

em 80 meses foi de 8,7%. **Discussão:** Apesar da excelente sobrevida que a maioria dos pacientes com LMC apresenta com os ITQ, cerca de 30% apresentam falha ao tratamento. Um dos mecanismos mais frequentes de mutação são as mutações que ocorrem no domínio da tirosina quinase do ABL. A mutação T315I afeta o sítio de ligação do ATP e confere resistência a todos os ITQ aprovados, com exceção do ponatinibe. O asciminibe é um novo inibidor do sítio miristoil do ABL que também demonstrou eficácia contra essa mutação. Cerca de 41% de pacientes resistentes com mutação T315I obtiveram resposta molecular maior e 29% de pacientes com T315I tratados previamente com ponatinibe apresentaram resposta. No entanto, esses inibidores ainda não estão disponíveis no SUS, sendo a única alternativa para a mutação T315I o transplante de medula óssea, nem sempre viável dependendo da idade, comorbidades do paciente ou da disponibilidade do doador. Somente dois pacientes foram submetidos ao transplante e somente um obteve boa resposta. Em 50% dos casos houve progressão da doença e em 83,3% óbito, relacionado ou não à doença. **Conclusões:** A mutação T315I ainda é um desafio no tratamento da LMC no SUS, pela indisponibilidade de drogas mais eficazes, conferindo ao paciente um prognóstico desfavorável. O transplante de medula óssea permanece no momento como única alternativa de tratamento nessa situação.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.382>

ANALYTICAL PERFORMANCE OF A DNA/RNA-BASED NEXT-GENERATION SEQUENCING (NGS) PANEL FOR MYELOID NEOPLASMS

FK Marques^{a,b}, FLO Marinho^a, SSS Araújo^c, AP Sabino^b

^a Pesquisa e Desenvolvimento, Instituto Hermes Pardini, Rio de Janeiro, RJ, Brazil

^b Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brazil

^c Hospital das Clínicas, Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG), Belo Horizonte, MG, Brazil

Myeloid neoplasms (MNs) are a heterogeneous group of neoplasms including acute myeloid leukemia, myelodysplastic syndrome, myeloproliferative neoplasms and myelodysplastic syndrome/myeloproliferative neoplasms. MNs show a complex genetic basis, and the number of alterations to be analyzed for risk diagnostic, stratification and management of patients increases continuously. Consequently, there is a demand for multiple molecular and cytogenetic techniques with the aim of detecting a wide variety of genetic abnormalities. Since conventional techniques are insufficient to study all such abnormalities, the NGS panel has become a useful tool for broad characterization of the spectrum of mutations in MNs. However, before NGS panels can be introduced in the laboratory routine, their performance should be evaluated. In this context, we describe the analytical performance of the OncoPrintTM Myeloid Research Assay (OMA) (Thermo Fisher), a DNA/RNA-based amplicon sequencing panel, that evaluated simultaneously 40 genes (17 full genes and 23 hotspots genes) and 29

fusions drivers genes (over 600 partners) known to be recurrently mutated in MNs. Commercial controls Seraseq Myeloid Mutation DNA and the Seraseq Myeloid Fusion RNA were used for sensitivity, specificity, accuracy, repeatability, reproducibility and limit of detection (LoD) testing. Prospective sequencing was performed for samples from 34 patients presenting with suspected or confirmed MN. Libraries were prepared by manual method and sequenced by the Ion S5 Sequencer. Data obtained were analysed on Ion Reporter 5.18 software. The OMA assay showed good performance in terms of depth of coverage, on-target reads, and uniformity. The mean reads length ranged from 223 to 231 bp for DNA sample and from 88 to 124 bp for RNA, within the expected standard for the panel. The panel achieved 98,8% and 100% concordance with DNA and RNA controls, reaching analytical sensitivity of 99% and 100% for DNA and RNA, respectively. Regarding the type of DNA mutation: single nucleotide variants (SNP), indels or indels hot spots, the sensitivity found was 100%, 96% and 95%, respectively. The accuracy and analytical specificity was 100% for DNA panel. The LoD was 5% variant allele fraction (VAF) for DNA (SNP and indel) and 1-log reduction from initial number of reads counts for RNA fusion genes. Repeatability and reproducibility were 98% for DNA and 100% for RNA. However, the coefficient of variation (CV) within-run and between-run in VAF was >20% for large indels in CALR, FLT3 (ITD) and SRSF2. The vertical coverage of each sample was inspected with a coverage threshold of 100X. Some amplicons in the assay failed repeatedly (ASXL1_1.875, BCOR_8.202477, BRAF_18.30633, CEBPA_1.1.86676, PRPF8_12.173121, SH2B3_1.85663). However, the OMA is unable to detect specific variants in ASXL1 (c.1900_1922del23 and c.1934_1935insG) and CEBPA (c.68_69insC). This is a known limitation of the Ion Torrent chemistry for accurate sequencing of large homopolymers and high GC content regions. Of the 34 patient samples, 28 (87.5%) had at least one reportable variant. A total of 58 DNA variants and six gene fusions were detected. Some variants were confirmed by orthogonal techniques. In conclusion, OMA is a highly accurate and reproducible NGS panel for the detection of common genetic abnormalities in MNs.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.383>

RELATO DE CASO: LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA RESISTENTE AO TRATAMENTO

MV Diniz^{a,b}, AP Silva^{a,b}, DRC Silva^a, GS Arcanjo^{b,c}, RA Brandão^a, BLD Hatzlhofer^{c,d}, ARL Araújo^{b,c}, MAC Bezerra^{b,c}

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

^b Programa de Pós-Graduação em Genética (PPGG), Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil

^c Laboratório Central (LABCEN), Centro de Biociências, Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil

^d Departamento de Ciências Farmacêuticas, Centro de Ciências da Saúde (CCS), Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), Recife, PE, Brasil

Objetivo: A Leucemia Mieloide Crônica (LMC) é causada pela translocação entre os cromossomos 9 e 22 gerando o gene de fusão BCR-ABL, responsável pela produção da oncoproteína tirosina quinase BCR-ABL. A LMC pode evoluir em três fases: crônica, acelerada e blástica. Na fase acelerada o tratamento pode ser ineficaz com piora do quadro clínico. Atualmente, a neoplasia é tratada, em sua maioria, com inibidores da tirosina quinase como o mesilato de imatinibe, nilotinibe e dasatinibe que inibem o oncogene BCR-ABL, responsável pela indução da LMC. Assim, nosso trabalho tem como objetivo relatar um caso de LMC na fase acelerada resistente ao tratamento de escolha. **Material e métodos:** Após a coleta de dados clínicos e laboratoriais de prontuário foi elaborado um relato de caso de paciente do gênero masculino de 38 anos internado no Hospital das Clínicas da UFPE com diagnóstico de LMC há um ano. **Resultados:** O paciente foi admitido em agosto de 2021 com relato de perda de peso, fadiga, aumento do volume abdominal e dor articular. Após a investigação apresentou, em exame de imagem de ultrassonografia (USG), hepatoesplenomegalia; nos exames laboratoriais mostrou hemograma com acentuada leucocitose ($281.610/\text{mm}^3$), desvio à esquerda até blasto, eosinofilia e intensa basofilia; anemia (Hb: 7,0 g/dL) e trombocitose (Plaquetas: $490.000/\text{mm}^3$); nos exames bioquímicos a Proteína C Reativa (PCR: 11,5 mg/dL), lactato desidrogenase (DHL: 749 U/L) e ácido úrico (AU: 7,4 mg/dL) estavam elevados. A pesquisa molecular do transcrito BCR-ABL1 p210 foi positiva. A análise citogenética apresentou cromossomo Philadelphia positivo e trissomia do 8 em 15 metáfases. Após o diagnóstico iniciou-se o tratamento com mesilato de imatinibe na dosagem de 400 mg. O paciente evoluiu com piora do quadro hematológico e clínico não respondendo bem ao tratamento de escolha, sendo assim, solicitado uma nova droga, o nilotinibe. Mas, devido à falta do medicamento na instituição, a droga inicial (mesilato de imatinibe) foi mantida aumentando sua dosagem para 800 mg. Com isso, o paciente apresentou discreta melhora clínica, até o momento. **Discussão:** Os quadros clínico e laboratorial do paciente mostraram um prognóstico reservado onde a evolução para a fase acelerada da LMC já possui gravidade e neste caso, houve resistência ao tratamento de escolha disponibilizado pelo sistema único de saúde (SUS). **Conclusões:** A evolução da Leucemia Mieloide Crônica (LMC) para a fase acelerada e resistência ao tratamento ocasiona piora do prognóstico e da sobrevida, sendo relevante causa de mortalidade nesses pacientes. Neste relato, pode-se avaliar a importância do tratamento adequado e precoce e as consequências das falhas no sistema público de saúde.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.384>

ANÁLISE RETROSPECTIVA DE PACIENTES COM LEUCEMIA MIELOIDE CRÔNICA COM FALHA DE TRATAMENTO A DOIS INIBIDORES DE TIROSINA QUINASE

IL Argani^a, R Centrone^b, J Sapelli^c, GO Duarte^a, A Alves^b, CA Souza^a, K Pagnano^b

^a Centro de Hematologia e Hemoterapia, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), São Paulo, SP, Brasil

^b Hemomed, Instituto de Estudos e Pesquisas São Lucas (IEP), São Paulo, SP, Brasil

^c AC Camargo Câncer Center, São Paulo, SP, Brasil

Objetivo: Analisar a sobrevida global, resposta hematológica, citogenética e molecular, de pacientes com leucemia mieloide crônica (LMC) tratados com inibidor de tirosina quinase (ITQ) em terceira linha, além de avaliar os dados clínicos e laboratoriais dos pacientes e motivo para a troca de esquema terapêutico. **Material e métodos:** Estudo multicêntrico, tipo coorte, retrospectivo, através de análise de prontuários de pacientes com Leucemia Mieloide Crônica (LMC) em fase crônica, tratados inicialmente com imatinibe, seguido de dasatinibe ou nilotinibe, com falha ou intolerância de resposta terapêutica à segunda linha terapêutica, seguido de terceira linha (ITQ ou transplante). O desfecho principal do estudo foi avaliar a sobrevida global de pacientes com LMC após a falha a dois inibidores de tirosina quinase. Desfechos secundários incluíram taxa de resposta hematológica, taxa de resposta citogenética completa e taxa de resposta molecular maior, motivos para a troca de esquema terapêutico e avaliação das mutações relacionadas a resistência. A sobrevida global foi calculada a partir do início da terceira linha de tratamento até óbito ou último seguimento pelo método de Kaplan-Meier e as diferenças pelo log-rank. **Resultados:** Entre janeiro de 2015 e maio de 2022 foram incluídos 47 pacientes, com mediana de idade 50 anos (20-77 anos), 57% do sexo masculino. O tempo mediano da primeira linha de tratamento (imatinibe) foi de 22 (2-120) meses, e o da segunda linha de tratamento (dasatinibe ou nilotinibe) de 14 meses (1-120). 34 (72%) pacientes trocaram para uma terceira linha de tratamento por falha de resposta terapêutica, e 13 (28%) por intolerância. A terceira linha de tratamento foi dasatinibe em 15 pacientes, nilotinibe em 30 e 2 pacientes foram submetidos a transplante de medula óssea (TMO). Quanto a resposta à 3ª linha, 25 (53%) pacientes tiveram resposta hematológica, 16 (34%) pacientes resposta citogenética, 5 pacientes resposta molecular maior (10%) e 1 paciente sem dado disponível por perda de seguimento. Vinte e cinco pacientes foram encaminhados ao TMO e 18 foram transplantados (na 4ª linha terapêutica). Houve 19 óbitos. A sobrevida global foi 48%, sendo 42% no grupo resistente e 70% no grupo com intolerância ao segundo ITQ (P = NS). Quanto à pesquisa de mutações do ABL relacionadas à resistência, 12 pacientes apresentaram mutações (T315I-4; F317L-3; M244V-1; F359V-1, E255K/T351I-1) e dois casos o polimorfismo E499E. Mutações não foram pesquisadas em 2 casos. **Discussão:** O tratamento após falha a um inibidor de segunda geração é ainda uma necessidade não atendida do paciente com LMC e esses pacientes tem um prognóstico reservado. No Brasil o acesso aos ITQ de terceira ou quarta geração é limitado. Neste trabalho buscamos definir o perfil dessa população e a eficácia das estratégias atualmente disponíveis (uso de outro inibidor de tirosina quinase de segunda geração ou transplante alogênico) visando possíveis estratégias terapêuticas futuras para este grupo de pacientes, como os ITQ de 3ª ou 4ª geração ou novas drogas). Esse trabalho confirmou dados da literatura mostrando que a resposta à outro inibidor de segunda geração como terceira linha apresenta resultados inferiores, principalmente nos pacientes com resistência a dois ITQ prévios. Os casos de