduzir e até evitar os agravos e complicações da doença, sendo o período gestacional uma situação considerada grave para pacientes com doença falciforme, tanto para a mãe quanto para o feto. Diversas complicações ocorrem durante a gestação, pré e pós-parto, sendo indicado o acompanhamento pelos setores de Hematologia e Obstetria em serviço especializado em pré-natal de alto risco. Diante disto, o objetivo deste trabalho é fazer uma revisão bibliográfica acerca das complicações clínicas relacionadas à doença falciforme em pacientes no período gestacional e controle de parâmetros laboratoriais hematológicos para garantia de sobrevida e redução de riscos para mãe e bebê. A partir disto, buscou-se nas bases de dados científicos como Pubmed, SciELO, Medline e Science Direct, artigos publicados entre 2008 e 2018. Após a análise dos dados, observou-se que a condição de saúde materna prévia é fator determinante, visto que, como a microcirculação placentária é um ambiente com alto grau de desoxigenação da hemoglobina, o processo de falcização é facilitado, além de estase e infartos placentários. Além disso, a redução de fluxo sanguíneo decorrente da vaso-oclusão por drepanócitos pode levar à redução de volume placentário, com consequente perda da integridade desta e redução nutricional ao feto. Outro fator preocupante é a hemodiluição fisiológica da gravidez associada à hemólise de hemácias anômalas, o que, em pacientes com tal anomalia, acarreta piora da anemia, sendo indicada a reposição de vitaminas e minerais para auxílio na melhoria deste quadro. É maior a incidência de deslocamento prematuro de placenta, abortos espontâneos, restrição do crescimento intrauterino e nascimento pré-termo, visto que o desenvolvimento placentário e a vascularização são prejudicados pela presença de hemácias falcizadas, havendo cinco vezes mais chance de desenvolvimento do quadro de pré-eclâmpsia. São relatadas complicações frequentes nesses casos, como maior ocorrência de infecções urinárias, crises dolorosas vaso-oclusivas intensas, complicações cardíacas, síndrome do tórax agudo, infecções e necessidade de intervenção cirúrgica para o parto, provocando o aumento da mortalidade materno fetal. Sendo assim, é perceptível que as pacientes com doença falciforme possuem mais complicações perinatais e maternas do que a população em geral e o acompanhamento pré-natal e pós-parto em conjunto com o serviço de hematologia tem melhorado a sobrevida e prevenção de riscos. É importante a realização de hemograma com contagem de reticulócitos mensalmente, além de acompanhamento laboratorial do estado nutricional e imunológico da paciente, a fim de garantir que este período tão importante seja seguro e saudável para mãe e bebê.

1123 ALTERAÇÕES HEMATOLOGICAS EM PACIENTES COM DENGUE: UMA REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

Fernandes APJ, Segundo JOA

Instituto Esperança de Ensino Superior (IESPES), Santarém, PA, Brasil

Objetivo: A dengue é uma arbovirose tropical cujo o agente etiológico é o *flavivirus* de RNA que inclui quatro sorotipos. No Brasil os dados até fevereiro de 2019 demonstram um aumento de cerca de 149% passando de 21.992 para 54.777 casos prováveis da doença. A dengue é uma patologia ainda negligenciada pelo sistema de saúde, levando a epidemias recorrentes devido à facilidade de transmissão do vírus pelo seu vetor, o mosquito *Aedes aegypti*, que possui susceptibilidade e capacidade de veicular horizontalmente e de transmitir os quatro sorotipos. Constantemente observam-se repercussões hematológicas nocivas nos pacientes com dengue como leucopenia, plaquetopenia e hemoconcentração. Desta forma, o objetivo deste trabalho foi realizar uma revisão bibliográfica sobre as principais alterações hematológicas em pacientes acometidos com dengue. **Material e métodos:** Realizou-se levantamento de artigos entre 2008 e 2019 que versassem sobre a temática, nas bases de dados Scielo, utilizando como descritores as palavras: dengue, febre hemorrágica, alterações hematológicas na dengue. **Critérios de inclusão:** Os artigos selecionados seguiram os seguintes critérios: estudos que relacionassem a arbovirose causada pelo *Flavivirus*; artigos originais e de revisões; artigos publicados entre os anos de 2008 e 2019 em português. **Critérios de exclusão:** Foram excluídos do estudo dissertações, teses, monografias e trabalhos não publicados. **Resultados:** Foram encontrados 35 artigos; destes, dez cumpriram os critérios de inclusão da pesquisa. Observou-se que em cerca de 80% a 90% dos casos de dengue existem: leucopenia, linfocitopenia, trombocitopenia e hemoconcentração. A plaquetopenia é um achado labora-

torial importante, pois dependendo da quantidade de plaquetas circulantes, o paciente pode ter sangramentos espontâneos ou induzidos. Após o contato com o humano, o vírus infecta leucócitos, causando leucopenia, possuindo tropismo pelos macrófagos, monócitos e causa lesões significativas nas células endoteliais levando a hemoconcentração. A presença de linfócitos reativos é um achado importante na amostra do paciente, uma vez que quando se compara a dengue com outras patologias infecciosas virais, de quadro clínico análogo, constata-se que há presença de no mínimo 10% de linfócitos atípicos na contagem diferencial. Essa presença de linfócitos atípicos é mais frequente no dia de alta do que na admissão do paciente, relacionando-se com o início da fase de convalescência da enfermidade. **Discussão:** Foi observado neste estudo alta: frequência de leucopenia (68,2%) com leucócitos abaixo de 4.000 mm³, de trombocitopenia (65,2%) com plaquetas acima de 50.000 mm³ e hemoconcentração (72,1%). No que tange à linfocitopenia, 64,2% dos laudos apresentaram presença de linfócitos atípicos com variação de 1% a 35% de linfócitos em sangue periférico. **Conclusão** Em conclusão, as principais alterações hematológicas observadas nos estudos foram leucopenia, linfocitopenia com presença de linfócitos atípicos e plaquetopenia. O fato de haver hemorragia, mesmo na vigência do número de plaquetas considerado de baixo risco para hemorragias, sugere outros fatores relacionados a manifestações hemorrágicas. Os dados mostrados neste estudo corroboram ainda mais com a necessidade de medidas efetivas urgentes no controle do vetor da dengue, uma vez que epidemias são recorrentes em todo o território nacional.

1124 ANÁLISE DA ASSOCIAÇÃO DO RESULTADO DO HEMOGRAMA DE CRIANÇAS E ADOLESCENTES COM DENGUE COM O GÊNERO E A IDADE DESTES PACIENTES

Arruda ABL^a, Lemes RPG^a, Albuquerque LMF^a, Mesquita VCB^b, Silva FIC^a, Távora NM^a, Arruda AAL^a, Gondim YM^a, Lima AIH^c, Rodrigues MP^a

^a Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, CE, Brasil

^b Hospital Infantil de Fortaleza Dra. Lúcia de Fátima Ribeiro Guimarães Sá, Fortaleza, CE, Brasil

^c Universidade de Fortaleza (UNIFOR), Fortaleza, CE, Brasil

A dengue é uma doença viral de alta morbidade e mortalidade em crianças. Essa virose provoca vários comprometimentos orgânicos e dentre estes, destaca-se a alteração do sistema hematopoiético, com a presença de plaquetopenia e leucopenia. O objetivo deste trabalho foi verificar se há correlação entre as alterações hematológicas presentes em crianças e adolescentes portadores do vírus da dengue e o gênero e a idade destes pacientes. Foi realizado um estudo retrospectivo, descritivo e quantitativo, utilizando os resultados dos exames de crianças e adolescentes com dengue atendidos no Laboratório de Análises Clínicas de um Hospital Infantil de Fortaleza. Os dados foram coletados a partir do banco de armazenamento de requisições e analisados estatisticamente utilizando os programas Microsoft Excel 2013 e EpiInfo versão 7. Os resultados mostraram que a frequência da virose foi baixa (1,94%) na população estudada e ao correlacionar a dosagem de hemoglobina com gênero e idade do paciente com dengue, verificou-se que meninas adolescentes tinham maior risco de ter anemia. Com relação às contagens global e diferencial de leucócitos e à contagem de plaquetas, observou-se que a leucopenia, a linfocitose e a plaquetopenia não apresentaram correlação estatística significativa com o gênero e a idade dos pacientes com dengue. Diante disso, observou-se que as alterações hematológicas características da dengue podem ocorrer independentemente do gênero e idade do paciente. No entanto, a utilidade desta informação requer estudo mais aprofundado, pois o número da amostra analisada foi pequeno e pode ter interferido nos resultados.

1125 ANÁLISE DE CADEIA LEVE LIVRE EM PACIENTES COM DISCRASIA DE CÉLULAS PLASMÁTICAS

Antunes L^a, Bettini L^a, Silva CG^a, Lora V^a, Ruiz HAR^a, Mercante D^a, Almeida FP^a, Soares E^b, Praxedes MK^a, Ribeiro GS^a

^a Universidade Federal Fluminense (UFF), Niterói, RJ, Brasil

^b Binding site, Birmingham, Reino Unido

Objetivo: Quantificação de cadeia leve livre (CLL) sérica para diagnóstico e monitoramento de pacientes com discrasia de células plasmáticas.

Material e métodos: Neste trabalho as concentrações de CLLs foram avaliadas em 75 amostras de pacientes do Hospital Universitário Antônio Pedro, recrutados no período compreendido entre agosto/2016 a dezembro/2018. Dessas amostras, 88% foram de pacientes com diagnóstico de mieloma múltiplo (n = 66) sendo também incluídos pacientes com MGUS (n = 6) e amiloidose (n = 2). Para a quantificação das CLLs kappa (K) e lambda (L) foram utilizados os kits Freelite® (The Binding site, UK) no Image 800 da Beckman Coulter®. Os resultados de eletroforese de proteínas (EP), imunofixação (IF) e parâmetros bioquímicos e hematológicos foram obtidos através do sistema de informatização do laboratório. **Resultados:** Neste estudo foram incluídos 42 pacientes do sexo feminino com idade compreendida entre 40,86 a 85,8 (mediana = 64,7) anos e 33 do sexo masculino cuja idade variou de 33,8 a 84,2 (mediana = 64,6) anos. A quantificação das cadeias leves livres encontrou-se alterada em 55 pacientes, estando a cadeia kappa envolvida em 34 casos, e a cadeia lambda, em 21 casos. Entretanto, não foi possível calcular a razão kappa/lambda em sete pacientes por limitação metodológica. Todos os casos de alteração envolvendo a cadeia kappa foram de mieloma múltiplo (MM). Desses casos houve predomínio de MM do tipo IgG, com 19 casos em que a razão kappa/lambda variou entre 2,09 a 763,5, seguido por MM de cadeia leve (n = 7) com razão entre 70,86 a 8.302,0. Nos casos de MM IgA foram encontrados cinco casos com razão variando entre 1,99 a 73,33 e dois de MM IgM com razões de 10,60 e 13,46. Nos casos em que a cadeia envolvida foi do tipo lambda foi possível calcular a razão em 15 pacientes, dos quais sete foram de pacientes com cadeia pesada do tipo IgG com razão entre 0,0008 e 0,220. Estes casos incluíram pacientes com MM (n = 5), MGUS (n = 1) e amiloidose (n = 1). Foram identificados cinco pacientes com MM de cadeia leve com razão variando entre 0,002 a 0,067 e três pacientes com MM IgA cuja razão variou de 0,01 a 0,018. **Discussão:** Como já descrito na literatura, houve predomínio de mieloma múltiplo do tipo IgG kappa que, nessa casuística, foi seguido por MM de cadeia leve livre, o que ressalta a importância da implantação desse teste na rotina laboratorial. A mensuração das cadeias leves livres é importante no diagnóstico e monitoramento das discrasias de células plasmáticas, podendo ser preditora de sucesso terapêutico ou de recaída. Nos casos de MGUS e MM assintomático esse teste tem um papel importante como biomarcador de risco. Considerando-se que a interpretação dos resultados se baseia na razão kappa/lambda, nosso estudo teve como limitação a sensibilidade do equipamento disponível no laboratório do HUAP, o que levou à exclusão de sete casos com importante alteração da cadeia leve livre envolvida. **Conclusão:** Este estudo demonstrou a necessidade da implantação da análise de cadeias leves livres na rotina laboratorial do HUAP, principalmente pela frequência de casos de MM de cadeia leve.

1126 ANÁLISE DE INSTABILIDADE GENÔMICA EM LLC PELA PRESENÇA DE CARIÓTIPO COMPLEXO (CC), PRESENÇA DE CROMOSSOMO MARCADOR (CM) E DE ASSOCIAÇÃO TELOMÉRICA (TAS)

Chagas EO, Geraldo BD, Kusagari NK, Perazzio ADSB, Chauffaille MLLF

Grupo Fleury, Brasil

Objetivos: Na LLC, 65-83% dos pacientes apresentam alterações citogenéticas como: del(13q), del(11q), del(17p) e +12, que estratificam prognóstico. CC é definido pela presença de três ou mais alterações estruturais e está fortemente associado a pior prognóstico e menor sobrevida ao comparar com cariótipo (KT) normal. A importância do CC foi reconhecida pelas diretrizes do IWCLL 2018, pois impacta negativamente o tempo para o primeiro tratamento, progressão livre de doença, refratariedade e sobrevida global, independentemente do uso de quimioterapia ou novas modalidades terapêuticas. O CM é um cromossomo anormal, derivado da quebra de outro, com segmentos diferentes que impedem a identificar sua origem. Tas é um fenômeno pelo qual as terminações cromossômicas se fundem, resultando em cromossomos em anel, dicêntricos ou multicêntricos. CC, CM e tas refletem ampla instabilidade genética. Assim, o objetivo é descrever casos de LLC com CC, CM e/ou tas. **Material e métodos:** Foram analisados 245 KT realizados entre 2008 e 2019, no grupo Fleury, de pacientes com diagnóstico de LLC e identificados aqueles com CC e a presença de CM e/ou tas. O KT foi realizado em amostras de MO ou SP, por meio de culturas de 72 h com mitógenos. Foram analisadas 20 metafases por banda G e os resultados descritos conforme ISCN 2016. **Resultados:** Dos KTs analisados,

4(1,6%) eram CC, todos com a presença de CM e dois com a presença de tas:

- (i) 40-44,X,-Y,-1,-3,-6,-8,-9,tas(12;21)(p13;p13),-13,-14,-15,-17,i(17)(q10),-19,-20,-22,i(22)(q10),1-5mar[cp17]
- (ii) 40-44,X,-Y,-1,-3,-6,-8,-9,tas(12;21)(p13;p13),-13,-14,-15,-17,i(17)(q10),-19,-20,-22,i(22)(q10),1-3mar[cp16]
- (iii) 47,XX,i(12)(q10),t(16;7)(p11.2;?),+mar[7]/46,XX[3]
- (iv) 43-46,XY,-7,-10,-11,add(11)(p15),-13,-21,+1-3mar[cp18]/46,XY[2]

Discussão: O curso da LLC é variável, desde indolente a agressivo. Nesse contexto, a estratificação de prognóstico é essencial para o risco de evolução e sobrevida. O KT tem grande valia, pois a del(17p) e alterações do gene TP53; 11q- e mutações no ATM e +12 estão envolvidas na perda da estabilidade genômica e relacionadas à menor sobrevida, e encontrados em casos de CC. Além disso, IGHv não mutado também é fator desfavorável. Os CC observados apresentaram hipoploidia e alterações estruturais variadas, sendo destaque: i(12q); -13 e i(17q). As alterações não balanceadas (monossomias, trissomias, deleções) também estão associadas à instabilidade genética e à perda de genes reguladores do genoma, assim como os CM. As tas, aqui observadas, ocorreram entre os cromossomos 12 e 21, e podem representar encurtamento de telômero, fenômeno igualmente associado a instabilidade genética em LLC. Trissomia 12 ou del(13q) são mais frequentemente encontradas em todas as células de LLC, indicando que ocorrem nos estágios iniciais da evolução da leucemia, enquanto del(17p) é tipicamente encontrada em uma fração das células leucêmicas, indicando tratarem-se de eventos subclonais que ocorrem após o desenvolvimento da LLC. **Conclusão:** Esta avaliação permitiu identificar a porcentagem de casos com CC, CM e tas, estratificados para prognóstico desfavorável e que não teriam sido apontados por outros métodos. Tais fenômenos refletem no encurtamento de telômero e ampla instabilidade genômica. Apesar de diversos avanços genômicos, o KT persiste como um método que fornece dados de extrema valia para a estratificação de prognóstico na LLC, sendo recomendado para todos os casos.

1127 ANEMIA HEMOLÍTICA AUTOIMUNE E SUAS DIFICULDADES: ESTUDO DE CASO

Chaves MAF, Leme L, Barros MF, Plewka J, Fernandes NF, Caloi E, Santos LCD, Lima LB, Delabeneta MF

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Cascavel, PR, Brasil

Objetivo: A anemia hemolítica autoimune (AHA) é caracterizada por autoanticorpos que se ligam às hemácias sendo reconhecidas pelo sistema reticulo-endotelial e destruídas. A intensidade e a importância da hemólise dependem da classe de anticorpo envolvido que podem ser IgG, IgM, IgA ou fração do complemento. As causas da AHA não são bem esclarecidas, mas podem estar relacionadas com alterações nos antígenos da superfície das hemácias causadas por vírus, drogas ou doenças inflamatórias de base como infecções graves e lúpus eritematoso sistêmico. O objetivo desse trabalho foi descrever um estudo de caso de um paciente com AHA e as dificuldades transfusionais e de diagnóstico encontradas pelo serviço de saúde. **Estudo de caso:** Estudo do tipo retrospectivo, realizado através de análise de prontuário eletrônico, relata o caso de um paciente masculino, 40 anos. Admitido no Pronto Socorro em 25/06/19 com quadro de dor torácica, fraqueza, icterícia e desidratado. Histórico de anemia hemolítica autoimune e SAAF na família. Exames laboratoriais anteriores mostraram em 05/06 hemoglobina (HB) de 10,5 g/dL, hematócrito (HT) = 30,3%, leucócitos 4.610/mm³. No dia 26/06 HB = 7,7 g/dL, HT = 23,0% e leucócitos = 15.800/mm³. No período, o hematologista suspeitou de anemia hemolítica autoimune associada à pneumonia ou induzida por drogas, suspendendo ceftriaxona e azitromicina. Necessitou de transfusão quando hemoglobina chegou a valores de HB = 5,6 g/dL e apresentou dificuldade nos exames pré-transfusionais, que envolviam positividade do controle de Rh na tipagem sanguínea por metodologia em tubo. A pesquisa de anticorpos irregulares (PAI) por metodologia de Gel foi positiva para os 2 grupos de hemácias teste autocontrole, e Coombs direto também se mostrou positivo no teste mono e poliespecífico. No cartão de Screening de Coombs, resultado positivo para IgG, IgM, IgA, C3c e o controle. Positivando também todo painel de hemácias para identificação de anticorpo irregular, impossibilitando sua identificação. Laudo de provável autoanticorpo, não descartando a presença de autoanticorpo. Foi realizada transfusão de dois concentrados de hemácias "O" negativas sem

compatibilidade na prova cruzada. Melhora do quadro hematológico após uso de prednisona, alta hospitalar após tratamento dos sintomas do internamento e continua em acompanhamento ambulatorial. **Conclusão:** O método habitualmente utilizado para o diagnóstico de AHAI é o teste de Coombs direto poliespecífico que contém anticorpos contra IgG humana e fração do complemento C3; a propedêutica deve ser complementada com o soro de Coombs monoespecífico para IgG, IgM e IgA. A identificação de uma doença sistêmica de base como causa do quadro hemolítico pode ser encontrada em 5 a 43% dos casos. Os autoanticorpos interferem diretamente nos resultados dos testes pré-transfusionais, fenotipagens e identificação de alo anticorpo, levando a um aumento das reações transfusionais hemolíticas. Nos casos de não encontrar concentrado de hemácias compatível para o receptor, assim como o caso demonstrado nesse trabalho, o serviço de hemoterapia comunica o médico que deverá assinar um termo que visa atender legislação vigente, Portaria de Consolidação nº 5, de 28 de setembro de 2017 do Ministério da Saúde, autorizando a transfusão.

1128 ASSOCIAÇÃO DE METODOLOGIAS LABORATORIAIS E CARACTERIZAÇÃO MOLECULAR DE CASOS DE ANEMIA MICROCÍTICA HIPOCRÔMICA

Ramos VS^a, Oliveira MD^a, Slompo NR^a, Alves AM^a, Souza RF^a, Bernardes LG^a, Grilo PMS^a, Araujo TPT^b, Belini-Júnior E^a

^a Laboratório de Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campus de Três Lagoas (UFMS/CPTL), Três Lagoas, MS, Brasil

^b Laboratório do Serviço de Referência em Triagem Neonatal da APAE de Anápolis, Anápolis, GO, Brasil

Objetivo: Elucidar a importância da associação de metodologias laboratoriais e caracterização molecular de alelos mutantes de globinas em casos de anemia microcítica hipocrômica. **Material e métodos:** Quatro amostras de sangue total para elucidar a causa de anemia microcítica hipocrômica foram enviadas para o Laboratório de Genética da UFMS/CPTL. Análises laboratoriais envolveram hemograma, teste de fragilidade osmótica, morfologia eritrocitária, eletroforeses em pH alcalino e quantificação das frações hemoglobínicas por HPLC (Ultra2, Trinity Biotech, Kit Resolution). O DNA genômico foi extraído e submetido à análise molecular por amplificação do gene beta globina (HBB) com a utilização do PCR-Touchdown. Os fragmentos amplificados foram sequenciados (sequenciador 3730xl DNA analyser) e alinhados no software Bioedit. **Resultados:** Com base na análise eletroforética, observamos que as quatro amostras avaliadas apresentaram perfil Hb AA+A₂ aumentado. As amostras exibiram positividade para o teste de fragilidade osmótica o que está em consonância com a morfologia eritrocitária pela presença de eritrócitos microcíticos hipocrômicos. O perfil cromatográfico indicou perfil Hb AA com Hb A₂ aumentada em 5,6%, 4,9%, 5,0% e 5,1% para os pacientes 1, 2, 3 e 4, respectivamente. A média dos valores hematimétricos foram: Eritrócitos (6,30 10⁶/mm³), Hb (12,82 g/dL), VCM (61,55 fL), HCM (20,39 pg), RDW (14,87%). No estudo molecular do gene HBB, verificamos no paciente 1, a mutação c.92+5G>A no íntron 1, posição 5 (IVS-I-5 G>A) em heterozigose (perfil hemoglobínico Hb A/β⁺grave talassemia). No paciente 2 detectamos a mutação c.92+1G>A no íntron 1, posição 1 (IVS-I-1 G>A) em heterozigose (perfil hemoglobínico Hb A/β⁰ talassemia). O perfil molecular dos pacientes 3 e 4 foi idêntico apresentando uma mutação c.118 C>T no éxon 2 (códon 39 C>T) em heterozigose (perfil hemoglobínico Hb A/β⁰ talassemia). **Discussão:** Anemias microcíticas hipocrômicas são as formas de anemias mais frequentes e podem apresentar etiologia adquirida ou genética. Entretanto, é de fundamental importância a associação de métodos laboratoriais para o diferencial de diagnóstico entre as anemias adquiridas e hereditárias. Partindo da observação dos valores do hemograma é possível observar ausência de anisocitose e exclui, num primeiro momento, uma anemia ferropriva. Tal fato é corroborado com valores altos de Hb A₂, característico de beta talassemia. Tendo hipótese de beta talassemia, as análises moleculares evidenciaram uma mutação β⁺(grave) talassemia e três de β⁰ talassemia, em heterozigose confirmando diagnóstico de beta talassemia. Indivíduos que herdaram um único alelo β talassêmico (β⁰ ou β⁺) são classificados clinicamente como beta talassemia menor. Dados da literatura têm demonstrado que a mutação CD39 é a β⁰ mais frequente no Brasil, seguido pela IVS-I-5 G>A. A mutação IVS-I-1 G>A também é encontrada em casos relatados no Brasil. **Conclusão:** Destacamos a importância da associação de metodologias laboratoriais para o diagnósti-

co das anemias microcíticas hipocrômicas para fins de orientação familiar e tratamento condizente com a etiologia da anemia. A caracterização molecular permite confecção de dados epidemiológicos e elaboração de estratégias moleculares específicas para mutações frequentes em populações específicas.

1129 AUMENTO DA PREVALÊNCIA DE ANEMIA FALCIFORME E A IMPORTÂNCIA DO HEMOGRAMA COMO SINALIZADOR NO DIAGNÓSTICO LABORATORIAL

Garcia JRS, Rosa DC, Oliveira BC, Saraiva TES, Freitas ACMS, Souza IS, Hack FTS, Nasralla FD, Lourenço ED

Universidade Feevale, Nova Hamburgo, RS, Brasil

No Brasil, indivíduos advindos de outros países acessam o Sistema Único de Saúde (SUS), sendo incluídos e recebendo atendimento de acordo com sua especificidade. A crescente inserção do povo africano no contexto social do Brasil e nos atendimentos públicos exige atenção para doenças genéticas que podem ter a ocorrência aumentada no país, como a anemia falciforme, visto que é uma doença hereditária ligada a esta descendência cada vez mais comum devido à miscigenação presente em nosso país, com maior prevalência na região Nordeste. Em 2018, a prevalência da doença na região sul da África era de 10 casos para cada mil habitantes, enquanto em Angola, por exemplo, a estimativa é de 25 casos para mil habitantes, sendo que tal rastreio não atinge toda população; dados estes alarmantes para a saúde pública local. Em contrapartida, o deslocamento de populações em busca de melhoria de condição social e econômica gera impacto nas sociedades a que se destinam, sendo o Brasil um dos principais destinos migratórios. A partir dessa realidade, este trabalho tem como objetivo elucidar as características hematológicas e diagnósticas da anemia falciforme, cuja ocorrência em ambiente laboratorial tende a ser crescente, atentando para a importância da triagem laboratorial em hemograma no diagnóstico precoce. Para tal, foram analisados dados científicos publicados em bases de dados Scielo, Pubmed e Scholar entre 2009 e 2019. A doença falciforme é uma condição genética cuja mutação gera troca das bases nitrogenadas sendo sintetizada valina em vez de ácido glutâmico (posição 6, cadeia β), levando à formação da hemoglobina S. O quadro anêmico ocorre quando há transmissão do gene alterado de ambos os pais para a criança, formando um homocigoto SS. Essa doença é considerada hemolítica e tem como principal característica a tendência da hemoglobina a polimerizar quando há baixa nos níveis de oxigênio, havendo a falcização das hemácias, com menor vida média de hemácias, fenômenos de vaso-oclusão e episódios de dor e lesão de órgãos. O diagnóstico da doença inicia com a alteração no hemograma, em que se observa anemia grave acompanhada de análise da morfologia eritrocitária com presença característica de drepanócitos. Há aumento de reticulócitos devido ao estímulo aumentado na medula óssea, além de aumento de bilirrubina indireta. Leucocitose com neutrofilia moderada e trombocitose completam o quadro durante as crises vaso-oclusivas. Os testes de solubilização e de falcização são bastante utilizados na rotina, evidenciando a presença de hemoglobina S em todos os estados falciformes, sendo necessários outros testes confirmatórios, como a eletroforese de hemoglobina em acetato de celulose, com confirmação pela eletroforese em agar ácido. As técnicas de cromatografia líquida de alta performance (HPLC) e focalização isoelétrica consistem em testes precisos e rápidos para diagnóstico. A detecção precoce da doença promove a qualidade de vida, redução da morbimortalidade e promoção da saúde do paciente acometido. Neste sentido, e prevendo a crescente expansão de tal anomalia genética na população brasileira, confirma-se a importância da observação dos achados obtidos no hemograma para fornecer subsídio e nortear a confirmação diagnóstica da anemia falciforme e o acompanhamento clínico ao portador da doença falciforme.

1130 AVALIAÇÃO DA CONTAGEM PLAQUETÁRIA ÓPTICA (PLT-O) E FLUORESCENTE (PLT-F) EM PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME

Rocha GLG^a, Lessa CLM^a, Gomes CF^a, Zambonato B^a, Rotta LN^b, Scotti L^a, Jahnke VS^a, Paz A^a, Silla LMR^a, Fogliatto LM^a

^a Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

^b Universidade Federal de Ciências da Saúde (UFCSA), Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: A anemia falciforme (AF) é uma mutação no gene da cadeia β -globina da hemoglobina A, gerando uma hemoglobina atípica S (HbS). Os indivíduos com AF apresentam complicações vaso-oclusivas recorrentes devido a essa alteração. O hemograma é utilizado para acompanhamento desses pacientes. Os Parâmetros Clínicos Avançados (PCAs) representam uma melhoria na automação do hemograma, fornecendo informações detalhadas sobre alguns aspectos clínicos. Entre os PCAs destaca-se a contagem de plaquetas pelo método de fluorescência (PLT-F). A PLT-F avalia o número de plaquetas por fluorescência, possuindo alta reprodutibilidade quando comparada ao método tradicional de contagem celular por plaquetas ópticas (PLT-O), mostrando superioridade em amostras contendo eritrócitos fragmentados e baixas contagens plaquetárias. Em decorrência das inúmeras complicações associadas ao desenvolvimento da patologia em pacientes portadores de AF, há necessidade do acompanhamento regular destes por meio de exames mais apurados que sinalizem as condições medulares e sanguíneas. **Objetivos:** Comparar as diferentes metodologias quantitativas para contagem plaquetária (PLT-F e PLT-O) em pacientes adultos com AF em tratamento e acompanhamento no Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA). **Material e métodos:** Foi realizado um estudo transversal prospectivo com uma amostra de conveniência composta por adolescentes (12 anos), adultos (18 anos) e idosos (60 anos) do ambulatório de hemoglobinopatias do HCPA no período de julho de 2018 a abril de 2019. Todos os pacientes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) e o projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (3.203.125). Foram excluídos pacientes que realizaram transfusão de plaquetas em um intervalo menor do que 60 dias antes da realização dos exames. As variáveis laboratoriais estudadas (PLT-O e PLT-F) foram processadas no equipamento Sysmex XN-9000, e as variáveis clínicas e epidemiológicas foram obtidas nos prontuários eletrônicos dos pacientes. A análise estatística foi realizada utilizando o software SPSS. As distribuições foram verificadas a partir do teste de normalidade de Shapiro-Wilk. O teste t de Student pareado foi utilizado para comparação entre as médias. **Resultados:** Foram analisadas amostras de 54 participantes, sendo que destes, 23 (42,6%) do sexo masculino e 31 (57,4%) do sexo feminino. A média das idades foi de $34 \pm 13,4$ anos. Todos os pacientes estavam em tratamento com hidroxiureia no momento da avaliação. Quando comparadas as médias das contagens plaquetárias, evidenciou-se diferença estatística significativa entre a nova tecnologia (PLQ-F: 345 ± 134 mil/mm³) e a metodologia convencional (PLQ-O: 354 ± 141 mil/mm³, $p = 0,008$). **Discussão:** A diferença encontrada entre as duas avaliações reforça a importância da sensibilidade aumentada da contagem plaquetária por fluorescência, visto que o método tradicional por mais robusto e com baixo custo já está bastante obsoleto e pode sofrer interferências devido à grande presença de fragmentos de hemácias, hemácias microcíticas e outros elementos que compõem o hemograma de pacientes com AF, principalmente durante processos vaso-oclusivos, momento no qual a hemólise se altera e se eleva a presença de fragmentos de hemácias na circulação. **Conclusão:** O novo parâmetro demonstrou ser mais específico à verdadeira contagem de plaquetas circulantes, principalmente em pacientes com crises em que há maior circulação de restos celulares.

1131 BETA-TALASSEMIA INTERMEDIÁRIA – RELATO DE CASO

Chaves MAF, Barros MF, Fernandes NF, Plewka J, Zattera G, Delabeneta MF, Lima LB, Caloi E, Leme L, Santos LCD

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Cascavel, PR, Brasil

As talassemias são hemoglobinopatias hereditárias que resultam em alterações na síntese de cadeias globínicas. A Beta-talassemia ocorre quando o problema está na produção de cadeias β . **Objetivo:** O objetivo deste trabalho é relatar o caso de uma paciente atendida no Hospital Universitário do Oeste do Paraná (HUOP) inicialmente diagnosticada com Beta-talassemia intermediária em outra instituição. Para este relato foram coletados os dados do prontuário eletrônico Tasy®, referentes ao período de internação e acompanhamento da paciente. **Relato de caso:** Paciente A.R.G.J., sexo feminino, 44 anos, branca. Deu entrada no HUOP para acompanhamento na cardiologia e após, foi encaminhada ao serviço de hematologia, com diagnóstico de talassemia intermediária e queixa de dispnéia aos esforços não explicada pela intensidade da anemia (que era leve), sendo uma evolução não típica da doença intermediária. Esplenectomizada em 2013. Relata que faz transfusões a cada

3-4 semanas. Laboratorialmente o hemograma de entrada apresentou hemoglobina 9,7 g/dL, Anisocitose ++, Microcitose ++, Poiquilocitose +++, Dacriócitos ++, Esquizócitos ++, Pontilhado Basófilo +, Hipocromia ++, Policromasia + e Codócitos +. Persistindo com essas características nos hemogramas posteriores e variando a hemoglobina de 8,8 a 10,4 g/dL. Também a presença de eritroblastos em quantidade significativa (64 eritroblastos em 100 leucócitos contados) e reticulócitos por volta de 5,46%. O resultado das dosagens nos parâmetros bioquímicos revelou valores elevados nos marcadores como LDH (1.124,00 U/L), ferritina (1.119,0 ng/mL) e bilirrubina total (2,96 mg/dL). Apesar dos parâmetros compatíveis ao do diagnóstico prévio, o hematologista relatava as evoluções como “não típicas de doença intermédia”, redirecionando para doença menor. Sabe-se que a produção das cadeias β nesses indivíduos pode ser ausente, diminuída, ou discretamente diminuída, nos casos de portadores silenciosos caracterizando a classificação de menor, intermediária e maior. Desta forma, a eletroforese de hemoglobina seria o exame mais indicado para a diferenciação e em momento algum foi solicitado. Além disso, a necessidade de diversas transfusões (a cada 3-4 semanas), necessidade de esplenectomia, valores de hemoglobina e presença de achados em lâmina corroboraram para que o primeiro diagnóstico estivesse correto. **Conclusão:** Desta forma, concluímos este relato ressaltando a importância da avaliação atenta aos exames laboratoriais no diagnóstico e também no acompanhamento do paciente.

1132 CARACTERIZAÇÃO LABORATORIAL DE PACIENTES COM PRESENÇA DE MUTAÇÃO NO GENE DA NUCLEOFOSMINA 1 (NPM1)

Cruz DB, Pereira DCS, Oliveira ER, Lopes LJS, Pereira RDS, Fortini AS, Pereira VC, Perazzio ADSB, Chauffaille MLLF

Grupo Fleury, Brasil

Introdução: Leucemias mieloides agudas (LMA) são neoplasias malignas decorrentes da proliferação clonal das células da linhagem mielóide mutadas, podendo ocorrer o bloqueio total ou parcial da maturação das células hematológicas. O gene NPM1 é responsável pela síntese da proteína nucleolar, nucleofosmina 1, que se movimenta entre o núcleo e o citoplasma, interagindo com diversas proteínas. Seu papel é multifuncional, incluindo montagem e transporte de proteínas ribossômicas, manutenção da estabilidade genômica por meio do controle de ploídias celulares e na atividade de regulação transcricional dos genes supressores tumorais P53 e ARF. Mutações no exon 12 do gene NPM1, estão frequentemente associadas à LMA e podem apresentar-se como duplicação ou inserção que resultam em *frame shift*, levando a perda de triptofanos essenciais para a localização nucleolar da proteína. Para o diagnóstico mais preciso e estratificação de prognóstico de LMA, é recomendável utilizar diferentes métodos laboratoriais como citogenética, imunofenotipagem, mielograma e biologia molecular. **Objetivos:** Caracterização laboratorial de pacientes brasileiros com presença de mutação no gene NPM1. **Material e métodos:** Foram avaliados 394 pacientes com LMA para mutação no gene NPM1, no período de 2 anos. O ensaio para a detecção da mutação no gene NPM1 baseia-se na extração do material genético, seguida de amplificação do exon 12 por PCR em tempo real, utilizando Taqman e primers específicos. **Resultados:** Os 77 pacientes que apresentaram presença de mutação (19,5%), tinham faixa etária de 50 anos, maioria do sexo feminino (58,44%). Destes, 23% também possuíam presença de mutação no gene FLT3-ITD e um caso de FLT3-TKD. A maioria apresentou cariótipo normal (86,36%), exceto 3 casos: +8; t(9;22) e del(11q). A maioria era LMA ao diagnóstico, exceto dois casos que eram de LMA secundária a terapia para carcinoma de mama; dois casos para avaliação de doença residual mínima que resultou positiva, e três eram recaída pós-transplante. **Discussão:** A presença de mutação em NPM1 foi a esperada (20 a 30% de casos de LMA), e foi mais prevalente no sexo feminino (1.25F:1M), de acordo com a literatura. Raros casos com mutações NPM1 tinham cariótipo anormal (13,64%), e as alterações encontradas estão descritas na literatura, sendo: +8 (11%); t(9;22) (2,2%) e del(11q) (1%), e elas passam a estratificar prognóstico. Outro aspecto de prognóstico é a presença de FLT3-ITD mutado junto com NPM1. Foi observado que 23% dos casos eram NPM1-mut e FLT3-ITD-mut, dos quais 6 casos eram qualitativos, 3 com baixa carga alélica (< 0,5), classificados com bom prognóstico, e 4 com alta carga alélica (0,5), com risco intermediário. **Conclusão:** Além dos nossos resultados estarem em conformidade com a literatura, apontam a importância da utilização de diversas metodologias no diagnóstico de

LMA, e a presença dos marcadores moleculares estratificam melhor o risco e orientam a conduta terapêutica ideal, principalmente para o grupo de pacientes com cariótipo normal.

1133 COMPARAÇÃO DOS RESULTADOS DE HEMOGRAMAS DOS PACIENTES E CANDIDATOS A DOAÇÃO DE SANGUE NO HEMOCENTRO COORDENADOR DE SERGIPE

Teles WS, Pádua PD, Santos RDL, Posener EC, Jesus JGR, Silva APBP, Santana JVF

Centro de Hemoterapia de Sergipe (Hemose), Aracaju, SE, Brasil

Introdução: A contagem dos elementos figurados do sangue periférico é um exame de rotina laboratorial para verificação quantitativa e qualitativa, sendo o exame mais indicado para o conhecimento de diagnósticos, monitoramento clínico e acompanhamento da evolução das doenças humanas. As células sanguíneas vermelhas são as mais abundantes no corpo. A contagem normal das células está entre 4,5 e 6,5 milhões de células/mm³. **Objetivo:** Avaliar os resultados dos hemogramas do analisador de Hematologia Lumiratek H5 Automático do laboratório de apoio. **Material e métodos:** Trata-se de um estudo de caráter exploratório transversal por meio da análise dos resultados dos hemogramas dos pacientes e candidatos a doação de sangue do Hemocentro Coordenador de Sergipe no período de janeiro a abril de 2019. **Resultados:** Dos 153 hemogramas realizados, 68% (104) foram de indivíduos do sexo masculino e 32% (49) do sexo feminino. A média dos resultados glóbulos vermelhos (RBC) do gênero masculino foi de $4,7 \times 10^6$ μ L com a máxima $6,9 \times 10^6$ μ L, e a mínima de $2,16 \times 10^6$ μ L, com valores de referência entre (4,50-5,80), enquanto a média dos resultados (RBC) do gênero feminino foi de $4,02 \times 10^6$ μ L com a máxima $6,14 \times 10^6$ μ L, e a mínima de $1,76 \times 10^6$ μ L, com valores de referência de (4,10-5,50). Quando analisados os linfócitos LYM a média para o gênero masculino foi de $2,31 \times 10^3$ μ L, com a máxima $13,7 \times 10^3$ μ L e a mínima $0,51 \times 10^3$ μ L, com valores de referência de (0,80-5,50), para o feminino a média foi $1,89 \times 10^3$ μ L, a máxima foi $4,26 \times 10^3$ μ L, e a mínima $0,48 \times 10^3$ μ L, com valores de referência de (0,74-5,50). Ao analisar a hemoglobina HGB do gênero masculino obteve-se a média de 15,1 g/dL, com a máxima 19,1 g/dL e a mínima 5,6 g/dL com valores de referência entre (13-17), e para o sexo feminino a média foi de 12,4 g/dL, com a máxima 19,3 g/dL e a mínima 5,4 g/dL, com valores de referência de (12-16). Quanto ao volume ocupado pelas hemácias no volume total de sangue (HCT) a média para o gênero masculino foi 45,1% com a máxima 61,3% e a mínima 21% com valores de referência entre (37-54), para o feminino a média foi 38,1%, a máxima 58,6%, e a mínima 15,7%, com valores de referência de (36-48). **Discussão:** O aumento significativo dos glóbulos brancos pode ajudar a confirmar a presença de uma infecção e sugere a necessidade de outros testes para identificar a sua causa. A diminuição do número de glóbulos vermelhos (anemia) pode ser avaliada através das variações no tamanho e forma dos glóbulos vermelhos para ajudar a determinar se a causa se deve a uma diminuição da produção, a um aumento da perda ou a um aumento da destruição de glóbulos vermelhos. **Conclusão:** Conclui-se que as médias dos valores estão dentro dos parâmetros, entretanto algumas máximas e mínimas sofreram discrepâncias devido às condições clínicas dos pacientes e candidatos a doação de sangue atendidos no Hemocentro.

1134 CORREÇÃO DA CONTAGEM DE PLAQUETAS ATRAVÉS DE PARÂMETRO DE ESTUDO DA LINHA XN SYSMEX EM CASOS DE ERITROBLASTOSE E FRAGMENTOS DE HEMÁCIAS: RELATO DE CASO

Silva CS, Takihi IY, Matias CF, Oliveira LAM, Arantes MLC

Grupo Fleury, Brasil

Objetivo: Relatar caso de correção na contagem de plaquetas por interferente eritroblastose e esquizocitose através do parâmetro de investigação eritrócitos fragmentados (FRC). **Material e métodos:** Análise de métodos automatizados de analisador Hematológico XN-Sysmex e revisão bibliográfica. **Relato de caso:** Paciente, feminino, 16 anos, em uso de Cefoxitina para infecção respiratória, desenvolveu anemia hemolítica secundária ao medicamento. Contagem automatizada mostrou 307×10^3 μ L de plaquetas por impedância, 4.044×10^3 μ L de plaquetas por fluorescência e 375% de eritroblastos. Na análise microscópica do san-

gue periférico, observaram-se esquizócitos e plaquetopenia pelo método de Fônio. **Discussão:** Os analisadores hematológicos da Série-XN realizam a contagem de plaquetas por fluorescência, com auxílio de corante específico que cora o RNA das plaquetas e através do volume celular e intensidade de fluorescência, separam-se populações (Bacall 2009; Scoorl et al., 2013). Para detecção dos eritroblastos, seu RNA também é marcado por corante fluorescente e as células são analisadas (Hwang, 2016). Ambos os métodos utilizam a fluorescência para corar o RNA destas células, levando-nos a crer que o equipamento superestimou a contagem de plaquetas pelo método de fluorescência. No canal de reticulócitos, um parâmetro de investigação interna denominado "FRC", por citometria de fluxo fluorescente detecta a presença de eritrócitos fragmentados (FRC% e FRC#), que podem interferir na contagem de plaquetas (Dinsdale et al., 2017). Devido à interferência da eritroblastose na contagem de plaquetas por fluorescência, descontou-se então das plaquetas por impedância o FRC# (240×10^3 μ L), obtendo resultado de 67×10^3 μ L, valor este aproximado do realizado pelo método de Fônio. **Conclusão:** A avaliação global do hemograma, incluindo a observação do esfregaço periférico pelo morfologista e o conhecimento das ferramentas de estudo de que os novos equipamentos dispõem, é de extrema importância para evitar a liberação de falsas contagens.

1135 DEFICIÊNCIAS NUTRICIONAIS E ALTERAÇÕES HEMATOLÓGICAS APÓS BYPASS GÁSTRICO EM Y DE ROUX

Garcia JRS, Rosa DC, Oliveira BC, Souza IS, Saraiva TES, Freitas ACMS, Hack FTS, Nasralla FD, Lourenço ED

Universidade Feevale, Nova Hamburgo, RS, Brasil

A obesidade é considerada um problema mundial de saúde pública, com crescente prevalência em todas as idades, gêneros e classes sociais, ocasionando prejuízos para a saúde dos indivíduos acometidos. Como opção terapêutica, a cirurgia bariátrica vem sendo cada vez mais indicada, sendo o Brasil o segundo país no mundo que mais realiza tal intervenção. A técnica mais utilizada é o Bypass Gástrico em Y de Roux (BGYR), uma alternativa eficaz e com resultados em longo prazo ao reduzir ou eliminar as comorbidades associadas à obesidade. No entanto, alguns efeitos negativos têm sido relacionados, como complicações nutricionais e metabólicas pós-cirúrgicas. Sabendo-se destas consequências, este estudo tem como objetivo relacionar as alterações de parâmetros laboratoriais nos pacientes submetidos a este tratamento e seus impactos na produção de células sanguíneas, através de uma revisão de literatura, com dados publicados entre 2009 e 2019 nas bases de dados Scielo, PubMed, Medline, Lilacs, com as palavras-chave: *bypass gástrico em Y de Roux*; anemia perniciososa; déficit nutricional; ferro; folato; vitamina b12; tendo sido selecionados 24 artigos científicos. Após a cirurgia bariátrica, a anemia é uma manifestação frequente que resulta de absorção prejudicada de compostos importantes para a composição e funcionamento das hemácias, podendo afetar dois terços dos pacientes operados devido às carências desenvolvidas. O BGYR restringe o volume de ingestão alimentar, e tem ação disabsortiva, devido à exclusão do duodeno e jejuno proximal, além de parte do estômago, reduzindo a superfície absorptiva de micronutrientes, como a vitamina B12. Esta tem seu estoque primário no fígado e sua deficiência pode tornar-se clinicamente relevante apenas alguns anos após a cirurgia. Sua absorção depende da presença de fator intrínseco, que é secretado no antro gástrico, que é insuficiente após a gastroplastia, não havendo absorção da vitamina B12 no íleo distal, e originando a anemia perniciososa e alterações neurológicas, sendo tais alterações relatadas entre 12 a 75% dos pacientes após BGYR. Outro mineral que apresenta redução após este procedimento é o ferro, sendo a principal causa de anemias carenciais nesta população. Cerca de 50% dos pacientes reduzem ou não ingerem carne vermelha, colaborando para a deficiência de ferro, o que se deve também à redução na secreção de ácido clorídrico no estômago e redução na capacidade de absorção intestinal. O folato, cofator na síntese de nucleotídeos, proteínas e hemácias, encontra-se reduzido após BGYR, manifestando-se como anemia macrocítica, leucopenia, trombocitopenia, glossite ou medula megaloblástica, além de anemia normocítica mista. Embora menos frequente que a deficiência de vitamina B12, baixos níveis de ácido fólico têm sido relatados entre 6%-65% dos pacientes submetidos ao BGYR. Tais dados confirmam a importância da orientação nutricional e acompanhamento clínico e laboratorial periódico e a suplementação multivitamínica de tais pacientes pós-Bypass Gástrico em Y de Roux, visto que tais vitaminas e minerais par-

tipam de processos orgânicos e da homeostasia corporal, sendo a vitamina B12, o ferro e o folato essenciais na manutenção das funções hematológicas sadias do paciente operado.

1136 DESENVOLVIMENTO DE TECNOLOGIA MOLECULAR NA CONFIRMAÇÃO PRECOZE DE HEMOGLOBINOPATIAS EM CONTEXTO DE TRIAGEM NEONATAL DO DISTRITO FEDERAL

Costa MR^a, Camargo R^b, Cavalcante LLM^b, Magalhães FF^b, Dias CLB^c, Córdoba JCM^b, Tiziani V^b, Magalhães IMQ^b

^a Centro Universitário de Brasília (UniCEUB), Brasília, DF, Brasil

^b Hospital da Criança de Brasília José de Alencar, Brasília, DF, Brasil

^c Hospital de Apoio de Brasília, Brasília, DF, Brasil

Objetivos: As Hemoglobinopatias constituem o grupo de doenças hereditárias monogênicas mais comum no mundo, com morbidade significativa. Análise molecular foi introduzida na assistência hematológica terciária do Hospital da Criança de Brasília (HCB), incentivada pelo Programa Pesquisa para o SUS. Este objetivou desenvolver e implementar metodologias de biologia molecular para o diagnóstico precoce das Hemoglobinopatias na Triagem Neonatal do Distrito Federal (TNDF); além de estabelecer diagnóstico molecular confirmatório complementar às metodologias atuais disponíveis, Cromatografia Líquida de Alta Performance (HPLC) e Focalização Isoelétrica (IEF); e propor um algoritmo racional e sustentável de testes diagnósticos no SUS para hemoglobinopatias. **Material e métodos:** Foram incluídos pacientes pediátricos com diagnóstico inconclusivo por HPLC e IEF, e com suspeita clínica e laboratorial de hemoglobinopatia. Amostras de sangue foram utilizadas para extração de DNA genômico, para posterior genotipagem. As técnicas moleculares padronizadas foram: PCR seguida por análise de fragmentos de restrição e sequenciamento direto por método de Sanger para as Hemoglobinas variantes; PCR-Multiplex para as Alfa-talassemias (a-tal); e PCR Alelo-específico e sequenciamento direto para as Beta-talassemias (b-tal). **Resultados:** Foram analisados 100 pacientes elegíveis; cujas solicitações de exame de biologia molecular foram de: 56 a-tal, 13 b-tal, 3 a ou b-tal, 8 S/b-tal, 7 S/a-tal, 3 S/S-like, 3 C/b-tal, 2 C/a-tal ou C/b-tal, 3 Doenças Falciformes S/S-like, 1 variante e 1 anemia falciforme. Após os diagnósticos moleculares, as 56 a-tal fecharam como 26 portadores silenciosos a-tal, 21 traços a-tal e 9 exclusão de a-tal; as 13 b-tal como 8 b-tal major, 4 b-tal minor e 1 S/b-tal; as 3 a-tal ou b-tal como 1 portador silencioso a-tal e 2 b-tal minor; as 8 S/b-tal como 3 S/b-tal minor, 1 S/Porto Alegre, 3 traços S e 1 anemia falciforme; as 7 S/a-tal como 4 portadores silenciosos a-tal, 1 S/traço a-tal, 1 S/portador silencioso a-tal e 1 traço S; as 2 C/a-tal como 1 C/portador silencioso a-tal e 1 traço C; as 3 C/b-tal como 1 C/b-tal minor e 2 traços C; as 2 C/a-tal ou C/b-tal como 2 traços C; as 3 Doenças Falciformes S/S-like como 1 S/Korle-Bu, 1 S/D e 1 S/C; a variante como traço Korle-Bu; e a anemia falciforme como SS. Além disso, as b-talassemias apresentaram as seguintes mutações de ponto em gene de beta-globina: IVS-I-2, IVS-I-5, IVS-I-6, IVS-I-110, CD39 e HBB: c.-138C>T; e as a-talassemias apresentaram as seguintes deleções em gene de alfa-globina: $\alpha^{-3,7}$ e $\alpha^{-4,2}$. **Discussão:** As técnicas moleculares empregadas no Laboratório de Biologia Molecular do Hospital do HCB permitiram a confirmação diagnóstica das hemoglobinopatias raras, possibilitando correlacionar o espectro clínico destas com as alterações genéticas; além de possibilitar melhor manejo clínico do paciente pediátrico hematológico e orientação genética às famílias. **Conclusão:** Análise molecular mostrou-se ferramenta imprescindível no diagnóstico precoce das hemoglobinopatias dentro do serviço de TNDF.

1137 DESORDENS HEMOSTÁTICAS NO EMPEÇONHAMENTO POR BOTHROPS ERYTHROMELAS (JARARACA-DA-SECA)

Lima VMGDM, Silva RC, Diniz GS, Vasconcelos MED, Carvalho RG, Soares NSC, Fook SML

Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), João Pessoa, PB, Brasil

Objetivo: Relatos científicos descrevem o acidente botrópico como motor de transtornos hemostáticos, induzindo incoagulabilidade sanguínea. Assim, este estudo visa avaliar alterações da hemostasia no empeçonhamento por *Bothrops erythromelas*, na ausência da soroterapia antitotrópica. **Material e métodos:** O estudo consiste em análise documental, retrospectiva, transversal e quantitativa. A amostra contem-

plou pacientes atendidos no Hospital Regional de Emergência e Trauma Dom Luiz Gonzaga Fernandes, Campina Grande/Paraíba (HETDLGF). As notificações dos acidentes ofídicos foram feitas pelo Centro de Assistência e Informação Toxicológica de Campina Grande (CIATox-CG), de janeiro a dezembro de 2018. Os dados foram coletados, após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CAAE: 66937817.8.0000.5187). Foram analisados 102 pacientes, dos quais 82 foram selecionados e os referidos dados coletados distribuídos em planilha (Software Microsoft Office Excel 2013). As variáveis analisadas foram gênero, classificação do tipo de acidente, TC (Tempo de coagulação), TP (Tempo de Protrombina) e TTPA (Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada). Como critério de inclusão, foram selecionados os pacientes que na admissão hospitalar apresentaram a serpente envolvida no acidente para a identificação da espécie, no Laboratório de Animais Peçonhentos e Toxinas (LAPTOX-UEPB). **Resultados:** Foram analisados 82 pacientes, dos quais 63 eram do gênero masculino e 19 do gênero feminino. Em relação à classificação do acidente ofídico, foram 44 casos leves, 23 moderados e 15 graves. Considerando a abordagem global da amostra investigada, no que se refere à avaliação laboratorial da coagulação sanguínea antes da administração da soroterapia antitotrópica, a alteração do TC ocorreu em 70 pacientes, envolvendo 34 casos leves e 22 e 14 dos casos moderados e graves, respectivamente. Em relação à avaliação do TP na amostra estudada, antes da administração da soroterapia, houve alterações desde alargamento (N = 26) até incoagulabilidade (N = 52). Nos 44 casos leves, houve alterações em 41 amostras, sendo destas 20 incoaguláveis. Nos 23 casos moderados, existiram alterações do TP, contemplando 4 alargamentos e 19 incoagulabilidades. Além disso, nos 15 casos graves notificados houve 13 amostras incoaguláveis do tempo de protrombina. A determinação do TTPA evidenciou 18 amostras normais, 8 alargadas e 56 incoaguláveis. Tendo sido esta incoagulabilidade do TTPA vista em 24, 19 e 13 casos leves, moderados e graves, respectivamente. **Discussão:** Os dados obtidos corroboram investigações científicas que reportam alterações hemostáticas decorrentes do ofidismo. Neste estudo, a maioria dos pacientes apresentou prolongamentos dos testes laboratoriais da coagulação, mostrando a interferência da peçonha na hemostasia. Neste contexto, é relevante mencionar que publicações prévias destacam ações de toxinas ativadoras de fibrinogênio, protrombina e fatores de coagulação, desencadeando coagulopatia de consumo induzida pelo veneno da *Bothrops erythromelas*. Além disso, esta peçonha não apresenta atividade semelhante à trombina, porém possui efeito procoagulante acentuado e a berythracativase. **Conclusão:** Portanto, a submissão do paciente à soroterapia antitotrópica é imprescindível para evitar o desenvolvimento e/ou agravamento dos distúrbios hemostáticos associados ao empeçonhamento por *Bothrops erythromelas*. **Palavras-chave:** *Bothrops erythromelas*. Hemostasia. Empeçonhamento.

1138 DETECÇÃO PRECOZE DE SEPSE POR CANDIDA PARAPSILOSIS ATRAVÉS DE ALTERAÇÕES NOS CITOGRAMAS DO ANALISADOR HEMATOLÓGICO SYSMEX XN-3000: RELATO DE CASO.

Azambuja AP, Spiri BS, Ferreira DS, Trennepohl J, Bonfim C, Lima F, Comar SR

Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brasil

Objetivo: Avaliar a correspondência entre os sinais do citograma gerado por analisador hematológico e as observações morfológicas em esfregaço sanguíneo em um caso de sepsis por *Candida parapsilosis*. **Material e métodos:** Análise de caso em que o diagrama de dispersão do leucograma feito em analisador hematológico XN-3000 (Sysmex, Japão) permitiu a visualização das uma nuvem azul diferenciada no canal de eritroblastos (NRBC), característico da presença de leveduras de *Candida sp.* na amostra. Para a identificação da levedura e confirmação da fungemia, foi utilizado o equipamento VITEK (bioMérieux Brasil). **Caso clínico:** Masculino, 4 meses, com diagnóstico de Síndrome de Imunodeficiência Combinada Grave (infecções de repetição, dermatite perianal e lesões hipercrômicas disseminadas na pele), TRECs e Krec's indetectáveis e citometria de fluxo com linfócitos T+, B- e NK+, ausência de LT naïve (CD45RA) e aumento de LT de memória (CD45RO). Com o diagnóstico de Síndrome de Ommen, o paciente recebeu transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH) haploide com o pai. Onze dias após o TCTH, na realização do hemograma e leucograma, o diagrama de dispersão apresentou uma nuvem no canal de eri-

troblastos característico da presença de leveduras de *Candida sp.* Devido a esse citograma sugestivo, realizou-se hemocultura (Bactec FX Top – Becton Dickinson) que foi positiva, e cultura em ágar chocolate para identificação da espécie (VITEK – bioMérieux Brasil), confirmando a presença de *C. parapsilosis* e possibilitando o diagnóstico precoce de infecção fúngica invasiva. Assim, apesar de assintomático, foi iniciada terapia com antifúngico (Anfotericina B). Para complementação do tratamento, foi realizada troca de catéter de Hickmann por duplo lúmen, porém o paciente permaneceu com cultura positiva para o mesmo agente infeccioso. Foi realizado tratamento com Anfotericina B em *lock therapy* até negatificação de culturas, e nova inserção de cateter de Hickmann. A anfotericina foi mantida por 14 dias após a negatificação de culturas. Em paralelo ao uso de antifúngico, foram realizadas 3 infusões de granulócitos (doadora mãe). Devido ao fato de o paciente persistir longo tempo com neutropenia febril, foi realizada investigação sem evidência de outro sítio infeccioso. O paciente apresentou ainda BCGite e micobacteriose pulmonar, e DECH aguda grau I, as quais foram manejadas como de costume no cenário do TCTH. **Discussão:** A visualização de uma nuvem azul no canal de eritroblastos diferente do padrão comum encontrado para essas células no citograma do analisador hematológico XN-3000 pode ocorrer devido à presença de leveduras de *Candida sp.* na amostra. O tamanho pequeno e complexidade interna baixa formam uma nuvem com formato de prancha, sugestivo da presença de leveduras, independentemente do número. A população de neutrófilos pode apresentar extensão em seu eixo, evidenciando aumento no tamanho e complexidade interna, o que ocorre quando há fagocitose das leveduras pelos neutrófilos. **Conclusão:** Nossas observações sugerem que os citogramas gerados pelos analisadores automáticos podem ser úteis para diagnóstico precoce de infecções por *Candida sp.* Dessa maneira, pode-se antecipar a terapia antifúngica, reduzindo as taxas de mortalidade e contribuindo para a melhora de pacientes imunossuprimidos e transplantados.

1139 EFICÁCIA E MIELOTOXICIDADE DA HIDROXIUREIA NO TRATAMENTO DA ANEMIA FALCIFORME

Oliveira GHM, Santos DFD, Lucena AV, Belarmino IEA, Moura ZA, Gonzaga MFG, Silva LKF, Medeiros TC, Serafim ESS, Júnior GBC

Hemocentro do Rio Grande do Norte, Natal, RN, Brasil

Objetivos: A anemia falciforme é uma doença genética caracterizada pelo alto índice de morbimortalidade. O uso de hidroxiureia (HU) na anemia falciforme tem proporcionado redução de complicações clínicas e aumento significativo na expectativa de vida, por promover elevação dos níveis de hemoglobina fetal, da concentração de hemoglobina e do VCM, bem como redução da hemólise e de eventos vaso-occlusivos. HU é considerada a melhor estratégia na terapêutica medicamentosa, entretanto existem questionamentos quanto aos riscos de mielotoxicidade, caracterizada por redução da hemoglobina (<5 g/dL), plaquetopenia (<80 x 10³/uL) e neutropenia (<2,0 x 10³/uL). Nosso objetivo foi avaliar o risco e benefício da HU comparando os grupos caso (falcêmicos em uso de HU) e controle (falcêmicos não medicados com HU) mensurando as variáveis hemoglobina total, hemoglobina fetal, volume corpuscular médio (VCM), contagem de leucócitos, plaquetas e reticulócitos. **Material e métodos:** Trata-se de um estudo caso-controle retrospectivo realizado no Hemocentro do Rio Grande do Norte, Natal/RN. Participaram do estudo 50 indivíduos de ambos os sexos, com idades de 2 a 59 anos e diagnóstico confirmado de AF homocigótica (Hb SS), sendo 29 do sexo masculino e 21 feminino. De um total de 50 participantes, 24 indivíduos compõem o grupo caso e fazem uso regular de HU e os demais 26 indivíduos são do grupo controle não utilizam o medicamento. **Resultados:** Aplicando a correlação de Person (GraphPad Prism 8.2) comparando os grupos caso e controle entre as variáveis hemoglobina total, hemoglobina fetal, volume corpuscular médio (VCM), contagem de leucócitos, plaquetas e reticulócitos, identificamos significância estatística (p < 0,05) no VCM (p = 0,004) e Hemoglobina Fetal (p = 0,015). Os indicadores de mielotoxicidade, tais como redução de hemoglobina (p = 0,496), plaquetopenia (p = 0,496) e neutropenia (p = 0,135) não foram estatisticamente relevantes. **Discussão:** Diversos estudos em pacientes com doença falciforme vêm demonstrando a grande importância da elevação dos níveis de Hb Fetal (HbF) como prevenção das sérias complicações clínicas da doença, como os eventos de falcização e vaso-oclusão. Esse estudo corroborou a literatura comprovando estatisticamente a elevação dos níveis de HbF e VCM.

Outro ponto relevante é a comprovação da segurança da HU avaliada através indicadores de mielotoxicidade, os quais mantiveram-se sem alterações estáticas. **Conclusão:** O uso de hidroxiureia em pacientes com anemia falciforme tem proporcionado redução de suas complicações clínicas e na população estudada o medicamento demonstrou sua segurança sem indícios de mielotoxicidade

1140 EOSINOFILIA ASSOCIADA À PARACOCIDIOIDOMICOSE CEREBRAL: RELATO DE CASO

Chaves MAF, Delabeneta MF, Plewka J, Barros MF, Caloi E, Fernandes NF, Leme L, Santos LCD, Lima LB

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Cascavel, PR, Brasil

Objetivos: Investigar alterações hematológicas em um caso clínico de infecção fúngica cerebral por *Paracoccidioides brasiliensis*. **Material e métodos:** Descreve-se caso de paciente mulher de 51 anos de idade, residente no interior do Paraná, não etilista e ex-tabagista, internada por quadro de cefaleia súbita occipital e retrorbitária direita associado a desvio de rima e fraqueza de membros mais pronunciada à direita. Tomografia de crânio na admissão evidenciou lesão nodular hiperdensa, mal definida, medindo cerca de 17x15 mm com intenso edema perilesional predominando em região do tálamo e centro semioval à direita. Assimetria dos ventrículos laterais. Exames laboratoriais: hemoglobina 13,3g/dL, leucometria global 8.630/mm³ (5.523 segmentados/mm³, 1.812 linfócitos/mm³, 259 monócitos/mm³ e 1.036 eosinófilos/mm³), plaquetas 216.000/mm³, VHS elevado, exames relativos às funções renais e hepáticas normais; exames de Líquor (leucócitos, hemácias, Gram, proteínas, glicose, VDRL, Tinta da china) normais. As sorologias para HIV, Toxoplasmose e Sífilis, foram não reagentes. **Resultados:** O diagnóstico de paracoccidioidomicose foi feito através de biópsia cerebral após ressecção de tumefação. Sendo iniciado o tratamento com Anfotericina B 50mg/dia, e o mesmo foi suspenso devido à hipocalemia e insuficiência renal aguda, substituída pela Anfotericina B lipossomal na concentração 5mg/Kg/dia até completar 1,2 g, paciente recebeu alta hospitalar com acompanhamento pós-tratamento pelo ambulatório de infectologia da instituição. **Discussão:** A infecção causada pelo fungo *Paracoccidioides brasiliensis* é endêmica na América do Sul, sendo a principal causa de mortalidade entre as doenças fúngicas. A eosinofilia (contagem absoluta de eosinófilos no sangue periférico > 350-500/mm³) está associada a uma gama de condições clínicas alérgicas, infecciosas, autoimunes, neoplásicas ou, mais raramente, idiopáticas, e também é um achado frequente na paracoccidioidomicose, em que doentes que apresentam as formas mais graves – como a forma aguda/subaguda ou a forma crônica disseminada grave – evoluem com predomínio de resposta tipo Th-2 e Th-9, promovendo ativação de linfócitos B, secreção de altos títulos de anticorpos específicos (inclusive IgE), hipergamaglobulinemia e eosinofilia, em detrimento da formação de granulomas compactos. Acredita-se que os eosinófilos participem dos estágios iniciais da reação do hospedeiro aos fungos, promovendo uma resposta inflamatória intensa e sistêmica na fase aguda da infecção. O hemograma também pode revelar nas formas crônicas mais graves da infecção, anemia normocítica e normocrômica, leucocitose discreta à custa de neutrofilia, frequentemente com desvio à esquerda, mesmo que incomum; a eosinofilia pode ser persistente na forma crônica da doença. **Conclusão:** A paracoccidioidomicose ocasiona alterações hematológicas que podem contribuir no diagnóstico diferencial na clínica de pacientes provenientes de regiões endêmicas.

1141 ERITROBLASTOSE SECUNDÁRIA A ANEMIA HEMOLÍTICA INDUZIDA POR CEFOTAXIMA: RELATO DE CASO

Silva CS, Alencar GS, Gonzalez H, Ramos KDS, Oliveira LAM

Grupo Fleury, Brasil

Objetivo: Relatar caso de anemia hemolítica (AH) induzida por cefotaxima dando ênfase a eritroblastose secundária. **Material e métodos:** Levantamento de prontuário e discussão mediante revisão bibliográfica (SciELO, PubMed). **Relato de caso:** Paciente, feminino, 16 anos, submetida a transplante de células tronco-hematopoiéticas alogênico haploide (doadora mãe) por leucemia mieloide aguda com recidiva precoce. Com doença enxerto contra hospedeiro em pele, orofaringe e trato gastrointestinal. Evoluiu com diversas complicações infecciosas,

incluindo infecção respiratória por *Mycobacterium abscessus*; iniciado tratamento com cefoxitina e outros antimicrobianos. Com 1 mês do uso desta medicação, evoluiu com quadro de extrema astenia, dispnéia aos pequenos esforços, dores em região lombar e hepatoesplenomegalia. Exames laboratoriais evidenciaram hemograma com Hb: 6,8 g/dL, Hct: 19,7%, 4.514 eritroblastos/100 leucócitos, WBC 450/ μ L, plaquetas 66 x 10³/ μ L, reticulocitose (89.8 x 10³/ μ L), esquizocitose e esferocitose. Perfil bioquímico mostrou aumento da bilirrubina indireta (4,05 mg/dL) e total (8,54 mg/dL), DHL (5.616 U/L), TGO (383 U/L) e fosfatase alcalina (304 U/L). Teste Coombs direto fortemente positivo. Haptoglobina inferior a 6 mg/dL. Foi então indicada a suspensão da Cefoxitina e internação hospitalar para suporte clínico. Dentro de 20 dias o quadro evoluiu com melhora. O hemograma chegou a apresentar resultados com Hb: 10 g/dL, Hct: 29,6%, WBC: 3,1 x 10³/ μ L, plaquetas 101 x 10³/ μ L, destacando-se a queda do número de eritroblastos para 372 eritroblastos/100 leucócitos pré-alta hospitalar. **Discussão:** Anos atrás, os fármacos mais associados à AH eram metildopa e penicilina, porém na última década, houve aumento relacionado às cefalosporina. Já foi descrita em crianças, principalmente nas portadoras de desordens hematológicas crônicas, tais como leucemias ou imundeprimidas (Alves et al., 2011). Alves et al. (2011) e Lu et al. (2018) relataram casos de AH induzida por cefalosporina em pacientes em tratamento de infecção urinária e respiratória. Outro relato mostrou melhora de AH após suspensão de ceftriaxona (Wang et al., 2019). A Cefoxitina é uma cefalosporina de segunda geração, indicada no tratamento de infecções (Carvalho et al., 1993). Palidez, icterícia e hepatoesplenomegalia são comuns. Observa-se anemia, reticulocitose, leucopenia, plaquetopenia, elevação da bilirrubina, DHL, transaminases, fosfatase alcalina, diminuição da haptoglobina e teste de Coombs positivo. Nas AH, a medula óssea se mostra hiperplásica, com 60% ou mais de eritroblastos (Zago; Falcão; Pasquini, 2013). Neste caso, a paciente apresentou alterações típicas de AH com 1 mês de uso da Cefoxitina, com notório aumento dos eritroblastos periférico e consequente leucopenia e plaquetopenia importante, com resolução do quadro após a suspensão da droga. **Conclusão:** Observam-se diversas publicações com estudos e relatos de casos sobre AH causada por cefalosporinas, porém não se encontrou relato algum de eritroblastose secundária concomitante, tornando-se assim importante trazer ao conhecimento da comunidade científica/médica casos como este.

1142 ESTUDO DOS CRITÉRIOS DE REVISÃO DE LÂMINA BASEADOS NO VOLUME CORPUSCULAR MÉDIO (VCM)

Guimarães FL, Campos JR, Fernandes AB

Laboratório Lustosa, Belo Horizonte, MG, Brasil

Objetivos: Reavaliar os critérios de revisão de lâminas utilizando o volume corpuscular médio (VCM) e o impacto na qualidade dos resultados liberados e da decisão médica. **Material e método:** Foram avaliados 222 filmes sanguíneos, sendo 137 de pacientes com VCM > 100 fL e 85 de pacientes com VCM < 78 fL. A investigação foi baseada na identificação de alteração isolada do VCM, sendo assim os critérios de elegibilidade dos pacientes para o estudo são: Hemoglobina > 12 g/dL para pacientes do sexo feminino e Hemoglobina > 13 g/dL para pacientes do sexo masculino, RDW < 16%, CHCM < 36,0 g/dL. Idade entre 18 e 110 anos. Foram incluídos no estudo apenas pacientes adultos de ambos os sexos. Para todos os pacientes foram avaliadas as observações da hematoscopia liberadas após revisão de lâmina. **Resultados:** Pacientes com VCM > 100: 99,27% tiveram seus laudos liberados com observações na hematoscopia de macrocitose ou macrocitose discreta. Apenas 0,73% dos resultados apresentaram as observações de macrocitose e poiquilocitose com ovalócitos. Pacientes com VCM < 78: 98,82% tiveram laudos liberados com observações na hematoscopia de microcitose ou microcitose discreta. Apenas 1,18% dos resultados apresentaram as observações de microcitose e poiquilocitose com ovalócitos. **Discussão:** É de grande interesse do laboratório clínico reduzir o tempo de liberação do resultado e o número de análises microscópicas dos hemogramas automatizados a fim de reduzir o T.A.T e atuação médica mais rápida na conduta do paciente sem prejudicar a qualidade do exame e tendo como principal objetivo contribuir para a atuação médica segura. Existem diversos trabalhos que visam reavaliar os critérios de revisão de lâminas. De acordo com os resultados obtidos neste trabalho, é possível redefinir o critério de revisão de lâminas com segurança, sem perda da qualidade dos

exames. Não foram encontrados outros tipos de alterações eritrocitárias nos pacientes que apresentaram VCM alterado. Acreditamos, portanto, que os pacientes que apresentam alteração do VCM isoladamente não necessitam de revisão do filme sanguíneo, o que permite liberação mais ágil do resultado e impacto positivo no acesso do clínico às informações dos pacientes. É válido ressaltar que foram incluídos neste estudo apenas pacientes que apresentaram VCM alterado, sem outras alterações na série branca, vermelha e plaquetas. **Conclusão:** O presente trabalho evidencia que a realização da hematoscopia de filmes sanguíneos de pacientes com alteração isolada de VCM (sem nenhuma outra alteração no hemograma) pode ser dispensada. O estudo realizado com 222 pacientes deixa evidente que a exclusão deste critério não prejudica a interpretação clínica do hemograma.

1143 FAGOCITOSE PLAQUETÁRIA: RELATO DE CASO

Dionísio LM, Bojko L, Koehler J, Krum EA, Moss MF

Universidade Estadual de Ponta Grossa (UEPG), Ponta Grossa, PR, Brasil

A fagocitose plaquetária por neutrófilos é um fenômeno raro, que pode levar a contagens automatizadas de plaquetas falsamente diminuídas. Casos de fagocitose plaquetária foram relatados em diferentes condições clínicas: traumas, eventos trombóticos, doenças cardíacas, uso de imunossuppressores, entre outras. Além disso, este fenômeno pode ocorrer *in vitro* por exposição do sangue ao anticoagulante EDTA. **Objetivo:** Apresentar um relato de caso de fagocitose de plaquetas em paciente gestante com pseudotrombocitopenia induzida por EDTA. **Relato de caso:** Paciente do sexo feminino, 30 anos, gestante de 18 semanas, foi encaminhada ao serviço de hematologia devido a plaquetopenia em hemograma, contagem de plaquetas de 127.000/mm³. Não apresentou episódios de sangramentos e ao exame físico apresentou bom estado geral e ausência de visceromegalias ou linfonodomegalias. Para confirmação do resultado da contagem de plaquetas, foi solicitado um novo hemograma, o qual foi realizado no analisador hematológico automatizado SYSMEX XN-1000. Resultado: WBC 8,47 x 10³/mm³, RBC 3,75 x 10⁶/mm³, Hb 11,0 g/dL, Ht 31,0%, VCM 82,7fL, HCM 29,3 pg, CHCM 35,5 g/dL, plaquetas 120.000/mm³. Ao analisar o *scattergram* da distribuição das populações leucocitárias (WDF: SFLxSSC) fornecido pelo equipamento, foi observado um padrão anormal da distribuição dos neutrófilos e aumento da população de eosinófilos, correspondendo a 38% do total de leucócitos na contagem automatizada. Na análise microscópica foi observado que os neutrófilos apresentavam numerosos vâcuolos citoplasmáticos contendo plaquetas fagocitadas e apenas 1% de eosinófilos em contagem relativa. Suspeitando-se de um caso de pseudotrombocitopenia induzida por EDTA, foi coletada uma nova amostra de sangue em anticoagulante citrato de sódio a 0,9% e a contagem de plaquetas foi de 164.000/mm³. O *scattergram* das populações de leucócitos apresentou-se normal, com apenas 0,8% de eosinófilos em contagem relativa automatizada, sendo confirmada na microscopia. Na análise do esfregaço sanguíneo foram observadas também maior quantidade de plaquetas livres distribuídas, sem evidências de agregação ou fagocitose. A paciente teve alta do serviço de hematologia e foi orientada a respeito de tal condição. **Discussão:** A possibilidade de trombocitopenia induzida por EDTA deve ser sempre considerada em casos de contagens baixas de plaquetas, além da presença de agregados plaquetários em microscopia óptica. No presente caso, podemos observar que houve trombocitopenia por indução da fagocitose de plaquetas pelo anticoagulante EDTA, visto que quando o exame foi realizado em amostra coletada em citrato de sódio 0,9%, não foram observadas alterações quantitativas e nem morfológicas plaquetárias. Com relação à falsa alta contagem de eosinófilos, observada na amostra em EDTA, esta pode ser atribuída ao fato de que o equipamento utilizado baseia-se também na complexidade celular para caracterizar os diferentes subtipos leucocitários, sendo assim neutrófilos com plaquetas internalizadas são mais complexos e por este motivo foram contabilizados na automação como eosinófilos (células com alta complexidade interna). **Conclusão:** Apesar de tratar-se de um fenômeno raro que ocorre apenas *in vitro*, é evidente a importância do conhecimento na prática clínica e laboratorial, pois contagens espúrias de plaquetas podem levar a diagnósticos errôneos de trombocitopenias, expondo pacientes a realização de exames ou até mesmo tratamentos desnecessários.

1144 FREQUÊNCIA DOS ANTÍGENOS E DISTRIBUIÇÃO DOS FENÓTIPOS DO SISTEMA KIDD EM DOADORES DE SANGUE DA REGIÃO METROPOLITANA DE BELÉM, PARÁ

Monteiro LA^{a,b}, Parente JSC^{a,b}, Carvalho MG^b, Vilhena RS^b, Carvalho FRR^b, Amaral CEM^b

^a Universidade do Estado do Pará (UEPA), Belém, PA, Brasil

^b Fundação Centro de Hemoterapia e Hematologia do Pará (Hemopa), Belém, PA, Brasil

Objetivo: Descrever a frequência fenotípica, de acordo com a raça autorreferida, dos principais antígenos do sistema de grupo sanguíneo Kidd em doadores de sangue da região metropolitana de Belém, Pará. **Material e métodos:** Foi realizado um estudo retrospectivo, a partir de um levantamento de dados disponíveis no Sistema de Banco de Sangue (SBSweb) da Fundação HEMOPA, relacionados à fenotipagem estendida de doações realizadas no período de junho a dezembro de 2018, pela metodologia de gel-centrifugação (Biorad). Apenas doadores com dois resultados de fenotipagens que realizaram doações na sede da Fundação HEMOPA e postos de coleta da região metropolitana foram incluídos neste estudo. Doadores naturais do interior do estado ou de outros estados foram excluídos. Foi realizado o teste qui-quadrado adotando o valor de $p < 0,05$ no programa Statistical Package for Social Sciences (SPSS), versão 20. **Resultados:** 1.035 doadores tiveram seus perfis fenotípicos analisados. Quanto à raça autorreferida, 816 (82,1%) eram morenos/pardos, 185 (17,9%) brancos e 34 (3,2%) negros. Entre os morenos/pardos, o antígeno Jka apresentou frequência de 80,5%, e o antígeno Jkb, frequência de 66,5%. Entre os brancos, Jka apresentou frequência de 78,3%, e o antígeno Jkb, frequência de 68,6%. Entre os negros, Jka apresentou frequência de 91,1%, e o antígeno Jkb, frequência de 73,5%. Não houve diferença significativa. O fenótipo mais frequente entre os morenos/pardos foi Jk(a+b+), com frequência de 47,0%, seguido por Jk(a+b-) com 33,4%, e Jk(a-b+) com 19,5%. No grupo dos brancos, Jk(a+b+) foi o mais frequente com 47,0%, seguido por Jk(a+b-) 31,0% e Jk(a-b+) 21,6%. Entre os negros, Jk(a+b+) foi o mais frequente, presente em 64,7%, seguido por Jk(a+b-) 26,4% e Jk(a-b+) 8,8%. Nenhum doador apresentou o fenótipo Jk(a-b-). Quando comparados os fenótipos entre as raças, o fenótipo Jk(a+b+) foi significativamente mais presente na população negra quando comparado com outras raças. Ainda nesta população, o fenótipo Jk(a-b+) foi menos presente quando comparado com outras raças. **Discussão:** A alta frequência do fenótipo Jk(a+b+), assim como a baixa frequência do fenótipo Jk(a-b+) em doadores autorreferidos negros encontradas em nosso estudo, são condizentes com outros dados da literatura em que a expressão do alelo B de JK é muito menor na população negra do que nos outros grupos étnicos com um aumento recíproco na expressão do alelo A de JK. **Conclusão:** Em nosso estudo foi possível determinar a frequência dos antígenos e a distribuição dos fenótipos do sistema Kidd em doadores de sangue da região metropolitana de Belém de acordo com a raça. Estes resultados são relevantes para o referente serviço de hematologia e hemoterapia como auxílio na procura de unidades de concentrados de hemácias com fenótipos comparáveis, e até mesmo em caso de comparações antropológicas.

1145 HEMOFILIA A GRAVE, UM RELATO DE CASO

Caloi EA, Chaves MAF, Barros MF, Plewka J, Leme L, Fernandes NF, Santos LCD, Delabenta MF, Lima LB

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Cascavel, PR, Brasil

Objetivo: Investigar alterações hematológicas em um paciente com Hemofilia A grave. **Materiais e métodos:** Relata-se o caso de um paciente do sexo masculino de 30 anos, não etilista e não tabagista, residente no interior do Paraná, encaminhado do Hemocentro (onde faz acompanhamento ambulatorial para Hemofilia A grave) com queixa de dor abdominal de início súbito, latejante, contínua. Nega a ocorrência de qualquer tipo de sangramento, trauma recente e uso recente de qualquer medicação. Relatou duas intervenções neurocirúrgicas há 20 e 15 anos por AVC hemorrágico. Presença de grave hematoma abdominal. Nos exames laboratoriais: Hemoglobina 8,8 g/dL, Hematócrito 27,5%, Eritrócitos 3,00 milhões/mm³ e RDW de 14,8%; Leucometria Global 5.951/mm³ (60 Bastonetes/mm³, 4.285 Segmentados/mm³, 1.309 Linfócitos/mm³, 179 Monócitos/mm³ e 119 Eosinófilos/mm³); foi encontrado 1 eritroblasto durante a contagem

de 100 leucócitos. Plaquetas 198.000/mm³; incluiu-se nas observações de alterações leucocitárias: Policromasia (+) e Anisocitose (+). A Contagem de reticulócitos foi de 2,23%. Todos os resultados do coagulograma apresentaram-se normais, sem alterações. **Resultados:** O paciente faz acompanhamento ambulatorial no Hemocentro, faz um uso eventual (conforme demanda) de Fator VIII recombinante. Recebeu 5.000 UI de fator VIII EV. Paciente recebeu alta hospitalar após a normalização dos exames laboratoriais, ausência dos sinais e sintomas que se queixou ao dar entrada e verificação de que realmente não havia sangramentos. **Conclusão:** A hemofilia A é um grave distúrbio da coagulação sanguínea, causada pela deficiência da atividade coagulante do fator VIII. Os genes codificantes deste fator localizam-se no braço longo do cromossomo X. Assim sua ocorrência é quase que exclusiva no sexo masculino. Nos portadores de Hemofilia A, o exame laboratorial que mais ocorre alteração é o de Tempo de Tromboplastina Parcial Ativada (TTPa); também podem ocorrer desordens na contagem de plaquetas. Autores relatam que as alterações nos índices hematimétricos podem ocorrer devido a sintomas do distúrbio, sendo uma consequência secundária.

1146 HEMOGLOBINAS VARIANTES: FREQUÊNCIA E IMPORTÂNCIA DO ACONSELHAMENTO GENÉTICO

Arruda ABL^a, Lima CDN^a, Sampaio NF^a, Lemes RPG^a, Machado RPG^b, Mont'alverne ALP^a, Silva FIC^a, Dias AVC^a, Gonzaga LEM^a, Rodrigues ABF^a

^a Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, CE, Brasil

^b Universidade de Fortaleza (UNIFOR), Fortaleza, CE, Brasil

As hemoglobinas variantes são decorrentes de mutações nos genes das globinas e essas mutações modificam a estrutura da hemoglobina, podendo alterar seu comportamento, velocidade de produção ou a estabilidade. As hemoglobinas variantes mais frequentes são a hemoglobina S (Hb S) e a hemoglobina C (Hb C), e como ocorrem por alterações genéticas, a hereditariedade é uma questão primordial e o aconselhamento genético possui importância fundamental na prevenção de novos casos e no diagnóstico precoce. O objetivo do presente trabalho foi avaliar a frequência de hemoglobinas variantes em um laboratório privado da cidade de Sobral-CE. Foi realizado um estudo retrospectivo, quantitativo e descritivo, a partir da análise dos resultados dos exames de eletroforese de hemoglobina do Laboratório Clínico de Sobral. Foram estudados os laudos correspondentes ao período de janeiro a dezembro de 2017 e os dados foram analisados estatisticamente utilizando o programa Microsoft Excel[®] 2013. Foi visto que no período de janeiro a dezembro de 2017 foram realizados 74 exames de eletroforese de hemoglobina, sendo que 63 (85,1%) apresentaram hemoglobina normal (HbAA) e 11 (14,9%) apresentaram hemoglobinas variantes (7 pertenciam a indivíduos do sexo masculino e 4 do gênero feminino). Dos 11 pacientes com hemoglobinas variantes, 2 (18,2%) apresentaram hemoglobina AC e 9 (81,8%) hemoglobina AS. Os dois pacientes que apresentaram heterozigose para hemoglobina C eram crianças, do gênero masculino e tinham idade variando entre 2 a 4 anos. Dos 9 pacientes com hemoglobina AS, 7 eram crianças (4 do gênero masculino e 3 do gênero feminino) com idade variando entre 1 mês a 5 anos, e 2 eram adultos, do gênero feminino, com idade variando entre 23 a 34 anos. Os dados analisados mostraram que 14% da população estudada era portadora de hemoglobina variante e essa frequência foi maior do que a literatura pesquisada. Esse resultado foi significante e mostra a importância de implementar no município de Sobral programas para realizar o rastreio e aconselhamento genético na tentativa de demonstrar que este tipo de intervenção pode auxiliar os heterozigotos e doentes na compreensão de aspectos fundamentais para o manejo da doença e no planejamento familiar.

1147 HIPERFERRITINEMIA NUMA CIDADE DO SUDOESTE DO PARANÁ

Velasquez PAG, Schiavini JT, Piva RD, Maffessoni T, Hofmann G

Universidade Paranaense, Umuarama, PR, Brasil

Objetivos: Estabelecer a prevalência de hiperferritinemia (HRF) média dos níveis de ferritina sérica dos pacientes de uma cidade do Paraná, correlacionando com outros dados coletados como: sexo, idade, ferro

sérico e hemoglobina. **Material e métodos:** Foram coletados os resultados de todos os pacientes que realizaram a dosagem de ferritina de 2012 a 2016 no Laboratório de Análises Clínicas de Santo Antônio do Sudoeste – PR. Outras variáveis que também foram coletadas desses pacientes: idade, sexo, dosagem de hemoglobina e VCM (Parecer do Comitê de Ética n. 2.733.177). **Resultados:** Dos 484 pacientes que realizaram a dosagem de ferritina, 227 (46,7%) eram do sexo feminino e 257 (53,1%) eram do sexo masculino. As 3 faixas etárias que mais realizaram a dosagem foi: de 40 a 59 anos (39,3%), seguida de 19 a 39 anos (31,2%) e ≥ 60 anos (20,5%). Valores normais de ferritina dentro do valor de referência estavam presentes em 297 pacientes (61,4%); 175 (36,2%) pacientes apresentaram HRF, sendo esses a maioria do sexo masculino (86,8%) ($p = 0,000$). Hipoferritinemia foi observada em 12 pacientes (2,5%), sendo esses a maioria do sexo feminino (91,6%). O hemograma foi feito por 321 pacientes (66,3%). Entre as mulheres (156) observou-se: 83 (53,2%) com ferritina, hemoglobina e VCM normais; 32 (20,5%) com Hb baixa somente; 11 (7,1%) com HRF isolada; quatro (2,6%) com os três parâmetros baixos; e duas (1,3%) com HRF, porém, anemia microcítica. Já entre os homens (165), 45 (27,3%) apresentaram os três parâmetros normais; 88 (53,3%) com HRF isolada; 8 (4,8%) com HRF e microcitose; e um com os três parâmetros baixos. **Discussão:** Houve correlação significativa entre ferritina e sexo masculino, o que pode ser explicado pelos hábitos de vida dos homens, os quais ingerem mais carne vermelha e bebida alcoólica – fator que influencia diretamente na função hepática e consequentemente na concentração da ferritina – e por serem mais sedentários, o que aumenta o risco de desenvolverem hepatopatias e síndrome metabólica. Valores baixos de ferritina foram encontrados para 12 pacientes (2,5%), sendo desses a maioria do sexo feminino (91,6%); as mulheres excretam mais ferro que os homens por meio do sangramento menstrual mensal, fazendo com que elas possuam menos estoque de ferro no organismo. Observou-se oito pacientes com hiperferritinemia e microcitose (sem anemia) e quatro com HRF e anemia microcítica. A HRF está associada à agressão hepatocelular nas doenças do fígado e à sobrecarga de ferro, em doenças genéticas e adquiridas, sendo necessário definir seu significado para estabelecer as melhores condutas para esses indivíduos. **Conclusão:** O estudo apresentou alta prevalência de HRF, principalmente no grupo masculino. Níveis elevados de ferritina geralmente indicam níveis elevados de ferro, entretanto nem sempre é o que ocorre, podendo estar associados a outras condições como doenças genéticas, inflamatórias, infecciosas ou síndromes metabólicas. Deste modo é de suma importância realizar o diagnóstico e o tratamento precoce dos pacientes para evitar o acúmulo de ferro nos órgãos e melhorar a qualidade de vida destes.

1148 HIPERNATREMIA E MACROCITOSE: POTENCIAL REDUÇÃO DE RECOLETA DO HEMOGRAMA

Silva JR, Cortez DP, Matos LAO, Bassitt RP, Arantes MLC

Flery Medicina e Saúde, Brasil

Introdução: O volume corpuscular médio (VCM) é um dos parâmetros hematimétricos obtidos a partir da quantificação do hematócrito e número de eritrócitos e é útil na avaliação de anemias. Variações súbitas de VCM levantam a suspeita de recebimento de transfusão de concentrados de hemácias ou troca de pacientes. Outra causa dessas variações são hipo ou hipernatremia. Relataremos o caso de elevação de VCM induzido por hipernatremia. **Relato de caso:** Ao realizar a contagem do hemograma de paciente do sexo masculino, com 58 anos, percebemos uma queda significativa no valor do VCM quantificado no Sysmex XN 3000, com redução de 100,3 para 89,5 fL com dois dias de intervalo. Ao investigar possível causa, não foi identificado uso de hemoderivados. A observação de outros analitos não sugeriu troca de paciente. Foi observada a redução progressiva dos valores de sódio dosado no equipamento Cobas C501 desde a admissão do paciente até 10 dias depois (de 187 para 144 mEq/L) com correspondente queda do VCM de (107,5 para 89,5 fL). **Discussão:** Quando a osmolaridade do eritrócito é normal, o VCM é medido corretamente pelo equipamento Sysmex XN 3000 visto que a amostra é diluída em solução isotônica (Cell-Pack). Eritrócitos de pacientes com hipernatremia têm uma quantidade maior de sódio intracelular para manter o equilíbrio osmótico com o plasma *in vivo*. Ao serem expostos ao diluente com osmolaridade mais baixa, esses eritrócitos atingem novo equilíbrio osmótico *in vitro*, gerando aumento do volume dos eritrócitos. Na

literatura, comprovou-se que a osmolaridade eritrocitária em pacientes com hipernatremia é maior que a do diluente, superestimando a medição do VCM. No caso relatado temos indícios fortes de que a hipernatremia causou o aumento do VCM *in vitro*, especialmente porque houve normalização concomitante de ambos os parâmetros ao longo dos dias. Devido à indisponibilidade de diluente com osmolaridade maior, não foi possível confirmar definitivamente esta interferência. Por outro lado, a evolução dos exames sugeriu fortemente que o sódio afeta diretamente a quantificação no VCM. Ao considerar os valores de sódio do paciente, evitamos realizar uma coleta desnecessária. Este relato ressalta a necessidade de avaliar o sódio quando há variações de VCM.

1149 HISTOPLASMOSE SISTÊMICA: RELATO DE CASO COM DIAGNÓSTICO PELA AVALIAÇÃO DA MEDULA ÓSSEA

Azambuja AP^{a,b}, José EL^b, Gavazzoni VG^b, Jungblurh DV^b, Pedroso F^b, Barth R^b, Gevert Fb, Beloto N^b, Oliveira RM^b, Farias JS^{a,b}, Tortelli MM^b

^a Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brasil

^b Hospital Nossa Senhora das Graças, Curitiba, PR, Brasil

Objetivo: Descrever um caso de histoplasmose disseminada grave com síndrome hemofagocítica associada, em paciente não HIV imunossuprimido por uso crônico de corticoides, cujo diagnóstico foi feito pela avaliação da medula óssea. **Caso:** Paciente masculino, 18 anos, internado para investigação de dispneia, pancitopenia e hepatoesplenomegalia. Referia 3 meses de febre alta associada a sudorese noturna, emagrecimento e mal-estar generalizado. No começo de janeiro, viajou para Austrália para intercâmbio e manteve sintomas de forma intermitente, mas refere que os mesmos haviam iniciado 20 dias antes da viagem. História prévia de doença de Crohn e espondililoartropatia com uso de corticoterapia e imunossupressores. Ao exame apresentava febre, hepatoesplenomegalia moderada e linfonodomegalia periférica, mediastinal e retroperitoneal. Exames laboratoriais mostravam pancitopenia (Hemoglobina 8,3 g/dL, plaquetas de $16,3 \times 10^3/L$ e leucócitos de $1,1 \times 10^3/L$, com 79% de neutrófilos e desvio a esquerda), hipofibrinogenemia (74 mg/dL) e hiperferritinemia (5401 ng/dL). Evoluiu rapidamente com sepses de foco pulmonar e necessidade de intubação orotraqueal e ventilação mecânica, além de alteração hepática discreta (ALT: 69 U/L; AST: 190 U/L; GGT: 103 U/L; Lactato: 5,9; LDH: 666; PCR: 94,1). Sorologias para HIV, hepatites e CMV não reagentes. EBV reagente (IgG). Várias hemoculturas negativas. Coletado aspirado de medula óssea no qual identificou-se intensa hemofagocitose e presença de parasitas espalhados na lâmina, principalmente no citoplasma dos macrófagos, ficando em dúvida porém no diagnóstico diferencial entre *Leishmania donovani* e *Histoplasma capsulatum*. Foi então iniciado tratamento com Anfotericina B lipossomal e antibióticos de amplo espectro para a infecção pulmonar. A imunodifusão anti-histoplasmose foi positiva na Banda M (infecção precoce) e negativa na Banda H. Sorologias para *Leishmania* IgG e IgM não reagentes. Após 35 dias de tratamento intensivo devido às complicações infecciosas e hemorragia pulmonar, o paciente teve alta da UTI e seguiu com tratamento ambulatorial com Itraconazol e antibióticos. **Discussão:** A histoplasmose é considerada uma micose endêmica, embora o fungo tenha um comportamento oportunístico em pacientes com depressão da imunidade celular, principalmente aqueles com diagnóstico recente de HIV/AIDS. A maioria dos conídios inalados chegam intactos aos alvéolos pulmonares, estimulando uma resposta inflamatória do hospedeiro que causa uma mudança morfológica no fungo modificando-o para sua forma de leveduras. O *Histoplasma capsulatum* multiplica-se no interior das células do sistema macrofágico e pode evoluir com disseminação sistêmica. O envolvimento da medula óssea é comum e manifesta-se através de pancitopenia periférica e eventualmente síndrome hemofagocítica. O diagnóstico baseia-se no encontro do fungo em secreções ou tecidos e nas reações sorológicas específicas. As leveduras podem ser identificadas no aspirado de medula óssea dentro e fora dos macrófagos, e podem ser confundidas com *Leishmania*. O formato do parasita, a história clínica e colorações específicas, entretanto, direcionam o diagnóstico. **Conclusão:** Descrevemos um caso de histoplasmose disseminada com síndrome hemofagocítica associada em paciente não HIV com uso crônico de corticoides, diagnosticada no aspirado de medula óssea.

1150 IDENTIFICAÇÃO MOLECULAR DE HEMOGLOBINAS VARIANTES COM PERFIL ELETRORFÓRÉTICO Hb D-LOS ANGELES - LIKEEM ASSOCIAÇÃO COM Hb S

Oliveira MD^a, Ramos VS^a, Souza RF^a, Bernardes LG^a, Bacani PMC^a, Pimentel RA^b, Jaime FMP^b, Araújo TPT^b, Belini-Junior E^a

^a Laboratório de Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campus de Três Lagoas (UFMS/CPTL), Três Lagoas, MS, Brasil

^b Laboratório do Serviço de Referência em Triagem Neonatal da APAE de Anápolis, Anápolis, GO, Brasil

Objetivo: Demonstrar a importância da associação de metodologias laboratoriais para diagnóstico preciso de hemoglobinas (Hb) com mobilidade eletroforética similar ao da Hb D-Los Angeles (ou D Punjab). **Material e métodos:** Amostras de sangue total de três indivíduos (I: 2 anos; II: 5 anos; III: 13 anos) foram enviadas para o Laboratório de Genética da UFMS/CPTL para diagnóstico molecular, proveniente do serviço de triagem neonatal da Apae Anápolis-GO. Foram realizadas análises eletroforéticas (pH alcalino e ácido), cromatográficas (HPLC – Ultra2, Trinity Biotech, Kit Resolution) e métodos de biologia molecular [PCR-RE para Hb S e Hb D-Los Angeles e sequenciamento do gene HBB (beta globina) pelo método de Sanger]. **Resultados:** As três amostras apresentaram perfil eletroforético Hb SS (em pH alcalino) e Hb AS (em eletroforese ácida). Análise por HPLC demonstrou, em todas amostras, presença de Hb variante com média $53,2 \pm 3,2\%$ eluindo no Tempo de Retenção Relativo a Hb S (RRTS) de 1,00, sendo o tempo da Hb S estabelecido pelo fabricante; e Hb variante com média $38,8 \pm 2,7\%$ eluindo no RRTS de 0,90 a 0,95, e conforme o manual do fabricante, as Hbs Mobile, Korle Bu, Willamette, D-Los Angeles (D-LA) e Beograd, eluem nesse intervalo. A análise molecular de PCR-RE para Hb S e Hb D-Los Angeles demonstraram a presença de um alelo para Hb S em todos os três indivíduos e ausência de alelo mutante para Hb D. Entretanto, na análise de sequenciamento do gene HBB, as mutações: HBB:c.220G>A e HBB:c.20A>T, codificantes com heterozigose Hb Korle-Bu e Hb S, respectivamente, estavam presentes em todas amostras. Todos os perfis hematológicos apresentaram hipocromia e anisocitose leve. **Discussão:** A Hb Korle-Bu (ou G-Accra) foi descrita pela primeira vez em um indivíduo com perfil eletroforético Hb SS, porém, apesar de alguns eritrócitos falcizados, a sintomatologia não era compatível com anemia falciforme. A Hb Korle-Bu é definida por uma mutação pontual no gene HBB, códon 73, que ocasiona substituição do ácido aspártico pela asparagina. Os heterozigotos são assintomáticos e os homozigotos podem apresentar alterações na morfologia dos eritrócitos, mas sem sintomatologia. A Hb anormal tem diminuição na afinidade ao oxigênio, mas com efeito Bohr, cooperatividade e estabilidade normais. Diagnóstico laboratorial dependente, exclusivamente, da eletroforese alcalina, pode gerar erros de diagnóstico pelo fato de essa Hb variante ter características “S-Like”. Entretanto, quando associada a eletroforese ácida, o perfil dessa Hb variante apresenta característica “D-Los Angeles like”, podendo gerar, também, diagnóstico impreciso e preocupante, uma vez que os indivíduos Hb S/D-LA são clinicamente graves. Após análise de HPLC, houve direcionamento de diagnóstico, e a partir das análises moleculares foi confirmado o perfil Hb S/Korle-Bu. **Conclusão:** O diagnóstico das Hb variantes com características “S-like” e “D-LA like” devem ser investigadas por associação de metodologias utilizando HPLC e análises de biologia molecular. A identificação da ocorrência dessas interações pode contribuir com a conduta clínica e quanto mais precoce o diagnóstico, melhor o acompanhamento médico e aconselhamento genético.

1151 IMPACTO DO PROGRAMA NACIONAL DE AVALIAÇÃO EXTERNA DA QUALIDADE PARA LABORATÓRIOS DE HEMOSTASIA (PAEQ-HEMOSTASIA) NO SEU PRIMEIRO ANO DE AVALIAÇÃO

Francisco AP^{a,b}, Aguiari HJ^a, Sternick G^c, Paula EV^a, Annichino-Bizzacchi JM^a, Colella M^{a,b}, Lima-Montalvão SA^{a,b}, Ozelo MC^{a,b}

^a Laboratório de Hemostasia e Trombose, INCT do Sangue Hemocentro UNICAMP, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil

^b IHTC Unidade de Hemofilia “Cláudio L P Corrêa”, INCT do Sangue Hemocentro UNICAMP, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP, Brasil

^c Coordenação Geral do Sangue e Hemoderivados (CGSH), Ministério da Saúde, Brasília, DF, Brasil

Introdução: O programa de avaliação externa de qualidade é uma ferramenta fundamental para ajudar os laboratórios a gerar resultados confiáveis e adequados. O laboratório de hemostasia do Hemocentro da UNICAMP desenvolveu o Programa de Avaliação Externa da Qualidade em Hemostasia (PAEQ-Hemostasia). O programa baseia-se nos critérios da ISO-IEC 17043 (Avaliação da Conformidade-Requisitos Gerais para Ensaio de Proficiência) e ISO 13528 (Métodos Estatísticos para Programa de Proficiência para Comparações Interlaboratoriais). O objetivo desse estudo é analisar o desempenho dos laboratórios de hemostasia participantes do PAEQ em 2018. **Material e métodos:** Em 2018, o PAEQ-Hemostasia distribuiu 4 avaliações para 30 laboratórios em todas as regiões do Brasil. As avaliações contemplaram os ensaios de tempo de protrombina (TP), tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa), dosagem de fator (F) VIII e FIX, atividade cofatora do fator de von Willebrand (FvW:Rco), antígeno do fator de von Willebrand (FvW:Ag) e quantificação de inibidor ao FVIII. Para os testes de triagem, TP e TTPa foram calculadas as medianas reagente-específica e/ou mediana global (todos os resultados). A partir do resultado da mediana, é calculada a porcentagem do desvio do resultado apresentado por cada participante. O desempenho do laboratório foi classificado como “fora do consenso” se o desvio percentual foi > 15%. Todos os demais testes foram classificados pelo sistema de classificação de quartis. As notas entre A-E são determinadas, indicando se os resultados estão acima (em maiúsculas) ou abaixo (em minúsculas) da mediana. **Resultados:** Considerando as 4 avaliações enviadas, apenas 2/30 (7%) não enviaram nenhum resultado e 23/30 (77%) retornaram todas as avaliações. No ensaio de TP, 100% dos resultados ficaram dentro do consenso. Para o TTPa, na avaliação 1 e 4, o resultado esperado estava dentro do limite da normalidade, embora na 1ª avaliação 76% ficaram fora do consenso e, na avaliação 4, apenas 25% ficaram fora do consenso. Na avaliação 2, a amostra do TTPa foi produzida a partir de um paciente com hemofilia A leve, e apenas 24% ficaram fora do consenso. Na avaliação para ensaio de quantificação de inibidor ao FVIII em uma amostra com 1,54 UB/mL, 100% dos 25 participantes ficaram dentro do consenso. Para a dosagem de FVIII e FIX, 25% tiveram combinações de letras D e E em até duas das avaliações e apenas 2% foram considerados fora do consenso por terem apresentado D e E nas três avaliações. Nos ensaios de FvW:Rco e FvW:Ag, menos de 20 participantes retornaram o resultado, com grande heterogeneidade de métodos, impossibilitando a avaliação estatística comparativa entre o grupo. **Conclusão:** No PAEQ-hemostasia 2018, houve uma boa adesão dos laboratórios. Embora em um teste de triagem comum como o TTPa, inicialmente, com um resultado esperado dentro da normalidade, a maior parte apresentou desempenho ruim, nas avaliações subsequentes o desempenho foi melhor. Por outro lado, em testes mais complexos, como a quantificação de inibidor ao FVIII houve 100% de consenso. PAEQ-hemostasia é uma importante ferramenta e foi capaz não apenas de detectar deficiências dos laboratórios de hemostasia, como ajudou a proporcionar avanços na qualidade desses laboratórios.

1152 INAPTIDÃO SOROLÓGICA POR SÍFILIS NOS CANDIDATOS À DOAÇÃO DE SANGUE NO INSTITUTO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA DE SERGIPE (IHHS)

Silva WS^a, Carvalho GPS^a, Santos CSO^a, Santos ARTD^a, Oliveira MLF^b, Junior PCCS^b, Gomes PHG^b, Pavione TSS^a, Guimaraes CS^b, Campos JVR^a

^a Universidade Tiradentes (UNIT), Aracaju, SE, Brasil

^b Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão, SE, Brasil

Objetivo: Avaliar a prevalência nos candidatos à doação de sangue com inaptidão sorológica para sífilis do IHHS. **Material e métodos:** A pesquisa foi realizada através da coleta de dados no IHHS, localizado em Aracaju (SE). Trata-se de um estudo transversal e retrospectivo de dados de 12.762 candidatos à doação no período de janeiro de 2017 a dezembro de 2018. Assegura-se que tais dados foram analisados cautelosamente com o intuito de preservar o anonimato dos indivíduos. Como critério de inclusão, consideraram-se os candidatos à doação com triagem sorológica reagente para sífilis, para análise de acordo com gênero e idade. Assim, foram analisadas variáveis correspondentes à faixa etária, em que o total de indivíduos foi subdividido em seis categorias (menor de 20 anos; 21 a 30 anos; 31 a 40 anos; 41 a 50 anos; 51 a 60 anos; maior de 60 anos), ao sexo (masculino e feminino) e à sorologia para o teste VDRL (reagente). **Resultados:** Foram avaliados 12.762 prontuários

de candidatos à doação, dos quais 50 apresentaram o teste VDRL reagentes, representando uma prevalência de 0,4%. Entre esses, 74% são do sexo masculino e 26% do sexo feminino. Em relação à faixa etária, os doadores de idade menor ou igual a 20 anos representam a menor prevalência de 0,0%, os de 21 a 30 anos representam 34%; tendo a maior frequência apresentada, os de 31 a 40 anos representam 28%, os de 41 a 50 anos representam 20%, os de 51 a 60 anos representam 11,74% e aqueles com idade igual ou superior a 60 anos, 10%. **Discussão:** Em relação à idade, no período de janeiro de 2017 a dezembro de 2018, no IHHS, observou-se durante a triagem sorológica uma prevalência no número de casos de sífilis entre os 21 e os 30 anos e entre os 31 e os 40 anos. Conforme Silva e Cardim (2017), há uma maior frequência de sífilis em doadores entre 25 a 38 anos, faixa etária considerada sexualmente ativa, podendo apresentar como fator agravante a atividade sexual desprotegida, o que corrobora com os achados do presente estudo. No tocante ao sexo, foi observada uma maior frequência do sexo masculino em detrimento do feminino, o que se evidencia compatível com o estudo feito por Baião, Kupek e Petry (2014), em que foi notada uma maior quantidade de reativos homens, podendo ser explicado por uma maior liberdade sexual e pelo fato de realizarem uma maior quantidade de doações em um menor intervalo de tempo. Baseando-se nos estudos citados acima e nos dados coletados, nota-se que a sífilis, diagnosticada durante a triagem sorológica para a doação de sangue, é mais comum entre os adultos jovens do sexo masculino, sendo assim compatível com estudos semelhantes realizados. **Conclusão:** Notou-se que entre os 12.762 candidatos à doação de sangue no IHHS, 50 apresentaram-se reagentes para sífilis no período de dois anos e, desses, foram analisados os dados, a fim de traçar o perfil epidemiológico, por meio das variáveis sexo e idade, determinando, dessa forma, a prevalência de sífilis na população estudada. Então, conclui-se que há uma maior prevalência de sífilis em homens, entre 21 e 40 anos, evidenciando a relevância desses números a fim de buscar meios de intervenção para um melhor aperfeiçoamento das triagens sorológicas nos bancos de sangue, garantindo, dessa maneira, uma detecção precoce da infecção e uma maior segurança ao futuro receptor de sangue.

1153 INFLUÊNCIA DO ALELO ANTI-3,7 NO FENÓTIPO HEMATOLÓGICO DE HETEROZIGOTOS DA TALASSEMIA EM UMA FAMÍLIA BRASILEIRA

Pedroso GA^{a,b}, Santos MNND^{a,b}, Sonati MF^{a,b}, Lima PC^{a,b}, Nascimento PH^{a,b}, Geraldo APM^{a,c}, Albuquerque DM^{a,d}, Costa FF^{a,d}

^a Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

^b Laboratório de Hemoglobinopatias, Departamento de Patologia Clínica, Faculdade de Ciências Médicas, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

^c Centro Integrado de Pesquisas Oncohematológicas na Infância (CIPOLI), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

^d Centro de Hematologia e Hemoterapia (Hemocentro), Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Objetivo: Esclarecer as bases moleculares da Talassemia β em uma criança com 5 anos de idade e em seu pai (27 anos), ambos com anemia microcítica e hipocrômica moderada. **Métodos:** Determinação dos valores hematológicos e do status de ferro, eletroforese de Hb e HPLC, sequenciamento dos genes da globina β , investigação das formas mais comuns de talassemia α e do alelo $\alpha\alpha^{\text{anti-3,7}}$, e análise familiar. **Resultados:** Os valores hematológicos da criança e do pai foram, respectivamente, Hb = 10,4 g/dL, VCM = 60,6 fL e HCM = 18,4 pg e Hb = 9,5 g/dL, VCM = 65,9 fL e HCM = 18,2 pg; a mãe não tinha alterações e a irmã (18 meses), apresentava discretas microcitose e hipocromia (Hb = 10,7 g/dL, VCM = 66,5 fL e HCM = 20,5 pg). Ferritina e ferro séricos estavam normais na criança (97,34 ng/mL e 98,0 mg/dL, respectivamente), elevados no pai (685,0 ng/mL e 204,0 mg/dL) e reduzidos na irmã (3,79 ng/mL e 20,0 mg/dL, provável causa da micro/hipo). Sem anormalidades estruturais, os percentuais de HbA₂ na criança, em seu pai e em sua irmã foram, respectivamente, de 5,9; 5,5 e 2,5%. Nos genes β do paciente e do pai detectou-se heterozigose da mutação β^0 IVS-II-1. A talassemia α não foi detectada, mas tanto a criança, quanto seu pai e irmã eram heterozigotos do alelo $\alpha\alpha^{\text{anti-3,7}}$. **Conclusão:** A diversidade fenotípica das talassemias β está diretamente relacionada ao desequilíbrio na proporção de síntese de cadeias α/β . A co-herança com talassemia α reduz esse desequilíbrio, resultando em fenótipo mais favorável, enquanto a presença de genes α extras o aumenta, podendo converter

um estado assintomático em fenótipo de maior gravidade. A presente família ilustra como o status dos genes α pode influenciar o fenótipo hematológico de portadores da talassemia β . A anemia apresentada pelo paciente e pelo pai não se explicaria apenas pela heterozigose desta condição. Neles, o fenótipo hematológico decorre da combinação dos alelos β -talassêmico e $\alpha\alpha^{\text{anti-3,7}}$.

1154 INVESTIGAÇÃO DE MUTAÇÃO DO GENE DA CALRETICULINA (CALR) EM PACIENTES COM NEOPLASIA MIELOPROLIFERATIVA (NMP) E SUAS CARACTERÍSTICAS

Laviola GM, Pereira DCS, Melo JS, Pereira VC, Nozawa L, Perazzo ADSB, Chauffaille MLLF

Grupo Fleury, Brasil

Introdução: NMPs compreendem um grupo de condições hematológicas diversas, que cursam com leucocitose elevada, policitemia, trombocitose e potencial de transformação em leucemia mieloide aguda. Com clínica variada, a precisão diagnóstica é complexa e requer investigação multifacetada. Nessa condição, a via do receptor de citocinas/JAK2 torna-se anormalmente ativa, favorecendo a proliferação de células hematológicas funcionais de uma ou mais linhagens. Sabe-se que os genes JAK2, MPL e CALR têm papel fundamental na produção das alterações que levam às NMPs. Desde a descrição da mutação do gene CALR em 2013, mais de 50 mutações foram identificadas, todas concentradas no exon 9. Os dois tipos mais frequentes, que representam 80% de todas as mutações, são deleção de 52pb (Tipo I) e inserção de 5 pb (Tipo II). As demais mutações (20%) são comumente classificadas como Tipo I-like e Tipo II-like, dependendo do grau de conservação da estrutura alfa-hélice da proteína traduzida a partir da forma selvagem do gene CALR. O tipo de mutação determina a manifestação clínica, assim como o prognóstico dos pacientes acometidos. Diante de tal cenário, é de extrema importância a correta identificação dos tipos de mutação envolvendo o gene CALR. Até onde é de nosso conhecimento, este é o primeiro trabalho do gênero realizado em pacientes brasileiros. **Objetivos:** Avaliar a prevalência das mutações do gene CALR em pacientes brasileiros com NMP. **Material e métodos:** Foi realizado levantamento das amostras testadas por análise molecular de Short Tandem Repeats (STR) para o gene CALR contidas no banco de dados do Grupo Fleury, no período de janeiro de 2017 a junho de 2019. **Resultados:** Foram analisadas 386 amostras de pacientes em investigação de NMP, das quais 74 apresentaram-se mutadas. Houve prevalência de deleção de pares de bases (65%) em relação à inserção (35%), sendo o sexo feminino o mais afetado de forma global (63%). Entre o grupo de pacientes com mutação do Tipo I, 83% apresentaram uma das formas clássicas (del 52). Entre os 17% restantes, encontraram-se 3 casos de del 33, 2 casos de del 9, 1 caso de del 19, 1 caso de del 37 e 1 caso de del 45, que foram classificados quanto à significância clínica em Tipo I-like, Tipo II-like ou de significado incerto. No grupo de mutação do Tipo II foram diagnosticadas apenas inserções de 5 pb. **Discussão:** Foi encontrada prevalência de 65% da mutação do Tipo I em relação à do Tipo II (35%). Em todas as amostras positivas para a mutação do gene CALR, não foram identificadas mutações para JAK2 e/ou MPL, em conformidade com a literatura. Entre as mutações raras, todas as deleções encontradas foram previamente descritas. O tipo I é associado a mielofibrose e trombocitose com risco de fibrose e o tipo II a trombocitemia essencial, com baixo risco de trombose e curso clínico indolente, no entanto o significado do Tipo I-like versus Tipo II-like é ainda motivo de debate. **Conclusão:** A correta identificação dos tipos de mutação do gene CALR é de suma importância, tendo em vista as diferentes manifestações clínicas. A metodologia de STR revelou-se bastante acurada para a análise de mutações do exon 9 no gene da calreticulina, uma vez que os dados obtidos se assemelham muito aos encontrados na literatura, mesmo em relação aqueles que fizeram uso de outras formas de análise.

1155 LEUCEMIA DE CÉLULAS PILOSAS NA FORMA VARIANTE: RELATO DE CASO

Santos MJES, Nogueira JF, Queiroz LA, Santiago KBS, Soares ICB, Barros TA

Grupo Fleury, Brasil

Introdução: A leucemia de células pilosas na sua forma variante (LCPv) é uma rara patologia linfoproliferativa de células B. Distingue-se da sua

forma clássica por critérios morfológicos, fenotípicos e moleculares, sendo de suma importância seu correto diagnóstico, uma vez que a forma variante é mais agressiva e não apresenta tão boa resposta aos análogos de purina. Quanto à avaliação do esfregaço de sangue periférico, quando observamos células com vilosidades citoplasmáticas, pensamos no diagnóstico diferencial entre LCP, linfoma da zona marginal esplênica ou outros linfomas da linhagem B, sendo necessários, portanto, exames complementares como imunofenotipagem leucocitária ou biópsia de linfonodos. **Objetivos:** Demonstrar a importância da análise microscópica minuciosa do esfregaço sanguíneo. Relatar um caso de LCPv diagnosticado a partir da presença de células com vilosidades citoplasmáticas visualizadas na hematoscopia. **Materiais e métodos:** A análise do hemograma completo foi feita pelo equipamento XN10, para determinação quantitativa dos índices hematimétricos, leucocitários e plaquetários, a confecção do esfregaço sanguíneo no equipamento SP10, para análise qualitativa, assim como confirmação quantitativa, através da leitura por microscopia digitalizada (CellaVision). A IFL foi realizada por citometria de fluxo, no aparelho Facscanto II e sua análise feita por médico hematologista através do Infinicity. **Relato de caso:** Paciente masculino, 82 anos, realizou hemograma completo, bioquímica básica e marcadores tumorais, em junho de 2019. A análise foi feita por equipamento automatizado, revelando várias alterações como, por exemplo, leucocitose com monocitose, anemia e trombocitopenia. Na análise da morfologia celular, o técnico citologista notou a presença de numerosos linfócitos de médio a grande porte, com relação nucleocitoplasmática intermediária, alguns com nucléolos evidentes e projeções citoplasmáticas, além de monocitopenia. Em julho de 2019, o paciente retorna, já encaminhado por médico hematologista, para realizar novo hemograma completo e imunofenotipagem leucocitária (IFL) de sangue periférico. O resultado do hemograma foi semelhante ao anterior e a IFL mostrou marcação: CD19, CD20, CD22, CD79b, CD103, CD11c de moderada intensidade, sem expressão dos antígenos CD25, CD200 e CD123, compondo o perfil que sugere LCPv. **Discussão:** Achados inesperados podem aparecer durante a realização de exames de rotina. No caso descrito, o que chamou a atenção foi a monocitose relativa e absoluta sugerida pela análise automatizada que, na verdade, tratava-se de linfocitose por linfócitos clonais aberrantes com vilosidades citoplasmáticas. Graças à análise minuciosa do técnico treinado, a liberação do laudo auxiliou o médico solicitante na correta conduta para investigação e diagnóstico dessa rara patologia linfoproliferativa. **Conclusão:** Este caso demonstra a importância da realização das análises citológicas em hematologia por profissionais bem treinados, atentos e capacitados a fornecer, através do hemograma, informações que possam direcionar e auxiliar a equipe médica. É inquestionável e imprescindível a utilização de processos automatizados no setor de hematologia, promovendo a otimização dos processos e diminuição de erros. Entretanto, isso não substitui a importância da educação continuada e do aperfeiçoamento dos profissionais envolvidos no processo, para que sejam capazes de interpretar de forma crítica as informações geradas pela automação.

1156 O PERFIL DE PACIENTES COM TROMBOCITOPENIA INDUZIDA POR HEPARINA EM UM SERVIÇO DE HEMATOLOGIA

Okazaki E, Rocha TRF, Rothschild C, Siqueira DB, Oliveira V, Rocha V, Villaça P

Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo

Objetivos: Relatar o manejo de trombocitopenia induzida por heparina (HIT) através da avaliação retrospectiva de uma série de casos no grupo de interconsultas de um serviço de hematologia geral de um hospital de atenção à saúde terciária, no período de 2016 a 2019. **Materiais e Métodos:** Dados de prontuário e revisão de literatura médica. **Critério de inclusão:** Idade superior a 18 anos, trombocitopenia, uso de heparina, escore de probabilidade pré-teste 4T igual ou superior a 4 (intermediária a alta), realização da pesquisa do anticorpo anti-heparina fator plaquetário 4(anti-PF4) por teste imunológico, e complementação com teste funcional para HIT quando o teste imunológico foi positivo. **Critério de exclusão:** Dados faltantes. Para o teste imunológico foi empregado o kit HemosIL HIT-Ab(PF4-H) Latex Immunoturbidimetric-Specific Test. O teste funcional foi realizado por agregação plaquetária por sistema óptico (Chrono-log mod 700) em plasma rico em plaquetas

(PRP) de doador de sangue com adição do plasma citratado do paciente e heparina nas concentrações finais de 0,1; 0,3; 0,5 e 100 UI/mL. **Resultados:** Dos 83 pacientes elegíveis, 2 pacientes não preenchiam o critério de escore 4T, e 12 pacientes foram excluídos por perda de dados relevantes. Foram incluídos 70 pacientes, com média de idade de 54,2 anos, mediana de 60 anos, variando de 19 a 91 anos. A proporção de homens e mulheres foi de 1,1:1. Quanto à clínica de origem, mais da metade dos pacientes referenciados eram da cardiologia (36/70), 10% (7/70) da clínica médica, 8,6% (6/70) de UTI clínicas, 7,1% (5/70) da neurologia clínica, 4,2% (3/70) da hematologia/transplante de medula óssea, 2,9% (2/70) da cirurgia geral, 2,9% (2/70) da nefrologia, 2,9% (2/70) cirurgia vascular e somente 1,4% (1/70) da ortopedia. Outras especialidades como reumatologia, ginecologia, neurocirurgia, gastroenterologia, imunologia e transplante renal acionaram a interconsulta em 1 caso, cada. As principais manifestações clínicas encontradas foram: infecção, insuficiência cardíaca descompensada, trombose venosa profunda, trombose arterial, insuficiência renal. Os anticoagulantes mais usados foram heparina não fracionada (70%) e enoxaparina (30%). Os principais motivos para uso do anticoagulante, foram: profilaxia de tromboembolismo venoso (46%), tratamento de tromboembolismos (23,2%), diálise (16%), cirurgia cardíaca (11,5%). Quanto ao diagnóstico de HIT, a probabilidade pré-teste foi alta em 12/65, e intermediária em 53/65. O teste imunológico foi positivo em 20 pacientes e negativo em 48/68. Dos 20 pacientes com o teste imunológico positivo, 13 confirmaram o diagnóstico de HIT, enquanto 7 pacientes puderam manter o uso da heparina. **Discussão:** A HIT, apesar de rara e talvez subdiagnosticada, é uma das complicações decorrentes de uso de medicamentos mais relevantes na prática clínica. A suspensão da heparina deve ser realizada o mais rápido possível, bem como sua substituição por outro anticoagulante, que no Brasil poucas são as alternativas. **Conclusão:** Uma abordagem sistematizada, com uso do escore 4T associado a teste imunológico por imunoturbidimetria e complementado por teste funcional por agregometria pode ser útil e rápido na tomada de decisões.

1157 O TEMPO DE CONGELAMENTO INTERFERE NA DOSAGEM DE PROTEÍNA S LIVRE?

Paschoalin PN, Cervo SVB, Garcia AA

Fundação Faculdade de Medicina de São José do Rio Preto (FUNFARME), São José do Rio Preto, SP, Brasil

Objetivo: Este estudo foi desenhado para realizar a dosagem de proteína S após diferentes tempos de armazenamento do plasma à -20 °C, visando avaliar se as condições estabelecidas em nosso laboratório eram adequadas. **Materiais e métodos:** Foram coletadas amostras de sangue de 20 doadores voluntários, no Hemocentro de São José do Rio Preto, que seguiam os critérios da portaria nº158 do Ministério da Saúde, excluindo os que estavam em uso de terapia hormonal (estrógeno ou progesterona) para qualquer finalidade ou tinham cessado o hormônio há menos de 3 meses. O plasma pobre em plaquetas de cada doador foi avaliado em diferentes tempos de armazenagem (T0: até 4 horas da coleta à temperatura de 15 a 22°C; T1: 48 horas a -20°C; T2: 7 dias a -20°C; T3: 14 dias a -20°C). **Resultados:** Os resultados da dosagem da Proteína S apresentaram os seguintes valores da média (desvio-padrão) para T0, T1, T2 e T3 foram, respectivamente: 101% (23,4), 101% (24,1), 104,7% (27,2) e 106,1% (28,2). As medianas (mínimo-máximo) dos tempos T0, T1, T2 e T3 foram respectivamente: 89% (64-144), 92% (59-144), 97% (62-156, 99% (63-174). Na comparação de T0 com cada um dos tempos não houve diferença estatística significativa (T0 e T1: p = 0,99; T0 e T2: p = 0,07; T0 e T3: p = 0,06, teste de Wilcoxon). **Discussão:** A proteína S é uma proteína plasmática, dependente da vitamina K, com função anticoagulante, por atuar como cofator da proteína C ativada, na inativação dos fatores V e VIII. A deficiência hereditária ou adquirida de proteína S está associada a risco aumentado de tromboembolismo venoso. Por ser uma proteína lábil, pode sofrer rápida degradação, dependente de tempo de processamento e temperatura de armazenagem da amostra. Em nosso laboratório, as amostras são congeladas a -20 °C por até 14 dias, pois esperamos o acúmulo de amostras para execução do teste. Os resultados do estudo mostraram que não houve diferença estatisticamente significativa entre os tempos de armazenagem. **Conclusão:** Concluímos que as amostras poderão, em nosso laboratório, ser estocadas nas condições estudadas por até 14 dias, sem impacto no resultado da dosagem de Proteína S, o que diminui os riscos de erro diagnóstico em nossa prática clínica.

1158 PERFIL HEMATOLÓGICO E BIOQUÍMICO DE IDOSAS DO ESTADO DE SERGIPE

Santos JTCD, Leite NRO, Santos TCA, Lobão EVF, Aragão-Santos JC, Vasconcelos ABS, Silva NL, Silva DN, Grigoletto MES, Schimieguel DM
Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão, SE, Brasil

Objetivos: Segundo a Organização Mundial da Saúde, idoso é definido como pessoa com mais de 60 anos de idade. No Brasil, observa-se um aumento crescente que vem acompanhando a tendência mundial denominada envelhecimento populacional. Em 1950, a população mundial era composta de 204 milhões de idosos e estima-se que atinja quase 25 bilhões de idosos em 2025. Dados do Ministério da Saúde (2018) apontam que 39,5% dos idosos possuem alguma doença crônica, e quase 30% possuem duas ou mais. Além disso, a senescência reflete a respostas reduzidas às variações de estresse, como diminuição do potencial hematológico e alterações dos perfis bioquímicos. Dessa forma, o objetivo do presente trabalho foi avaliar os parâmetros bioquímicos e hematológicos de um grupo de idosas e correlacionar com fatores antropométricos e de hábitos de vida. **Materiais e métodos:** Este trabalho foi realizado entre os meses de maio e junho de 2019 com um grupo de idosas sedentárias participantes do Projeto “Mais Viver” da Universidade Federal de Sergipe. Respeitando-se os aspectos éticos e legais, foram coletados 10 mL de sangue periférico para realização do hemograma e das análises bioquímicas. As variáveis deste estudo foram: concentração de hemoglobina, leucócitos totais, plaquetas, glicose, colesterol total, colesterol HDL e LDL e triglicérides. Foram também mensurados peso, estatura e calculado o índice de massa corporal (IMC) classificado em abaixo do peso, peso normal, sobrepeso e obesidade graus 1, 2 e 3 segundo a Organização Mundial da Saúde. **Resultados:** Foram avaliadas 90 idosas com idade entre 60 e 75 anos. A análise antropométrica demonstrou que o IMC médio das pacientes foi de 28,84 kg/m². Entre elas, 33,3% sobrepeso, 28,9% obesidade classe I, 8,9% obesidade classe II e 2,2% obesidade classe III. O colesterol total apresentou média de 204 mg/dL (± 41). Triglicérides 147 mg/dL (± 77), e a glicemia 110 mg/dL (± 39). Entre os achados hematológicos relevantes, 25% das pacientes apresentaram leucopenia, uma paciente apresentou hemoglobina de 7,1 g/dL e uma paciente apresentou a contagem de plaquetas de 850.000/mm³. **Discussão:** O surgimento de algumas doenças como hipertensão, diabetes e osteoporose pode estar relacionado não apenas ao processo de envelhecimento, assim como ao estilo de vida. Neste estudo, foi constatado que a maioria das idosas apresentou sobrepeso e obesidade, requerendo atenção especial, pois os riscos de comorbidades aumentam à medida que os valores de IMC ultrapassam a normalidade. Mais de sessenta por cento das idosas apresentaram dislipidemias e quase a metade delas eram diabéticas ou pré-diabéticas. Quanto ao perfil hematológico, apesar de a celularidade da medula óssea diminuir significativamente próximo aos 65 anos, as idosas nesse estudo não apresentaram grandes variações, apenas alguns casos de discreta leucopenia. A idosa que apresentou anemia acentuada foi orientada a procurar a avaliação de um especialista, para complementação do diagnóstico e tratamento. A outra idosa com trombocitose foi avaliada, e constatou-se que a paciente é acompanhada pelo serviço de hematologia do Hospital de Urgência de Sergipe. **Conclusão:** A partir deste estudo, pôde-se perceber que houve alterações nos parâmetros antropométricos com prevalência de 33,3% de sobrepeso e aumento de níveis plasmáticos de lipídeos, sendo estes fatores de risco modificáveis, e dessa forma passíveis de alterações por meio de políticas públicas de saúde.

1159 PERFORMANCE OF IMPROVED RT-QPCR ASSAYS TO ACCURATELY MONITOR P190BCR-ABL1 LEVELS IN PATIENTS WITH PH-POSITIVE LEUKEMIA

Torres DC, Marques FK, Machado CPFN, Marinho FLO
Instituto Hermes Pardini, São Paulo, SP, Brazil

Introduction: Monitoring of BCR-ABL1 fusion transcripts is decisive for clinical assessment of chronic myeloid leukemia (CML) patients treated with tyrosine kinase inhibitors (TKIs). Up to 95% of CML patients have the p210 BCR-ABL1 transcripts (e13a2, e14a2), while the majority of Ph+ acute lymphoblastic leukemia cases and few CML cases (1-2%) are associated with p190 transcript (e1a2). The detection of e1a2 in CML is associated with inferior outcome to TKI therapy and rapid disease

progression. **Objective:** Our goal was to evaluate the performance of Asuragen's QuantideX qPCR BCR-ABL minor Kit (Asu-mbcr), which identifies the e1a2 fusion, in comparison with its previous clinically validated BCR/ABL1 Quant Test Kit (Asu-2bcr), which targets both p210 and p190. **Methods:** RNA samples from 44 clinical specimens were assessed in parallel with Asu-2bcr and Asu-mbcr. RT-qPCR was run in single on an ABI 7500 Fast instrument, following manufacturer's protocol. Results are shown as Log reduction (LR) = $-\log^{10}(\text{copies}^{e1a2}/\text{copies}^{ABL1})$. Statistical analyses were performed with GraphPad Prism 7. **Results:** LR differences between kits were 0.22 (LR^{1.0}), 0.15 (LR^{2.0}), 0.38 (LR^{3.0}), and 0.38 (LR^{4.0}). There is a tendency towards higher differences at LR > 3.0. Asu-mbcr analytical specificity was supported by negative amplification of p210 samples (n = 7) and positive amplification of p190 (n = 19). Pearson R correlation coefficient of LR values between methods was ≥ 0.99 . Asu-2bcr detected 2 samples expressing b2a2/e1a2 at high levels (75 and 146% BCR-ABL1/ABL1 copies), while Asu-mbcr quantitation was really low (0.015 and 0.023%, respectively). p190 primer binding sites exist within p210 transcripts. When RNA specimens express very high levels of p210, a much larger fragment corresponding to e1a2 may amplify, though very inefficiently. Thus, one should be careful when the fold difference between p210 and p190 is high (> 2,000X), which might indicate a false positive for p190. In addition, the results suggest a higher analytical sensitivity of the Asu-mbcr test (LOD of Asu-mbcr is 0.0022%, while Asu-2bcr is 0.0032%). Indeed, 95% (18/19) of positive samples in both methods had slight lower LR values when tested with Asu-mbcr. **Conclusions:** These findings suggest that Asu-mbcr is indeed a more robust and sensitive method than Asu-2bcr for p190 quantitation, though it is still important to measure p210 separately in addition to p190 due to false positive detection in the latter.

1160 PERSPECTIVAS PARA IMPLEMENTAÇÃO DE FERRAMENTAS DE GESTÃO DA MELHORIA DA QUALIDADE DE VIDA NO TRABALHO EM UM LABORATÓRIO DE HEMATOLOGIA DE UMA UNIVERSIDADE PÚBLICA

Leal RS^a, Couto RD^a, Neto JPM^b, Silva EM^a, Leal VRS^a, Brito JT^a

^a Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, BA, Brasil

^b Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus, AM, Brasil

Introdução: O Laboratório de Hematologia da Faculdade de Farmácia (LHFF) da Universidade Federal da Bahia (UFBA) caracteriza-se no Sistema de Saúde Pública como um Laboratório de referência para assistência especializada na área de Hematologia Laboratorial, bem como de ensino e pesquisa. O LHFF atendeu, durante o ano de 2018, 38.400 pacientes, média de 160 pacientes/dia, 9.600 exames/mês e 115.200 exames/ano. Apesar da elevada produção de serviços laboratoriais nessa Unidade de referência, pôde ser atestada a deficiência da descrição dos procedimentos de funcionamento do Laboratório e de suporte exigidos pela Resolução da Diretoria Colegiada número 302/2005 (RDC 302/2005), que definem a estrutura básica de um Sistema de Gestão da Qualidade (SGQ). **Objetivo:** Implementar ferramentas que visem o desenvolvimento de um SGQ no LHFF da UFBA, considerando a RDC 302/2005. **Material e métodos:** A metodologia tem como base a Aprendizagem Cooperativa para realização de atividade de sensibilização/capacitação mensais com as equipes de trabalho, visando despertar a importância do SGQ para o Laboratório, implantar as ferramentas (5S e A3) do SGQ e definir/construir o Comitê de Qualidade, as Instruções de Trabalho, os Procedimentos Operacionais Padrão e o Manual da Qualidade Laboratorial. **Discussão:** O SGQ tem como objetivo a confiabilidade, contenção de risco, acreditação e certificação de produtos e serviços. O SGQ tem provocado uma demanda de busca da qualidade que hoje não pode se restringir unicamente ao setor privado. Implantação, desenvolvimento e manutenção do SGQ em instituições públicas de saúde são vistos como um instrumento eficaz no combate a problemas inerentes ao setor: deficiência nos procedimentos de funcionamento, suporte, baixa qualidade na prestação dos serviços e inabilidade na utilização dos recursos disponíveis. A sensibilização da equipe de trabalho, frente à importância para a implementação de ferramentas do SGQ no processo produtivo, enfatizando que com o SGQ o profissional passará a ter: maior produtividade e satisfação com resultados alcançados, reforço nos padrões de qualidade pessoal e na confiança dos clientes internos/externos, gozar de boa reputação e criar uma visão clara da organização, são elementos que irão contribuir efi-

cazmente para a melhoria da qualidade de vida no trabalho (QVT) no LHFF. Sendo assim, tornam-se necessários estudos que visem atender ao rigor da legislação atual, à RDC 302/2005 e às exigências das grandes mudanças nos mercados na área da saúde, acompanhar o progresso das estratégias administrativas de produção e, por fim, a melhoria contínua da relação com seus clientes externos/interiores; com esses últimos, melhorar a QTV. **Conclusão:** Este projeto desenha uma proposta que torne factual a implementação do SQG, associada à melhoria da QVT no LHFF da UFBA, produzindo, assim, uma atenção qualificada de destaque frente à demanda da população usuária dos serviços laboratoriais, através de melhorias atribuídas à prática em verificar as expectativas e necessidades dos clientes para a obtenção de um aumento da satisfação destes, melhora na produtividade, credibilidade e reputação dos exames laboratoriais, planejamento e execução das atividades laborais de forma mais precisa, através de documentação clara e detalhada, no aprendizado organizacional através de ações corretivas/preventivas e na motivação/integração de todos os colaboradores no desempenho de suas funções.

1161 PESQUISA DE INIBIDOR CONTRA FATOR VIII PELO MÉTODO BETHESDA MODIFICADO POR NIJMEGEN

Neto GCG^{a,b,c,d}, Silva MAM^a, Albuquerque RR^{a,b,c}, Santos Sp^{a,c}, Oliveira FA^{a,c}, Carvalho LEM^a

^a Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (Hemoce), Fortaleza, CE, Brasil

^b Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, CE, Brasil

^c Secretaria de Saúde do Estado do Ceará (SESA), Fortaleza, CE, Brasil

^d Universidade de Fortaleza (UNIFOR), Fortaleza, CE, Brasil

Introdução: A hemofilia A é uma doença hemorrágica hereditária causada por uma deficiência do fator VIII, que resulta de uma mutação genética localizada no cromossomo X. Durante o tratamento desses pacientes podem surgir anticorpos inibidores contra o fator VIII deficiente; esses anticorpos são imunoglobulinas, principalmente, da classe IgG, subclasses IgG4 e IgG1, que inativam ou aumentam o clearance de eliminação do fator VIII. **Objetivos:** O presente estudo teve como objetivo quantificar a presença de anticorpos contra o fator VIII:C em pacientes com hemofilia A, tratados no Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE). **Material e métodos:** O rastreamento do inibidor contra o fator VIII foi realizado de acordo com o método Bethesda modificado por Nijmegen, no laboratório de hemostasia, utilizando reagentes, insumos e equipamentos da Siemens. **Resultados:** Duzentos e dez pacientes com hemofilia A (leve, moderada e grave) foram avaliados, no período de janeiro de 2018 a julho de 2019. Dos pacientes avaliados, 184 (87,6%), apresentaram inibidor negativo contra FVIII:C, enquanto em 26 pacientes (12,4%) a presença do inibidor foi positiva. Entre os pacientes com inibidores positivo, a maioria dos pacientes eram Hemofílicos grave e apresentaram inibidor de alto título (> 5,0U B/mL). **Conclusão:** A realização da pesquisa do inibidor contra FVIII:C na rotina do atendimento clínico dos pacientes hemofílicos tem possibilitado a detecção precoce, possibilitando estratificar esses pacientes com maior risco de eventos hemorrágicos graves, os quais são mais duradouro e difícil tratamento, requerendo uso de maior volume de reposição de fator e/ou uso de agentes de "bypassing", que são mais onerosos.

1162 PREVALÊNCIA DA MUTAÇÃO DO FATOR V DE LEIDEN NA POPULAÇÃO ATENDIDA EM UM LABORATÓRIO DE ANÁLISES CLÍNICAS DA GRANDE FLORIANÓPOLIS

Castanhel APS^a, Koga AH^b, Franzone CMR^a, Faria DK^a

^a Laboratório Médico Santa Luzia/DASA, Florianópolis, SC, Brasil

^b Universidade do Sul de Santa Catarina (UNISUL), Florianópolis, SC, Brasil

Objetivos: Trombofilias são condições hereditárias ou adquiridas que podem aumentar o risco de trombose. O Fator V de Leiden (FVL) é produto de uma mutação no gene que codifica o fator V e que diminui a inativação do fator V ativado (FVa) pela Proteína C ativada (PCa). Isso resulta em um fator de risco genético, que, somado a fatores de risco ambientais, aumenta o risco trombótico. A prevalência da mutação do FVL na população geral é de 4 a 7% em caucasianos e 0 a 1% em não caucasianos. O estudo teve como objetivo avaliar a prevalência da mutação do FVL em população atendida num período de 5 anos (2012 a

2016) em um Laboratório de Análises Clínicas da Grande Florianópolis, e verificar se a presença da mutação causou alteração no resultado dos exames Atividade da Proteína C (PC) e da Proteína S (PS). **Material e métodos:** Foram analisados dados de pacientes de um laboratório de Análises Clínicas da Grande Florianópolis em um período de 5 anos (2012 a 2016). Estes dados foram resultados dos exames Pesquisa da Mutação do FVL, Resistência a Proteína C ativada (RPCa), Atividade da Proteína C, Atividade da Proteína S. Os dados foram tabulados e analisados utilizando o programa Microsoft Excel[®]. **Resultados:** No período de 2012 a 2016, foram realizadas 2.940 pesquisas da mutação do FVL no referido laboratório. Destes, 2.696 pacientes não apresentaram a mutação, ou seja, 91,7%. Já os pacientes que apresentaram a mutação foram 244 (8,3%). Dos pacientes portadores da mutação, 234 eram heterozigotos (8,0%) e 10 eram homozigotos (0,3%). Dos 125 pacientes portadores da mutação e com exames de Atividade da PC e/ou S, 70 apresentaram resultados alterados. Apenas 8 pacientes realizaram o exame para RPCa. Do total, 3 eram portadores da mutação e apresentaram RPCa. **Discussão:** A mutação do FVL é a trombofilia hereditária mais frequente e está presente em 4% a 7% da população caucasiana. Pode ser detectada por ensaios baseados em TTPA que detectem RPCa ou por análise molecular, com pesquisa direta da mutação. A prevalência do Fator V de Leiden encontrada no estudo, de 8,3%, foi maior que a encontrada em outros estudos. Entretanto, devemos considerar que os dados partiram de solicitações médicas em laboratório clínico, fazendo com que a probabilidade pré-teste seja superior à da população em geral não selecionada. O ensaio de RPCa foi pouco solicitado, mesmo sendo recomendada sua realização, já que RPCa é um fator de risco independente para trombose venosa, e nem toda causa de RPCa é o FVL. A mutação do FVL pode ter sido a causa da alteração nos exames de Proteína C e/ou S em 86% dos pacientes que apresentaram alterações nesses exames. **Conclusão:** O presente estudo demonstrou uma prevalência de 8,3% do FVL, e que a presença do FVL pode alterar os exames de PC e PS, sendo imprescindível a correlação dos exames laboratoriais para uma correta interpretação. Como essa análise ocorreu em amostras com suspeita clínica, podendo superestimar o achado, sugere-se a realização desse mesmo estudo em amostras na população em geral.

1163 PRIMEIRO RELATO DA HEMOGLOBINA VARIANTE HB J-CORDOBA EM UMA FAMÍLIA DO BRASIL

Ramos VS^a, Oliveira MD^a, Bernardes LG^a, Souza RF^a, Araujo TPT^b, Belini-Júnior E^a

^a Laboratório de Genética e Biologia Molecular, Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campus de Três Lagoas (UFMS/CPTL), Três Lagoas, MS, Brasil

^b Laboratório do Serviço de Referência em Triagem Neonatal da APAE de Anápolis, Anápolis, GO, Brasil

Objetivo: Apresentar o primeiro caso descrito de hemoglobina (Hb) variante Hb J-Cordoba em uma família do Brasil. **Material e métodos:** Amostras de sangue total, procedente da APAE – Anápolis/GO, do probando (6 meses), pai (25 anos) e mãe (38 anos) foram submetidas a análises laboratoriais no Laboratório de Genética da UFMS/CPTL para a identificação da Hb variante inconclusiva proveniente do serviço de Triagem Neonatal (TN). Os testes consistiram em teste de fragilidade osmótica, análise de morfologia eritrocitária e eletroforese em pH alcalino e pH ácido. A quantificação das Hb e obtenção do perfil cromatográfico dos indivíduos foram realizadas por HPLC (Ultra2, Trinity Biotech, Kit Resolution). Os estudos moleculares foram realizados após a extração do DNA genômico, seguido de amplificação por PCR-Touchdown e sequenciamento do gene HBB (beta globina) (sequenciador 3730xl DNA analyser). **Resultados:** Perfil eletroforético do pai em pH alcalino foi Hb A + fração acima A e em pH ácido o perfil AA. Análise por HPLC foi evidenciando presença de Hb variante de cadeia beta em heterozigose com a Hb A₂ = 2,1%; Hb F = 3,9%; Hb A₀ = 38,6% e Hb variante = 40,7% com Tempo de Retenção Relativo a Hb F (RRTF) de 1,59. As análises eletroforéticas em pH alcalino e ácido e o perfil cromatográfico da mãe foram Hb AA com as concentrações Hb A₂ = 2,1%; Hb F = 0% e Hb A₀ = 81,3%. Quanto ao perfil eletroforético e cromatográfico do probando obtivemos resultados similares ao do pai, a eletroforese em pH alcalino apresentou uma fração A + fração acima A e em pH ácido a fração AA e a cromatografia indica a presença de Hb variante de cadeia beta em heterozigose com as seguintes concentrações: Hb A₂ = 2,8%; Hb F = 3,9%; Hb A₀ = 38,6% e Hb variante = 40,7% com RRTF de 1,64. No estudo mo-

lecular do gene *HBB*, identificamos a presença de uma mutação no éxon 2, posição 287 A>T correspondente a Hb J-Cordoba em heterozigose no pai e no probando. **Discussão:** De acordo com os resultados apresentados nas análises eletroforéticas e cromatográficas do probando e do pai, verificamos a presença da Hb variante de cadeia beta em heterozigose, representando concentração de 40,7%. Ainda no perfil cromatográfico observamos o RRTF da Hb variante de 1,64 para o probando e RRTF de 1,59 para o pai, sugerindo possíveis Hb variantes conforme constam no manual do fabricante, tais como: Hb N-Baltimore, Hb I-High Wycombe ou Hb Rambam. Em vista disso, realizamos a amplificação do gene *HBB* e o sequenciamento dos produtos de PCR e constatamos a presença da Hb J-Cordoba, o primeiro caso relatado no Brasil. Outro e único relato na literatura sobre a Hb J-Cordoba demonstra portador assintomático e ausência de alterações hematológicas, sendo o mesmo achado para este caso relatado. **Conclusão:** Diante do exposto, destaca-se a importância das análises de DNA na confirmação de diagnóstico de hemoglobinopatias inconclusivas detectadas por outros métodos laboratoriais. A identificação da Hb J-Cordoba pôde trazer informações importantes sobre a genética e precisão do perfil de hemoglobinas do probando e da família, trazendo conforto e orientação aos familiares. Técnicas de biologia molecular têm papel fundamental no diagnóstico pré-natal e triagem neonatal para detectar precocemente Hb anormais direcionando, quando necessário, tratamento adequado aos recém-nascidos e orientação genético-educacional aos familiares.

1164 PÚRPURA TROMBOCITOPÊNICA IDIOPÁTICA CRÔNICA EM UMA CRIANÇA. RELATO DE CASO

Caloi EA, Chaves MAF, Barros MF, Plewka J

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Cascavel, PR, Brasil

Objetivo: Relatar o caso de paciente pediátrico com quadro de Púrpura Trombocitopênica Crônica. **Materiais e métodos:** Paciente do sexo masculino com 9 anos de idade, residente do interior do Paraná. Na primeira admissão a mãe relata que o paciente começou a apresentar pápulas eritematosas e linfonodomegalia, em que foi feito um aspirado de medula óssea. Após aproximadamente um ano iniciaram equimoses em membros inferiores, superiores e sangramento gengival e nasal, levando o paciente a um novo internamento. Foram realizados exames bioquímicos, hemogramas e aspirado de medula óssea. **Resultado:** O hemograma da primeira admissão apresentou neutropenia (4 segmentados e 4 bastonetes) e plaquetopenia ($2.400/\text{mm}^3$; na Contagem de Plaquetas em Plasma Citratado obteve-se $1.950/\text{mm}^3$). No aspirado de medula óssea, foi relatado MO normocelular com presença de células macrofágicas com sinais de hematofagocitose e poucos megacariócitos. O paciente foi tratado com Síndrome Hematofágica. No internamento posterior, foram solicitadas sorologias, que resultaram em negativas para Epstein-Barr IgM, Citomegalovírus IgM e Toxoplasmose IgM, e IgG positivas em todas estas. Resultado “positivo” para Coombs Direito e Pesquisa de Anticorpos Irregulares. Em um segundo aspirado de medula óssea, o Mielograma apresentou celularidade discretamente diminuída, ausência de células e hiperplasia de Megacariócitos (mais de 6 por campo). As Contagens de Plaquetas seguintes, em Plasma Citratado, mantiveram o quadro de plaquetopenia, com as seguintes contagens: $5.600/\text{mm}^3$; $10.200/\text{mm}^3$; $23.400/\text{mm}^3$ (este após transfusão de concentrado de plaquetas). O aspirado de medula óssea resultou em hiperplasia de Megacariócitos (6 por campo). O paciente foi, então, diagnosticado com PTI Crônica e segue em acompanhamento ambulatorial. **Discussão:** A Púrpura Trombocitopênica Idiopática é a principal causa de trombocitopenia na infância, com pico entre 2 e 5 anos de idade e um leve predomínio no sexo masculino. De acordo com o International Working Group (IWG), consenso de Vicenza, e o American Society of Hematology (ASH), a PTI é dividida em PTI aguda (plaquetopenia por até 3 meses), PTI persistente (por 3 a 12 meses) e PTI crônica (plaquetopenia por mais de 12 meses). O diagnóstico é de exclusão e eminentemente clínico, levando em consideração a história clínica, o exame físico e o hemograma completo. O exame físico mostra uma criança sem sinais de outras condições, com bom estado geral, sem febre, sem dor, sem perda de peso ou hipoatividade. Muitas vezes a única manifestação clínica na criança é a presença de petéquias e equimoses. Deve-se afastar infecções virais, principalmente pelo HIV, CMV e Epstein Barr. No hemograma, deve haver presença de trombocitopenia isolada, sem alterações nas outras séries do hemograma.

1165 RACIONAL DO NÚMERO DE COLETAS DE MEDULA ÓSSEA PARA DETECÇÃO DA T(15;17) POR QPCR NO SEGUIMENTO DE PACIENTES COM LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA E USO DE ÁCIDO ALL-TRANS RETINOICO

Gomes RG^a, Silva MS^a, Fonseca TC^a, Rocha C^a, Lins MM^a, Lucena-Silva N^{a,b}

^a Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP), Recife, PE, Brasil

^b Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Recife, PE, Brasil

Objetivos: A leucemia promielocítica aguda (LPA) corresponde a 20-25% das leucemias mieloides nos países latino-americanos, e é caracterizada pelo acúmulo de promielócitos na medula óssea. A t(15;17), detectada em 95% das LPA, é o resultado da quebra e fusão dos genes *PML* e *RARA*, nos cromossomos 15 e 17, respectivamente. Os receptores de membranas híbridos *PML-RARA* e *RARA-PML* apresentam baixa sensibilidade à ação dos retinoides. Entretanto, o uso da associação de quimioterápicos com o ATRA (ácido all-trans Retinóico) permite a diferenciação celular, e remissão completa em 90% dos casos, após a segunda consolidação nos pacientes de baixo-risco (< 10.000 leucócitos em sangue periférico ao diagnóstico), ou até a terceira consolidação nos pacientes de alto-risco (> 10.000 leucócitos). A detecção da t(15;17) por qPCR durante o tratamento é critério de troca no esquema terapêutico. Desta forma, o objetivo desse estudo foi avaliar a resposta ao ATRA, a fase do tratamento em que o transcrito não é mais detectado, e o racional dos tempos de coleta para avaliação da resposta terapêutica no âmbito do protocolo utilizado no tratamento das crianças com LPA no hospital IMIP (Recife). **Métodos:** Foram analisados registros da solicitação e resultados de qPCR de 43 pacientes com LPA positivos para t(15;17) que tinham pelo menos 1 avaliação de doença residual, e os cromatogramas do sequenciamento desses transcritos. **Resultados e discussão:** Na qPCR, a mediana do CT ao diagnóstico foi de 26 e na primeira avaliação da residual foi de 35 (redução de $2E10$) ou negativa. Dos 9 pacientes de alto-risco ao diagnóstico que realizaram a fase de consolidação-3, 2 continuaram positivos para o transcrito quimérico, sendo 1 encaminhado para transplante e outro para tratamento com ATO (tríóxido de arsênio); enquanto dos 7 negativos, apenas 1 recaiu na fase de manutenção e foi tratado com ATO. Dos 34 pacientes de baixo-risco ao diagnóstico, 2 tiveram óbito precoce na indução, 2 recaíram após a consolidação-2, 1 durante a manutenção, e 2 nos primeiros 6 meses pós-tratamento, dos quais 4 iniciaram ATO e apenas 1 positivo na manutenção-2 mantém-se com o esquema terapêutico inicial. Apenas 1 dos pacientes de baixo-risco que recaiu foi a óbito. O sequenciamento dos transcritos quiméricos de 28 dos 43 pacientes identificou 5 diferentes pontos de quebra no gene *RARA*. E de 7 pacientes foi identificado transcritos com diferentes pontos de quebra, sugerindo a presença de múltiplos clones leucêmicos no mesmo paciente. Em relação à solicitação dos exames de qPCR, foi observado um adicional de 12 exames antes da consolidação-3 para os 9 pacientes de alto-risco e um adicional de 11 exames antes da consolidação-2 para pacientes de baixo-risco. Na manutenção, a solicitação de exames variou de 0 a 10 por paciente (mediana de 5,5), com múltiplos exames solicitados no mesmo intervalo de 20 semanas. **Conclusão:** Em resumo, a utilização da qPCR para detecção de transcrito quimérico na LPA após o último ciclo de consolidação e de manutenção permitiu a mudança de protocolo de tratamento com ATRA por ATO em 19% dos pacientes estudados com boa resposta ao tratamento, e é possível racionalizar a solicitação de qPCR para fins de mudança de esquema terapêutico sem prejuízo ao tratamento dos pacientes.

1166 RELAÇÃO NEUTRÓFILOS/LINFÓCITOS COMO MARCADOR PRECOCE DE TOXICIDADE NO TRATAMENTO DE DOENÇAS ONCO-HEMATOLÓGICAS

Dexheimer GM, Dors AC, Reckzigel L, Biolchi V, Abujamra AL

Universidade do Vale do Taquari (UNIVATES), Lajeado, RS, Brasil

Introdução: As doenças onco-hematológicas constituem um grupo heterogêneo de neoplasias clonais originadas a partir de uma célula precursora hematopoietica de linhagem linfóide ou mielóide. Os regimes terapêuticos utilizados para o tratamento de doenças onco-he-

matológicas apresentam um impacto na qualidade de vida dos pacientes como consequência do desenvolvimento de efeitos adversos. Quando ocorrem durante o tratamento, são caracterizados como toxicidade aguda e incluem eventos leves, como náusea, vômito e mal-estar, e eventos graves, sendo possivelmente fatais, como a mielossupressão e neutropenia febril. O evento tóxico grave pode exigir a diminuição de dose ou interrupção do tratamento. As relações entre os componentes hematológicos periféricos vêm se mostrando relacionados aos eventos cancerígenos e desfecho clínico. Diante do exposto, torna-se importante a investigação de marcadores que possam indicar o desenvolvimento de toxicidades, auxiliando assim no controle e manejo durante o processo terapêutico. **Objetivo:** Avaliar a relação entre neutrófilos e linfócitos do leucograma ao diagnóstico com eventos adversos agudos ao tratamento quimioterápico em pacientes diagnosticados com doenças onco-hematológicas. **Metodologia:** O presente estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa sob parecer número 1.619.803. O estudo foi de caráter retrospectivo, analisando-se evoluções médicas e exames laboratoriais de pacientes onco-hematológicos submetidos à tratamento quimioterápico no período de junho de 2016 a novembro de 2018. O valor da relação entre neutrófilos e linfócitos (RNL) antes do tratamento e toxicidades agudas após o início do tratamento foram analisados estatisticamente através do software *Statistical Package for the Social Sciences*, avaliados pela curva *Receiver Operating Characteristic* e teste qui-quadrado. **Resultados:** Foram avaliados 97 pacientes portadores de doenças onco-hematológicas, como Linfoma de Hodgkin (9) e Linfoma não Hodgkin (33), Leucemia Linfóide Crônica (11), Leucemia Linfóide Aguda (5), Leucemia Mieloide Aguda (4) Síndrome Mielodisplásica (5), Síndrome Mieloproliferativa (19) e Mieloma Múltiplo (11). Encontrou-se resultado significativo ($p = 0,048$) para a RNL de pacientes sem efeitos tóxicos em relação àqueles que apresentaram grau 4 de toxicidade. Estabeleceu-se um ponto de corte de 1,68 para a RNL, sendo que valores menores demonstraram risco de 9,7 vezes (2,3-41,7) de desenvolvimento de toxicidade grau 4 ($p = 0,001$). **Discussão:** A RNL já foi descrita como um marcador de prognóstico, sobrevida e resposta ao tratamento em diferentes estudos com tumores sólidos. Por se tratar de indicadores disponibilizados no hemograma, a análise da RNL apresenta-se como um teste barato, simples e seguro, além de apresentar significativo custo-benefício, permitindo prever pacientes com maior potencial de desenvolvimento de eventos tóxicos graves. **Conclusão:** Um marcador de predisposição a eventos tóxicos graves pode permitir melhor avaliação de dose do quimioterápico administrado e acompanhamento do paciente, evitando assim, a interrupção do tratamento, hospitalizações e intervenções médicas em função do evento adverso. Consequentemente, isto pode refletir em menores custos médicos, maior controle da doença e melhor qualidade de vida para o paciente durante o tratamento.

1167 SÍNDROMES MIELODISPLÁSICAS: ESCORE MORFOLÓGICO DE DISPLASIA E ALTERAÇÕES CARIOTÍPICAS

Penteado RMC, Barroso RS, Junior ES, Guerra JCC, Shinohara W, Kishimoto RK, Manguera CLP, Suganuma LM, Velloso ED

Sociedade Beneficente Israelita Brasileira Hospital Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

Objetivo: As síndromes mielodisplásicas (SMD) são doenças heterogêneas clonais da medula óssea cujo difícil diagnóstico se baseia em dados clínicos, morfológicos e citogenéticos. A caracterização morfológica das displasias medulares exige treinamento e pode ter baixa reprodutibilidade interobservador. As alterações citogenéticas observadas em aproximadamente 50% dos casos das SMD são mais reprodutíveis, sendo mais observadas em subtipos mais avançados da doença (com maior percentual de blastos e maior número de displasia). O objetivo deste trabalho foi avaliar a associação entre um escore morfológico e presença de anormalidades citogenéticas e subgrupos de anormalidades citogenéticas definidos pelo IPSS-R. **Material e métodos:** Foram avaliados retrospectivamente relatórios de mielograma e cariótipo de medula óssea, realizados em amostras que deram entrada no Laboratório Clínico do HIAE no período de 01/2015 a 06/2019, com diagnóstico confirmado de SMD (recém-diagnosticada ou em acompanhamento). O aspirado medular (Leishman e Coloração de azul da Prússia) foi avaliado na rotina por dois hematopatologistas

experientes, com contagem de 250-500 células nucleadas e percentual de sideroblastos em anel em 100 eritroblastos e dismegacariopose. O cariótipo foi realizado de acordo com técnica padrão em culturas não estimuladas, bandamento GTW, e reportado segundo normas do ISCN. O sistema de escore morfológico para SMD (variando de 0-6 pontos) foi desenvolvido para este trabalho, com pontuação 1 para cada uma das variáveis descritas no exame: mieloblastos > 5%, displasia granulocítica, alteração monócitos (> 5% ou presença de células monocitóides), displasia eritrocítica, presença de mais de 10% de sideroblastos em anel e dismegacariopose. Computou-se também a celularidade (normo, hiper, hipocelularidade para a idade ou não avaliável pela ausência de grumos). O estudo citogenético foi estratificado como normal ou alterado e de acordo com os subtipos citogenéticos definidos no IPSS-R (Greenberg P et al., 2012). **Resultados:** Foram avaliadas 146 amostras, mediana de idade de 67 anos (10-90), 89 amostras (61%) do sexo masculino. Normo, hiper, hipocelularidade e celularidade não avaliável foram observadas respectivamente em: 24,7%; 44,5%; 24,7% e 6,2% das amostras. A maior parte das amostras apresentou escore de displasia pontuando 1, 2, 3 ou 4 (19,2%; 26,7%; 31,5%; 17,1%). Cariótipo alterado foi observado em 85 amostras (58,2%), com subtipos definidos pelo IPSS-R de baixo, intermediário, alto e muito alto risco em 46,6%; 21,9%; 13% e 18,5%. Houve diferença estatisticamente significativa entre o escore de displasia e a presença de cariótipo alterado e com os subtipos citogenéticos, sem diferença com celularidade, sexo e idade. **Conclusão e discussão:** Observamos que a presença de anormalidades citogenéticas e subtipos de maior risco citogenético se associam a presença de maior grau de displasia morfológica em SMD. O refinamento deste sistema de escore morfológico desenvolvido por nós e de fácil aplicação pode auxiliar no diagnóstico das citopenias e na determinação de risco em casos nos quais o estudo cariotípico não foi possível pela ausência de metáfases.

1168 SOROPREVALÊNCIA DE DENGUE EM CRIANÇAS E ADOLESCENTES E ACHADOS HEMATOLÓGICOS

Arruda ABL^a, Albuquerque LMF^a, Mesquita VCB^b, Dias AVC^a, Silva FIC^a, Maia AE^a, Junior DCC^a, Lima CDN^a, Arruda AAL^a, Rodrigues MP^a

^a Universidade Federal do Ceará (UFC), Fortaleza, CE, Brasil

^b Hospital Infantil de Fortaleza Dra. Lúcia de Fátima Ribeiro Guimarães Sá, Fortaleza, CE, Brasil

A dengue é uma doença infecciosa febril aguda causada por qualquer um dos quatro sorotipos de um vírus do gênero *Flavivirus*. O diagnóstico dessa doença é feito com base em dados clínicos, epidemiológicos e laboratoriais, utilizando-se, para este último, exames como o hemograma, dosagens bioquímicas e os testes sorológicos. Do ponto de vista hematológico, merece destaque a plaquetopenia, a leucopenia e aumento do hematócrito que caracterizam laboratorialmente esta enfermidade. O objetivo deste estudo foi verificar a frequência de dengue entre crianças e adolescentes usuários do serviço de um Hospital Infantil e realizar a análise do hemograma desses pacientes. O estudo realizado foi retrospectivo, descritivo e quantitativo, utilizando os prontuários de crianças e adolescentes com diagnóstico de dengue atendidos no Laboratório de Análises Clínicas de um Hospital Infantil de Fortaleza-CE. Os dados foram coletados a partir do banco de armazenamento de requisições e analisados estatisticamente utilizando o programa Microsoft Excel 2013. Observamos que a frequência da doença nos 100 pacientes foi baixa (1,94%), e foi verificada uma maior incidência de dengue entre indivíduos do gênero masculino. A maioria das crianças com dengue estava na faixa etária de 0 a 2 anos no gênero feminino e na faixa etária de 6 a 8 anos entre os meninos; todos eram estudantes e residiam na área metropolitana de Fortaleza. As alterações mais relevantes no hemograma foram a plaquetopenia, leucopenia e anemia com 69%, 68% e 59% dos casos, respectivamente. Cinquenta e cinco (55%) crianças apresentavam plaquetopenia e leucopenia simultaneamente. O hematócrito elevado, a linfocitose e os linfócitos atípicos não predominaram no hemograma destas crianças com 5%, 3% e 13% dos casos, respectivamente. Embora a frequência de pacientes com linfocitose e hematócrito alterado (elevado) tenha sido baixa, os dados do hemograma referentes à contagem global de leucócitos e plaquetas foram coerentes com a literatura pesquisada. Portanto, os resultados do presente estudo sugerem que, embora inespecífico, o hemograma ainda é uma opção para acompanhar o curso da doença e nortear a conduta clínica.

1169 SOROTERAPIA ANTIBOTRÓPICA E ALTERAÇÃO DA COAGULAÇÃO SANGÜÍNEA EM EMPEÇONHAMENTO POR *BOTHROPS ERYTHROMELAS* (JARARACA-DA-SECA)

Silva RC, Vasconcelos MED, Diniz GS, Carvalho RG, Soares NSC, Lima VMGDM, Fook SML

Universidade Estadual da Paraíba (UEPB), João Pessoa, PB, Brasil

Objetivo: Considerando a relevância dos transtornos hemostáticos descritos nos acidentes ofídicos, este estudo visa avaliar a soroterapia antibotrópica no tratamento dos distúrbios da hemostasia humana em empeçonhamentos pela serpente *Bothrops erythromelas* (jararaca-da-seca). **Material e métodos:** O estudo consiste em análise documental de caráter retrospectivo e transversal com abordagem quantitativa. A amostra foi composta por vítimas de acidente botrópico atendidas no Hospital Regional de Emergência e Trauma Dom Luiz Gonzaga Fernandes, Campina Grande/Paraíba (HETDLGF) e notificadas pelo Centro de Assistência e Informação Toxicológica de Campina Grande (CIATox-CG), de janeiro a dezembro de 2018. Os dados foram obtidos, após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CAAE: 66937817.8.0000.5187). Foram analisados 102 pacientes, dos quais 82 foram selecionados e os referidos dados coletados distribuídos em planilha (Software Microsoft Office Excel 2013). As variáveis consideradas foram gênero, classificação do tipo de acidente, tempo de coagulação (TC) e quantidade necessária de soroterapia antibotrópica. De acordo com o critério de inclusão, foram selecionados os pacientes que na admissão hospitalar levaram presencialmente a serpente envolvida no acidente para a identificação da espécie, através do Laboratório de Animais Peçonhentos e Toxinas (LAPTOX-UEPB). **Resultados:** Foram analisados 82 pacientes, dos quais 63 eram do gênero masculino e 19 do gênero feminino. Em relação à classificação do acidente ofídico, foram notificados 44 casos leves, 23 moderados e 15 graves. Considerando a amostra total, no que se refere à avaliação laboratorial da coagulação sanguínea antes da administração da soroterapia antibotrópica, a alteração do TC ocorreu em 70 pacientes, envolvendo 34 casos leves e 22 e 14 dos quadros moderados e graves, respectivamente. Posteriormente à administração da soroterapia adequada, no montante dos casos leves vistos, 27 pacientes restauraram o TC com 3 ampolas do soro antibotrópico. Os demais pacientes (n = 17) necessitaram de um número maior de administrações, entre 4 a 12 ampolas. No âmbito dos 23 casos moderados, em 10 destes pacientes o reequilíbrio da coagulação sanguínea, ocorreu somente após administração de 8 ou mais ampolas. Adicionalmente, dos 15 pacientes graves analisados, em cinco destes indivíduos o retorno hemostático existiu exclusivamente após uso de 13 ou mais ampolas. Sendo necessário notificar que a amostra total investigada evoluiu para a cura. **Discussão:** No que se refere à soroterapia antibotrópica, os dados coletados mostraram divergências entre as recomendações e a prática clínica no manejo do empeçonhamento por *Bothrops erythromelas*. Uma vez que em diversos pacientes analisados, inicialmente, a quantidade de ampolas preconizadas pelo Ministério da Saúde para tratamentos de casos leves (n = 3), moderados (n = 6), e graves (n = 12), não apresentou integralmente os efeitos terapêuticos desejados no tratamento da incoagulabilidade induzida pela peçonha. Provavelmente, devido à ausência específica do veneno desta serpente no pool utilizado atualmente para a fabricação do soro antibotrópico no Brasil. **Conclusão:** Portanto, eventualmente, pode ser necessária a administração de soroterapia antibotrópica adicional para o tratamento adequado da incoagulabilidade sanguínea em empeçonhamento por *Bothrops erythromelas*.

1170 TALASSEMIA INTERMEDIÁRIA – RELATO DE CASO DE PACIENTE AMBULATORIAL ATENDIDO NO HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DO OESTE DO PARANÁ

Chaves MAF, Lima LB, Plewka J, Barros MF, Delabeneta MF, Caloi E, Leme L, Santos LCD, Fernandes NF

Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Cascavel, PR, Brasil

Objetivo: Investigar as características hematológicas de uma paciente portadora de talassemia intermediária que realiza acompanhamento ambulatorial através das informações obtidas em prontuário eletrônico. **Materiais e métodos:** Levantamento de dados obtidos no prontuário eletrônico Tasy®. **Resultados:** R.P.G.P., 32 anos, feminino, talassemia intermediária aos 6 anos de idade, esplenectomia aos 7 anos, hepatite

C com tratamento incompleto há 6 anos (interrompido devido anemia hemolítica induzido pelo interferon), colecistectomia há 5 anos (refere biópsia hepática, diagnosticada com cálculos de vesículas, realizada a colecistectomia laparoscópica), transfusões prévias. Pai e 2 irmãos apresentam talassemia menor, nega tabagismo e etilismo. Entre 18 de março de 2010 e 10 de julho de 2019, a paciente compareceu ao Hemocentro de Cascavel e realizou exames no Hospital Universitário do Oeste do Paraná, realizando diversos testes laboratoriais para auxiliar no acompanhamento. Ao todo foram 17 Hemogramas, 13 Dosagens de Reticulócitos, 13 dosagens de ALT e também AST, 12 dosagens de Bilirrubina Total e Frações e 11 dosagens de LDH. Em relação às informações obtidas no Hemograma, as médias de Hemoglobina foram de 10,9 g/dL, o Volume Corpuscular Médio (VCM) foi de 75,6 fL, a Hemoglobina Corpuscular Média de 24,4 pg, o RDW com 23,7%, média de Eritroblastos (em 100 leucócitos contados) foi de 1.245 células. Em relação aos poiquilócitos foram relatados: Esquizócitos em 12 ocasiões, Codócitos em 11 ocasiões e policromasia em 10 ocasiões, todos estes em média na proporção de uma cruz. Entre as Inclusões Eritrocitárias os Corpúsculos de Howell-Jolly foram relatados em 8 ocasiões e Ponteados Basófilos em 2 ocasiões, também na proporção de uma cruz. Em relação às Dosagens de Reticulócitos, o valor médio obtido foi de 11,5%. Entre os marcadores de função hepática o valor médio de Bilirrubina Total foi de 2,65 mg/dL, Bilirrubina Direta (mg/dL) foi de 1,05 e Bilirrubina Indireta (mg/dL) foi de 1,60. As dosagens de ALT apresentaram uma média de 63 U/L, enquanto a AST apresentou o valor médio de 65 U/L. A dosagem média de Lactato Desidrogenase (LDH) foi de 493 U/L. **Discussão:** A Beta Talassemia intermediária apresenta uma hemoglobina em torno de 7 a 10 g/dL, com hipocromia e microcitose intensas, presença de codócitos, ponteados basófilos eritroblastos e reticulócitos de 3 a 10%, esplenomegalia e icterícia discretas, com relação ao RDW normalmente encontra-se acima de 21% (Silva et al., 2016). Com exceção da hemoglobina (que apresentou uma média ligeiramente acima do valor descrito na bibliografia), o quadro hematológico da paciente reflete as características de uma talassemia intermediária. Uma discreta e persistente icterícia também foi observada, valores de Bilirrubina Total da paciente mostraram-se acima do limite superior, porém este fato também pode estar relacionado com a exposição ao vírus da hepatite C, que provoca dano hepático (este último evidenciado pelos valores elevados de ALT e AST). **Conclusão:** A talassemia é uma doença que acompanha a humanidade há séculos e, se não tratada, pode levar o indivíduo à morte, por isto é de suma importância que o analista clínico esteja familiarizado com seus sinais clássicos e que podem ser identificados num simples hemograma, quanto mais precoce o diagnóstico, melhor é a sobrevida do paciente.

1171 TÉCNICA DE HPLC: SEU PAPEL NO DIAGNÓSTICO DAS ANEMIAS MICROCÍTICAS

Diniz MV^{a,b}, Valeriano Ar^{a,b}, Arcanjo GS^c, Bezerra MAC^c

^a Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil

^b Hospital Agamenon Magalhães (HAM), Recife, PE, Brasil

^c Departamento de Genética, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil

Entre as causas de anemia, a mais frequente, em países subdesenvolvidos, é por deficiência de ferro (ADF). Contudo, em menor percentual, existem outras situações que podem apresentar características laboratoriais semelhantes à ADF como anemia de doença crônica (ADC), anemia sideroblástica e talassemias. O trabalho teve como objetivo caracterizar e confirmar os tipos de anemias microcíticas através da técnica de HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Pressão). O estudo foi do tipo exploratório e prospectivo, em que foram analisadas amostras sanguíneas (n = 322) de pacientes ambulatoriais de um hospital público da cidade do Recife no período entre maio e junho de 2018. Neste grupo, 36 (11,2%) apresentaram anemia microcítica a esclarecer. Destas, 10 foram selecionadas para realização do HPLC por possuírem número de hemácias acima de 5 milhões/mm³ e resultados inconclusivos. O HPLC mostrou 5 (50%) resultados compatíveis com alfa talassemia; 1 (10%) condizente com anemia por deficiência de ferro (ADF), pois apresentou ferro e ferritina séricos e IST (índice de saturação de transferrina) diminuídos; 2 (20%) com traço falciforme (AS) nos quais um mostrou associação à alfa talassemia devido ao aumento do IST e ferritina sérica, diminuição da TIBC (capacidade total de fixação do ferro) e o ferro séri-

co dentro dos valores de referência; e o segundo apresentou o estudo do ferro normal. Por fim, 2 (20%) revelaram traço de hemoglobina C (AC), nos quais um foi associado à alfa talassemia, pois apresentou o estudo do ferro normal e outro à ADF, pois tinha ferro e ferritina séricos diminuídos. A diferenciação entre anemias microcíticas tem implicações clínicas importantes, pois cada uma delas tem uma causa, patogênese, prognóstico e tratamento distintos. Portanto, é de suma importância realizar um teste confirmatório como o HPLC (Cromatografia Líquida de Alta Pressão) que possui elevada sensibilidade para identificar hemoglobinas variantes e quantificar as HbA2 e HbF. Esse teste apresenta algumas vantagens frente a outras técnicas como a rapidez nos resultados, pequena quantidade de espécime utilizada, capacidade de analisar várias amostras ao mesmo tempo e o fornecimento de resultados semiquantitativos. Diante disso, faz-se necessário caracterizar e confirmar os tipos de anemias microcíticas numa população através do HPLC, que apresenta importância relevante para esclarecimento diagnóstico.

1172 RELATO DE CASO: DESAFIO DA GESTAÇÃO EM UMA PACIENTE COM ANEMIA FALCIFORME

Chaves MAF^a, Santos LCD^a, Silva JCO^b, Barros MF^a, Plewka J^a, Delabeneta MF^a, Lima LB^a, Caloi E^a, Leme L^a, Fernandes NF^a

^a Universidade Estadual do Oeste do Paraná (UNIOESTE), Cascavel, PR, Brasil

^b Hemocentro Regional de Cascavel, Cascavel, PR, Brasil

Objetivos: Relatar um caso de uma paciente gestante com anemia falciforme. **Material e métodos:** A busca por dados laboratoriais e clínicos ocorreu a partir de prontuários eletrônicos utilizando o sistema informatizado Tazy[®], utilizado pelo Hospital Universitário do Oeste do Paraná, e foram focadas em relação aos exames realizados no período de internamento e nas informações relatadas sobre o estado geral de saúde do paciente e do recém-nascido. **Resultados:** F.M.M., 26 anos, casada, possui dois filhos, diagnosticada com anemia falciforme desde os 6 anos de idade, já teve diversas crises algicas, sendo a última com 15 semanas de gestação, já precisou de transfusão sanguínea em decorrência da anemia diversas vezes. Deu entrada no hospital no mês de julho, com 39 semanas de gestação referindo sentir dor de forte intensidade em região de articulação de membros inferiores e superiores e um pouco de dor torácica. Durante a gestação, ocorreu duas crises algicas, com 15 semanas e com 35 semanas de gestação. Não houve nenhuma intercorrência com a gestante e com o recém-nascido. **Discussão:** Durante a gravidez, as alterações fisiológicas podem influenciar significativamente as condições clínicas da mãe, resultando em complicações obstétricas e hematológicas, pois a condição de saúde materna fica comprometida antes da gravidez, podendo se agravar visto que a placenta da gestante falciforme tem o seu volume reduzido, ocasionando prejuízo para o feto e para gestante. A gravidez pode agravar o quadro de anemia falciforme, aumentando o risco das crises e das infecções, incluindo as crises vaso-oclusivas no pré e pós-parto; essa oclusão pode causar aborto e óbito fetal intrauterino e também a crise algica ou vaso-oclusiva, e destaca-se também a síndrome torácica aguda, em que as manifestações clínicas incluem dor torácica, febre, tosse e hiperventilação. Outro risco que também pode ocorrer é o parto prematuro, geralmente antes de completar 36 semanas, e nesse relato o parto ocorreu com 39 semanas. **Conclusão:** Gestante portadora da doença falciforme apresenta maior risco de morbidade materna e fetal. Tais pacientes precisam ser cuidadosamente acompanhadas e é necessário ter um cuidado adequado com a gestante, com o feto e com o recém-nascido. Tais características são essenciais e devem acontecer em instituições capacitadas para prevenir e atender estas complicações importantes para a sobrevivência dessas pacientes.

1173 UTILIZAÇÃO DE ÍNDICES PLAQUETÁRIOS PARA AVALIAÇÃO DA ADESÃO DE PACIENTES COM ANEMIA FALCIFORME TRATADOS EM UM HOSPITAL UNIVERSITÁRIO DO SUL DO BRASIL

Lessa CLM, Rocha GLG, Gomes CF, Zambonato B, Rotta LN, Scotti L, Paz A, Silla LMR, Schmitt V, Fogliatto LM, Cavalcante P

Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA), Universidade Federal do Rio Grande do Sul (UFRGS), Porto Alegre, RS, Brasil

Introdução: A anemia falciforme (AF) é uma doença genética na qual os alelos responsáveis pela produção de hemoglobina β estão mutados e formam a hemoglobina S (HbS). Indivíduos com AF apresentam complicações agudas e crônicas, como acidente vascular cerebral e crises vaso-oclusivas. A hidroxiureia (HU) é o único tratamento medicamentoso para AF. O hemograma é utilizado no acompanhamento destes pacientes. Os parâmetros clínicos avançados (PCAs) surgiram para melhorar a precisão e a sensibilidade desse exame. Entre os PCAs, a fração de plaquetas imaturas (IPF) mede quantitativamente as plaquetas reticuladas e reflete melhor a atividade medular, e a contagem de plaquetas por fluorescência (PLT-F) avalia o número de plaquetas por um marcador fluorescente e canal específico. As plaquetas ópticas (PLT-O) mostram contagens superiores em amostras contendo eritrócitos fragmentados comparadas às PLT-F devido à inespecificidade do método. **Objetivo:** Avaliar o IPF e comparar PLT-F com PLT-O em pacientes com AF que possuem alta, média e baixa adesão à HU, estratificando-os entre crianças (< 12 anos) e adultos (\geq 12 anos). **Materiais e métodos:** Um estudo transversal prospectivo em pacientes com AF tratados com HU atendidos no Hospital de Clínicas de Porto Alegre entre julho de 2018 e abril de 2019. As variáveis estudadas (PLT-O, PLT-F e IPF) foram obtidas pelo equipamento Sysmex XN-9000 e as variáveis clínicas e epidemiológicas, do prontuário dos pacientes. A adesão farmacológica foi calculada observando-se a quantidade de cápsulas dispensadas. Pacientes que retiraram mais de 80% da HU foram considerados com alta, entre 60 e 80% média e menos de 60% com baixa adesão. A análise estatística foi realizada no software SPSS. A normalidade das distribuições foram verificadas. O teste t de Student foi utilizado em variáveis de distribuição normal e o teste U de Mann-Whitney nas de distribuição anormal. **Resultados:** Foram avaliados 93 pacientes com AF. Entre eles, 24 (26%) crianças (md 4,5 (2-10) anos) e 69 (74%) adultos (md 34 (12-62) anos). Quanto à adesão, 50 (54%) apresentaram alta adesão e 43 (46%), adesão média ou baixa. Quando avaliada a quantidade de plaquetas por PLT-O versus PLT-F, a metodologia PLT-F no grupo das crianças versus adultos e a IPF no grupo das crianças não apresentou diferença estatística significativa entre o grupo com alta adesão em relação ao de média ou baixa adesão ($p = 0,70$; $p = 0,73$ e $p = 0,06$). Entretanto, foi significativo no grupo de adultos (2,7% no grupo de alta adesão e 4% nos demais, $p = 0,02$). **Discussão:** 54% dos pacientes apresentaram alta adesão à HU, resultado superior ao preconizado pela OMS, que é menos de 50% em países em desenvolvimento. Não houve diferença estatística quando comparada às contagens plaquetárias por ambos os métodos utilizados quanto à adesão ao tratamento (PLT-O e PLT-F), mostrando que esse parâmetro não sofre alteração quanto ao uso da HU e, portanto, não é útil para avaliar adesão. Contudo, a IPF mostrou diferença no grupo dos adultos com alta adesão em relação aos com menor adesão. Mostrando assim, que apesar de o total de plaquetas não variar, o IPF é maior nos pacientes com menor adesão, que têm mais plaquetas jovens circulando e maior atividade medular. **Conclusões:** O uso da IPF mostrou-se promissor na avaliação da adesão à HU em adultos com AF. Estudos com maiores números de pacientes, principalmente crianças, poderão avaliar melhor o uso do IPF.

1174 VARIANTES ESTRUTURAIS NOVAS E RARAS DA HEMOGLOBINA IDENTIFICADAS NOS 38 ANOS DE ATIVIDADES DO LABORATÓRIO DE HEMOGLOBINOPATIAS DA UNICAMP

Pedroso GA, Kimura E, Nascimento PH, Lima PC, Jorge SEDC, Albuquerque DM, Santos MNND, Costa FF, Sonati MF

Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

As alterações estruturais da hemoglobina (Hb) estão entre as doenças genéticas mais comumente encontradas nas populações humanas. Há, atualmente, mais de 1.300 variantes estruturais descritas, parte delas com estabilidade, solubilidade ou propriedades funcionais alteradas, com consequências clínicas e hematológicas. O Laboratório de Hemoglobinopatias do Departamento de Patologia Clínica da Faculdade de Ciências Médicas da Unicamp, desde sua implantação em 1980, analisou cerca de 150.000 amostras de sangue de pacientes com suspeita clínica provenientes de todas as regiões do Brasil e de outros países da América Latina, como Uruguai, Argentina, México e Venezuela. Entre os principais métodos e técnicas empregados estão a eletroforese de Hb (pHs alcalino, neutro e ácido), a cromatografia líquida de alta performance (HPLC), de troca catiônica e de fase reversa, foca-

lização isoeletrica, pesquisa de corpos intraeritrocitários (Heinz / Hb H), testes de solubilidade e estabilidade (térmica, em n-butanol e em iso-propanol), testes moleculares (Multiplex-gap-PCR, análises de restrição, sequenciamento gênico, Multiplex Ligation-dependent Probe Amplification-MLPA), testes funcionais (curva de dissociação do O_2 , cooperatividade e efeito Bohr), modelagem e dinâmica molecular, e análise familiar. Até o momento, 15 variantes novas e mais de 80 variantes raras, algumas com um único portador descrito, foram detectadas e identificadas, sendo 35 variantes de cadeias α , 47 de cadeias β , 2 de cadeias δ - β e 11 de cadeias γ . Vários desses casos são mutações *de novo*. Algumas associações com variantes mais comuns e mutações talassêmicas também foram observadas, assim como com a triplicação dos genes α e com genes *a patchwork*. Nossos resultados ilustram a expressiva variabilidade de Hb anômalas presente na população brasileira e latino-americana. O diagnóstico correto e completo esclarece a causa de manifestações clínicas importantes, direciona o tratamento, evitando abordagens terapêuticas equivocadas, faculto o estabelecimento de medidas preventivas e permite o devido aconselhamento genético dos portadores. Do ponto de vista acadêmico, o estudo das variantes contribui para uma melhor compreensão da fisiopatologia dessas e de outras doenças genéticas, dos mecanismos promocionais de mutações e rearranjos gênicos com vistas à diversidade, da conformação estrutural das proteínas e da relação estrutura-função, gerando conhecimento para as áreas de Bioquímica e Biofísica, Hematologia, Genética Molecular e Genética de Populações, por serem, a Hb e os genes de globinas, importantes modelos de proteína, de genes e de regulação gênica.

1175 VERIFICAÇÃO DA VALIDAÇÃO DA METODOLOGIA DE HEMOGLOBINA GLICADA POR HPLC POR TROCA IÔNICA EM COMPARAÇÃO AO HPLC POR AFINIDADE PELO BORONATO

Guimarães FL, Campos JR, Fernandes AB

Laboratório Lustosa, Belo Horizonte, MG, Brasil

Objetivos: Descrever a verificação da validação de metodologia HPLC troca iônica para hemoglobina glicada (HGB) como auxiliar no monitoramento e diagnóstico do Diabetes. **Material e método:** Realizou-se a verificação da validação do equipamento Variant II turbo kit 2.0 – BioRad® através da metodologia HPLC por troca iônica e o equipamento Trinity Premier® metodologia HPLC afinidade pelo boronato. Realizou-se o estudo de imprecisão e bias combinado realizando 25 réplicas em cada nível de controle de acordo com EP15 – A3 do CLSI. Foram realizadas comparações de 20 amostras de pacientes de acordo com o EP15 – A2 e EP09 – A3 do CLSI. Utilizou-se a comparação interlaboratorial disponibilizada pela Biorad® (Unity) para análise da estimativa do bias. A análise estatística foi realizada através da Planilha de Comparação de métodos Labtest® e ferramenta de análise da veracidade fornecida por Assessoria Científica Siemens®. O analito foi considerado validado quando o Erro total foi inferior ao máximo permitido nos dois níveis de decisão Médica. **Resultados:** O coeficiente de variação intracorrida (repetibilidade) foi de 0,8% e o coeficiente de variação intralaboratório (CV Total) de 1,42% no nível 1 de controle (concentração da grande média de 5,3%). O coeficiente de variação intracorrida foi de 0,37% e o coeficiente de variação intralaboratório de 0,55% no nível 2 de controle (concentração da grande média de 10,02%). Ambos inferiores a 2% de acordo com a *performance* de excelência determinada pelo NGSP (National Glycohemoglobin Standardization Program). A grande média no nível 1 encontrou-se dentro do intervalo de verificação (5,22 a 5,36%) e o bias não é estatisticamente significativo. A grande média do nível 2 ficou fora do intervalo de verificação (9,87 a 9,99%). O bias calculado no nível 2 (0,95%) foi inferior ao máximo permitido (2,25%) de acordo com o desempenho mínimo da variação biológica. O bias é estatisticamente significativo, mas clinicamente aceitável. O erro total do nível 1 de decisão médica (ETN1) foi de 3,52% e o erro total do nível 2 de decisão médica foi de 1,66%, ambos inferiores a 4,60%, de acordo com a especificação de desempenho analítico mínimo da variação biológica. O coeficiente de correlação entre os métodos foi de 0,999, indicando uma excelente correlação entre as metodologias. **Discussão:** O exame laboratorial é muito importante para contribuir no raciocínio clínico e na conduta terapêutica. Sendo assim é extremamente importante uma metodologia que atenda aos requisitos de qualidade (Netto et al., 2009). O estudo de imprecisão e bias combinado realizado de acordo com a norma do CLSI EP15 – A3 demonstrou excelente *performance* analítica. De acordo com CAP (College of American Pathologists) apenas seis mé-

todos atingiram $CV \leq 2\%$ e aproximadamente 96% dos laboratórios utilizam métodos com $CV \leq 3,5\%$. É possível considerar o resultado do estudo de imprecisão excelente de acordo com o previsto pelo CAP-NGSP. O erro total foi inferior ao máximo permitido nos dois níveis de decisão médica, indicando que o método atende ao especificado nas bases da variação biológica. **Conclusão:** É possível relatar que a metodologia HPLC por troca iônica comparou-se à metodologia HPLC por afinidade pelo boronato. A estimativa do bias e da imprecisão formam aprovadas de acordo com o documento CLSI EP15 – A3. A verificação da validação foi aprovada de acordo com o erro total máximo permitido.

CITOMETRIA DE FLUXO

1176 A INFLUÊNCIA DO PROCESSAMENTO DE AMOSTRAS SANGÜÍNEAS PELO MÉTODO DE FICOLL OU DE LISE NA AVALIAÇÃO DA DOENÇA RESIDUAL MÍNIMA POR CITOMETRIA DE FLUXO

Santos R^a, Fonseca TC^a, Lins MM^a, Lucena-Silva N^{a,b}

^a Instituto de Medicina Integral Professor Fernando Figueira (IMIP), Recife, PE, Brasil

^b Instituto Aggeu Magalhães, Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Recife, PE, Brasil

Objetivos: A avaliação da resposta ao tratamento realizado pelo monitoramento de células leucêmicas residuais (DRM, doença residual mínima) na medula óssea é critério para mudança de esquema terapêutico nos protocolos modernos de tratamento de leucemias linfóides em crianças. Os marcadores utilizados nesse monitoramento vão depender da linhagem da leucemia linfóide B ou T, da presença de marcadores aberrantes, ausência de marcadores normais ou assincronismo de marcadores de imaturidade em células diferenciadas, sendo fundamental o conhecimento da diferença de expressão dos antígenos em células blásticas e hematogônias numa medula em regeneração. O valor da DRM representa a porcentagem das células afetada em relação ao total de células analisadas, de forma que é possível que fatores pré-analíticos interfiram no valor da DRM. O objetivo desse estudo foi comparar o valor dos linfócitos em amostra processada pelo método de lise ou pelo gradiente de Ficoll, e avaliar o impacto que teria no resultado da DRM. **Métodos:** Foram coletados 4 mL de sangue periférico de 10 voluntários saudáveis, que foram processados em paralelo pelo método de lise ou Ficoll. No primeiro, 50 μ L de amostra foi marcado com os anticorpos monoclonais CD15-FITC, CD14-PE, CD19-PerCP e CD3-APC (BD Biosciences), lisados com 2 mL de BD Pharm lyse, lavado duas vezes com tampão PBS-2% albumina bovina e fixado com paraformaldeído 0,5%. No segundo, o restante do sangue foi submetido a um gradiente de centrifugação através do reagente Ficoll para isolamento das células mononucleares antes das etapas de marcação, lavagem e fixação conforme realizado nas amostras processadas pelo método de lise. As células foram adquiridas utilizando o citômetro BD FACSCanto II, e a fluorescência determinada pelo programa DIVA, utilizando *dot plots* formados pelos eixos Side Scatter (SSC) e a fluorescência do marcador. **Resultados e discussão:** A média dos valores relativos de linfócitos em amostras processadas por lise foi de 4,1% (2,1 a 5,8) e inferior ao valor médio de 11,3% (4,7 a 26,9) obtidos com as amostras processadas com Ficoll. O correspondente aumento do número absoluto de eventos para linfócitos em relação ao total de eventos adquiridos observado nas amostras processadas pelo método do Ficoll, é um aspecto importante para a avaliação da DRM, por promover a concentração das células mononucleares leucêmicas, aumentando a sensibilidade do método. Nós também avaliamos a presença de DRM em amostras de medula óssea de pacientes no dia D19 de tratamento processadas por lise ou por gradiente de Ficoll. A primeira observação da análise foi que a amostra processada pelo Ficoll, é mais limpa, tem menos eventos inespecíficos, portanto é mais fácil de analisar os gráficos. A segunda observação foi que, devido ao valor da DRM ser um percentual do total de eventos adquiridos, a análise do maior número de células mononucleares isoladas pelo ficoll apresentaram maiores valores de DRM em relação à proporção da DRM obtidas pelo método de lise. **Conclusão:** O processamento da amostra de medula óssea ou sangue periférico pelo

método Ficoll permite a concentração de células mononucleares, a diminuição de reações inespecíficas, o aumento relativo dos linfócitos nas células adquiridas, e todos esses fatores levam consequentemente ao aumento de sensibilidade da técnica.

1177 ANÁLISE COMPARATIVA ENTRE OS MÉTODOS DE MICROSCOPIA CONVENCIONAL E CITOMETRIA DE FLUXO NA AVALIAÇÃO DE INFILTRAÇÃO DO SNC EM PACIENTES ONCO-HEMATOLÓGICOS

Oliveira LP, Santos JP, Perim LP, Murao M, Rocha JMC, Cancela CSP

Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brasil

Objetivos: Comparar o desempenho das metodologias de microscopia convencional (MC) e citometria de fluxo (CF) na pesquisa de células neoplásicas em amostras de líquido (LCR) coletadas de pacientes onco-hematológicos. **Material e métodos:** O sistema informatizado laboratorial foi utilizado para a coleta de dados de pacientes com doenças onco-hematológicas do Hospital das Clínicas/UFMG (04/2011 a 07/2019). Foram incluídas amostras de LCR submetidas, simultaneamente, à pesquisa de células neoplásicas por MC e CF (n:521). Os dados foram analisados de forma descritiva. **Resultados:** Entre as 521 amostras, observou-se: 438 resultados conclusivos para a pesquisa de células neoplásicas pelos dois métodos; 70 inconclusivos por pelo menos um (62 por MC, 5 por CF e 3 por ambos); e 13 não tiveram células recuperadas (6 por MC, e 7 por CF). Das amostras com resultados conclusivos, 386 (88,1%) foram concordantes entre os métodos, sendo 325 negativos e 61 positivos. Entre os resultados discordantes (n: 52), a análise por CF denotou a presença de blastos em 45 amostras consideradas negativas pela MC, e 7 positivas pela MC não tiveram os resultados confirmados pela CF. Nas 65 amostras inconclusivas pela MC, 20 (30,8%) foram positivas pela CF, 42 (64,6%) foram negativas e 3 (4,6%) não foram elucidadas. Ao avaliar os resultados das amostras com células nucleadas < 5/μL, obtidas por punções não traumáticas (296/521), verificou-se que a CF: definiu os 24 resultados inconclusivos da MC (13 positivos e 11 negativos por CF); definiu os 4 em que não houve recuperação celular para análise morfológica (1 positivo e 3 negativos por CF); definiu a presença de células neoplásicas em 25 amostras entre 256 consideradas negativas pela MC. **Discussão:** A definição de infiltração do SNC, no contexto das doenças onco-hematológicas, é feita através do exame clínico, de imagem e do LCR por MC. A MC é o método de escolha na análise do LCR, apresentando baixa sensibilidade, principalmente em amostras hipocelulares. Por isso, outras metodologias são incorporadas na investigação de infiltração do SNC. Neste estudo, a análise complementar do LCR por CF permitiu a definição de infiltração do SNC em 66/452 (14,6%) amostras negativas ou inconclusivas por MC e ainda afastou a presença de células neoplásicas em 7/69 (10,1%) consideradas positivas pela MC (prováveis falso-positivos). Na leucemia linfoblástica aguda (LLA), a infiltração do SNC (presença de ≥ 5 células nucleadas/μL e detecção de blastos pela MC-SNC3) é fator de mau prognóstico, definindo terapêutica diferenciada. Entretanto, mesmo em amostras hipocelulares, a presença de blastos no LCR ao diagnóstico é associada à maior incidência de recaída em SNC e à adoção de medidas terapêuticas imediatas. A CF apresenta maior capacidade de detectar blastos em amostras hipocelulares, auxiliando na classificação do SNC 2. Conforme observado no estudo, a CF permitiu classificar 39/296 (13,2%) amostras negativas ou inconclusivas pela MC como SNC2. Destas, 29 foram avaliadas na condução de pacientes com LLA, reforçando o papel deste método. **Conclusão:** Ainda que a análise do LCR por CF não seja essencial para a definição de infiltração do SNC em pacientes onco-hematológicos, observa-se que representa uma ferramenta útil na avaliação destes pacientes, auxiliando na condução e redefinição do tratamento.

1178 ANÁLISE DE LCR POR CITOMETRIA DE FLUXO

Queiroz VC, Toreli ACM, Lopes GO, Carvalho MAV, Berigo MLR, Maciel FVR, Herculani JECC, Azevedo JC, Silva MCA, Barroso RS

Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), São Paulo, SP, Brasil

Objetivo: Analisar características epidemiológicas e nível de concordância entre citologia oncológica e citometria de fluxo em paciente com doença onco-hematológica. **Material e métodos:** Foram analisados re-

trospectivamente dados epidemiológicos, diagnóstico clínico, citologia oncológica (CO) e imunofenotipagem por citometria de fluxo (CF) de líquido cefalorraquidiano (LCR), no período de janeiro a maio de 2019, em único centro de referência. **Resultados:** Foram avaliados 118 exames de LCR no período de janeiro a maio de 2019. A mediana de idade foi 47 anos (variação 2 a 80 anos), sendo 57,6% dos pacientes masculinos e 42,4% femininos. Noventa e nove (83,9%) apresentavam diagnóstico onco-hematológico, sendo 2 com diagnóstico de Linfoma de Hodgkin (LH), que foram excluídos por não apresentar marcadores específicos para análise em LCR. Dezenove (16,1%) exames tinham outro diagnóstico, entre eles neoplasia sólida, HIV, pancitopenia e síndrome neurológica a esclarecer. Dos 97 exames elegíveis para análise, 36 (37%) tinham Leucemia Linfóide Aguda B/Linfoma de Burkitt (LLA-B/LB), 36 (37%) Linfoma Não Hodgkin (LNH), 12 (12%) Leucemia Mieloide Aguda (LMA), 5 (5%) Leucemia Linfóide Aguda T (LLA-T), 5 (5%) Mieloma Múltiplo (MM) e 2 (2%) Leucemia Linfóide Crônica (LLC). Na análise da CO, 5 (5%) exames eram positivos (COpos), 74 (76%) negativos (COneg), 6 (6%) inconclusivo (COinc) e 12 (12%) não tiveram análise de CO por vir de serviço externo. Pela CF 29 (30%) eram positivos (CFpos), 65 (67%) negativos (CFneg) e 3 (3%) inconclusivos (FCinc). Foram concordantes (COpos/CFpos, CONeg/CFneg) 72% dos exames, sendo 5 (6%) positivos e 56 (66%) negativos, e 15 (18%) eram divergentes (COneg/CFpos). Não foram encontrados casos COpos/CFneg para doença onco-hematológica. Oito (10%) resultados apresentaram uma divergência menor, com pelo menos um deles inconclusivo. Dos exames divergentes, 4 casos eram agudos (LLA-B/LB, LLA-T, LMA) e 11 casos eram crônicos (LLC, LNH, MM). A mediana de celularidade do LCR foi de 11 (de 1 a 1200) células nos casos COpos/CFpos; 1,0 (de 1 a 130) células nos casos CONeg/CFneg; e 5,0 (de 1 a 28) células nos casos CONeg/CFpos. **Discussão:** A CF é superior em relação à CO na detecção de envolvimento de SNC em doenças onco-hematológicas. A CO é importante para triagem de painel para diagnóstico, principalmente em doença T e mielóide, contudo apresenta limitações em relação à CF pela escassez de células e semelhança morfológica entre células benignas e malignas. A vantagem da CF está na capacidade de detectar doença clonal e expressão antigênica sendo de 20 a 600% superior quando comparada com a CO. A desvantagem da CF é a rápida degradação das células com poucas horas para preparo da amostra. Embora não se tenha consenso qual a celularidade seja necessária para diagnóstico, estudos prévios relatam como positivos presença de pelo menos 10 eventos com fenótipo bem definido. Em nosso serviço, a CO e CF têm um alto nível de concordância (71%) e baixo nível de discordância entre os exames, assim como em outros estudos. **Conclusão:** A CF é o método de escolha de avaliação de doença onco-hematológica em LCR, contudo apresenta limitações dependendo da baixa celularidade da amostra ou ausência de LAIPs (Imunofenótipos associados à leucemia). Este método apresenta superioridade em relação a CO devido ao maior número de células analisadas e melhor de capacidade de diferenciar células malignas de benignas.

1179 ANÁLISE IMUNOFENOTÍPICA POR CITOMETRIA DE FLUXO NA DETECÇÃO DE INFILTRAÇÃO NEOPLÁSICA DE SNC EM LEUCEMIAS AGUDAS E COMPARAÇÃO COM A CITOMORFOLOGIA

Paranhos FV, Oliveira AF

Hospital Infantojuvenil de Câncer de Barretos, Barretos, SP, Brasil

Objetivo: Avaliar a sensibilidade da imunofenotipagem por citometria de fluxo (ICF) na detecção de células neoplásicas em sistema nervoso central (SNC) de pacientes com diagnóstico de leucemias linfóide aguda (LLA) e mielóide aguda (LMA) e comparar os resultados com aqueles encontrados com o método padrão de diagnóstico na instituição, o Cytospin. **Materiais e métodos:** Todos os pacientes diagnosticados com leucemia aguda, LLA e LMA, no período de julho de 2018 a julho de 2019 no Hospital de Câncer Infantojuvenil de Barretos, tiveram seu líquido analisado por citomorfologia e por imunofenotipagem por citometria de fluxo, em paralelo. O material coletado para análise foi processado no mesmo dia de acordo com as normas estabelecidas, e os resultados definidos como positivo ou negativo. **Resultados:** Um total de 55 pacientes realizou análise combinada do líquido por Cytospin e imunofenotipagem. Desses, 44 pacientes (80%) ao diagnóstico inicial e 11 (20%) no diagnóstico da recaída. Em 36% (20 pacientes) a ICF detectou uma população de blastos em líquido de acordo com imunofenótipo da me-

dula óssea, enquanto a positividade pela citomorfologia foi de 7% (4 pacientes). A mediana de células detectada foi de 157, e o mínimo de detecção foi de 23 células em ICF. Todos os pacientes com citomorfologia positiva tiveram ICF também positiva. Do total de pacientes com positividade pela ICF, 3 eram sintomáticos para infiltração de SNC. **Discussão:** A evidência de infiltração de sistema nervoso central (SNC) nas leucemias agudas da infância tem impacto tanto na estratificação de risco quanto na abordagem terapêutica destes pacientes. A análise citomorfológica para identificação de blastos circulantes em liquor é considerada a metodologia padrão-ouro para este diagnóstico. A imunofenotipagem por citometria de fluxo, já estabelecida como ferramenta fundamental no diagnóstico das leucemias, também se mostrou um método sensível na detecção de células neoplásicas em SNC, principalmente quando considerada a baixa celularidade do material coletado. Porém, apesar da sensibilidade e especificidade da ICF no diagnóstico de infiltração do SNC nas leucemias agudas da infância, se faz necessário o seguimento dessa amostra de pacientes para avaliar a evolução de acordo com os resultados encontrados. A inclusão desta metodologia em novos protocolos de tratamento será necessária para justificar mudança na estratégia terapêutica e se existe maior incidência de recaída de doença nestes pacientes. **Conclusão:** A ICF é um método diagnóstico factível na investigação de infiltração de SNC, e complementa a metodologia padrão. Novos estudos são necessários para avaliar o impacto desta detecção mais sensível, principalmente em amostras com menor celularidade, na evolução e estratificação de risco destes pacientes.

1180 ANÁLISE POR CITOMETRIA DE FLUXO DE LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA B (LLA-B) EM CRIANÇAS, MEDIANTE PAINEL EUROFLOW, E SUA CORRELAÇÃO COM OS ACHADOS DA CITOGENÉTICA CONVENCIONAL

Cognialli R, Dias J, Kluck DA, Rodrigues RFR, Kukla V, Melfort LW, Solarewickz MM, Procópio ALM, Beltrame MP

Mantiss Diagnósticos Avançados, Curitiba, PR, Brasil

Objetivos: Caracterizar o fenótipo dos blastos em pacientes pediátricos portadores de Leucemia Linfoblástica Aguda B (LLA-B), por citometria de fluxo, utilizando o painel preconizado pelo Consórcio EuroFlow e correlacionar com os achados da citogenética clássica. **Material e métodos:** Foram selecionados 35 pacientes com idades entre 0 a 14 anos, que realizaram exames no fevereiro de 2017 a setembro de 2018, diagnosticados com LLA-B por citometria de fluxo. Individualmente cada fenótipo das células malignas foram avaliadas e posteriormente os dados foram correlacionados com a citogenética clássica. Foi realizada análise estatística pelo teste t de Student. **Resultados/Discussão:** Foram analisados um total de 35 pacientes. 11,4% mostraram fenótipo normal, 51,4% de coexpressão de marcadores mieloides (CD13, CD15, CD33, CD117), 51,4% ausência de expressão de CD45, 40,0% expressão anômala de CD123, 34,3% de expressão anômala de CD66c, 8,6% de CD25, 5,7% de expressão anormal de NG2 (proteína 7.2). Na análise citogenética, foram observados 34,3% (n = 12) de cariótipos sem alterações citogenéticas, 28,6% (n = 10) com hiperdiploidia, 25,7% (n = 9) outros cariótipos, 5,7% (n = 2) com translocação cromossômica t(1;19), 2,9% (n = 1) com translocação cromossômica t(4;11) e 2,9% (n = 1) com hipodiploidia. A ausência ou baixa expressão de CD45 está associada a um prognóstico favorável, e uma pesquisa realizada em 2009 demonstrou ausência ou expressão em baixa densidade antigênica de CD45 em 75,6% das LLA-B em crianças, valor superior ao encontrado no presente estudo 51,4%. Estudo realizado em crianças portadoras de LLA-B mostrou prevalência do antígeno CD123, 61% das amostras avaliadas mostraram valor superior ao descrito no presente estudo (40%). Estudos recentes mostram a presença do marcador CD123 (cadeia alfa do receptor de interleucina 3) e um marcador promissor para novas terapias-alvo. A translocação cromossômica envolvendo o cromossomo 11, onde está localizado o oncogene MLL, mais frequentemente encontrada é a t(4;11). Esta alteração é descrita como marcador de mau prognóstico em pacientes portadores de LLA-B, com prevalência de 2% entre as alterações cromossômicas, condizente este estudo, onde foi observado 1 caso de t(4;11), correspondendo a 2,9%. Foi descrito que o fenótipo de pacientes que apresentam t(4;11), expressam CD15 e negatividade para CD10 e CD24, semelhantemente ao observado no presente estudo. **Conclusão:** O emprego do painel preconizado pelo Euroflow permite uma melhor caracterização do fenótipo dos blastos e a identi-

ficação de expressões aberrantes, as quais são úteis posteriormente na pesquisa de doença residual mínima. No presente estudo pode-se concluir que há correlação entre a expressão de determinados antígenos e os achados na citogenética clássica, permitindo a definição da conduta médica antecipada na terapêutica do paciente.

1181 AVALIAÇÃO DA IMUNOSSENESCÊNCIA EM IDOSAS

Aragão-Santos JC, Vasconcelos ABS, Silva NL, Silva DN, Rodrigues LS, Rezende MS, Santos-Junior GBD, Corrêa CB, Grigoletto MES, Schimieguel DM

Universidade Federal de Sergipe (UFS), São Cristóvão, SE, Brasil

Objetivos: A população de idosos no Brasil tem acompanhado a tendência mundial de crescimento nas últimas décadas. Este aumento da população de idosos traz consigo diversos desafios para a sociedade e o poder público, em especial aos aspectos socioeconômicos, políticos e de saúde. A senescência resulta de danos gradativos a diversos tipos de células, tecidos e órgãos, de forma progressiva e irreversível. É um conjunto de alterações que afeta tanto as capacidades físicas como intelectuais. A imunossenescência é um dos processos associados ao envelhecimento que afeta o sistema imunológico e sua capacidade de defender o organismo frente a novos antígenos por meio da redução dos linfócitos supressores e citotóxicos que fazem parte das respostas às infecções virais. Devido à relevância do tema e às comorbidades associadas ao processo de envelhecimento, este trabalho buscou detectar a expressão de marcadores imunofenotípicos relacionados à imunossenescência em mulheres idosas. **Material e métodos:** Este trabalho foi realizado entre os meses de maio e junho de 2019 com um grupo de idosas sedentárias participantes do Projeto “Mais Viver” da Universidade Federal de Sergipe. Respeitando-se os aspectos éticos e legais, foram coletados 10 mL de sangue periférico para realização do hemograma e análises imunofenotípicas. As células mononucleares foram separadas pelo gradiente de densidade e marcadas com os anticorpos CD3FITC e CD8PE para identificação dos linfócitos T, e os anticorpos CD57APC e CD28APCcy7 para a análise de senescência. Foram também mensurados peso e estatura e foi calculado o índice de massa corporal (IMC) classificado em abaixo do peso, peso normal, sobrepeso e obesidade graus 1, 2 e 3 segundo a Organização Mundial da Saúde. **Resultados:** Setenta e sete idosas sedentárias com média de idade de 65 anos, e um índice de massa corporal médio de 28 kg/m² (67,77 ± 12,86 kg; 1,54 ± 0,06 m) indicando sobrepeso, participaram do estudo. A partir da análise imunofenotípica por citometria de fluxo foi detectado um percentual de 23% de células T citotóxicas sem expressão do marcador de coativação CD28 e apresentando o marcador de senescência CD57 (CD8⁺CD28⁻CD57⁺, fenótipo característico em quadros de imunossenescência). **Discussão:** Os resultados indicam um fenótipo imunossenesciente no grupo de mulheres idosas avaliadas no presente trabalho. Nesse sentido, o sobrepeso observado na presente amostra está associado ao quadro de *inflammaging* que é uma inflamação crônica de baixo grau que supostamente afeta de forma importante o sistema imunológico. Além disso, a ausência do CD28 impossibilita uma resposta imune eficiente a novos antígenos sendo o CD57 associado ao aumento da senescência celular direcionada a uma resposta especializada, o que possivelmente está relacionado com a piora nas respostas da população senil a vacinas. **Conclusão:** A imunossenescência está presente em mulheres idosas e sua detecção é fundamental para a adoção de medidas que possibilitem a atenuação dessa condição e melhore a resposta imunológica dessas pacientes. Como alguns fatores estão relacionados ao estilo de vida e são, portanto, modificáveis, diversas ações educativas podem ser implantadas por meio de políticas públicas para que ocorram mudanças nos seus hábitos de vida.

1182 AVALIAÇÃO DE DOENÇA RESIDUAL MÍNIMA POR CITOMETRIA DE FLUXO NO MIELOMA MÚLTIPLO

Torres TA, Frizon K

Associação Hospitalar Beneficente São Vicente de Paulo, Passo Fundo, RS, Brasil

Mieloma é uma proliferação clonal de plasmócitos na medula óssea e tem como sinônimo o termo “mieloma múltiplo” (MM). Suas principais características resultam do acúmulo de plasmócitos neoplásicos na medula óssea, causando comprometimento de sua função normal re-

fletida por anemia e/ou baixas contagens de leucócitos ou plaquetas; destruição e invasão dos ossos e áreas adjacentes ao envolvimento da medula óssea; produção e liberação de proteína monoclonal das células de mieloma na corrente sanguínea e/ou na urina; redução da função imune normal, refletida por níveis reduzidos de imunoglobulinas normais; e suscetibilidade aumentada à infecção. A monitorização da doença residual mínima (DRM) por citometria de fluxo no mieloma múltiplo possui potencial utilidade clínica. A técnica tem se mostrado confiável devido à sua alta aplicabilidade, especificidade e sensibilidade, fornecendo resultados fidedignos e estando disponível em todo o mundo a custos aceitáveis. As combinações otimizadas de marcadores imunofenotípicos são capazes de identificar plasmócitos discriminando entre normais e neoplásicos. Os plasmócitos normais caracterizam-se pela presença dos antígenos CD45, CD19, CD20, CD38, CD56-/fraco, CD138, ausência de imunoglobulinas na superfície de membrana e presença de imunoglobulina citoplasmática policlonal. Os plasmócitos do mieloma múltiplo expressam imunoglobulina citoplasmática monoclonal. A maioria dos casos não possui os marcadores pan-B CD19 e CD20, e CD45 ou o expressam com baixa intensidade, mas expressam CD38, CD79a, CD56 forte. Também podem expressar antígenos das linhagens mielóide, como CD13 e CD117. A recaída da doença se deve à presença de plasmócitos neoplásicos residuais na medula óssea, chamada de DRM. A detecção de DRM na medula óssea provou ser clinicamente significativa para a monitorização do MM após a terapia, particularmente para prever o resultado de pacientes que atingem remissão completa independentemente da terapia. Além dessa capacidade de diferenciar as células, a citometria de fluxo ainda é capaz de quantificar os plasmócitos neoplásicos e compará-los com os plasmócitos normais. Uma das vantagens em relação aos métodos moleculares para pesquisa de DRM é que consome menos tempo de execução, podendo ser utilizada na prática clínica de forma mais rotineira, além da maior aplicabilidade clínica e disponibilidade mundial. Apesar de os painéis usados apresentarem algumas diferenças entre os laboratórios, existem consensos gerais sobre os marcadores mais informativos a serem combinados para a identificação dos plasmócitos. Os requisitos mínimos para monitoramento de DRM por citometria de fluxo no MM incluem o uso de, pelo menos, combinações de anticorpo de seis cores em um único tubo, mais preferencialmente oito, estratégia baseada na avaliação simultânea da expressão de CD38, CD138 e CD45 para maximizar a inclusão de plasmócitos clonais, minimizando a contaminação por outras células, o uso de FSC e SSC para excluir *doublets* e detritos e pelo menos uma combinação que inclua simultaneamente CD38/CD45/CD19/CD56. Assim, a avaliação da DRM por citometria de fluxo no MM apresenta avaliação rápida do potencial de resposta terapêutica, parâmetro prognóstico significativo e detecção precoce de recidiva, podendo se tornar fundamental no acompanhamento de pacientes com MM.

1183 AVALIAÇÃO POR CITOMETRIA DE FLUXO DE NEUROBLASTOMA EM TECIDO HEPÁTICO - RELATO DE CASO

Cognially R^a, Kluck DAC^a, Rodrigues RFR^a, Kukla VF^a, Lima LC^b, Beltrame MP^a

^a Mantis Diagnósticos Avançados, Curitiba, PR, Brasil

^b Hospital Erasto Gaertner, Curitiba, PR, Brasil

Objetivos: Descrever caso clínico de paciente com suspeita de Neuroblastoma em tecido hepático através da imunofenotipagem por citometria de fluxo. **Material e métodos:** Relato de caso. Paciente de 4 meses de idade, gênero masculino, encaminhado a serviço de Hematopediatria. Ao exame físico encontrava-se afebril, eupneico, anictérico e com ausência de linfonodomegalias palpáveis. Hemograma inicial com hemoglobina de 8,1 g/dL, contagem de leucócitos 11.230/μL e plaquetas de 552.000/μL. Realizada ultrassonografia de abdome total, que evidenciou fígado com dimensões aumentadas devido à presença de massa sólida, apresentando vascularização periférica e central, ocupando o lobo direito do fígado e medindo 64 x 45 mm. Coletado aspirado de medula óssea para afastar possibilidade de neuroblastoma ou leucemia com infiltração hepática. **Resultados:** Imunofenotipagem da medula óssea mostrou celularidade com maturação normal. Não foram observados blastos ou células não hematopoiéticas. Devido ao aumento das lesões hepáticas foi optado por realizar biópsia, na qual foi evidenciada por citometria de fluxo 66,8% de células não hematopoié-

ticas: CD9+/+, CD56+/+, CD81+/+, GD2+ e negatividade para CD45, sugerindo infiltração por tumor sólido. Posteriormente foi confirmado por imuno-histoquímica “metástase por neuroblastoma” em tecido hepático. **Discussão:** O neuroblastoma é um tumor neuroendócrino que ocorre quase exclusivamente durante a primeira infância, sendo a doença maligna mais comum no primeiro ano de vida e corresponde a 6-10% dos tumores em crianças. Metástase pode ocorrer mais frequentemente em medula óssea, linfonodos e ossos, porém em crianças com idade inferior a 18 meses ocorre mais comumente em pele e fígado. Avaliar se há infiltração em medula óssea é fundamental para classificação de risco e a imunofenotipagem por citometria de fluxo é uma importante ferramenta. **Conclusão:** Embora a citometria de fluxo não seja utilizada rotineiramente em tecido hepático, este método se mostrou útil e célere na avaliação de infiltração por neuroblastoma.

1184 CARACTERIZAÇÃO IMUNOFENOTÍPICA DE HUMOR AQUOSO EM PACIENTE COM INFILTRAÇÃO OCULAR POR LLA-T. RELATO DE CASO E REVISÃO DE LITERATURA

Mucci AFNS^a, Junior VCAF^{b,c}, Souza GA^d, Klinger PHDS^{b,c}, Guimaraes RFC^{b,c}, Sandes AF^a, Gonçalves MV^a, Barroso RS^e, Zecchin VG^{b,c}, Silva MCA^{a,e}

^a Laboratório Fleury, Brasil

^b Instituto de Oncologia Pediátrica, Universidade Federal de São Paulo (UNIFESP), São Paulo, SP, Brasil

^c Grupo de Apoio ao Adolescente e à Criança com Câncer (GRAAC), São Paulo, SP, Brasil

^d Hospital Infantil Darcy Vargas, São Paulo, SP, Brasil

^e Divisão do Laboratório Central do Hospital de Clínicas da Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

Objetivo: Relatar um caso de Leucemia Linfoblástica-T (LLA-T) com infiltração da câmara anterior do globo ocular (GOCA) e revisão de literatura (Lit). **Método:** Paracentese da GOCA. 0,1 mL de humor aquoso (HA) foi acondicionado em 5 mL de RPMI. Imunofenotipagem por citometria de fluxo multiparamétrica (ICFM) de 8 cores (FACSCanto-II) do HA. Marcadores estudados (CD3/CD7/CD2/CD45/CD34/nTdT/CD99). Revisão de prontuário e Lit. **Resultados:** Masculino (9 anos) com diagnóstico de LLA-T (Kt = 46,XY). No 8º mês de tratamento, classificado como alto risco (BFM2009), apresentou infiltração líquor (LI) com recidiva em medula óssea (MO). Após 4ª linha de tratamento por refratariedade e 38 aplicações de quimioterapia intratecal foi inserido no protocolo de estudo TAEL e encaminhado para transplante alogênico de MO com avaliação de doença residual mínima e LI negativas por ICFM. No D+104 pós-transplante apresentou conjuntivite de olho esquerdo (OE). A reavaliação no D+111 de LI (ICFM) e MO (morfologia) não evidenciou sinais de doença. No D+113 com piora da hiperemia ocular, diminuição da acuidade visual (DAV) e RNM evidenciando hipersinal em T1 pós-contraste na topografia do n. ótico E, hipersinal na úvea/retina e “cabeça” do n. ótico. Foi avaliado pela oftamologia e submetido à paracentese GOCA E. ICFM do HA evidenciou 97% de blastos linfóides T(CD3+/CD7+/CD45+/TdT+/CD99+/+/CD34-). Assim, foi suspensa a imunossupressão sistêmica (ciclosporina) e encaminhado paciente para realização de radioterapia local (OE) para controle sintomático. **Discussão e conclusão:** LLA-T é uma doença grave de curso fatal se não rápida e adequadamente tratada. Apesar de tratamentos agressivos, a recaída em reservatórios extramedulares persiste problemática e tem graves implicações prognósticas. Até 90% dos pacientes com LLA apresentam alguma queixa ocular, e a recaída neste sítio tem implicação prognóstica adversa e requer intervenção imediata. Um alto grau de suspeição é necessário, pois seus sinais/sintomas são inespecíficos (conjuntivite, uveíte, fotofobia, DAV, entre outros) e facilmente confundidos com outras doenças. Em revisão sistemática, Yu *et al.* (2019), que incluiu 106 pacientes com LLA com infiltração da GOCA, a idade mediana foi de 10 anos, sendo 90% < 18. Só 3 casos apresentavam infiltração ao diagnóstico e apenas 3 outros foram identificados enquanto recebiam tratamento. Todos os outros (n = 100) foram identificados após término do tratamento, dos quais em 30 foi o primeiro sinal de recaída. De nota, nenhum destes tinha LLA-T. Esta infiltração parece ser bastante rara neste tipo de LLA, sendo o primeiro relato de caso, até onde conseguimos identificar, descrito por Allchin em 2014 em que utilizou técnica de biópsia com imuno-histoquímica para confirmar a linhagem de células anômalas. Diversas modalidades diagnósticas podem ser utilizadas para avaliação/confirmação de infiltração (paracentese com

análise citológica/imunofenotípica, biópsia, ultrassonografia e RNM) por LLA. A análise imunofenotípica por CF é bastante útil neste contexto porque necessita de uma amostra pequena e permite identificar de maneira específica a população anômala, mesmo quando em pequenas percentagens de forma rápida e reprodutível. Assim, pacientes com LLA apresentando quadro de inflamação ocular devem ser rapidamente avaliados para avaliação de possível recidiva. A IFCM é uma ferramenta que pode contribuir para a rápida identificação destes casos.

1185 CÉLULAS PLASMOCITÁRIAS ANÔMALAS: ANÁLISE IMUNOFENOTÍPICA DE 347 CASOS

Araújo HV^a, Bacal NS^{a,b}

^a Centro de Hematologia de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

^b Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE), São Paulo, SP, Brasil

Objetivo: As neoplasias de células plasmocitárias constituem um grupo caracterizado pela proliferação de plasmócitos clonais e pela existência de imunoglobulina clonal no soro e/ou urina. A Gamopatia Monoclonal de Significado Indeterminado (GMSI) caracteriza-se por pico monoclonal sérico inferior a 3g/dL, proteína de Bence-Jones na urina de 24 h inferior a 0,5 g/dL, plasmocitose medular inferior a 10% e ausência de envolvimento renal, óssea ou medular. A GMSI tem risco de evolução para Mieloma Múltiplo de 1%/ano. O MM representa 1% de todas as neoplasias malignas, sendo a segunda neoplasia hematológica mais comum. Como característica pode-se observar destruição óssea, falência renal e suspensão da hematopoese. Os plasmócitos normais apresentam fenótipo CD45+, CD19+, CD38+, CD27+, CD56-/fraco, CD81+, CD117-, CD138+, clg policlonal. Nesse estudo, foram avaliados 347 pacientes com células plasmocitárias anômalas detectadas por citometria de fluxo, objetivando analisar as expressões imunofenotípicas e os marcadores mais relevantes para o auxílio na identificação de populações anômalas. **Materiais e métodos:** Foram avaliados dados obtidos por citometria de fluxo de 347 pacientes, entre janeiro e dezembro de 2018. Foram incluídos pacientes com quaisquer suspeita clínica, sexo e idade, com presença de células plasmocitárias anômalas. Para análise imunofenotípica, utilizou-se material de medula óssea. Após quantificação de células, utilizou-se 10-6 células por amostra. As amostras foram marcadas utilizando os seguintes anticorpos: CD56 ECD, CD138 PC5.5, CD27 PC7, CD117 APC, CD19 A700, CD38 A750, CD81 PB e CD45 Krome Orange, além de marcação intracitoplasmática de cyLambda FITC e cyKappa PE. Após análise dos dados e correlação com informações clínicas, diagnósticas e outros resultados laboratoriais, os pacientes foram classificados em três grupos: Gamopatia Monoclonal de Significado Indeterminado, Mieloma Múltiplo e Doença Residual Mínima (DRM) de Mieloma Múltiplo. **Resultados:** Foram avaliados 347 pacientes com mediana de idade de 70 anos, dos quais 55,9% foram mulheres. Da coorte total, 60% dos pacientes foram classificados como GMSI, 27% como MM e 13% como DRM de MM. No que diz respeito às alterações dos marcadores, observou-se a seguinte frequência: CD19 – 83,9%, CD81 – 66,0%, CD56 – 65,4%, CD27 – 51,6%, CD117 – 32,0%, CD45 – 15,3%, CD38 – 3,7%, CD138 – 1,4%. **Discussão:** No contexto atual em que a pesquisa de DRM em Mieloma Múltiplo vem sendo crucial para a sobrevivência do paciente e conduta médica, a escolha de um painel de anticorpos eficiente, que possibilite a separação de pequenos clones residuais de células plasmocitárias anômalas, é de extrema importância. **Conclusão:** De acordo com o painel utilizado nesse estudo os marcadores discriminantes mais eficientes foram o CD19, CD81 e o CD56.

1186 DEFICIÊNCIA DE MHC CLASSE II. RELATO DE CASO, ACHADOS IMUNOFENOTÍPICOS E BREVE REVISÃO DA LITERATURA

Santos HHM^a, Santos AS^a, Santos LS^a, Santos MM^a, Barreto TMM^b

^a Laboratório de Imunologia, Instituto de Ciências da Saúde (ICS), Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, BA, Brasil

^b Hospital Universitário Professor Edgard Santos (HUPES), Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, BA, Brasil

Introdução: A deficiência de antígenos do Complexo Principal de Histocompatibilidade classe II (MHC classe II) é uma desordem de imunodeficiência primária rara, com menos de 200 casos relatados no mundo, sendo desconhecido casos publicados no Brasil. O objetivo deste trabalho é relatar a identificação de caso na rotina do laboratório

de citometria de fluxo. **Caso clínico:** Paciente masculino, 18 meses, genitores consanguíneos (primos de 2º grau), internado por febre prolongada, anemia com necessidade transfusional, diarreia, dores generalizadas e lesões cutâneas. Ausência de adenomegalias ou visceromegalias. Vinha há 1 mês em uso de antibióticos, sem melhora, sendo transferido para melhor investigação. Um aspirado de medula óssea foi enviado para afastar leucemia aguda. No estudo imunofenotípico o marcador HLA-DR foi negativo em todas as populações que constitucionalmente o expressam (precursores mielóides, monócitos, células dendríticas e linfócitos B). As células T apresentavam relação CD4/CD8 diminuída e aumento de células TCR gamma-delta positivas (26%). Não foram encontrados precursores B e plasmócitos. O diagnóstico de imunodeficiência primária por deficiência de MHC classe II foi sugerido. A análise de linfócitos de sangue periférico identificou diminuição absoluta de linfócitos B e linfócitos T CD4+ e relação CD4/CD8 de 0,19 (VR-1,34 -3,04). As células B eram 99% *naive* e menos de 1% de memória, sendo que as células B de memória *switched* totalizaram 0,02% dos linfócitos totais. Paciente foi manejado com antibióticos, corticosteróides sistêmicos e infusão de imunoglobulinas, evoluindo com melhora clínica. Segue em acompanhamento ambulatorial, programação de infusão de imunoglobulina mensal e antibióticos profiláticos. Aguardando resultado do teste genético e em discussão das alternativas de transplante de medula (não aparentado x haploidentico) por se tratar de filho único. **Discussão:** A deficiência de MHC classe II ou síndrome de linfócitos desnudos é uma imunodeficiência combinada rara, com casos descritos no Mediterrâneo, Oriente Médio e Ásia. Caracteriza-se por infecções virais, bacterianas e fúngicas recorrentes. Há também aumento de eventos autoimunes. Laboratorialmente há ausência parcial ou completa dos antígenos leucocitários humanos (HLA)-DR, -DP e DQ e ausência de resposta celular e humoral, especialmente células CD4+, que é a causa para suscetibilidade a infecções. A herança é autossômica recessiva, determinada por mutações em um dos genes regulatórios CIITA, RFXANK, RFXAP e RFX5, dependendo da região geográfica, e acomete frequentemente crianças de casamentos consanguíneos. O prognóstico é reservado, associado à baixa expectativa de vida, com óbito ainda na infância. O transplante alogênico é a única opção curativa, porém com maior taxa de complicações e óbito. O tratamento de suporte, com antibióticos profiláticos, reposição de imunoglobulinas e nutrição adequada pode diminuir os eventos infecciosos e aumentar a sobrevivência, mas não impede o surgimento de disfunções orgânicas, especialmente a hepática. **Conclusão:** Este relato é importante para alertar da existência deste tipo raro de imunodeficiência no país. O laboratório clínico de citometria de fluxo pode ter papel fundamental na identificação e caracterização de novos casos mesmo na ausência do teste genético definitivo.

1187 DETECÇÃO DE CLONALIDADE DOS LINFÓCITOS T POR CITOMETRIA DE FLUXO

Bento LC^a, Correia RP^a, Millan NM^a, Sousa FA^a, Vaz AC^a, Schimidell D^a, Pedro EC^a, Passaro MS^a, Barroso RS^a, Bacal NS^{a,b}

^a Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE), São Paulo, SP, Brasil

^b Centro de Hematologia de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

Objetivo: O diagnóstico das doenças linfoproliferativas crônicas T (DLPC-T) exige o emprego de diferentes metodologias. A análise do repertório das famílias da região variável da cadeia beta do receptor de células T (TCR-Vβ) por citometria de fluxo (CF) tem se mostrado um método sensível para detecção de clonalidade de células T, uma vez que o estudo imunofenotípico convencional não possui um marcador específico de clonalidade. Neste estudo, demonstramos o desempenho do *IOtest Beta Mark TCR-Vβ Repertoire Kit* (Beckman Coulter – BC) na detecção de clonalidade dos linfócitos T por CF. **Materiais e métodos:** No período de fevereiro/2018 a abril/2019 estudamos a clonalidade T por CF de 52 casos com suspeita clínica de DLPC-T, sendo 14 amostras de medula óssea (MO), 30 de sangue periférico (SP), 5 linfonodos (LN) e 3 líquidos cefalorraquidianos (LCR). As amostras foram marcadas em uma configuração de 10-cores com CD3-PC5.5/CD8-ECD/CD4-AF450 em conjunto com os 24 anticorpos monoclonais do *IOtest Beta Mark TCR-Vβ Repertoire Kit*, adquiridas no Navios Flow Cytometer (BC) e analisadas no software Kaluza (BC). Outros marcadores linfoides T (CD2, CD5 e CD7) foram adicionados no tubo de marcação quando necessário e com a finalidade de aumentar a especifici-

dade e sensibilidade do teste. **Resultados:** Neste estudo, foi possível detectar monoclonalidade de uma única família TCR-V β em 21 amostras (sendo 1 amostra de LN e 2 de LCR), e em 8 amostras a ausência de expressão de qualquer família TCR-V β , também foi sugestivo de monoclonalidade. Em 2 amostras detectamos mais de uma família aumentada sugerindo padrão oligoclonal do repertório TCR-V β . Em 21 amostras (sendo 4 LN e 1 de LCR) os linfócitos T foram considerados policlonais com distribuição normal das famílias TCR-V β . Para avaliar a capacidade do teste em detectar baixas frequências de população anômala, realizamos um ensaio de diluição seriada partindo de uma amostra com 60,7% de população linfóide T com fenótipo anômalo e monoclonal para a família TCR-V β 1. Neste ensaio, o limite de detecção do nosso teste foi de 0,05% (138 eventos em um total de 280.561). **Discussão:** Atualmente, a detecção de clonalidade T não se limita apenas a técnicas moleculares e aos laboratórios de pesquisa que demandam maior tempo de liberação. A análise por CF é capaz de avaliar 70% da família TCR-V β e demonstrou ser uma técnica rápida, de fácil execução e com curto prazo de liberação. A detecção da família TCR-V β monoclonal em baixas frequências também pode indicar a utilização deste teste na pesquisa de doença residual mínima em DLPC-T. **Conclusão:** A análise do repertório TCR-V β por CF se mostrou uma técnica rápida, acurada e sensível no auxílio diagnóstico e no monitoramento laboratorial das DLPC-T.

1188 DETECÇÃO DE RECAÍDA DE LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA NO SNC ATRAVÉS DE ANÁLISE IMUNOFENOTÍPICA DO LIQUOR: RELATO DE CASO

Santos B, Edel J, Monteiro L, Lazaro L, Príncipe M, Ferreira R

DASA - Diagnósticos da América AS, Brasil

Relatamos o caso de um paciente com diagnóstico prévio de Leucemia Promielocítica Aguda (LPA) por citologia, imunofenotipagem (IFT) e estudo molecular que recaí 1 ano após com infiltração no SNC. Evidenciamos a utilidade da Citometria de fluxo como adjuvante ao estudo de citologia oncológica para ratificar a origem da célula neoplásica, especialmente no caso da recaída isolada extra-medular. Foi utilizado painel preconizado pelo laboratório DASA[®] (painel até 8 cores dos anticorpos: CD3, CD4, CD8, CD11b, CD13, CD14, CD15, CD33, CD34, CD36, CD38, CD56, CD64, CD71, CD79a, CD117, HLA-DR e MPO) para avaliação de doenças agudas de linhagem mielóide. Análise com o software Infinicyt[®] (Cytogonos). Foram comparados os padrões de plotagem ao diagnóstico e das células evidenciadas no LCR, assim como a correlação morfológica. Paciente de 21 anos, sexo masculino, admitido com quadro de pancitopenia e manifestações hemorrágicas (inclusive no SNC). Avaliação da Medula óssea (MO) no diagnóstico evidenciava infiltração maciça por promielócitos aberrantes. Fenotipagem MO: 60% de blastos (promielócitos aberrantes) com marcação: CD13+, CD33+, CD117+, MPO+, CD56+ (aberrante), CD34 parcial; negatividade para CD15 e HLA-DR. Estudo molecular: PML-RARA t(15;17): positivo. Cariótipo: 46XY t(15;17) (q24;q21) [11] / 46XY [9]. Ao final do tratamento de indução com Idarubicina e Ácido All-transretinoico, em reavaliação da MO, encontrava-se em remissão hematológica, citogenética e molecular. Um ano após o diagnóstico, evolui com cefaleia intensa. Hemograma normal. Exame de imagem do crânio sem alterações agudas. Avaliação morfológica/citopatológica do liquor evidencia infiltração por blastos. Foi evidenciada infiltração do liquor por células mielóides com expressão fenotípica semelhante à dos blastos no diagnóstico (CD15-, CD33+,, CD34-, CD45+, CD56+, CD117+, HLA-DR-; padrão característico de promielócitos aberrantes). Reavaliação da MO na mesma ocasião foi negativa (DRM por IFT negativa, assim como biologia molecular e FISH para t(15;17) negativos na MO). A doença extramedular é uma complicação rara nas Leucemias Agudas Promielocíticas e os sítios mais frequentemente atingidos são a pele e o SNC. A infiltração blástica do SNC, raramente observada ao diagnóstico, é estimada de ocorrer em 3% a 5% dos pacientes recaídos. A ocorrência de hemorragias cerebrais no curso da doença aumenta este risco. Discutido também é o papel do ATRA, que ao estimular a diferenciação dos promielócitos anômalos, promove aumento na expressão de moléculas de adesão, assim favorecendo a passagem celular pela barreira hemato-encefálica. O caso aqui relatado teve histórico de risco – hemorragia intracraniana no diagnóstico – e veio apresentar cefaleia intensa com hipótese diagnóstica de recaída em SNC (isolada, sem recaída MO

concomitante). A punção líquórica encaminhada para estudo citológico revelou a presença de células mononucleares atípicas sugestivas de blastos. A IFT revelou perfil compatível com infiltração por promielócitos aberrantes, com fenótipo similar aos blastos medulares do diagnóstico. A imunofenotipagem associada à análise citológica se mostrou técnica eficaz para a confirmação diagnóstica. Tanto no presente caso (LPA) quanto em outras infiltrações, a avaliação imunofenotípica do liquor deve ser considerada uma importante ferramenta diagnóstica auxiliar.

1189 DIAGNÓSTICO E MONITORAMENTO POR IMUNOFENOTIPAGEM DA HEMOGLOBINÚRIA PAROXÍSTICA NOTURNA (HPN) E CORRELAÇÃO COM A EFICÁCIA DO TRATAMENTO COM ECUUZUMAB

Silva FRM^a, Pereira EP^b, Severo FC^b, Costa AC^b, Souza APS^b, Khouri AG^b, Pinheiro YV^a, Quixabeira VBL^a, Leite V^a, Silveira AA^b

^a Instituto Goiano de Oncologia e Hematologia (INGOH), Goiânia, GO, Brasil

^b Faculdade Estácio de Sá de Goiás (FESGO), Goiânia, GO, Brasil

Introdução: A hemoglobinúria paroxística noturna é uma doença rara, ocasionada por uma mutação somática do gene fosfatidilinositolglicano classe A (PIG-A), localizado no cromossomo X. O gene PIG-A é responsável pela codificação da proteína âncora glicosil-fosfatidil-inositol(GPI), responsável pela fixação de múltiplas proteínas de membrana. A deficiência de GPI produz carência de proteínas reguladoras do Sistema Complemento (SC) ligada à superfície das células, nos clones dos eritrócitos e leucócitos tornando-os susceptíveis a hemólise intravascular. Os sintomas são: hemoglobinúria, icterícia, anemia com sinais de fadiga, disfunção da musculatura lisa, letargia, dor abdominal e cefaleia crônica. **Objetivo:** O objetivo desse estudo foi verificar o diagnóstico da HPN por imunofenotipagem por citometria de fluxo, em relação a especificidade e sensibilidade, na detecção do clone HPN; bem como realizar uma correlação da eficácia do tratamento com anticorpo monoclonal eculizumab e o monitoramento do tratamento por imunofenotipagem e exames laboratoriais. **Metodologia:** Para a realização da imunofenotipagem por citometria de fluxo foi utilizada a marcação com anticorpos monoclonais específicos às linhagens granulocítica, monocítica e hemácias; em seguida observa-se expressão, ausência ou deficiência das moléculas ancoradas ao GPI (CD24, CD64, CD14, CD16, CD33 CD55, CD59 e FLAER). A avaliação foi realizada no período de janeiro de 2010 a dezembro de 2017 no INGOH. Os resultados foram obtidos correlacionando os dados: idade, gênero, indicação clínica, resultados de exames laboratoriais de controle e monitoramento do clone por imunofenotipagem. **Resultados:** 31 pacientes foram avaliados por imunofenotipagem para pesquisa de clone HPN, 19 pacientes do sexo masculino e 12 do sexo feminino. Com relação ao monitoramento do tratamento com o eculizumab, observou-se uma redução do quadro hemolítico, com melhoras dos sintomas e com a estabilização dos resultados dos testes de hemólise. Dos 31 pacientes diagnosticados com HPN, 5 pacientes com dados completos foram mais bem analisados frente aos diagnósticos e ao tratamento. A avaliação da imunofenotipagem é mensurada pela porcentagem dos marcadores expressos nos clones selecionados pela técnica. A maior diferença observada foi para os marcadores de eritrócitos. No paciente 1, houve uma melhora significativa nos primeiros anos do tratamento com um aumento do número relativo para os marcadores dos eritrócitos CD55/CD59 de 22,7% para 71,7%. Nos anos subsequentes a porcentagem dos marcadores foi estabilizada na porcentagem aproximada de 70%. Para o paciente 3, com uma deficiência de expressão menor, a variação média do número relativo de marcadores para eritrócitos CD55/CD59 foi de 0,5% no primeiro ano de tratamento para 5,2%, exame mais recente. No paciente 5 a variação média do número relativo de marcadores para eritrócitos CD55/CD59 saltou de 12,6% para 73,1%, em seguida esse valor manteve-se constante. Os pacientes 2 e 4 não foram avaliados para eritrócitos tipo III, e por esse motivo não houve tanta diferença nos eritrócitos mesmo com o uso do eculizumab, entretanto os níveis bioquímicos de hemólise mantiveram se estabilizados. **Conclusão:** Este estudo demonstrou que o uso do eculizumab, controla a não progressão clonal. O diagnóstico da HPN ainda é impreciso e raro, portanto a imunofenotipagem por citometria de fluxo é considerada padrão-ouro na investigação da doença.

1190 DISCRIMINATING CHRONIC MYELOMONOCYTIC LEUKEMIA AND MYELODYSPLASTIC SYNDROMES BY IMMUNOPHENOTYPING OF BONE MARROW MYELOID PRECURSORS

Marques JRV^a, Cunha Fp^b, Oliveira GB^a, Lorand-Metze I^a

^a Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brazil

^b Laboratório Sollutio, Campinas, SP, Brazil

Introduction: Subtypes of monocytes have been recently described in detail by the French Study Group (Selimoglu-Buet et al 2017) by their expression of CD14 and CD16: MO1: CD14+/CD16+; MO2: CD14+/CD16+; and MO3: CD14-/CD16+. This methodology was used to describe the differences between chronic myelomonocytic leukemia (CMML) and reactive monocytosis. Besides, it has been found that some cases of myelodysplastic syndromes (MDS) present monocytosis in bone marrow (BM) without peripheral absolute monocytosis. These cases have been called Oligomonocytic Chronic Leukemia, as they present the same molecular markers as CMML and are considered as early phase of this disorder. Distinction from MDS is sometimes difficult. Our aim was to study the phenotypic features of myelomonocytic precursors and CD34⁺ progenitors in CMML and compare them with normal BM and findings in MDS. **Methods:** CMML diagnosed by WHO 2016 criteria entering our laboratory during 2018 were compared with cases with low risk MDS and increased percentage (not absolute) of peripheral monocytes. Cases of peripheral cytopenias with a normal BM immunophenotyping were used as controls. An 8-color platform according to Euroflow was used. At least 300,000 cells were acquired. Monocytes were defined as SSC^{int}/CD45^{low}/HLA-DR+, and the subtypes were defined in the CD16/CD14 plot. We also separated “promonocytes” (CD14-/CD16- in the monocyte gate). **Results:** We examined 13 controls (age 25-79 years), 25 cases of MDS (age 27-88 years), and 17 CMMLs (age 55-90 years). Immunophenotypic features: SSC of granulocytic precursors was < 6 in 10 MDS and in 8 LMMCs. At least 1 abnormal antigen expression was observed in 11/23 MDSs and 11/17 CMMLs. Total monocytes were increased in all CMMLs (median 20.7%) but also in 15 cases of MDS (median 7.2%). B-cell progenitors were decreased in both MDS and CMML. Myeloid CD34⁺ progenitors were > 2% in 5 cases of CMML but in none of the MDS cases. In MDS, there was a positive correlation between these cells and promonocytes and a negative one with MO1. In CMML, no correlation was found. Subset distribution: **Controls:** % total monocytes: 3.8% (2.4-6.3); promonocytes 41% (15-52); MO1 56% (44-80); [MO1 + promonocytes 97% (89-99)]; MO2 0.9% (0.4-2.0); MO3 1.7% (0.7-3.5). **MDS:** % total monocytes: 7.9% (5.4-10.9); promonocytes 23.8% (4.2-46.2); MO1 63.6% (49-79); [MO1 + promonocytes 92.5% (77-98)]; MO2 2.3% (0.8-10.7); MO3 3.2% (0.5-14.8). **CMML:** % total monocytes: 20.7% (7.9-59.9); promonocytes 17.5% (4-68); MO1 70.3% (24-86); [MO1 + promonocytes: 96.2% (70-100)]; MO2 2.7% (0.4-16); MO3 0.4% (0.1-16.8). Compared to controls, a significant decrease was found in promonocytes (but not in MO1) both in MDS and in CMML, as well as an increase in MO2. MO3 was increased only in MDS. **Discussion:** Adding “promonocytes” helped further to discriminate clonal disorders from controls. We found that the number of more immature forms decreases and MO1 increases in both clonal disorders compared to controls. MO2 increased only in MDS with BM monocytosis. So, immunophenotyping of BM in CMML discloses several abnormalities similar to MDS. MDS with BM monocytosis presents a “shift to the left” which correlates with the number of myeloid progenitors. This is in keeping with the hypothesis that BM monocytosis represents a sign of disease progression, as has also been described by some authors that observed a more frequent leukemic transformation of these patients.

1191 ESTABLISHING A FLOW CYTOMETRY INDEX TO CHARACTERIZE A MICROGRANULAR VARIANT OF ACUTE PROMYELOCITIC LEUKEMIA (APLV)

Teotonio RL, Nascimento MCAD, Conte JE, Severino AR, Bertolucci CM, Ikoma-Colturato MRV

Hospital Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brazil

Introduction: APLv has different clinical and morphological features than macrogranular APL, although both of them have the same molecular lesion (PML-RARa) and similar immunophenotype profile,

except by the lower internal complexity of the APLv in a flow cytometry setting, evaluated by the side scatter of the blast cells. But the evaluation of hipogranularity is subjective and may vary according to parameters used by each analyst. **Aim:** To establish an objective and useful granularity index to more precisely characterize the APLv by flow cytometry (MFC). **Material and methods:** MFC data files of 39 patients with WHO diagnostic criteria for APL, from January 2013 to June 2019, were re-analysed, considering the SSC mean of the blast cells compared to the SSC mean of the lymphocytes, and a ratio was calculated using this function of Infinicyt software (Cytognos)TM to establish a cut-off (index) for microgranularity. The gates' selections were made in two dot-plots after the exclusion of doublets and debris using the software CD45xSSC, where lymphocytes were defined as CD45^{high}/SSC^{low}, and another CD33xSSC, defining blast cells as CD33^{high} x SSC and CD45^{dim} using a back gating. Normal monocytes and granulocytes were excluded from gate by negativity of CD36^{high} and CD15^{high} respectively. All these samples had been performed according to the Euroflow protocol, with no variations in flow cytometer settings. In parallel, bone marrow or peripheral blood smears corresponding to the same samples analyzed by MFC were revised by two Hematologists for morphological classification of APLs. To verify the applicability of the MFC index to differentiate APL from APLv we compared its results with the morphology features. **Results:** We observed that the MFC index of 4.5 distinguished 84.6% (6/39) between APL and APLv, exception for 3 APLv > 4.5 and 3 APL < 4.5. Retrospectively comparing the results of subjective MFC analysis with morphology, only 30 samples (76.9%) were concordant. There were 13 MFC files with index < 4.5, of which only 9 (69.23%) were in agreement with the subjective microgranularity evaluation by MFC. **Conclusion:** MFC index is useful to classify most APL cases. The discordant results can be explained by the heterogeneity of cellular granularity of APL samples. This means that in the morphological analysis, cell populations with higher granularity were observed in APLv samples, just as some macrogranular APL samples presented less granular cells. Therefore, the proposed index can reduce the subjectivity of MFC analyses by being a numerical parameter. The applicability of this index can be better evaluated by increasing the number of samples and files evaluated.

1192 FREQUÊNCIA DE POSITIVIDADE PARA HEMOGLOBINÚRIA PAROXÍSTICA NOTURNA EM UM LABORATÓRIO CLÍNICO DA GRANDE FLORIANÓPOLIS NO ANO DE 2018

Silva JP, Sousa I, Franzon CMR, Lopes ACW, Wagner AOM

Laboratório Médico Santa Luzia, Florianópolis, SC, Brasil

Introdução e objetivo: A Hemoglobinúria Paroxística Noturna (HPN) é uma anemia hemolítica crônica adquirida rara, de curso clínico variável causada por uma mutação somática adquirida na célula-tronco hematopoiética, no gene PIG-A, que codifica a proteína glicosilfosfatidilinositol (GPI). Essa proteína se liga à membrana das células hematopoiéticas (hemácias, neutrófilos, monócitos), sendo responsável pela ancoragem de várias outras proteínas à superfície das células. Entre as proteínas ancoradas pela GPI estão algumas que protegem as células hematopoiéticas da lise pelo complemento como o CD59 e CD55. Sua incidência estimada é de 1,3 novo caso em um milhão de indivíduos por ano, no entanto há necessidade de estudos para determinar a incidência dessa doença. O presente trabalho tem como objetivo investigar a frequência de positividade para em pacientes submetidos à pesquisa de HPN em um laboratório privado da Grande Florianópolis no ano de 2018. **Metodologia:** Foi realizado um levantamento retrospectivo de amostras de sangue periférico submetidas à pesquisa de HPN por citometria de fluxo, no período de 01/01/2018 a 31/12/2018, em um Laboratório Privado na região da Grande Florianópolis-SC. Os anticorpos monoclonais utilizados foram FLAER FITC, CD157 PE, CD33 APC, CD15V450 e CD45V500 para a investigação em leucócitos e CD59, CD235a e CD45 para investigação em hemácias. Foram consideradas positivas todas as amostras que apresentaram pelo menos duas linhagens celulares com deficiência da expressão antigênica para FLAER, CD157 (neutrófilos e monócitos) ou CD59 (hemácias). **Resultados e discussão:** No ano de 2018, foram recebidas pelo laboratório um total de 75 amostras de sangue periférico com indicação clínica de suspeita para HPN. Destas, em apenas quatro (5,3%) foram observados clones da HPN, sendo que em três destas amostras foram detectadas raras células correspondentes a clones HPN (clones HPN em granulócitos, monócitos e hemácias menores que 1% da celularidade total). Em

apenas um paciente foram detectados clones HPN de maior proporção (granulócitos 74%; monócitos 72%; hemácias 1,4%). Considerando-se que os dados partiram das solicitações médicas em um laboratório clínico, podemos considerar que a probabilidade pré-teste era superior à da população em geral não selecionada. **Conclusão:** O diagnóstico de HPN permanece um grande desafio, e sua incidência ainda não é totalmente conhecida, pois há pouca informação epidemiológica devido a sua raridade e também por sua dificuldade diagnóstica. Vê-se necessário continuar o monitoramento dos casos desta doença para que futuramente seja possível traçarmos um perfil de prevalência dessa população.

1193 IMMUNOPHENOTYPIC CHANGES IN ACUTE MYELOID LEUKEMIA AFTER TREATMENT AND IMPACT ON DETECTION OF MINIMUM RESIDUAL DISEASES

Pereira PCM, Conte JE, Severino AR, Bertolucci CM, Ikoma-Colturato MRV

Hospital Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brazil

Introduction: Minimal residual disease (MRD) in Acute Myeloid Leukemia (AML) has a variable sensitivity, influenced by many factors. One is the immunophenotype instability during treatment. Antigen expression gains or losses may occur during AML treatment, which directly impacts in MRD detection. **Aim:** To identify the most frequent phenotypic changes observed during AML MRD assessments. **Material and methods:** Results of 119 samples from 72 patients, who underwent diagnostic and MRD examinations in our laboratory, were collected using the flow cytometry laboratory database. Diagnostic and MRD samples were acquired on the same flow cytometer, and the same antibodies were used at both times, combined with the same fluorochromes, which eliminates variations. It should be noted that the flow cytometer settings are kept stable by the use of calibration protocols, fluorescence peak adjustments and compensation recommended by the Euroflow consortium. The evaluation time interval was from 01/2013 to 12/2018. All monoclonal markers that showed differences between the diagnosis and the moment of evaluation of the MRD were computed. The results were also evaluated considering the age of the patients: 0 to 20 years, 21 to 40 years, 41 to 60 years and over 60 years. **Results:** Thirty monoclonal markers (MoM) were used both in diagnostic and in MRD samples. Those which most often had loss of expression in MRD samples were: cyMPO (69.56%), CD71 (64.44%), CD36 (52.63%), CD64 (48.71%), CD123 (45.83%), CD38 (37.0%), CD56+ (34.78%), CD15 (33.33%), CD19 (45.15%). The most stable markers were HLA-DR, CD117, CD34, CD33, with losses in less than 10% of samples, followed by CD7 and CD13, with losses in 21 and 20% of the samples respectively. There were no losses or gains in the CD45 expression. Regarding the age, the greatest expression losses were: cyMPO (21.73% and 19.56% from 21 to 40 and from 41 to 60 years, respectively); from 21 to 40 years CD19 (23%) and CD123 (25%); from 41 to 60 years CD36 (15.78%), CD56 (17.4%), CD15 (21.5%), CD64 (20.51%), and CD38 (22.22%); and CD71 (24.44%) above 60 years. The markers whose expression increased in MRD samples were: CD34 (7.7%), CD38 (7.7%), CD64 (7.7%), CD7 (5.76%), CD15 (5.76%), CD19 (5.76%), CD56 (5.76%), HLA-DR (5.76%). **Discussion:** Although there are some MoM considered important for MRD detection, such as CD15, CD19, CD38, CD56, CD64, and CD123, they showed substantial losses post-therapy, which can make it difficult to assess MRD. cyMPO, CD71 and CD36 proved inadequate for MRD evaluation, because they were lost in more than 50% of the samples. On the other hand, CD7, CD13, CD33, CD34, CD45, CD117 and HLA-DR are useful for MRD assessment for their stability. The age group that showed greater loss of marker expressions was between 41 and 60 years old; the causes deserve to be investigated. The expression gains of these markers were not so important; the losses were more relevant.

1194 IMPORTÂNCIA DA IMUNOFENOTIPAGEM POR CITOMETRIA DE FLUXO NO DIAGNÓSTICO DE NEOPLASIAS DE CÉLULAS DENDRÍTICAS PLASMOCITOIDES BLÁSTICAS - RELATO DE CASO

Silva LO, Santos-Pirath IM, Cardoso CC, Durigon GS, Paula ACFC, Silva MD, Speer DB, Costa HZ, Ribeiro AAB, Santos-Silva MC

Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC), Florianópolis, SC, Brasil

Objetivo: O objetivo deste trabalho é relatar um caso de neoplasia de células dendríticas plasmocitoides blásticas (NCDPB) e demonstrar a

importância da imunofenotipagem por citometria de fluxo (CF) para o diagnóstico. **Materiais e métodos:** Os dados clínicos do paciente foram coletados nos registros do prontuário e os resultados dos exames laboratoriais foram obtidos na Unidade de Laboratório de Análises Clínicas de um Hospital Universitário. **Resultados:** Paciente de 58 anos, sexo masculino, ex-etilista, ex-tabagista, que ao procurar assistência médica apresentava lesões eritematosas violáceas assintomáticas disseminadas em tronco anterior e posterior, face e membros superiores e acometimento esplênico. No hemograma, observou-se uma pancitopenia (Hb 9,5 g/dL, 2.340/mm³ de leucócitos, 9.500/mm³ de plaquetas) e foi realizado a imunofenotipagem por CF em amostras de pele, medula óssea (MO) e liquor. No aspirado de lesão de pele, foram observadas 91,6% de células dendríticas plasmocitoides (CD123++ homogêneo, HLA-DR++ homogêneo, CD45+, CD4+ e CD45RA+) com alterações fenotípicas (CD56++, NG2 (7.1)+ e Bcl-2+). Detectou-se também 1,7% e 3,2% dessas células em amostra de MO e de liquor, respectivamente. Assim, o diagnóstico de NCDPB com envolvimento de múltiplos sítios foi estabelecido e iniciou-se o tratamento com Hyper-CVAD, protocolo utilizado na leucemia linfoblástica aguda (LLA), que apresentou boa resposta inicial. **Discussão:** A NCDPB é uma neoplasia hematológica rara e agressiva derivada dos precursores de células dendríticas plasmocitoides. Acomete principalmente homens idosos, como no caso relatado, mas pode ocorrer em qualquer idade. É comum apresentar envolvimento de múltiplos sítios; desses, os mais frequentes são: a pele, a MO, o sangue periférico, os gânglios linfáticos, o sistema nervoso central (SNC) e o baço. No caso relatado, o paciente apresentou envolvimento da MO, da pele e do SNC. A imunofenotipagem por CF apresentou um papel imprescindível no diagnóstico dessa doença, visto que foi capaz de demonstrar o fenótipo das células neoplásicas e a expressão de marcadores aberrantes como o NG2 (7.1), que é frequente nessa doença e sugere a presença de alterações genéticas envolvendo gene MLL (11q23). Além disso, pode auxiliar na escolha terapêutica pois foi observado que o tratamento de indução utilizado na LLA é mais efetivo do que aqueles utilizados nas neoplasias mielóides. A importância da utilização desse método se estendeu ao fato de que o envolvimento da MO e do SNC no momento do diagnóstico era pequeno e de difícil identificação e a detecção de células neoplásicas no liquor foi um fator de grande relevância, pois, sem o tratamento adequado, ocorrem altas taxas de recaídas após resposta inicial ao tratamento. **Conclusões:** O caso relatado demonstra o papel fundamental da imunofenotipagem por CF no diagnóstico da NCDPB, pois auxilia na determinação do prognóstico da doença e do tratamento terapêutico adequado a ser adotado.

1195 IMUNOFENOTIPAGEM COMO FERRAMENTA DIAGNÓSTICA DE LEUCEMIA MONOBLÁSTICA AGUDA EM LIQUIDO PLEURAL, UM RELATO DE CASO

Torel ACM, Queiroz VC, Bruniera FR, Aguiar BV, Sgnotto FR, Maciel FVR, Herculani JEC, Azevedo JC, Silva MCA, Barroso RS

Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A incidência do acometimento extramedular por Leucemia Mielóide Aguda (LMA) é subestimada e relatada em 2-9% dos pacientes com diagnóstico de LMA, sendo os principais locais de acometimento tecidos moles, ossos, sistema nervoso central e linfonodos. O acometimento pleural por LMA é raramente documentado. **Relato de caso:** MBB, 46 anos, feminina. Em abril/2018 apresentou quadro de edema facial, dispneia e emagrecimento. Uma tomografia de tórax (CTC) evidenciou massa mediastinal, cuja biópsia foi compatível com Linfoma de Alto Grau Não Classificável CD20 negativo ECIV (IQQ: marcadores positivos: Ki67, CD45, BCL2, BCL6 focal e MPO focal; marcadores negativos: CD3, CD30, CD20, CD10). Recebeu 6 ciclos de CHOP, entre julho e outubro/2018. PET-CT pós-tratamento foi compatível com remissão completa (Deauville 1). Em abril/2019 foi admitida por dispneia e dor torácica há 15 dias, associada a emagrecimento de 5 kg neste período. Uma nova CTC evidenciou nova massa mediastinal e derrame pleural à direita. A análise do líquido pleural evidenciou 58.200 células/mm³, com 90% das células morfológica-mente sugestivas de neoplasia linfóide, mas a imunofenotipagem deste material melhor caracterizou estas células como sendo imaturas e de linhagem monocítica (CD45++, CD4+, CD38++, HLA-DR+, CD34 parcial, CD33+++, CD64+, CD123+, CD11b parcial). A avaliação

da medula óssea identificou 82,1% de células com imunofenótipo semelhante, compatível com o diagnóstico Leucemia Monoblástica Aguda. A avaliação citogenética apresentou um cariótipo hiperdiploide complexo e uma biópsia da massa mediastinal foi compatível com sarcoma mielóide. A paciente evoluiu com lise tumoral e óbito, em vigência de tratamento quimioterápico de indução. **Discussão:** A imunofenotipagem por citometria de fluxo (IFCF) é uma dos pilares, juntamente com a avaliação citogenética e molecular, para a avaliação diagnóstica das LMAs. Pode ser realizada em material de sangue periférico, medula óssea, líquidos cavitários, ou mesmo tumores sólidos desde que as células estejam desagregadas e ressuspensas em meio líquido. Derrames pleurais nestes pacientes podem ocorrer tanto ao diagnóstico de LMA como em doença avançada ou recaída. Sua principal causa é infecção, seguida de acometimento neoplásico. A avaliação citológica de uma coorte de 4.684 casos de derrame pleural identificou somente 1 caso de LMA. Na Universidade de Taiwan, apenas três casos de derrame pleural secundário a LMA foram relatados no período de dois anos e todos com evidência de diferenciação monocítica. Um estudo retrospectivo conduzido por Faiz *et al.*, avaliou 111 pacientes com diagnóstico de LMA ou síndrome mielodisplásica, portadores de derrame pleural. Desses pacientes, 47% apresentavam infecção e 36% infiltração leucêmica. Neste estudo, a citometria de fluxo auxiliou no diagnóstico de acometimento por leucemia aguda em 20 de 22 casos analisados. **Conclusão:** A IFCF apresenta-se como ferramenta com maior sensibilidade e rapidez em relação a métodos como citologia oncológica e biópsia, e pode ser utilizada como método diagnóstico também em casos de acometimento extramedular por LMA. O acometimento pleural por LMA é subestimado e raramente documentado. Neste caso, a paciente apresentou quadro inicial de derrame pleural, possibilitando diagnóstico mais precoce através da imunofenotipagem desse material.

1196 IMUNOFENOTIPAGEM POR CITOMETRIA DE FLUXO EM PORTADORES DE LEUCEMIAS AGUDAS EM PACIENTES ATENDIDOS NO HEMONORTE

Oliveira TMM^a, Silva ASJ^a, Júnior LSS^a, Oliveira GHM^b, Silva LKF^b, Silva AEEN^a, Lima JPA^a, Soares VL^a, Freitas RV^b, Filho FBC^b, Silva DGKCE^a, Sales VSF^a, Paiva AS^a, Júnior GBC^{a,b}

^a Universidade Federal do Rio Grande do Norte (UFRN), Natal, RN, Brasil

^b Hemocentro Dalton Cunha, Centro de Hemoterapia e Hematologia do Rio Grande do Norte (HEMONORTE), Natal, RN, Brasil

Introdução: As leucemias agudas (LA) são doenças clonais classificadas em dois grandes grupos: leucemia linfóide aguda (LLA), mais comum em crianças, e leucemia mielóide aguda (LMA), mais rara na infância, além das raras leucemias bifenotípicas agudas (LABF) e leucemia aguda indiferenciada (LAI). Embora a citomorfologia ainda seja relevante nesses diagnósticos de leucemias, a imunofenotipagem por citometria de fluxo (CF) tem se tornado essencial no diagnóstico, classificação e acompanhamento dessas neoplasias, destacando-se como uma metodologia moderna e prática, apresentando-se caracteristicamente como um método de análise multiparamétrica e quantitativa das células leucêmicas. **Objetivo:** O objetivo deste estudo foi realizar um estudo retrospectivo de imunofenotipagem em 371 pacientes com AL. **Metodologia:** Foram realizadas imunofenotipagem de amostras biológicas por FC após marcação com um painel de anticorpos monoclonais específicos para AL direcionados contra antígenos linfóides (células B, T e NK), mielóides e marcadores relacionados a outras imaturidade celular. Ao mesmo tempo, foram obtidas informações sobre pacientes como idade, sexo, dados clínicos relacionados a doença e análises hematológicas prévias. **Resultados:** Dos 371 casos, 127 eram LLA (linhagem-B= 71) e T (N= 55), 239 LMA, 04 LABF e 2 LAI. Nas LLAs, observou-se maior frequência em crianças, contrastando com os casos de LMA, LABF e LAI, mais prevalentes em adultos. Na LLA, os dados clínicos e laboratoriais relacionados à doença estavam mais acentuados nas LLA-T e LLA-B madura, corroborando com informações da literatura. Na LMA, LABF e LAI, os parâmetros clínicos mais observados foram esplenomegalia, hepatomegalia e fenômenos hemorrágicos. Os subtipos de FAB da classificação para LMA mais predominantes foram M1, M2 e M4 e menor incidência do subtipo M7. **Conclusão:** Estes dados demonstram a importância da tecnologia FC no diagnóstico, classificação e estabelecimento de fatores prognósticos dessas neoplasias.

1197 LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA E NEOPLASIA DE CÉLULAS PLASMÁTICAS - RELATO DE CASO

Regiellycognially^a, Kluck DAC^a, Rodrigues RFR^a, Kukla VF^a, Merfort LW^a, Solarewicz MM^a, Procópio ALM^a, Legnani AG^b, Beltrame MP^a

^a Mantis Diagnósticos Avançados, Curitiba, PR, Brasil

^b Hospital do Câncer, Hospital Uopecan de Umuarama, Umuarama, PR, Brasil

Objetivos: Descrever caso clínico de paciente com Leucemia Mielomonocítica e Neoplasia de Células Plasmáticas concomitante. **Material e métodos:** Relato de caso. Paciente de 82 anos, sexo masculino, procurou pronto atendimento com queixa de emagrecimento, fraqueza e astenia há 3 meses, com piora progressiva, apresentando histórico de anemia não investigada, hipertensão arterial sistêmica, doença pulmonar obstrutiva crônica e relatava ser ex-tabagista. Ao exame físico encontrava-se hipocorado, eupneico, afebril, sem massas ou hepatoesplenomegalia. Exames laboratoriais na admissão: Hemograma com blastos, 85.700 leucócitos/ μ L, hemoglobina de 6,5 g/dL, 121.000 plaquetas/ μ L; creatinina = 1,6 mg/dL, lactato desidrogenase sérica = 745 UI/L. Eletroforese de proteínas apresentando pico monoclonal em região de betaglobulina 3,5% = 0,22 g/dL. **Resultados:** Realizado aspirado de medula óssea e evidenciado por citometria de fluxo 27,2% de blastos da linhagem mielóide com positividade para os marcadores MPO-/, CD7-/+ (45,2%), CD13+/+, CD15-/+ (29,9%), CD19-/+ (39,1%), CD33+/+, CD34+/+, CD38+/+, CD45+/+, CD71+, CD99+, CD105-/+ (46,4%), CD117+/+, CD123+/+, HLADR++, 36,6% de linhagem monocítica madura com positividade para CD11b-/+ (27,4%), CD13+/+, CD14-/+ heterogêneo (76,5%), CD15+/+ heterogêneo, CD22-/+ (29,3%), CD33+/+, CD36-/+ (49,4%), CD38+/+, CD45+/+, CD64+/+, CD71-/+ (56,4%), CD99+, CD105-/+ (23,4%), CD123+/+, HLA-DR++, IREM2-/+ heterogêneo (61,8%), além de 0,30% de células plasmáticas expressando CD27-/+ (38,8%), CD38+, CD56+/+, CD81+ (46,8%), CD138+, cadeia leve Lambda+/+ (citoplasma). Cariótipo de medula óssea com 46,XY,inv(3)(q21q26)[18]. Paciente iniciou tratamento com citarabina em baixa dose e atualmente aguarda Vidaza. **Discussão:** Devido à alta sensibilidade da técnica de citometria de fluxo, foi possível identificar 0,30% de células plasmáticas de fenótipo anormal e clonal, simultaneamente à análise do painel de leucemia mielóide, o que levou ao diagnóstico de Leucemia Mielomonocítica Aguda e Neoplasia de Células Plasmáticas, concomitantemente. O aumento de células plasmáticas em pacientes com Leucemia Mielóide Aguda (LMA) pode ser observado após início do tratamento, porém a ocorrência simultânea de LMA e Neoplasia de Células Plasmáticas é rara, tendo sido relatados apenas 20 casos na literatura. Entre os casos descritos, a idade dos pacientes no momento do diagnóstico variou entre 51 e 79 anos, houve uma maior prevalência no sexo masculino, correspondendo a 75% dos casos, e o cariótipo encontrado foi variável. Além disso, os subtipos mais comuns de LMA relatados são a mieloblástica e mielomonocítica, e há um consenso quanto ao prognóstico desfavorável. **Conclusão:** Os autores relatam caso raro de ocorrência simultânea de LMA e Neoplasia de Células Plasmáticas em paciente sem história prévia de quimioterapia.

1198 LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA NA INFÂNCIA – UM RELATO DE CASO.

Torres TA^a, Frizon K^a, Klein BD^b, Fabiani L^a

^a Associação Hospitalar Beneficente São Vicente de Paulo, Passo Fundo, RS, Brasil

^b Universidade de Passo Fundo (UPF), Passo Fundo, RS, Brasil

Segundo estimativas, um em cada 10.000 indivíduos desenvolve leucemia aguda, uma neoplasia maligna extremamente agressiva, que possui elevada letalidade. A Leucemia Mielóide Aguda (LMA) é a forma mais comum de leucemia aguda em adultos; no entanto, corresponde a apenas 10-15% das leucemias na infância. Considerando que na infância 90% dos casos correspondem a Leucemia Linfocítica Aguda (LLA), objetiva-se relatar um caso pouco descrito no nosso país, um diagnóstico de LMA em uma paciente com 11 meses. Paciente C.O.D.S., 11 meses de idade, feminina, foi encaminhada ao Hospital São Vicente de Paulo de Passo Fundo (RS) devido alterações nos exames laboratoriais (Hematócrito = 23,2%; Hemoglobina = 7,8 g/dL; Leucócitos = 459.000/mm³, sendo 37% de blastos, 6% de segmentados, 1% de eosinó-

filos, 49% de linfócitos e 1% de monócitos; Plaquetas = 126.000/mm³; Ácido Úrico = 14,2 mg/dL; DHL = 13.820 U/L). Na admissão, a mãe relatou um quadro de infecção das vias aéreas superiores há 10 dias, com tosse e secreção nasal hialina, além de inapetência e equimoses em membros inferiores. No exame físico, observou-se alterações no volume abdominal, sendo solicitado uma ultrassonografia do abdome, que revelou esplenomegalia. Tendo em vista a gravidade do estado clínico, um estudo imunofenotípico foi solicitado. A análise imunofenotípica mostrou 86,0% de blastos da linhagem mielóide, compatível com leucemia monoblastica aguda. Os blastos apresentaram o seguinte perfil imunofenotípico: expressão de CD33, CD13 parcial, CD4, CD11b, CD14, CD36, CD64, CD34 e HLA-DR; coexpressão de CD56; e ausência de expressão de cyMPO, CD117, CD16, CD7, CD2, CD71. Nos dias subsequentes à admissão, a paciente recebeu transfusões de CHAD, plaquetas e CRIO, além de medidas antitumorais associadas à hiper-hidratação. Evoluiu para GSG 03, quatro dias após a admissão, com palidez cutânea e pupilas midriáticas e sem fotorreação e diminuição na concentração de fibrinogênio (28,8 mg/dL). Foi realizada tomografia de crânio e eletroencefalograma, que evidenciaram hemorragia cerebral e disfunção cortical severa e difusa. Devido ao mau prognóstico a neurocirurgia foi suspensa e, após testes clínicos, foi aberto protocolo de morte encefálica. No quinto dia, a paciente foi a óbito. Ao diagnóstico, frequentemente, os pacientes com LMA exibem sintomas inespecíficos, entre os quais a prostração e a fadiga são mencionadas como primeiro sintoma em 50% dos casos. A presença de sinais de homeostasia anormal, como as equimoses observadas no caso, está presente em apenas 5% dos pacientes. Cerca de 50% dos casos exibem hiperuricemia e aumento na concentração de DHL decorrentes da hiperproliferação celular. Visando evitar a Síndrome de Lise Tumoral, uma nefropatia aguda, os pacientes devem receber hidratação venosa e drogas hipouricemiantes, que no caso relatado foi Alopurinol. Além disso, a presença de hiperleucocitose predispõe o paciente a hemorragias. Nesses casos, a transfusão de plaquetas é indicada mesmo com plaquetometria relativamente normal, pois a contagem plaquetária encontra-se superestimada devido aos fragmentos de blastos. As leucemias compreendem um grupo de neoplasias malignas que podem variar desde as rapidamente fatais às de crescimento lento. Os estudos demonstram que os idosos formam o grupo de pior prognóstico para LMA; porém, como relatado no caso, a manifestação na infância pode evoluir rapidamente levando ao óbito.

1199 NOVOS ASPECTOS DA CITOMETRIA MULTIPARAMÉTRICA NAS SÍNDROMES MIELODISPLÁSICAS E SUA IMPORTÂNCIA PROGNÓSTICA

Marques JRV, Reis-Alves S, Saad STO, Lorand-Metze I

Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Objetivos: Recentemente a maturação dos monócitos na medula óssea tem sido mais bem estudada com citometria de fluxo multiparamétrica. Vários autores têm sugerido que este é um parâmetro mais adequado para o diagnóstico de leucemia mielomonocítica (LMMC) do que a contagem de monócitos no hemograma, propondo também esta metodologia para definir um tipo de SMD que frequentemente progride para LMMC. Num estudo com longo tempo de observação (sobrevida mediana 69 meses para os com blastos medulares < 5% e 14 meses para as AREBs) em pacientes com SMD do nosso Serviço estudamos o impacto prognóstico das características dos monócitos medulares na sobrevida global dos pacientes comparado a outros parâmetros prognósticos bem estabelecidos. **Material e métodos:** Diagnóstico feito por critérios OMS, excluindo patologias carenciais infecciosas e imunes. Foi feita a imunofenotipagem da medula óssea diagnóstica analisando-se a maturação mielomonocítica e os subtipos de células CD34+. Os monócitos foram analisados conforme descrito por Selimoglu-Buet et al., 2017 (monócito MO1 CD14⁺/CD16⁻; MO2 CD14⁺/CD16⁺ e MO3 CD14⁺/CD16⁺). A sobrevida foi calculada do diagnóstico até o óbito ou última consulta e censurados os casos no transplante de medula. **Resultados:** Foram estudados 95 pacientes. Tipos OMS: anemia refratária = 5 casos; síndrome 5q- = 2; CRDM = 61; AREB-1 = 12; e AREB-2 = 15 casos. IPSS-R: baixo risco = 13; intermediário = 58; alto/muito alto risco = 17. Dos casos, 22 tinham monócitos > 6% à imunofenotipagem da medula. Destes, 8 tinham porcentagem de monócitos aumentada no sangue, mas não em número absoluto, e 5 evoluíram para LMMC. Na análise de sobrevida pelo modelo de Cox para os casos com blastos < 5% no mielograma, tiveram influência na

sobrevida global o IPSS-R, o aumento de monócitos na medula óssea medidos na imunofenotipagem além da porcentagem dos monócitos CD16+ (MO2), a porcentagem de progenitores mielóides CD34+, e a de hematogônias tipo 1. Na análise multivariada, o melhor modelo foi obtido com IPSS-R, porcentagem de progenitores mielóides, hematogônias e porcentagem de monócitos MO2, sendo todas variáveis prognósticas independentes. Nas AREBs, apenas o IPSS-R e a % de progenitores mielóides CD34+ influenciaram na sobrevida, mas apenas o primeiro foi uma variável independente relacionada à sobrevida global dos pacientes. Alterações na maturação granulocítica e a presença de coexpressões anômalas nas células CD34+ não foram importantes para prognóstico em nenhum dos grupos. **Discussão e conclusões:** O presente estudo confirma a importância da imunofenotipagem, incluindo a quantificação dos subtipos dos monócitos e de células CD34+ na avaliação prognóstica de pacientes com SMD, especialmente nos casos de baixo risco, mas não os de alto risco. Os parâmetros referentes às alterações das expressões antigênicas na maturação mielomonocítica bem como dos progenitores mielóides, que são variáveis mais subjetivas e de menor reprodutibilidade, não tiveram impacto prognóstico significativo. Em estudos recentes, o aumento dos monócitos medulares nas SMDs, tem sido relacionado à maior agressividade da doença e também à transformação em LMMC ou LMA. Assim, a obtenção de parâmetros simples e facilmente reprodutíveis na imunofenotipagem dos precursores medulares nas SMDs de baixo risco fornece não só dados diagnósticos, mas também prognósticos.

1200 PAPEL DIAGNÓSTICO DA CARACTERIZAÇÃO IMUNOFENOTÍPICA DO COMPARTIMENTO MONOCÍTICO DA MEDULA ÓSSEA EM PACIENTES COM LEUCEMIA MIELOMONOCÍTICA CRÔNICA

Silva RG, Maekawa YH, Takao TT, Tamashiro N, Silva ACT, Chereghini AT, Daniel DC, Gonçalves MV, Silva MCA, Sandes AF

Serviço de Citometria de Fluxo, Grupo Fleury, Brasil

Objetivos: Caracterizar o compartimento monocítico de pacientes com LMMC por citometria de fluxo (CF) de oito cores e avaliar o seu papel no diagnóstico destas doenças. **Materiais e métodos:** Foram analisadas amostras de medula óssea (MO) de 26 casos de LMMC, utilizando amplo painel de AcMo. As amostras foram adquiridas no citômetro FACSCanto II. Paralelamente, 20 casos normais/reacionais foram analisados. **Resultados:** A idade mediana foi de 75 anos (56-89 a), 7 M e 19 H, sendo LMMC-0: 16 casos, LMMC-1: 8 e LMMC-2: 2; Proliferativo: 14; e Displásico: 12 casos. O hemograma demonstrava Hb: 10,8 g/dL (7-15), leuc: 26,5x10⁹/L (3,7-144), monócitos (MC) 5,6x10⁹/L (1,1-35) e plaq: 143,6x10⁹/L (27-404). O número médio de MC pelo mielograma foi de 11,3% ± 5 (variação de 3-22%) e pela CF de 14,6% ± 7 (3-37,8%). A correlação (r) entre os métodos foi de 0,69 (p < 0,0001); enquanto a diferença média entre os métodos (CMF - mielo) foi de 3,3% (95% de IC 1,17 a 5,45). Os principais fenótipos aberrantes encontrados nos MCs foram CD56+ (58%) e hipoeexpressão de HLA-DR (40%). CD16 foi expresso de forma aberrante em MC clássicos de 2 casos. Diversas alterações foram encontradas na distribuição dos compartimentos monocíticos (CD34+/CD64+, CD64+/CD36+fraco/CD14-, CD64++/CD36++/CD14+/CD300e- e CD64++/CD36++/CD14+/CD300e+), como bloqueio de maturação, desvio à direita e curva de maturação anômala, com aquisição inicial de CD300e ao invés de CD14. A quantificação de MCs maduros clássicos dentro do compartimento monocítico foi de 49,74% ± 20 (12,7-82,75%). Quando avaliado apenas o compartimento de MCs maduros, a % de MC clássicos é de 95,85% ± 6 (84,2-100%). Displasia granulocítica foi detectada em 58% dos casos, displasia eritroide em 31% e ausência de precursores B CD34+ em 90% dos casos. Adicionalmente, 2 casos apresentaram pequeno clone de linfócitos B CD5+, compatíveis com associação de LMMC e linfocitose B monoclonal. **Discussão:** De acordo com as recomendações para o diagnóstico de LMMC clássica (Valent P et al., 2019), a CF é uma ferramenta essencial para o diagnóstico. A CF é útil para confirmar a contagem de MCs e nossos resultados mostram uma boa correlação com a morfologia, com quantificação mais acurada e objetiva. Os fenótipos aberrantes mais frequentes em MCs da LMMC foram CD56+ e baixo HLA-DR. No SP encontramos distintos componentes de MCs, caracterizados como MC clássicos (CD14+/CD16-), MC intermediários (CD14+/CD16+) e MC não clássicos (CD14fraco/CD16+). A presença de > 94% MC clássicos em SP apresenta sensibilidade > 90% e especificidade > 95% para o diagnóstico de LMMC. Na MO, o número de

MC clássicos no nosso estudo foi de 49,74%. Contudo, ao utilizar apenas o compartimento de MC maduros, a quantificação de MC clássicos é de 95,85%, com resultados similares ao SP. É importante ressaltar que casos com expressão aberrante de CD16 ou com curva de maturação anômala (aquisição inicial de CD300e) a quantificação de MC clássicos fica comprometida. Displasia imunofenotípica foi detectada em número expressivo nos compartimentos granulocítico, eritrocítico e precursores CD34, confirmando o perfil displásico da LMMC. Adicionalmente, o uso da CF pode encontrar outros subtipos de neoplasias associadas à LMMC, como mastocitose e neoplasias linfoproliferativas. Dessa forma, nossos resultados confirmam a utilidade diagnóstica da CF na LMMC, devendo fazer parte da avaliação diagnóstica de rotina.

1201 QUANTIFICAÇÃO DE CÉLULAS CD34+ EM PRODUTOS CRIOPRESERVADOS PARA TRANSPLANTE

Dutra HS^a, Monteiro CA^a, Rossi MID^a, Costa ES^a, Beltrame MP^b, Rivello JP^c, Azambuja AP^d, Correia RP^e, Bertolucci CM^f, Campioni MDP^g

^a Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^b Mantis Diagnósticos Avançados, Curitiba, PR, Brasil

^c Clínica de Hemoterapia Ltda, Niterói, RJ, Brasil

^d Hospital de Clínicas da Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brasil

^e Hospital Israelita Albert Einstein (HIAE), São Paulo, SP, Brasil

^f Hospital Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brasil

^g Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP, Brasil

Introdução e objetivos: A quantificação de células CD34+ por citometria de fluxo em produtos criopreservados pode auxiliar na avaliação da qualidade e quantidade de células progenitoras hematopoiéticas pré-transplante e promover ações que previnam o risco de pega tardia em pacientes no transplante de medula óssea. As manipulações e as variáveis impostas desde o descongelamento até a análise podem alterar os resultados finais, e sem padronização os estudos interinstitucionais perdem na análise comparativa em diversos parâmetros clínicos. Iniciamos um estudo para comparar os resultados desta análise entre laboratórios de citometria de fluxo no Grupo Brasileiro de Citometria de Fluxo. Nosso objetivo foi avaliar a taxa de células CD34+ pré e pós-congelamento numa avaliação multicêntrica, além disso, comparamos os resultados de uma mesma amostra utilizando a estratégia de análise institucional e a reprodutibilidade interinstitucional da proposta de análise pelo método da ISHAGE. **Material e métodos:** Participaram do estudo nove laboratórios, que apresentaram resultados de um total de 30 amostras de produtos que foram analisados pré e pós-criopreservação. Além disso, um arquivo previamente adquirido por uma das instituições participantes foi distribuído para uma análise institucional (IX) e uma segunda análise orientada por um modelo equivalente ao da ISHAGE (IH). **Resultados:** Os resultados de produtos descongelados apresentaram uma taxa de células CD34 aumentada (mediana 1,1%; 0,07-4,90%) quando comparada ao produto analisado pré-criopreservação (mediana 0,45%; 0,04-3,10%) – paired T test $p = 0,003$. Uma avaliação dos resultados apresentados pelos participantes mostrou significativa diferença na estratégia de análise entre os laboratórios. Quanto à análise IX para a IH no arquivo de dados distribuído para todos os laboratórios participantes, observamos uma significativa redução do coeficiente de variação (CV) para a taxa percentual de células CD34+ (IX = 0,43-1,37%, CV 26,2%; IH = 0,83-1,10%, CV 10,5%) entre as células nucleadas e na taxa de viabilidade das células CD34+ (IX = 58,6-99,9%, CV 17,2%; IH = 64,3-76,1%, CV 4,7%) mas não na viabilidade das células nucleadas – CD45+ (IX = 63,0-72,7%, CV 4,1%; IH = 60,9-72,6%, CV 5,2%). **Discussão:** A quantificação absoluta de células CD34 por plataforma dupla deve ser avaliada com critérios que dependem de investigação adicional. O aumento da sensibilidade na detecção de eventos CD34+ em produtos que sofrem criopreservação precisa ser pesquisado. A determinação de taxa de viabilidade das células CD34 requer atenção às orientações estritas da ISHAGE para evitar principalmente a subestimação da mortalidade celular. A taxa de viabilidade de células nucleadas CD45+ sofre menos variação interinstitucional. **Conclusões:** A quantificação e a determinação da taxa de viabilidade de células CD34+ em produtos descongelados para transplante requer padronização em sua estratégia de análise por citometria de fluxo. Um modelo de análise baseado nas recomendações da ISHAGE pode reduzir o coeficiente de variação interlaboratorial.

1202 RELATO DE CASO: LEUCEMIA PROLINFOCÍTICA DE CÉLULAS TCD8+

Franzon CMR, Sousa I, Pires J, Lopes ACW, Wagner AOM

Laboratório Médico Santa Luzia/DASA, Florianópolis, SC, Brasil

Objetivo: A leucemia prolinfocítica (LPL T) é uma leucemia de células T agressiva caracterizada pela proliferação de pequenos prolinfócitos com um fenótipo maduro (pós-tímico), causando hiperleucocitose em sangue periférico e infiltrações em medula óssea, linfonodos, baço e pele. Sua apresentação é rara, correspondendo a 2% dos casos de síndromes linfoproliferativas. O presente trabalho tem por objetivo descrever um caso de Leucemia Prolinfocítica T CD8+ em sangue periférico. **Materiais e métodos – relato de caso:** Paciente de 52 anos, sexo masculino, com indicação clínica de leucocitose. A amostra enviada para avaliação imunofenotípica foi de sangue periférico. Os protocolos de preparação e marcação da amostra, bem como a compensação do equipamento e monoclonais utilizados, foram realizados de acordo com o protocolo Euroflow e a aquisição da amostra foi realizada em equipamento FACS CANTO II em 8 cores. A análise dos dados foi realizada em software Infinicyt. **Resultados e discussão:** O estudo imunofenotípico revelou 85% de células de linhagem T, de pequeno tamanho por características de dispersão de luz (FSC), expressando fortemente CD3 na membrana com o seguinte fenótipo: expressão positiva de CD45, CD8, sendo uma parte da população duplo positiva para CD4 e CD8, e marcadores pan T CD7, CD5 e CD2 positivos. Apresentou a expressão forte da oncoproteína TCL1citoplasma. A análise morfológica evidenciou células linfomonucleares de pequeno tamanho, citoplasma discretamente basofílico e agranular, sendo que alguns apresentam discretas projeções citoplasmáticas. Núcleo oval, com cromatina moderadamente condensada e algumas células com nucléolos evidentes. A conclusão do laudo de imunofenotipagem foi de Leucemia Prolinfocítica de Células T. Segundo a Classificação de Neoplasias Hematológicas da OMS, a LPL T tem fenótipo CD4 em 60% dos casos, duplo positivo CD4, CD8 em 25% dos casos e apenas 15% são CD8 positivos. O presente caso trata-se de um fenótipo mais atípico com predomínio de células T CD8+; no entanto, a expressão normal dos antígenos pan T CD7, CD5 e CD2, associada a forte expressão de TCL 1, em associação com os achados morfológicos e a hiperleucocitose, foram suficientes para concluir o diagnóstico. **Conclusão:** No presente caso estudado, a análise imunofenotípica foi fundamental para o diagnóstico da doença, demonstrando a importância da padronização dos painéis imunofenotípicos no diagnóstico por citometria de fluxo em doenças linfoproliferativas raras.

1203 SIMILARIDADE DO IMUNOFENÓTIPO AO DIAGNÓSTICO DAS LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA (LPA) E LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA COM NÚCLEO EM FORMA DE CUP LIKE(LMA-CP)

Sthel VM, Vicari P, Bruno MC, Ioguy SS, Feres MC, Sgambatti S, Ramadan D, Tufik S

Associação Fundo de Incentivo à Pesquisa (AFIP), São Paulo, SP, Brasil

Objetivo: Comparar o imunofenótipo de leucemia promielocítica aguda e leucemia mieloide aguda com blasto "cuplike" ao diagnóstico. **Material e métodos:** Foram analisados medula óssea ou sangue periférico enviados ao setor citometria de fluxo de laboratório de grande porte de SP no período de agosto/2015 a abril/2019. Encontramos descritos no sistema 24 casos de LPA e 3 casos de LMA-CP. Os casos passaram por análise morfológica, e a imunofenotipagem foi realizada no citômetro BD FACS Canto II com 6 canais de fluorescência. Os anticorpos utilizados foram dispostos: tubo 1: MPO, CD3 citoplasmático, CD7, CD19, CD34 e CD45; tubo 2: CD13, CD11B, CD34, CD15 e CD45; tubo 3: CD33, CD71, CD34, CD38, CD56 E CD45; tubo 4: CD123, HLA-DR, CD34, CD117, CD19, CD117 tubo 5: CD9, CD123, CD33, CD34, CD117 e CD45. **Resultados:** Os 24 casos diagnosticados como LPA, 3 foram classificados como variante hipogranular. Ao revisarmos estes 3 casos, a morfologia de 1 caso era de LMA-CP. O imunofenótipo da LPAs se mostrou, na sua maioria, com CD13 heterogêneo, CD33 forte, MPO forte, CD117, CD9 e CD123 na ausência de CD 11b, CD15, CD34 e HLA-DR. Observamos 2 casos com CD34 parcial/fraco e 2 casos com HLA-DR. Nos casos diagnosticados como LMA-CP, encontramos

imunofenótipo idêntico, o que se mostrou diferente foi a menor granularidade. Dos 21 casos de LPA com hipergranularidade, em somente 13 foi avaliado o cariótipo em banda G no laboratório, e a presença da translocação t(15;17) foi encontrada em 5 casos, nos outros não houve crescimento em cultura. Não foi avaliado cariótipo de nenhum caso com hipogranularidade. Nas LMA-CP foram avaliados cariótipos dos 3 casos e todos eles apresentaram o cariótipo normal, somente 1 foi avaliado NPM1, o qual foi positivo com FLT3 negativo. Em relação a um dos casos que apresentava HLA-DR expresso encontramos cariótipo complexo junto com a t(15;17). **Discussão:** A rapidez no diagnóstico das LPAs é de suma importância para introdução do ácido trans-retinoico (ATRA), diminuindo o risco de óbito precoce por coagulopatia, e este é essencialmente feito por morfologia (núcleo em forma de alteres, projeções citoplasmáticas, hipergranulação, bastonete de AUER RODS e célula de "fagot"); contudo, não é incomum a variante com hipogranulação, na qual a citometria pode ajudar no diagnóstico precoce. A presença de CD9 e CD123 na ausência de CD11b, CD15, CD34 e HLA-DR é um alerta para o diagnóstico de LPA. Deve-se tomar cuidado com o início do ATRA antes da imunofenotipagem, pois pode ocorrer a expressão de CD11b. Contudo, devemos pensar na possibilidade de LMA-CP, e, nesta última, o ATRA não teria o mesmo efeito; estas estão associadas as alterações do gene NPM1 e FLT3. O cariótipo e os exames de biologia molecular são imprescindíveis para o diagnóstico, porém estes demoram e a decisão de uso do ATRA tem que ser imediata. A expressão do CD9 e do CD123 nessas duas patologias também podem auxiliar na investigação de Doença Residual Mínima por citometria. **Conclusão:** A citometria de fluxo associada a morfologia pode auxiliar no diagnóstico precoce de LPA e LMA-CP, onde a introdução do ATRA deve ser imediata para conseguirmos bom resultado terapêutico. A retirada do ATRA deve se dar quando for possível avaliar os dados citogenéticos/moleculares que afastem a presença da t(15;17).

1204 USE OF FLOW CYTOMETRY IMMUNOPHENOTYPING TESTING IN DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF MATURE B-CELL NEOPLASMS IN CONJUNCTION WITH CLINICAL AND MORPHOLOGIC CORRELATION

Azambuja AP^{a,b}, Gevert F^b, Oliveira RM^b, Beloto N^b, Malvezzi M^a

^a Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brazil

^b Hospital Nossa Senhora das Graças, Curitiba, PR, Brazil

Background: The use of multiparametric flow cytometry (MFC) in diagnosis of mature B-Cell Lymphoma is growing, and multiple protocols can be used. On the other hand, differential diagnosis is based on morphology and clinical setting. Pathology and genetic finds determine the final diagnosis. **Aim:** To use an immunophenotyping profile based on LST (Lymphocyte Screening Tube), the first tube of Euroflow protocol (CD23/CD10/CD79b/CD19/CD200/CD43/CD20/CD45), EGIL score and NCCN guidelines to resume the diagnostic of circulating B-cell lymphomas. **Methods:** Two hundred and thirty-nine peripheral blood and 21 bone marrow specimens sent to flow cytometry in one lab for three years were available. The decision tree suggested by NCCN guidelines using CD5, CD10, and CD23, and CD200 instead of cyclin D1, followed by morphology and clinical finds as splenomegaly and IgM dosage or rouleaux to suggest the final diagnostic. **Results:** Two hundred and sixty cases were screened. Hairy Cell Leukemia (HCL) suggested morphology was seen in 13 (5.0%) patients with all but one CD103, CD25, and CD11c positive. The CD103 negative case had strong CD123, confirming HCL variant diagnosis. Two HCL cases had CD10 positive. Five CD10 positive cases (1.9%) had characteristic morphology of Follicular Lymphoma (FL). CD5 positive cases were divided in CD23 positive (146, 56.15%) and CD23 negative (25, 9.6%). There were two biclonal cases. From cases CD5+CD23+, most were CD200++ and EGIL 4-6, confirming typical CLL (139, 53.45%) or Monoclonal B lymphocytosis/Lymphocytic Lymphoma (5, 1.9%) diagnostic. Two CD5+CD23+CD200(-) were Mantle Cell Lymphoma (MCL). The CD5+CD23 negative cases were all EGIL 2-3, being 13 cases CD200 negative and 12 cases CD200 positive. From the CD200(-), five were confirmed MCL, and from CD200+ the majority was prolymphocytic leukemia (LPL – 9). There were nine cases CD5+CD23(-), of which we could not confirm the final diagnosis (3.45%). There were 71 (27%) cases CD5/CD10 negative, most CD200++ (52.7%) and all EGIL 2-3. From these, 13 (5.0%) had plasmatic clonal

cells, rouleaux formation and/or Ig dosage confirming Lymphoplasmacytic Lymphoma/ Macroglobulinemia Waldenström (LPL/MW); six (2.3%) cases had clinical and morphologic suspect of Large B-Cell Lymphoma, and 12 (4.6%) had splenomegaly and/or villous morphology, suggesting Marginal zone splenic lymphoma (MZSL). None of the other markers used (FMC7, CD79b, CD22, IgM) or clinical findings were able to discriminate the remaining 41 patients (15.75%). **Conclusion:** The immunophenotypic profile associated with EGIL score, adapted NCCN algorithm, clinical and morphological findings was able to discriminate 80.4% (209/260) of this cohort and only 51 (19.6%) patients will need complementation by pathology and genetics findings.

1205 USE OF FLOW CYTOMETRY IMMUNOPHENOTYPING TESTING IN DIFFERENTIAL DIAGNOSIS OF MATURE T-CELL NEOPLASMS IN CONJUNCTION WITH CLINICAL AND MORPHOLOGIC CORRELATION

Azambuja AP^{a,b}, Gevert F^b, Oliveira RM^b, Beloto N^b, Malvezzi M^a

^a Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brazil

^b Hospital Nossa Senhora das Graças, Curitiba, PR, Brazil

Background: The diagnosis of T-cell neoplasms is often challenging, due to overlapping features with reactive T-cells and limitations of currently available T-cell clonality assay. On the other hand, the use of multiparametric flow cytometry (MFC), added to clinical signs and morphology can suggest the first way to the diagnostic. **Aim:** To use an immunophenotyping profile based on LST (Lymphocyte Screening Tube), first tube of Euroflow protocol and T-cell maturity to suggest the diagnostic of T-cell lymphomas. **Methods:** Forty-seven peripheral blood specimens sent to flow cytometry in one lab for three years were available (47/307 LST screening, 15.3%). Decision tree using CD4, CD8, CD7, CD25, CD30, TCR, NK markers and CD45RA/CD45RO, added by morphology and clinical findings were used to suggest diagnostic. **Results:** Twenty out of 47 (42.5%) CD4 negative CD8 positive (++) all had cytotoxic phenotype with NK markers and/or positive Granzyme A and Perforin, large granular morphology and neutropenia and/or splenomegaly. These cases were considered T-Cell Large Granular Leukemia. Eighteen out of 47 (38.3%) CD4++ CD8 negative: 15 with CD7 negative or weak, CD5 and CD2 positives, negative to NK markers and positive to CD45RO++ and CD27+ (central memory). Ten CD4 positive cases CD25 negative were all probably Sézary Syndrome, with cerebriform morphology and/or skin lesions. The 5 patients with CD4 and CD25 positive all had HTLV1 positive and aggressive course, suggesting Adult T-Cell Leukemia diagnostic. Three CD4++CD8- with strong CD7 were considered NOS T-Cell Lymphoma. (6/47 -12.7%): The double negative (CD4-CD8) cases were one CD30 positive (Anaplastic T/Null Lymphoma), four had TCR Gama-delta phenotype (hepatosplenic Gama-Delta T-Cell Lymphoma), and one was an aggressive NK/T leukemia (CD56++). Three cases CD4 and CD8 heterogeneous were suspected to be T-GGL or reactive lymphocytosis. **Conclusion:** Multiparametric flow cytometry can add some insights to suggest the T-cell expansions diagnosis. T-cell clonality should be done to confirm the neoplastic suspect, mainly in T-Large granular leukemia.

1206 USO DE T-SNE PARA ANÁLISE DE DOENÇA RESIDUAL MÍNIMA DE LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA

Furtado FM, Nobre CS, Castro ACM, Resende FO, Abdalla LF, Jacomo RH

Sabin Medicina Diagnóstica, Brasil

Objetivo: Comparar a análise convencional com o uso de t-SNE para pesquisa de doença residual mínima em leucemia linfocítica crônica. **Material e métodos:** Oito amostras de sangue periférico para pesquisa de doença residual mínima (DRM) de leucemia de linfocítica crônica (LLC) foram analisadas retrospectivamente usando t-SNE (FlowJo®). Os resultados foram comparados com aqueles obtidos usando a estratégia de análise convencional com o software Infinicyt®. As amostras foram preparadas utilizando o protocolo de bulk lise, marcadas de acordo com o painel de marcadores sugerido pelo grupo ERIC (seis marcadores) com adição de CD3 e CD45 como marcadores opcionais. Em cada amostra, os eventos com expressão de CD19 sem expressão

de CD3 foram analisados utilizando t-SNE. Para determinar o padrão normal de t-SNE, três amostras normais de sangue periférico foram processadas, marcadas e analisadas de acordo com o mesmo protocolo descrito anteriormente. **Resultados:** Duas amostras foram negativas para DRM pela análise convencional e t-SNE. Uma amostra positiva de DRM teve a mesma quantificação quando analisada pelos dois métodos (0,61%). Para as outras cinco amostras, a diferença entre os resultados de ambos os métodos não foi clinicamente significativa: 0,04% versus 0,05%; 0,06% versus 0,09%; 0,23% versus 0,31%; 1,26% versus 1,61% e 5,54% versus 5,20% usando a estratégia de análise convencional e a análise de t-SNE, respectivamente (bicaudal $P < 0,0001$). **Discussão:** A detecção de pequenas populações de doença residual requer a análise de profissionais experientes. Dados de citometria de fluxo são usualmente analisados em gráficos bidimensionais; entretanto, dados multidimensionais podem ser analisados de maneira automatizada com menor dependência da experiência do analisador. Outros autores já validaram o uso de algoritmos para pesquisa de doença residual em diferentes neoplasias hematológicas. Diguseppe et al. (2015) utilizaram viSNE para análise de dados de citometria de fluxo para pesquisa de doença residual mínima em LLA. Coustan-Smith et al. (2018) utilizaram t-SNE para pesquisa de doença residual mínima em LMA. Os dados deste estudo demonstram que o t-SNE pode ser utilizado para pesquisa de pequenas populações de doença residual em LLC. Este é o primeiro trabalho que avalia o uso do t-SNE para pesquisa de doença residual mínima em LLC. **Conclusão:** O algoritmo de redução de dimensão t-SNE aparentemente é adequado para análise de doença residual mínima em LLC por citometria de fluxo. O número de casos analisados neste estudo ainda é pequeno, portanto um número maior de casos deverá ser estudado para confirmação destes resultados.

frequentes os episódios de sangramento. Em abril de 2016, a família começou a levar a medicação para casa, pela inserção no Programa de Dose Domiciliar, e o treinamento de tio, também com Hemofilia, para infusão domiciliar. A equipe notou que as aplicações em casa também não estavam ocorrendo conforme a indicação, em relação aos dias e horários, sem o preenchimento do diário de infusão. Então, foi realizada visita domiciliar pela equipe (assistente social, farmácia, enfermagem) para orientações quanto às práticas corretas relativas ao tratamento e quanto à importância deste para garantia da qualidade de vida da criança. Contudo, as dificuldades para a realização do tratamento mantiveram-se. Diante da situação de risco para criança, as aplicações voltaram a ser realizadas no Hemocentro. Novamente, evidenciaram os problemas de comparecimento. Nesse momento, a partir de escuta da mãe e das dificuldades em comparecer ao hemocentro (trabalho, financeiro, escola) optamos, em conjunto com ela, pela realização de parceria com a equipe da Unidade Básica de Saúde – UBS. Foi realizada visita a UBS pela equipe (assistente social, psicóloga e enfermeira), em dezembro de 2018, apresentamos a hemofilia, o tratamento e o caso da criança. Os profissionais de enfermagem da UBS se dispuseram a realizar o treinamento, ministrado pela enfermeira do hemocentro, para, posteriormente, realizarem a aplicação do fator. **Conclusão:** Atualmente, a medicação é armazenada na casa da família e aplicada na UBS. Por meio desta construção conjunta do cuidado e pela aproximação do tratamento a realidade da criança notamos uma melhor adesão ao tratamento. Como consequência desta ação, norteada pela busca da integralidade do cuidado, a garantia do direito de acesso ao tratamento e de uma vida de qualidade para a criança.

1208 A VALORIZAÇÃO DO SERVIDOR PÚBLICO NO HEMOCE

Costa CTS, Lopes TSS, Albuquerque EDAA, Bezerra MS, Costa VC, Morais SC, Coelho MR, Cunha RB, Firmeza JS, Rodrigues FG

Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE), Fortaleza, CE, Brasil

Objetivos: A valorização do trabalhador é necessária dentro de quaisquer instituições, principalmente nas envolvidas no setor de saúde pública, por se tratar de algo constantemente evidenciado na Política Nacional de Humanização. O trabalhador precisa estar em harmonia com o seu local de trabalho e ser valorizado, pois ele é peça fundamental para que a instituição se desenvolva com êxito, cumprindo suas funções com responsabilidade e resolutividade. Objetiva-se dessa forma relatar a experiência em realizar uma atividade voltada à valorização do servidor público em um serviço público de saúde. **Material e métodos:** Trata-se de um relato de experiência acerca da atividade de valorização desenvolvida por estagiários de formação superior extracurriculares de permanência anual do Programa de Ensino e Serviço (PROENSINO) da Secretaria de Saúde do Estado do Ceará em conjunto com os profissionais no Centro de Hematologia e Hemoterapia do Ceará (HEMOCE) sobre a valorização do Servidor Público durante a Semana de Comemoração ao Dia do Servidor Público. Foi realizada uma cerimônia, em que todos os servidores da instituição foram convidados a participar do momento de acordo com a disponibilidade dos setores. O evento contou com palestra, sorteios e dinâmica, com o intuito de promover ao servidor um momento no qual os mesmos sintam-se valorizados na instituição. Frases sobre o que significa ser valorizado dentro de uma instituição foram coletadas antes do evento, e durante a celebração as mesmas foram expostas e através disso realizou-se um momento de reflexão acerca da temática juntamente com os servidores. **Discussão:** Através das frases coletadas observou-se que as definições eram relacionadas a gestos simples como ser cumprimentado pelos colegas de trabalho, receber salários mais justos, serem reconhecidos por seus esforços e estabelecerem relações éticas no serviço. Por meio dessa atividade, os servidores sentiram que a instituição estava disposta a ouvi-los, e através dos resultados obtidos poderemos trabalhar em prol de desenvolver atividades que proporcionem um ambiente de trabalho mais acolhedor e humanizado. **Conclusão:** Por meio da atividade desenvolvida, proporcionamos melhoras no ambiente de trabalho, no acolhimento dos profissionais e aprimoramento da compreensão do que se trata “valorização do trabalhador”. Os estagiários que participaram do desenvolvimento das atividades também se sentiram enriquecidos com a experiência vivenciada.

MULTIDISCIPLINAR

PSICOLOGIA

1207 A INTEGRALIDADE NO CUIDADO A PACIENTES COM HEMOFILIA

Paula NCS, Mendes RS, Rocha MO, Vieira CLREG

Fundação Centro de Hematologia e Hemoterapia do Estado de Minas Gerais (Hemominas), Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: O cuidado ofertado nos serviços de saúde públicos no Brasil deve acompanhar a nova concepção de saúde inscrita na Constituição Federal de 1988. Esta adota um conceito ampliado de saúde enquanto fruto de vários determinantes sociais como a alimentação, a moradia, o saneamento básico, o trabalho, a renda. Nesta direção, para efetivar o cuidado em saúde, o sujeito deve ser compreendido em sua totalidade, buscando apreender de seus discursos os determinantes implicados no seu processo saúde-doença. Por conseguinte, para atender às necessidades de saúde e para a construção de uma linha de cuidado, é necessário contarmos com vários atores na intervenção. Esses atores podem estar inseridos nos diversos níveis de atenção da política de saúde, bem como em outras políticas públicas. A partir de uma ação pautada na compreensão ampliada do sujeito e de suas necessidades e na articulação da rede de serviços, efetiva-se a integralidade do cuidado. **Objetivo:** Evidenciar a importância da integralidade para garantia do acesso ao tratamento para pessoas com hemofilia. **Métodos:** Será apresentado um relato de caso de uma criança acompanhada pela equipe multidisciplinar do ambulatório do Hemocentro Regional de Juiz de Fora para tratamento de Hemofilia. **Discussão:** A criança teve diagnóstico de Hemofilia B grave no primeiro mês de vida, em novembro de 2008, em decorrência de histórico familiar. Em julho de 2014, foi inserida no Programa de Profilaxia, necessitando comparecer ao hemocentro duas vezes por semana para infusão do fator de coagulação. Contudo, a criança não era trazida com essa periodicidade, bem como eram