

demonstrou haver correlação estatística entre plaquetas e seus principais parâmetros para avaliação morfológica, embora às vezes uma correlação fraca ou forte.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.956>

CITOMETRIA DE FLUXO

CITOMETRIA DE FLUXO

AVALIAÇÃO IMUNOFENOTÍPICA POR CITOMETRIA DE FLUXO NO DIAGNÓSTICO DA SÍNDROME DE SÉZARY NO RIO GRANDE DO NORTE

MDGM Araújo^a, AFA Dantas^b, CF Nobre^b, FCM Theodoro^b, GA Silva^b, MLL Machado^b, RD Lima^b, GHM Oliveira^a, TMM Oliveira^b, GBC Junior^{a,b}

^a Secretaria de Saúde do Rio Grande do Norte (SESAP RN), Natal, RN, Brasil

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

Introdução: Os Linfomas Cutâneos de Células T (LCCTs) são doenças linfoproliferativas crônicas (DLPC) raras, correspondendo cerca de 2% dessas neoplasias, acometem primariamente a pele, podendo envolver outros órgãos e sistemas, incluindo o sangue periférico (SP). Dentre os LCCTs, os mais comuns são a micose fungóide (MF) e a síndrome de Sézary (SS) que corresponde a forma leucêmica de caráter agressivo da MF caracterizada pela presença de linfócitos linfomatosos no SP, Células pleomórficas em forma e tamanho com núcleo convoluto de aspecto cerebriforme, citoplasma abundante, azurofilo e sem grânulos (células de Sezary-CS) com contagens em geral, maior 1.000/mL com imunofenotipo TCD4+ levando a uma relação CD4/CD8 maior que 10:1, caracterizada também pela positividade para antígenos Pan-T CD2, CD3, CD5 e ausência de CD7 e CD26 na maioria dos casos. **Objetivo:** Este trabalho objetivou demonstrar a importância da imunofenotipagem pela citometria de fluxo (CF) na caracterização das CS em pacientes previamente diagnosticados com MF/SS. **Metodologia:** Foram utilizadas amostras de SP de 23 pacientes com suspeita de MC/SS encaminhados ao Laboratório de Citometria do Hemocentro Dalton Cunha (HEMONORTE). O diagnóstico da SS foi inicialmente baseado na apresentação clínica, hemograma incluindo a citomorfologia em distensão sanguínea corados com corantes hematológicos May Grunwald/Giemsa e imunofenotipagem por CF com um painel de anticorpos monoclonais (AcMo) específico para DLPC. **Resultados e Discussão:** A imunofenotipagem identificou predomínio de células T madura com imunofenótipo TCD4+ associado aos antígenos CD3+;CD2+;CD5+ e TCR a/b na totalidade dos casos, com relação CD4/CD8 >10 em 78% dos casos; perda de expressão de CD7 nos linfócitos T em 82,6%; Quanto ao marcador de células T de memória CD45RO, 23 pacientes apresentaram positividade superior ao marcador CD45RA. No presente estudo, foi constatada também a contagem citomorfológica das CS em distensões sanguíneas na totalidade dos

casos investigados. **Conclusão:** Diante dos resultados obtidos, observou-se que a CF associada à análise citomorfologia é uma ferramenta útil no diagnóstico laboratorial e acompanhamento desses pacientes.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.957>

ANTI-CD38 NANO ANTICORPO (JK36) PERMITE DETECÇÃO DE DOENÇA RESIDUAL MÍNIMA EM PACIENTES DE MIELOMA MÚLTIPLO TRATADOS COM DARATUMUMAB

LC Bento, EX Souto, FA Sousa, MS Passaro, NM Millan, AC Vaz, AAR Villarinho, PC Miyamoto, BG Nogueira, NS Bacal

Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

Objetivo: Avaliar o desempenho do anti CD38 nano anticorpo de camelo JK36 por citometria de fluxo em pacientes com Mieloma Múltiplo tratados com Daratumumab. **Materiais e Métodos:** Foram avaliadas 7 amostras de medula óssea de pacientes com Mieloma Múltiplo tratados com Daratumumab. Os marcadores imunofenotípicos estudados na rotina foram: Tubo 1 CD38 FITC (T16 - Beckman Coulter), CD56 PE, CD20 PERCP-Cy5.5, CD19 PC7, Kappacy APC, Lambdacy APC-H7, CD45 V450 e CD138 V500; Tubo 2 CD38 FITC (T16 - Beckman Coulter), CD28 PE, CD27 PERCP-Cy5.5, CD19 PC7, CD117 APC, CD81 APC-H7, CD45 V450 E CD138 V500. Para a detecção da depleção do CD38, foi feito um Tubo Nano com os seguintes marcadores Kappacy FITC, CD56 PE, CD20 PERCP-Cy5.5, CD19 PC7, CD38 APC (nano anticorpo de camelo JK36 - Beckman Coulter), Lambdacy APC-H7, CD45 V450 e CD138 V500. As amostras foram analisadas pelo método de imunofenotipagem por citometria de fluxo, utilizando-se equipamento CANTO II (Becton Dickinson - BD) e a análise foi realizada no software Infinicyt (Cytognos). O máximo de eventos totais adquiridos foi de 3.400.000 com merge entre os tubos 1 e 2. Para o Tubo Nano, o máximo de eventos totais adquiridos foi de 1.700.000. **Resultados:** No painel utilizado na rotina (Tubo 1 e Tubo 2) a expressão do CD38 nos plasmócitos foi negativa em todas as amostras. Porém, em todas as amostras, foi possível identificar os plasmócitos através da expressão do CD138 em conjunto com múltiplas estratégias de gate que incluem as expressões de marcadores aberrantes. No Tubo Nano contendo o marcador CD38 Nano Anticorpo de Camelo (JK36) foi possível visualizar a expressão do CD38 nos plasmócitos de todas as amostras analisadas. Além disso, com esse marcador foi possível discriminar os plasmócitos anômalos dos normais. **Discussão:** As expressões de CD38 em conjunto com o CD138 caracterizam as células plasmáticas. A terapia alvo anti-CD38 (Daratumumab) induz a eliminação imunomediada de células que expressam CD38. A detecção das células plasmáticas pela citometria de fluxo com a utilização deste anticorpo convencional na superfície das células fica prejudicada após a utilização do Daratumumab. Os nano anticorpos que ocorrem naturalmente em camelídeos, são capazes de reconhecer epítopos ocultos e não bloqueados por terapias alvo permitindo a detecção de células plasmáticas

em pacientes com Mieloma Múltiplo após tratamento. Em nosso estudo demonstramos que o anticorpo CD38 Nano Anticorpo de Camelo (JK36) foi capaz de detectar células plasmáticas em pacientes após o uso de Daratumumab. Embora tenha sido possível identificar os plasmócitos através da expressão do CD138, esta estratégia torna-se muito arriscada e de difícil aplicabilidade pois a expressão deste marcador, muitas vezes, pode ser de baixa intensidade. O nano anticorpo mostrou ser um marcador adicional e útil na detecção de DRM em pacientes pós terapia alvo anti-CD38 (Daratumumab) trazendo maior confiabilidade na análise. **Conclusão:** O anticorpo CD38 Nano Anticorpo de Camelo (JK36) oferece oportunidade aos laboratórios de citometria de fluxo de monitorar, com maior precisão, a resposta às terapias anti-CD38. A tecnologia de nano anticorpo aumenta a capacidade de detecção de DRM por citometria de fluxo na era da imunoterapia.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.958>

INVESTIGAÇÃO DE IMUNOFENOTIPAGEM POR CITOMETRIA DE FLUXO EM PACIENTES COM LEUCEMIA DE CÉLULAS T DO ADULTO

GA Silva ^a, FCM Theodoro ^a, AFA Dantas ^a, CF Nobre ^a, MDGP Araújo ^b, MLL Machado ^a, RD Lima ^a, GHM Oliveira ^b, TMM Oliveira ^c, GBC Junior ^{a,b}

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

^b Hemocentro Dalton Cunha (Hemonorte), Natal, RN, Brasil

^c Hospital Universitário Onofre Lopes (HUOL), Natal, RN, Brasil

Introdução: A Leucemia/Linfoma de Células T do Adulto (ATLL) é uma doença linfoproliferativa crônica maligna (DLPC) que acomete linfócitos TCD4+ maduros apresentando patogênese peculiar estando etiológicamente relacionada ao Vírus Linfotrópico de Células T Humano (HTLV-1). O diagnóstico de ATLL baseia-se na caracterização de neoplasia de células T maduras por meio da avaliação morfológica e imunofenotípica do sangue periférico, relacionado à positividade sorológica ou molecular para HTLV-1. **Objetivos:** Avaliar o perfil citomorfológico e imunofenotípico de pacientes diagnosticados com ATLL. **Metodologia:** Foram coletados 5 mL de SP em tubos de vidro Vacutainer com EDTA potássico de 20 pacientes com ATLL e analisados através dos exames hematológicos e imunofenotipagem por citometria de fluxo com um painel de anticorpo monoclonais conjugados a fluorocromos e específico para DLPC. A análise citomorfológica e a contagem diferencial dos leucócitos foram realizadas em distensões de sangue periférico coradas pelo método de Leishmann. **Resultados e Discussão:** Dos 20 pacientes avaliados e diagnosticados com ATLL, a faixa etária variou de 31 a 76 anos com média de 47,8 anos de idade. Desses, 8 (42,1%) eram do sexo masculino e 11 (57,9%) do sexo feminino. Nos pacientes femininos, a idade variou de 31 a 76 anos (média de 45,8 anos); nos pacientes masculinos, de 35 a 66 anos (média

de 53,3 anos). Na análise da imunofenotipagem dos pacientes observou-se um perfil de DLPC-T com positividade ao antígeno Pan-T CD5, CD2, CD3, TCR- α/β associado ao CD38, CD25 e HLADR, com CD3+/CD4+ na maioria dos pacientes. Apenas um paciente apresentou dupla positividade CD4+/CD8+ e outros 3 tiveram o fenótipo CD3+/CD8+. **Conclusão:** Estes dados mostram a importância das análises de imunofenotipagem por citometria de fluxo nos pacientes com suspeita de ATLL.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.959>

MARCADORES CLÍNICO-LABORATORIAIS NA INVESTIGAÇÃO PROGNÓSTICA DA LEUCEMIA LINFOCÍTICA CRÔNICA

FCM Theodoro ^a, GA Silva ^a, AFA Dantas ^a, CF Nobre ^a, MDGP Araújo ^b, MLL Machado ^a, RD Lima ^a, TMM Oliveira ^c, GHM Oliveira ^b, GBC Junior ^{a,b}

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

^b Hemocentro Dalton Cunha (Hemonorte), Natal, RN, Brasil

^c Hospital Universitário Onofre Lopes (HUOL), Natal, RN, Brasil

Introdução: A leucemia linfocítica crônica de células B (LLC-B) é uma doença linfoproliferativa crônica caracterizada pela proliferação e acúmulo de linfócitos B CD5+/CD23+ no sangue periférico, com infiltração em linfonodos, baço, fígado e medula óssea, tratando-se do tipo de leucemia mais frequentemente observado em adultos nos países ocidentais. Poder prever uma progressão rápida da doença em pacientes com LLC-B pode ajudar a determinar o estabelecimento de uma estratégia mais adequada de tratamento. Um preditor destas condições, muito bem estabelecido na categorização da LLC-B tem sido detecção da superexpressão do CD38 e do ZAP-70 nas células leucêmicas desses pacientes. Esta circunstância indica a necessidade de uma antecipação para o início da terapia. **Objetivo:** O presente trabalho tem como objetivo avaliar a expressão dos antígenos CD38 e ZAP-70 em pacientes com LLC-B, correlacionando-os com achados clínicos e laboratoriais desses pacientes. **Metodologia:** Foram coletados 5 mL de SP em tubos de vidro Vacutainer com EDTA potássico de 39 pacientes com ATLL e analisados através dos exames hematológicos e imunofenotipagem por citometria de fluxo com um painel de anticorpo monoclonais conjugados a fluorocromos e específico para DLPC. Parâmetros hematológicos contagem de leucócitos global e específica, dosagem de hemoglobina e contagem de plaquetas foram realizadas no analisador hematológico. A contagem diferencial e a análise citomorfológica dos leucócitos foram realizadas em distensões de sangue periférico coradas pelo método de Leishmann, nas quais foram contados 100 leucócitos em objetiva de imersão. **Resultados e Discussão:** Dos pacientes diagnosticados a faixa etária variou de 45 a 89 anos com média de 68,8 anos de idade. Destes 26 eram do sexo masculino e 13 do sexo feminino. Nos pacientes masculinos a idade variou de 47 a 89 anos com média de 70 anos e nas mulheres a idade variou de