

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^a, EB Riscarolli^a, CA Abraham^a, PM Lima^a, GSGA Xavier^a, E Oliveira^a, PFR Siqueira^a, RC Torres^a, VC Lisboa^a, R Camargo^b, RM Pontes^b, CSF Facio^a, ES Costa^a

^a Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^b 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 rhabdomyosarcomas, 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 1×10^{-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^{a,b}, EB Riscarolli^{a,b}, ARF Fingolo^{a,b}, PM Lima^{a,b}, GSGA Xavier^{a,b}, VC Lisboa^{a,b}, E Oliveira^{a,b}, PFR Siqueira^{a,b}, RC Torres^{a,b}, R Camargo^c, RM Pontes^c, CSF Facio^{a,b}, ES Costa^{a,b}

^a Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

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

^c 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

micrometástases. Tumores sólidos pediátricos representam cerca de 30% das malignidades pediátricas, com subtipos como neuroblastoma, rabdomiossarcoma, sarcomas ósseos e tumor de Wilms. O diagnóstico padrão-ouro não aborda a heterogeneidade tumoral e suas metástases. A citometria de fluxo de próxima geração (NGF- Next Generation Flow) é uma abordagem promissora para identificar CTCs em tumores sólidos pediátricos. Este trabalho visa detectar CTCs por NGF em pacientes com suspeita de tumores sólidos pediátricos ao diagnóstico e durante o seguimento. **Material e métodos:** Aliquotas de 2-4ml de sangue periférico, coletadas em centros pediátricos no Brasil e Europa, foram tratadas com cloreto de amônio para lise de hemácias. As amostras foram marcadas com anticorpos monoclonais para tumores sólidos (STOT): cyCD3+CD271/CD45/CD8+CD99/nuMiogenina/CD4+EpCAM/CD56/GD2/smCD3+CD19+FVS780. Foram adquiridos 5 milhões de eventos no citômetro FACSCantoII® e analisados no Infinicyt®. **Resultados:** Foram analisadas 128 amostras de sangue periférico de 125 pacientes (3 pacientes ao diagnóstico e no seguimento), com mediana de idade de 6 anos (0-17 anos), suspeitos de câncer pediátrico, usando um tubo de 12 marcadores/8 cores, STOT- “Solid Tumor Orientation Tube” para detecção de CTCs. Das amostras, 12/128 (9%) apresentavam CTCs (neuroblastomas - 8/31 (25%); rabdomiossarcomas - 3/11 (27%); e meduloblastoma - 1/3 (33%)). Todos os pacientes com CTCs ao diagnóstico apresentavam doença disseminada. De acordo com os marcadores utilizados, as CTCs de tumores sólidos não-hematopoiéticos apresentaram o seguinte fenótipo: i) neuroblastoma: CD45⁺/CD56⁺/GD2⁺/CD271⁺/nuMiogenina⁺/EpCAM⁺; ii) rabdomiossarcoma: CD45⁺/CD56⁺/GD2⁺/CD271⁺/nuMiogenina^{+/fraco}/EpCAM⁺; meduloblastoma: CD45⁺/CD56⁺/GD2⁺/CD271⁺/nuMiogenina⁺/EpCAM⁺). A mediana de eventos adquiridos foi de $3,4 \times 10^{-6}$ ($9,7 \times 10^{-4}$ - $3,1 \times 10^6$), com limite de detecção mediano de $1,5 \times 10^{-5}$ ($4,6 \times 10^{-6}$ - $3,4 \times 10^{-5}$). **Discussão:** A combinação de marcadores no STOT, via NGF, identificou corretamente as CTCs dos principais tumores sólidos pediátricos não-hematopoiéticos com um limite de detecção de até 10^{-6} , sendo superior aos métodos moleculares descritos na literatura. Todos os pacientes apresentavam disseminação de doença ao diagnóstico correlacionando diretamente a presença de CTCs com seu estadiamento avançado. Em cada subgrupo tumoral analisado, o NGF foi capaz de detectar as CTCs em cerca de 30% dos pacientes estudados. Deste modo, a metodologia do NGF permite, a partir de uma amostra de SP, exame menos invasivo que as biópsias tradicionais, identificar precocemente as CTCs, sendo de grande impacto no diagnóstico, estadiamento e avaliação da resposta ao tratamento. **Conclusão:** A técnica de citometria de fluxo foi capaz de identificar CTCs em mais de 1/3 dos casos no SP de pacientes com tumores sólidos pediátricos. A diferente frequência de infiltração nos subtipos de tumores sólidos pediátricos pode estar relacionada ao potencial metastático dos subtipos tumorais ou devido a alguma limitação técnica do método. Nas seguintes etapas do trabalho, pretende-se ampliar a casuística e comparar com métodos moleculares a partir da biópsia líquida.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.329>

DIAGNÓSTICO SINCRÔNICO DE MIELOMA MÚLTIPLO E LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA

RO Malta ^a, HHM Santos ^b

^a Hospital Universitário Professor Edgard Santos (HUPES), Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, BA, Brasil

^b Instituto de Ciências da Saúde (ICS), Universidade Federal da Bahia (UFBA), Salvador, BA, Brasil

Paciente 69 anos foi internado em sua cidade em setembro de 2022 por pancitopenia e hiponatremia sintomática e foi transferido para enfermagem da hematologia para prosseguir investigação. Durante internação, foi identificado hipergamaglobulinemia, feito mielograma, imunofenotipagem, biópsia de medula óssea, eletroforese de proteínas e dosagem de imunoglobulinas. Com o tratamento da hiponatremia, evoluiu com melhora clínica e recebeu alta pra prosseguir investigação em nível ambulatorial. Na imunofenotipagem foi identificado 8,68% de mieloblastos com fenótipo anômalo e 4,98% de plasmócitos monoclonais, o que indicava uma sobreposição de doenças. Durante o acompanhamento evoluiu com piora das citopenias e feito um novo estudo medular, cujo mielograma identificou 21% de blastos com presença de hipogranulação de série granulocítica. Foi definido em visita principal da hematologia nova internação em fevereiro de 2023 do paciente para fazer tratamento com azacitidina, venetoclax, dexametasona e bortezomib. Evoluiu com um episódio de neutropenia febril, porém sem outras intercorrências. Recebeu alta em março de 2023 para seguimento ambulatorial. Foi mantido tratamento no ambulatório com dexametasona e bortezomib (Vd). Evoluiu com resposta parcial do mieloma e fez 12 ciclos de março de 2023 até abril de 2024. Voltou a fazer venetoclax após o 6 ciclo por indisponibilidade de medicação no serviço. Evoluiu com nova pancitopenia em julho de 2024, associado a piora de pico monoclonal. Nesta ocasião foi interrompido o venetoclax. Feito novo estudo medular com aumento de blastos cerca e 10% e de plasmócitos. Entretanto, trata-se de um caso de leucemia mieloide aguda evoluída de síndrome mielodisplásica e mieloma de forma sincrônica que está há 2 anos bem clinicamente e diante disso será novamente discutido o tratamento com a equipe.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.330>

LEUCEMIA MIELOIDE AGUDA COM PLASMÓCITOS MONOCLONAIS EM CRIANÇA

VC Queiroz, P Vicari, VM Stiel, JT Marini, KMS Lacerda, AC Vaz, SS Ioguy, S Tufik

AFIP Medicina Diagnóstica, São Paulo, SP, Brasil

Introdução e objetivo: Plasmocitose medular reacional policlonal é um processo patológico bem descrito e conhecido em várias condições como infecções, doenças autoimunes, cirrose hepática e como condição paraneoplásica em linfomas e leucemias. Em raros casos podem exceder 20% de plasmócitos. Leucemia Mieloide Aguda (LMA) é uma grave neoplasia hematológica caracterizada por aumento de formas imaturas em medula óssea (MO) ou sangue periférico. Gamopatia