

administrado, seguindo o modelo Bayesiano de 2 amostras. **Métodos:** Foram comparados dados de meia-vida e o tempo estimado que o rFVIII demora para chegar à 1%, obtidos pelo Web Accessible Population Pharmacokinetic Service – Hemophilia (WAPPS-HEMO), versão 4.1 e myPKFit versão 3.1, de 53 pacientes com Hemofilia A grave, sem inibidor em profilaxia. Desse total, 75,5% tinham entre 12 a 55 anos e 24,5% entre 4 e 11 anos. Todos assinaram o Termo de Consentimento Livre Esclarecido (TCLE). Foram infundidos em média 25 UI/Kg de rFVIII e as amostras coletadas nos tempos de 3 e 24h. Os ensaios de FVIII e cálculos foram realizados em um Laboratório Central onde foi utilizado o ensaio coagulométrico de um estágio e os níveis de FVIII foram expressos como atividade coagulante do FVIII. **Resultados:** As médias e medianas das estimativas de meia-vida do rFVIII administrado obtidas pelo myPKFit foram Me=10,57 e Md=10,55, enquanto no cálculo equilibrado do WAPPS-HEMO foi Me=10,34 e Md=10,0. Em relação ao tempo estimado para o rFVIII administrado chegar à concentração de 1% no plasma, as médias e medianas das estimativas foram: myPKFit Me = 56,43h e Md = 55,5h, enquanto no cálculo conservador do WAPPS-HEMO a Me = 53,63h e Md = 52,5h. O teste de múltiplas comparações de Dunn's atribuiu o valor de $p = 0,8961$ (adultos) e $0,9703$ (crianças) para a meia-vida e $p = 0,0911$ (adultos) e $> 0,9999$ (crianças), para o tempo superior a 1%, indicando não haver diferenças significantes entre as plataformas. Já a comparação para as demais estimativas do WAPPS-HEMO (otimista e equilibrado) foram $p < 0,0001$, demonstrando uma diferença significativa. **Discussão:** Esse estudo padronizou a dose administrada, horários de coleta em hemofilia A grave. Resultados divergentes interindividuais não foram comparados entre si e estão relacionados com parâmetros já bem estudados na literatura, como o volume de distribuição, taxas de clearance, concentração do fator de von Willebrand, idade e peso. Resultados relacionados à comparação cruzada entre essas duas ferramentas foram estudados anteriormente, entretanto, não foram diretamente relacionadas entre si, e apontaram uma diferença importante entre as calculadoras. Não foram observados diferença estatisticamente significativa, quando comparados os dados de meia-vida pelo myPKFit vs WAPPS-HEMO estimativa equilibrada e no tempo superior a 1% pelo myPKFit vs WAPPS-HEMO estimativa conservadora. **Conclusão:** A escolha da ferramenta é importante no desenho da profilaxia e a critério clínico. As plataformas apresentam resultados semelhantes considerando a meia-vida equilibrada do WAPPS-HEMO e a estimativa conservadora para o tempo superior a 1%.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.725>

COMPARISON BETWEEN MULTIPLEX LIGATION-DEPENDENT PROBE AMPLIFICATION (MLPA) AND CYTOGENETICS FOR VALIDATION OF CHROMOSOMAL ABERRATIONS IN CHRONIC LYMPHOCYTIC LEUKEMIA

L Nardinelli^{a,b}, RR Giorgi^a, ARL Ruiz^b, AM Leal^c, PBF Pinotti^c, AMC Ferreira^b, EDRP Velloso^{a,d}, V Buccheri^{a,d}, V Rocha^{a,d}, I Bendit^{a,b}



^a Laboratory of Medical Investigation in Pathogenesis and Targeted Therapy in Onco-Immuno-Hematology (LIM-31), São Paulo, SP, Brazil

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

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

^d Instituto do Câncer do Estado de São Paulo (ICESP), Hospital das Clínicas, Faculdade de Medicina, Universidade de São Paulo (HCFMUSP), São Paulo, SP, Brazil

Objective: Recently, a multiplex ligation-dependent probe amplification (MLPA[®]) has emerged as a method that is reported to be fast, sensitive, and cost-effective that can detect copy number variation. In the present study, MLPA analysis was compared with chromosome banding analysis (CBA) data to determine the efficiency of MLPA in patients with chronic lymphocytic leukemia (CLL). **Materials and methods:** CBA karyotyped 65 patients. Chromosomal analysis was performed on G-banded metaphase cells from cultured lymphocytes in a culture medium at 37°C for 72 hours. Numerical, as well as structural abnormalities were reported on at least 20 well-spread and well-banded metaphases. Genomic DNA was extracted from peripheral blood samples and subjected to MLPA through the probemix, kit SALSA[®] MLPA[®] P037 containing 54 MLPA probes, including 41 probes for 2p, 6q 8p/q, 9p21, 11q, 12p/q, 13q, and 17p chromosomal regions. The PCR products were separated by capillary electrophoresis using an ABI 3500 DNA analyzer. **Results:** Cytogenetics resulted in 41 normal karyotypes, and 25 karyotype aberrations (13 tris12; 3 del13; 2 del11; 4 del17; others 3). Genetic abnormalities observed by MLPA were 45 (14 tris12; 26 del13q; 2 del11q; 3 TP53 deletion), and 22 were normal by MLPA. Of the 41 normal cytogenetics, MLPA was concordant in 20 patients and discordant in 21 patients. Of those 21, MLPA identified 19 del13q, 1 delq11, and 1 tris12. Regarding abnormalities, cytogenetics and MLPA were concordant in 12 tris12, 2 del13, 3 del17, and 1 del11. Statistical difference was seen when comparing both methodologies in favor of MLPA ($p = 0.003$; chi-square test). **Discussion and conclusion:** In this study, we aimed to determine the usefulness of the MLPA probemix P037-B1 as a routine for detecting clinically relevant chromosome abnormalities in CLL in laboratories without cytogenetic routine. MLPA identified more abnormalities than cytogenetic (44%). We observed that MLPA was consistent with the cytogenetic results in 20 of 41 normal patients (48%). The main discordant results identified by MLPA were 13q deletion, the most common cytogenetic change in chronic lymphoblastic leukemia (CLL). In one patient, results of the MLPA did not show deletion in the TP53 gene, while isochromosome 17 was observed by cytogenetic. A low proportion of malignant cells with the relevant abnormality could be responsible for the discrepancies in the MLPA technique. Besides that pitfall, our findings highlight the advantage of MLPA compared with conventional cytogenetics. In

conclusion, MLPA is a reliable high-throughput technique to detect CNVs and a cost-effective one that can be included in routine diagnostic protocols in laboratories that lack conventional cytogenetics.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.726>

DEFICIÊNCIA DA GLICOSE-6-FOSFATO-DESIDROGENASE (G6PD) EM PACIENTES PORTADORES DE DOENÇAS INFECCIOSAS

DOV Menezes^a, HK Toma^a, FRM Silva^b, AG Vizzoni^b

^aLaboratório de Diagnóstico Molecular e Hematologia, Faculdade de Farmácia, Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^bInstituto Nacional de Infectologia Evandro Chagas (INI), Fundação Oswaldo Cruz (FIOCRUZ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Introdução: A G6PD é o distúrbio metabólico mais comum das hemácias, encontrado em todo o mundo afetando aproximadamente mais de 400 milhões de pessoas com frequências variáveis, dependendo da região e grupo étnico. Frequências elevadas são observadas principalmente nas zonas tropicais e subtropicais do hemisfério oriental e em algumas regiões da África. Na deficiência dessa enzima, os danos observados refletem a fragilidade celular ao estresse oxidativo, com dano aos lipídios da membrana dos eritrócitos, particularmente suscetíveis por serem ricos em grupos sulfidríla, formando produtos dissulfetos que levam à desnaturação de proteínas dessa membrana e dano à hemoglobina. A hemoglobina desnaturada se precipita no interior da hemácia formando os corpúsculos de Heinz com consequente hemólise. A importância na saúde pública desta condição vem dos números absolutos de indivíduos afetados e em risco potencial de desenvolver sintomas clínicos, particularmente 229 milhões de pessoas com malária em países endêmicos, bom como outras doenças infecto-parasitárias. **Objetivo:** Determinar a confiabilidade e a acurácia do teste molecular para a mutação 202GA na detecção da G6PD em pacientes portadores de doenças infecciosas. **Material e métodos:** Estudo seccional de validação diagnóstica para determinar a confiabilidade e a acurácia do método molecular PCR-RFLP para as mutações 202GA na detecção da deficiência de G6PD em pacientes portadores de doenças infecciosas. **Resultados:** Em seu conjunto, o estudo envolveu 120 pacientes com idades compreendidas entre 18 e 75 anos e média de 43,7 ±13,5 anos. Identificou-se que 82 participantes eram do sexo masculino (68,3%) e 32 do sexo feminino (31,7%). A suspeita do diagnóstico de Malária (n=33; 27,5%) e a infecção pelo HIV (n=33; 27,5%) foram as indicações clínicas mais frequentes para a solicitação do teste da deficiência de G6PD. Outras patologias como a Paracoccidioidomicose (n=23; 19,2%), Hanseníase (n=9; 7,5%) e Tuberculose (n=6; 5,0%) motivaram a solicitação para o diagnóstico da deficiência de G6PD. O valor da sensibilidade foi de 88,8% e a especificidade encontrada foi de 92,1%. O VPP e VPN foram 66,7% e 99,7%, respectivamente. O método



molecular PCR-RFLP para a mutação 202 G A apresentou uma acurácia total de 91,6%. **Discussão:** Sendo a deficiência de G6PD uma manifestação de origem genética, relacionada a mutações de base única, métodos moleculares são recomendados para seu diagnóstico. Outra vantagem desse método é a possibilidade de detecção de mulheres heterozigotas. A enzimopatia está relacionada ao cromossomo X. O número superior de indivíduos do sexo masculino, identificados como portadores da doença no presente estudo, corrobora com a afirmação de que esta enzimopatia é mais comum em indivíduos do sexo masculino, considerando que estes possuem apenas um gene para G6PD, localizado no único cromossomo X, sendo hemizigotos para este gene. Estes achados sugerem que pacientes do sexo feminino com genótipo heterozigoto devem ser submetidas ao teste para evitar que as mesmas sejam subestimadas em relação à deficiência de G6PD, podendo desenvolver anemia hemolítica após disparo pela exposição a um gatilho oxidativo.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.727>

DESAFIOS DE PROCESSAMENTO E ANÁLISE DO CARIÓTIPO ONCO-HEMATOLÓGICO

VC Queiroz, P Vicari, VM Sthel, SHA Figueira, ACJ Ellio, S Tufik

Associação Fundo de Incentivo à Pesquisa (Afip) - Medicina Diagnóstica, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: As neoplasias onco-hematológicas são classificadas em doenças mielorfoliográficas ou linfoproliferativas agudas ou crônicas, doença das células plasmáticas e síndrome mielodisplásica. O cariótipo convencional com banda G é uma técnica fundamental no diagnóstico e classificação das neoplasias onco-hematológicas. Tem como objetivo a identificação e análise de cromossomos através de células em metáfase permitindo a detecção de alterações numéricas e / ou estruturais. As principais alterações estruturais são duplicações, deleções, translocações, inversões e inserções. As alterações numéricas podem ser de ganho ou perda. O local de coleta do material biológico pode ser sangue periférico ou medula óssea, conforme o diagnóstico etiológico. São vários os interferentes: coleta difícil, hemodiluição, hemólise, anticoagulante inadequado, estabilidade da amostra, tempo de processamento, temperatura inadequada, medicamentos (imunossupressores, antibióticos, quimioterápicos) e problemas de transporte. **Objetivos:** Avaliar o perfil de exames de cariótipo onco-hematológico em um laboratório de grande porte de São Paulo. **Casística e métodos:** Testes de cariótipo onco-hematológico foram analisados e processados em um laboratório em São Paulo, entre janeiro e junho de 2021. Foram coletados dados epidemiológicos sobre idade, sexo e tipos de alterações citogenéticas. **Resultados:** Foram analisados 327 exames citogenéticos do período de Janeiro a Junho de 2021. O sítio de coleta foi de 36 (11%) em sangue periférico e 291 (89%) de medula óssea. A idade variou de zero até 92 anos, com mediana de 56 anos. A distribuição entre sexos foi de 154 (47,1%) feminino e 173 (52,9%) masculino. Dos resultados obtidos 221 (67,6%) foi

