

(39%) and 15 (31%) presented relevant cytogenetic abnormalities, respectively (chi-square $p=0.320$). The most frequent findings in karyotype were related to chromosomes 5, 7, 8 and 20. Overall, 93% of these AML/MDS samples were successfully classified using immunophenotyping and cytogenetics. **Discussion and conclusion:** The implementation of a web-based system with AI-powered chromosome clustering, remote access, and no licensing restrictions significantly increased analytical capacity, reduced turnaround times, and enabled decentralized karyotype analysis. The system supported remote access for image capture and interpretation, and maintained high technical standards through mandatory dual review by experienced professionals. Moreover, it allowed high-quality processing of AML and MDS samples, with a lower ATM rate than typically reported in the literature.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104238>

ID – 1218

PADRONIZAÇÃO DE ENSAIO DE PCR EM TEMPO REAL PARA ANÁLISE DAS VARIANTES DO GENE NPM1 EM AMOSTRAS DE PACIENTES COM LEUCEMIA MIELOÍDE AGUDA

MLBS Silva, JC Gaspar, SFB da Silva, FE de Paula, RM Reis, MT Pinto

Hospital do Câncer de Barretos, Barretos, SP, Brasil

Introdução: O câncer é uma das principais causas de mortalidade no mundo, e a leucemia mieloide aguda (LMA) destaca-se entre suas formas mais agressivas, sobretudo em adultos. A mutação no gene nucleofosmina-1 (NPM1) é um biomarcador importante para diagnóstico e prognóstico, especialmente em pacientes com cariótipo normal. A detecção precoce de células leucêmicas residuais (doença residual mensurável - DRM) é fundamental para detectar recidiva iminente, aprimorar a estratificação de risco, otimizar o acompanhamento pós-tratamento e possibilitar intervenções precoces, conforme as recomendações internacionais para a doença. Considerando a relevância clínica do monitoramento molecular de NPM1 e sua limitada implementação nos laboratórios assistenciais brasileiros, torna-se necessário o desenvolvimento e a padronização de métodos sensíveis, reproduzíveis e de baixo custo que sejam capazes de aprimorar a análise de DRM. **Objetivos:** Padronizar um ensaio de reação da cadeia da polimerase em tempo real (qPCR) para análise das variantes do gene NPM1 em amostras de pacientes diagnosticados com LMA. **Material e métodos:** O estudo utilizou qPCR para detecção das variantes A, B e D do gene NPM1. A padronização do ensaio foi conduzida com RNA proveniente de duas linhagens celulares: OCI-AML3, conhecidamente positiva para a variante tipo A, e HL-60, com perfil selvagem para NPM1 e amostras de RNA de medula óssea provenientes de pacientes com LMA do Hospital do Câncer de Barretos, previamente caracterizados quanto ao status de NPM1 (selvagem ou mutado) por meio de sequenciamento direto ou de nova geração. A partir de 1 µg de RNA, foi realizada a transcrição reversa para

obtenção de cDNA, seguida de reações de qPCR com primers específicos para cada variante, conforme descrito na literatura. A eficiência do ensaio foi avaliada a partir de diluições seriadas da linhagem OCI-AML3 na HL-60. **Resultados:** O ensaio demonstrou desempenho satisfatório, com amplificação eficiente e reproduzível das variantes A, B e D do gene NPM1. A eficiência da reação foi de 96%, com $R^2=0,994$ e $\text{slope}=-3,4$, detectando níveis menores que 0,01% de alteração. O tempo total de execução foi de, no máximo, 2 horas. **Discussão e conclusão:** A padronização de um protocolo in house para detecção das variantes em NPM1 por qPCR demonstrou ser uma abordagem eficaz, sensível para análise de DRM e tecnicamente viável. O método demonstra potencial para implementação em laboratórios com infraestrutura básica de biologia molecular e/ou com baixo volume de exames, destacando-se como uma alternativa economicamente viável frente ao alto custo e à curta validade dos kits comerciais, muitas vezes subutilizados. Sua reprodutibilidade e rápida execução, em comparação aos métodos ortogonais, reforçam sua aplicabilidade na rotina de laboratórios clínicos, especialmente no contexto onco-hematológico.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104239>

ID - 2741

PANCITOPENIA GRAVE ASSOCIADA AO USO CRÔNICO DE METOTREXATO: RELATO DE CASO

NC Telles^a, TP Do Nascimento^a, F Geronimo^a, CA Sepanski^a, LL Dos Santos^a, EAP Nobre^a, MEdS Ferreira^a, ESA Lisboa^a, DC Kalva^b

^a Hospital Universitário Regional dos Campos Gerais, Ponta Grossa, PR, Brasil

^b Universidade Estadual de Ponta Grossa, Ponta Grossa, PR, Brasil

Introdução: O metotrexato (MTX) é um antimetabólito e antagonista do ácido fólico, amplamente utilizado no tratamento de doenças inflamatórias crônicas, como psoríase, artrite reumatoide e lúpus eritematoso sistêmico, além de neoplasias hematológicas e sólidas. Atua inibindo a enzima diidrofolato redutase (DHFR), interferindo na síntese de purinas e timidina, fundamentais para a proliferação celular. Esse mecanismo afeta células de alta taxa de proliferação, como as hematopoiéticas, podendo causar efeitos adversos graves, como pancitopenia, sobretudo em casos de uso inadequado ou prolongado. **Objetivo:** Relatar o caso de um paciente que desenvolveu pancitopenia grave após uso crônico de metotrexato por 10 anos sem diagnóstico clínico prévio, cuja única queixa eram lesões cutâneas, com o objetivo de discutir os riscos da prescrição sem acompanhamento adequado e a importância do monitoramento laboratorial regular. **Relato de caso:** Paciente masculino, 60 anos, fez uso de metotrexato oral por conta própria (7,5 a 15mg semanais), por cerca de 10 anos, para tratar lesões cutâneas semelhantes às de um familiar com psoríase, sem avaliação dermatológica ou acompanhamento laboratorial. Evoluiu com piora expressiva das