

realizaram eletroforese e imunoeletroforese de proteínas no plasma, sendo detectado mais de um componente monoclonal em 4/5 amostras. Do ponto de vista imunofenotípico, cinco casos apresentaram duas populações com cadeia leve distinta (um clone kappa e um clone lambda) e um caso apresentou duas populações com a mesma cadeia leve (kappa). Dentre a população plasmocitária, o tamanho médio do primeiro clone foi de 72% (57-90%), enquanto o segundo clone foi de 28% (10-43%). A distinção entre os dois clones e os plasmócitos normais residuais foi realizada de acordo com a presença de imunofenótipo anômalo (perda de expressão de CD19 e expressão anômala de CD56 e CD117). Quatro casos realizaram FISH e todos apresentaram inúmeras anormalidades. Deleção dos genes RB1, LAMP1 e MAF foi encontrada em 3/4 casos, um caso apresentou deleção do cromossomo 17 e um caso apresentou t(14;16)/rearranjo IGH::MAF. **Discussão:** Neoplasias plasmocitárias biclonais são definidas como uma proliferação clonal de plasmócitos que produz duas proteínas monoclonais diferentes. Essas duas paraproteínas podem resultar da produção de dois clones de plasmócitos diferentes ou de um único clone de plasmócitos. Relatos da literatura mostram que aproximadamente 4% de todos os pacientes com proliferação de plasmócitos clonais expressam 2 ou mais proteínas monoclonais detectadas por imunoeletroforese. No entanto, casos de mieloma biclonal com detecção de mais de uma população plasmocitária clonal por citometria de fluxo são extremamente raros, não sendo encontrada descrição de séries de casos na literatura. O presente estudo mostra uma pequena série de casos, com descrição de seis pacientes com neoplasia plasmocitária biclonal detectada por citometria. A maioria dos casos apresentou clones com diferentes cadeias de imunoglobulina leve e inúmeras anormalidades citogenéticas detectadas por FISH. Alguns estudos sugerem que pacientes com mieloma biclonal detectados por eletroforese apresentam taxas de resposta e sobrevida semelhantes aos pacientes com mieloma monoclonal. No entanto, a evolução de casos de mieloma biclonal detectados por citometria de fluxo são desconhecidos na literatura, sendo necessário maior número de casos para entendimento clínico e biológico dessa entidade. **Conclusão:** Neoplasias plasmocitárias biclonais detectadas por citometria de fluxo são raras e ainda não muito estudadas. A imunofenotipagem é importante para detecção de distintos clones de plasmócitos e definição de neoplasia plasmocitária biclonal verdadeira.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.973>

ANALYSIS OF B-LYMPHOCYTE MATURATION KINETICS WITH A 10-COLOR BCP-ALL MINIMAL RESIDUAL DISEASE DETECTION TUBE BY FLOW CYTOMETRY: A COMPARISON OF REGENERATING BONE MARROW BEFORE AND AFTER HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION

AP Azambuja^a, MP Beltrame^b, YC Schluga^a, JLP Justus^a, M Malvezzi^a, C Bonfim^a, R Pasquini^a

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

^b Hospital Erasto Gaertner, Curitiba, PR, Brazil

Introduction: Minimal residual disease (MRD) measurement in B-cell precursor acute lymphoblastic leukemia (BCP-ALL) has been consolidated in the literature as the strongest adverse prognostic factor for overall and disease-free survival in both child and adult studies. However, only recently has multiparametric flow cytometry (MFC) been fully standardized with the addition of new markers and acquisition of a higher number of cellular events, which can improve the objectivity and sensitivity of the test. **Objective:** This prospective study aims to test a single 10-color flow cytometric assay compared to standardized 8-color two tubes in patients with BCP-ALL before bone marrow transplantation, follow by analysis of the kinetic of medullary B-cell recovery after transplant. **Methods:** Prospective analysis of 75 consecutive patients (pcts) transplanted between 2019/January and 2022/May, with MRD evaluation in the month before HSCT, day30, day100 and day360. Flow cytometry was performed on bone marrow samples after bulk-lysis with ammonium chloride when necessary, and subsequent staining with antibody panels. A 10-color tube included the backbone markers CD19, CD45, CD34, CD10, and CD20, in addition to CD38 and CD81 to improve separation between normal/reactive and malignant BCP, and four discriminatory markers placed in the same tube (CD66c and CD123 in PE, CD73 in BV605, and CD304 in APC-R700). This tube was compared to the standardized Euro-Flow[®] method, which was composed of two 8-color tubes previously described. FACSCantoII[™] and FACSLyric[™] flow cytometry's were used. Data were analyzed with Infinicyt. The achieved sensitivity and percentages of lymphoblasts, normal mature and precursor B-cells, plasmatic cells and stromal cells were compared before and after transplantation. Statistical analyses were performed in SPSS Statistics v.20.0 software. **Results:** 34 ALL (42.6%), being 26 BCP-ALL and 8 high-risk T-ALL, and 41 AML (57.4%), median age 31.6 (4.1-62.5 years) for ALL and 42.9 (0.6-74.2 years) for AML; 45(60%) in first complete remission (CR1), 21 CR2 (28%), one CR3 and 7 active diseases. Among 64 patients in morphologic remission, we found 38(59.4%) MRD negative and 26(40.6%) MRD positive before transplant. Pos-transplantation MRD and maturation analysis was possible in 26 pct's at d30, 24 at d60, 57 at d100 and 18 at d360. All but two samples had more than 9.000.000 cell events acquired, median lower limit of detection (LoD) was 0,0002% and lower limit of quantification (LoQ) was 0,0005% in both assays. All patients had the same percentages of lymphoblasts, normal mature and precursor B-cells, plasmatic cells, in the two different assays. The posttransplant B-cell recovery kinetic was similar between BCP-ALL, T-cell ALL and myeloid leukemia recovery after transplantation, and different between adults and children at day100 and day360, but not in day30. **Conclusion:** This study showed that this 10-color single tube strategy achieves the same sensitivity as the 8-color assay and allows correct identification of MRD, achieving maximum sensitivities and specificities in a single tube, and still maintaining the best discrimination between pathological B cells and normal B cell precursors. B-cell maturation

kinetics were similar between leukemia types, and slightly different between adults and children. Additional studies and a larger sample size are needed to confirm these findings.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.974>

CITOMETRIA DE FLUXO COMO FERRAMENTA DIAGNÓSTICA DE INFILTRAÇÃO DE MEDULA ÓSSEA POR TUMOR SÓLIDO - NEUROBLASTOMA

MF Caleffi, MP Beltrame, ALG Lima, RPO Silva, ACR Wasem, KLB Assis, CO Pereira, JVB Siqueira, RC Coelho, MAD Pianovski

Hospital Erastinho, Curitiba, PR, Brasil

Objetivo: Avaliar a utilização da citometria de fluxo como método eficaz e complementar na identificação de infiltração de MO em pacientes com diagnóstico de neuroblastoma. **Introdução:** O estadiamento correto dos pacientes com neuroblastoma é fundamental na definição da intensidade do tratamento quimioterápico, e para isso é importante uma avaliação eficaz da medula óssea (MO). Como a avaliação do mielograma pode ser prejudicada (hemodiluição), o exame de citometria de fluxo multiparamétrica (CFM) tem alta sensibilidade para identificar células de neuroblastoma e pode auxiliar na confirmação de infiltração de MO. **Material e Métodos:** Para avaliar o impacto da CFM em pacientes com diagnóstico de Neuroblastoma revisamos os exames de MO de 7 pacientes com diagnóstico de neuroblastoma no período de outubro de 2020 a março de 2022. **Resultados:** Foram avaliados 26 exames de MO de 07 pacientes com diagnóstico de Neuroblastoma, com idade entre 0 mês (diagnóstico pré-natal) a 4 anos, sendo 4 pacientes menores de 1 ano de idade e destes, 3 classificados como 4S. Os 26 exames de MO coletados foram os seguintes: 25 mielogramas, 23 CFM, 16 biópsias de MO (BMO), 7 exames de imunohistoquímica (IH). Destas amostras 11 mielogramas, 15 exames de CFM, 03 exames de BMO e 2 IH foram positivos para infiltração de células neoplásicas. Na CF a mediana de positividade foi de 0,21% (0,04%-80%) e os marcadores utilizados para detectar as células de neuroblastoma foram: CD9, CD45, CD56, CD81, CD90, GD2, CD271. 19 amostras possuíam exames de mielograma e CFM com 57,9% dos resultados concordantes, sendo que em 6 exames o mielograma teve resultado negativo e a CFM foi positiva, variando entre 0,04%-0,28%. A concordância entre os exames de BMO e o mielograma foi de 66,7% (6/9) e a concordância da CFM com a BMO foi de 25%, sendo que em 6/12 amostras não havia infiltração macroscópica, mas a CFM foi positiva, a positividade variou entre 0,05%-0,24%. **Discussão:** A MO é o principal sítio metastático do Neuroblastoma e um dos principais locais de recidiva. Por esse motivo, a qualidade do material coletado e a padronização da análise é fundamental para um estadiamento correto. A BMO e a IHQ continuam sendo o padrão ouro para o diagnóstico de infiltração de MO. A CF já é utilizada para diagnóstico em peças tumorais e estudos comparativos demonstram que a CFM pode ser útil na avaliação de células de neuroblastoma em MO, principalmente em pacientes com pouco acometimento ou com dificuldade de

amostragem de material, tal qual nos pacientes menores que 06 meses. **Conclusão:** O exame de CFM pode ser útil na identificação de pacientes com Neuroblastoma com pouca infiltração de MO e nesse sentido, mais estudos são necessários, para melhorar a qualidade das amostras coletadas (diferença de celularidade entre amostras para o mielograma e amostras para CFM), ampliação de painéis e criação de um valor de corte para definição de resposta do paciente e coleta de células-tronco para pacientes com indicação de transplante autólogo de MO.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.975>

EXPERIÊNCIA DA UTILIZAÇÃO DO ANTICORPO MONOCLONAL JOVI-1 EM LABORATÓRIO DE CITOMETRIA DE FLUXO

NNN Martins^{a,b}, BAM Azevedo^b, SMD Miranda^a, DC Diniz^a, MLS Calixto^a, EM Fagundes^b, DM Vitelli-Avelar^a

^a Laboratório de Citometria de Fluxo, Hematológica/Oncoclínicas, Belo Horizonte, MG, Brasil

^b Hematológica/Oncoclínicas, Belo Horizonte, MG, Brasil

Objetivos: As neoplasias Linfoproliferativas (NLP) T são um grupo heterogêneo de doenças oncohematológicas cujo diagnóstico é desafiador devido ao amplo espectro de achados clínicos, morfológicos e histológicos que frequentemente se sobrepõem aos encontrados em condições reacionais. A determinação de clonalidade é necessária e pode ser realizada por detecção dos rearranjos de genes do TCR por PCR ou NGS. No entanto, tais técnicas apresentam alto custo e tempo prolongado para resultado. A imunofenotipagem por citometria de fluxo (CMF) é utilizada rotineiramente para diagnóstico das NLP. O TCR é composto por cadeias alfa e beta com dois domínios constante da cadeia beta, TRBC 1 e TRBC2 que são mutuamente exclusivos. O anticorpo JOVI-1 apresenta alta especificidade contra o TRBC1. Células normais ou reacionais demonstram um misto de positividade e negatividade para TRBC1, ou seja, um perfil policlonal, enquanto células T monoclonais demonstram expressão restrita de algum TRBC. A inclusão do anticorpo JOVI-1 nos painéis de CMF é, portanto, atrativa para determinação da clonalidade das NLP-T. O objetivo desse trabalho é avaliar e reportar a inclusão do JOVI-1 nos painéis de CMF em casos suspeitos de NLP-T. **Materiais e Métodos:** Avaliação de perfil de expressão de TCR Beta 1 através da inclusão com anticorpo JOVI-1 aos painéis utilizados em pesquisa de NLP-T. O JOVI-1 foi também utilizado na avaliação de Leucemias Agudas T (LLA) de forma a ser um grupo controle para o ensaio, uma vez que linfoblastos imaturos não apresentam expressão de TCR. **Resultados:** O JOVI-1 foi realizada em 18 casos suspeitos de NLP. 6 amostras de medula óssea e 12 de sangue periférico. A idade mediana dos suspeitos foi de 50,5 anos (1-71 anos) e a proporção de indivíduos do gênero masculino para o feminino foi de 2,4:1,0. 10 casos (55%) demonstraram perfil policlonal sendo que em 3 desses casos confirmaram-se infecções virais (1 por Covid-19 e 2 por Citomegalovirus) e 7 tiveram outros diagnósticos