

do gene CRLF2. Portanto, houve uma concordância de 100% entre os resultados da CF tanto nos casos positivos, quantos nos negativos para CRLF2, com equivalência estatística entre as metodologias de  $r=1$ . **Discussão:** A interação entre caracterização imunofenotípica e genotípica pode definir subtipos distintos de LLA B com valores preditivos de sobrevida e influenciar nas decisões terapêuticas. Portanto, a utilização de marcadores imunofenotípicos que predizem alterações moleculares é bastante útil no diagnóstico e monitoramento de doença residual mensurável na LLA B. A citometria de fluxo é a principal ferramenta para o diagnóstico de LLA e pode ser também um método de triagem para direcionar o estudo genético e molecular. **Conclusão:** A CF permite uma detecção rápida, de baixo custo e confiável de LLA-B com hiper expressão de CRLF2.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.327>

#### CITOMETRIA DE FLUXO MULTIPARAMÉTRICA NA AVALIAÇÃO DIAGNÓSTICA E SEGUIMENTO DE CÉLULAS TUMORAIS METASTÁTICAS EM TUMORES SÓLIDOS PEDIÁTRICOS – TUBO STOT (“SOLID TUMOR ORIENTATION TUBE”)

ARF Fingolo<sup>a</sup>, EB Riscarolli<sup>a</sup>, CA Abraham<sup>a</sup>, PM Lima<sup>a</sup>, GSGA Xavier<sup>a</sup>, E Oliveira<sup>a</sup>, PFR Siqueira<sup>a</sup>, RC Torres<sup>a</sup>, VC Lisboa<sup>a</sup>, R Camargo<sup>b</sup>, RM Pontes<sup>b</sup>, CSF Facio<sup>a</sup>, ES Costa<sup>a</sup>

<sup>a</sup> Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

<sup>b</sup> Hospital da Criança de Brasília José Alencar (HCB), Brasília, DF, Brasil

Células tumorais metastáticas na medula óssea são encontradas em cerca de 15% dos pacientes pediátricos ao diagnóstico. A detecção precisa do envolvimento metastático é essencial para o estadiamento, estratificação terapêutica e prognóstico. A citometria de fluxo multiparamétrica (CFM) é uma ferramenta indispensável para o diagnóstico e seguimento de neoplasias hematológicas. Porém, pouco explorada para diagnóstico e seguimento de tumores sólidos não-hematopoiéticos. Nesse estudo, desenvolvemos um método de detecção e identificação de células tumorais metastáticas na medula óssea por citometria de fluxo multiparamétrica. Para o processamento, alíquotas de medula óssea foram submetidas a uma solução de cloreto de amônio (BulkyLise) para lise de hemácias. As amostras foram marcadas com um painel de anticorpos monoclonais para orientação de tumores sólidos (STOT): cyCD3+CD271/ CD45/ CD8+CD99/ nuMiogenina/ CD4+EpCAM/ CD56/ GD2/ smCD3+CD19+FVS780 (marcador de viabilidade). Foram adquiridos 5 milhões de eventos (ou a amostra total) em um citômetro FACSCantoII® (BDB), com a utilização do FACSDiVa® (BDB) e a análise dos dados foi feita através do Infinicyt® (Cytognos). Um total de 135 amostras de medula óssea de 86 pacientes; mediana de idade 3 anos (0-18 anos); de 3 centros pediátricos brasileiros (IPPMG, INCA e Hospital José Alencar) e 2 Europeus (Ghent e Monza); com

suspeita de câncer pediátrico foram estudados com um tubo de 12 marcadores/8 cores, STOT- “Solid Tumor Orientation Tube” para detecção de células metastáticas tumorais. Dessas amostras, 45/135 (33%) estavam infiltradas por células metastáticas (31 neuroblastomas, 5 rabdomyosarcomas, 9 neoplasias hematológicas - 4 LLAB, 4 LMA, 1 LLAT). A mediana do número de eventos adquiridos foi de 4.000.000 de eventos adquiridos ( $6,5 \times 10^4 - 1 \times 10^7$ ) com um limiar de detecção de  $1 \times 10^{-5}$  (mediana 1,2%; 0,0038% a 96,8%), 28/136 (20%) pacientes sem neoplasias malignas e 62/135 (45,5%) livres de doença (estadiamento de pacientes com câncer). A concordância entre o diagnóstico histopatológico/imunohistoquímico (HP/IQ) foi de 97,8%, sendo que em 3/45 (6,5%) amostras infiltradas por neuroblastoma, as células metastáticas foram detectadas apenas pela CFM e não pela HP/IQ, devido a sua baixa frequência (0,012 até 9,5), com uma sensibilidade de 100% e especificidade de 96,74%. O diagnóstico de infiltração metastática da medula óssea por citometria de fluxo é amplamente utilizado na rotina diagnóstica e detecção de doença residual mínima para neoplasias hematológicas, mas não para neoplasias não-hematológicas. Nesse estudo, a técnica da CFM apresentou resultados preliminares superiores à técnica “padrão-ouro” atual HP/IQ com uma taxa de concordância de 97,8. Nossos resultados sugerem que, a detecção de células metastáticas de neoplasias não-hematológicas por citometria de fluxo através do STOT podem integrar o fluxo diagnóstico da rotina dos laboratórios, acelerando a detecção do envolvimento metastático. A implementação na rotina clínica da CFM para diagnóstico e seguimento de neoplasias não-hematológicas pode permitir o diagnóstico em sítios menos invasivos, acrescentar informações valiosas para estratificação terapêutica e avaliar resposta ao tratamento.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.328>

#### CÉLULAS TUMORAIS CIRCULANTES POR CITOMETRIA DE FLUXO DE NOVA GERAÇÃO EM TUMORES SÓLIDOS PEDIÁTRICOS – BIÓPSIA LÍQUIDA PARA DIAGNÓSTICO E SEGUIMENTO

CA Abraham<sup>a,b</sup>, EB Riscarolli<sup>a,b</sup>, ARF Fingolo<sup>a,b</sup>, PM Lima<sup>a,b</sup>, GSGA Xavier<sup>a,b</sup>, VC Lisboa<sup>a,b</sup>, E Oliveira<sup>a,b</sup>, PFR Siqueira<sup>a,b</sup>, RC Torres<sup>a,b</sup>, R Camargo<sup>c</sup>, RM Pontes<sup>c</sup>, CSF Facio<sup>a,b</sup>, ES Costa<sup>a,b</sup>

<sup>a</sup> Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

<sup>b</sup> Instituto de Puericultura e Pediatria Martagão Gesteira (IPPMG), Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

<sup>c</sup> Hospital da Criança de Brasília José Alencar (HCB), Brasília, DF, Brasil

**Objetivos:** Células tumorais circulantes (CTCs) são células raras no sangue periférico de pacientes com câncer, refletindo o estado tumoral em tempo real. A detecção de CTCs pode indicar disseminação metastática e formação de