

AValiação DE CLONALIDADE T POR CITOMETRIA DE FLUXO – PAPEL DO ANTÍGENO TRCB1 EM ROTINA CLÍNICA

AVS Sousa, YH Maekawa, TTT Catelan, RG Souza, ACT Silva, DC Daniel, A Melo, MCA Silva, MV Goncalves, AF Sandes

Grupo Fleury, Brasil

Objetivos: Avaliar a eficácia clínica da detecção de clonalidade de linfócitos T por citometria de fluxo, utilizando um novo tubo de oito cores que inclui o marcador TRBC1. **Material e Métodos:** Para avaliação de clonalidade T, validamos recentemente um tubo de oito cores que inclui o TRBC1 (clone JOVI-1) combinado com anticorpos para identificação das subpopulações T (CD3, CD4, CD8 e CD45), assim como antígenos que ajudam a identificar a população com imunofenótipo anômalo (CD7, CD5 e CD57). O tubo de clonalidade T foi realizado quando o tubo de triagem de neoplasias linfoproliferativas apresentava relação CD4 e CD8 alterada ($< 0,4$ ou > 5), alterações de expressão dos marcadores de linhagem T (diminuição de expressão do CD3 e CD5) ou quando o clínico incluía uma neoplasia de células T maduras no diagnóstico diferencial. As amostras foram adquiridas no citômetro FACSLytic e analisadas pelo software Infinicyt. Para definição de clonalidade, a expressão de TRBC1 deve ser inferior a 15% ou superior a 95% na população de linfócitos T estudados. **Resultados:** Foram avaliados 97 casos com suspeita de neoplasia linfoproliferativa T (idade média 53 anos, 1-94a, 36 homens e 61 mulheres) coletadas entre março a julho de 2022. Dentre as amostras analisadas, 74 eram de sangue periférico, 18 medulas ósseas, 3 seromas de mama e dois fragmentos de linfonodo. O tubo de TRBC1 detectou clonalidade de linfócitos T em 29 amostras (29,9%), sendo o TRBC1 negativo em 14 casos e TRBC1 positivo em 15 casos. 68 casos apresentaram padrão policlonal (70,1%). O tamanho médio da população T clonal foi de 29% (3 a 74%) No sangue periférico, a contagem absoluta de linfócitos T clonais foi de 5.371/mm³ (87 a 40730/mm³). Dentre os casos clonais, 18 apresentavam fenótipo de leucemia de grandes linfócitos granulares, 2 leucemia/linfoma de células T do adulto, 3 com Síndrome de Sézary e 6 casos de linfoma T periférico NOS. **Discussão:** As neoplasias de células T maduras são doenças heterogêneas caracterizadas por um amplo espectro de achados citológicos e histológicos, que, às vezes, se sobrepõem àqueles observados em linfoproliferações reacionais. Recentemente, o TRBC1 foi proposto como marcador potencial para avaliação da clonalidade de células T por citometria de fluxo, uma vez que permite a identificação rápida e precisa de populações de células T clonais. Esse anticorpo é direcionado contra um dos dois domínios constantes e mutuamente exclusivos da cadeia beta de TCR (TRBC1 e TRBC2) selecionados aleatoriamente durante o rearranjo do gene TCR. Como única limitação, o exame só não pode ser realizado em linfomas T que expressam TCR-gama-delta, o que, no entanto, corresponde a menos de 1% desses casos. **Conclusão:** O tubo de clonalidade T utilizando o antígeno TRBC1 constitui uma forma simples, barata e robusta para a detecção de clonalidade de linfócitos T por citometria de fluxo. Quando utilizado da forma apropriada, o tubo permite a identificação de populações de linfócitos T clonais em

quase 30% de casos com suspeita de neoplasia linfoproliferativa T.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.970>

IMPLANTAÇÃO DA PESQUISA DE DOENÇA RESIDUAL MÍNIMA POR CITOMETRIA DE FLUXO DE ALTA SENSIBILIDADE NAS LEUCEMIAS AGUDAS EM UM CENTRO ÚNICO NO BRASIL

AP Azambuja, YC Schluga, JLP Justus, MP Beltrame, VAM Funke, C Bonfim, M Malvezzi, R Pasquini

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

Introdução: O uso da citometria de fluxo multiparamétrica (CFM) de 4 cores para o diagnóstico e seguimento de pacientes (pcts) com neoplasias hematológicas foi estratégico para evolução do conhecimento nesta área nas últimas duas décadas. Entretanto, o refinamento da pesquisa da Doença Residual Mínima/Mensurável (DRM) nas leucemias agudas (LA) tornou necessárias medidas para aumentar a sensibilidade e especificidade do método anteriormente utilizado. **Objetivo:** Implantar e padronizar um método de alta sensibilidade e custo-efetivo para o diagnóstico e acompanhamento de pacientes adultos ou pediátricos com leucemias agudas num centro terciário. **Métodos:** Estudo de coorte prospectivo longitudinal que incluiu pct's consecutivos com diagnóstico ou seguimento de leucemias agudas (LLA-B, LLA-T e LMA) atendidos pelos serviços de hematologia, hematopediatria e transplante de medula óssea do CHC-UFPR em Curitiba, Paraná, Brasil, entre janeiro/2019 e maio/2022. Foram excluídos da análise leucemia promielocítica aguda e doenças hematológicas crônicas. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética - CAAE 84969718.0.000.0096. O consentimento para o uso de material biológico e acesso aos registros médicos foi dado pelo paciente ou guardiões legais. **Equipamentos e reagentes:** O presente projeto foi realizado no âmbito do PRONON - Programa Nacional de Apoio à Atenção Oncológica, do Ministério da Saúde, que forneceu os equipamentos, reagentes e anticorpos monoclonais para a realização da DRM, conforme painéis propostos pelo grupo Euroflow. A execução financeira foi feita pela AAHC. **Citometria de fluxo:** Para reduzir a variabilidade em todas as fases de coleta de amostras, processamento, aquisição de dados e análise, o estudo foi iniciado após reuniões educacionais com as equipes clínicas e técnicas da instituição. As amostras de medula óssea foram processadas dentro das primeiras 24 horas após a coleta. Na primeira fase foi feita implantação da técnica de lise total (bulky-lise) para as amostras com baixa celularidade; na segunda fase foram implantados os painéis de 8 cores para diagnóstico de leucemias agudas conforme proposto pelo grupo Euroflow, além da padronização do citômetro de fluxo FACS Lyric™. Na terceira fase foram validados os tubos de 8 cores para pesquisa da DRM LLA-B (Theunissen et al, 2017), DRM LLA-T e DRM LMA. **Resultados:** Em 40 meses foram obtidas 788 amostras/224 pct's, sendo 104 amostras de diagnóstico (46LLA-B; 52LMA;