

ID - 1518

GENETIC AND IMMUNOPHENOTYPIC PROFILING REVEALS DISTINCT MEASURABLE RESIDUAL DISEASE BIOMARKERS IN OF B-CELL ACUTE LYMPHOBLASTIC LEUKEMIA

AP de Azambuja, YC Schluga, JLP Justus,
VA Funcke, LCL Lichtvan, EC Nunes,
RA Pasquini

Hospital de Clínicas da Universidade Federal do
Paraná (UFPR), Curitiba, Brazil

Introduction: Background B-cell acute lymphoblastic leukemia (B-ALL) presents marked genetic and immunophenotypic heterogeneity. Specific genetic subtypes, such as Philadelphia chromosome-positive (Ph⁺) ALL, may present distinctive leukemia-associated immunophenotypes (LAIPs) that can be used for measurable residual disease (MRD) monitoring by flow cytometry. **Objectives:** To compare flow cytometric immunophenotypic patterns across B-ALL genetic subtypes, focusing on LAIPs associated with Ph⁺ ALL and their prognostic relevance. **Material and methods:** We retrospectively studied 106 B-ALL cases diagnosed between 2017 and 2024, integrating cytogenetic/molecular profiles with flow cytometric data from EuroFlow™ diagnostic and MRD panels. T-ALL and MPAL cases were excluded. Immunophenotypic patterns were evaluated using 8-color panel (two tubes, seven backbone markers: CD81, CD34, CD19, CD10, CD20, CD38, CD45; and four LAIP markers: CD66c, CD123, CD73, CD304). Leukemia-associated immunophenotype (LAIP) and different-from-normal (DfN) approaches were applied. Survival analyses were performed according to genetic subtypes, LAIPs, and MRD kinetics. **Results:** The cohort included 27 Ph⁺ patients, twelve hyperdiploidy, five ETV6::RUNX1, two E2A::PBX1, ten KMT2A-rearranged, seven other abnormalities, 24 normal karyotypes, and 17 without genetic results. Immunophenotypic profile: Ph⁺ ALL displayed a distinct profile, with CD34⁺⁺/CD38⁻/dim blasts in 77.7% vs. 20.2% of other B-ALL ($p < 0.0001$), and frequent CD66c⁺ (70%), CD304⁺ (80%), and CD66c⁺/CD304⁺ (52.9%) expression. CD66-negative Ph⁺ cases expressed CD73⁺ and/or CD304⁺. Ph⁺ ALL also exhibited higher co-expression of CD66c⁺/CD73⁺ (94.0% vs. 56.9%), CD66c⁺/CD304⁺ (58.8% vs. 6.9%), and CD73⁺/CD304⁺ (75.5% vs. 15.5%) ($p < 0.001$ for all). In non-Ph⁺ B-ALL, specific genetic subtypes correlated with marker expression: TEL::AML1 correlated with CD73⁺/CD73⁺CD304⁺ ($p = 0.002$), E2A::PBX1 with CD73⁺ ($p < 0.001$), hyperdiploidy with triple positivity ($p = 0.05$), and KMT2A rearrangements with CD10 loss and absence of CD66c, CD73, CD304. Normal karyotype correlated with CD66c⁺ ($p = 0.006$). Survival: Children had higher OS than adults (89.0% vs. 49.3%, $p < 0.001$). Low-risk genetics correlated with better OS (80.3% vs. 57.2%, $p = 0.02$), while Ph⁺ and KMT2A-rearranged cases had the worst outcomes ($p < 0.01$). CD66c⁺ showed a trend toward lower OS (63.7% vs. 80.3%, $p = 0.11$). MRD Kinetics: Day 15 MRD $> 0.01\%$ was not prognostic ($p = 0.58$), but day 33 MRD $> 0.0001\%$ predicted inferior OS (55.0% vs. 87.0%, $p = 0.001$). Combined MRD kinetics showed OS of 81.0% (D15⁺/D33⁻), 79.8% (D15⁺/D33⁻), and 50% (D15⁺/D33⁺) ($p < 0.05$). **Conclusion:** Ph⁺ ALL is characterized by a

unique LAIP — CD34⁺⁺/CD38⁻/dim with frequent CD66c, CD73, and CD304 co-expression — ensuring MRD detectability in all cases. Distinctive LAIPs were also identified in non-Ph⁺ subtypes, supporting their inclusion in MRD monitoring strategies. Here we confirm that LAIP signatures are promising biomarkers for highly sensitive MRD monitoring and may inform risk-adapted treatment approaches in B-ALL. Furthermore, day 33 MRD levels and MRD kinetics, but not day 15 MRD alone, were strong survival predictors. Integrating immunophenotypic, genetic and MRD kinetic data refines prognostic stratification, with age, genetic risk category and MRD dynamics being key determinants of overall survival in B-ALL in our setting.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104329>

ID - 207

IMPORTÂNCIA DA CITOMORFOLOGIA ASSOCIADA À IMUNOFENOTIPAGEM NO LABORATÓRIO DE CITOMETRIA DE FLUXO: RELATO DE CASO DE LEUCEMIA PROMIELOCÍTICA AGUDA VARIANTE MICROGRANULAR

CCGA de Sousa, E Ferreira, TP Pisurno,
E Fontes

Instituto Estadual de Hematologia Arthur de
Siqueira Cavalcanti (Hemorio), Rio de Janeiro, RJ,
Brasil

Introdução: A leucemia promielocítica aguda (LPA) é um subtipo de leucemia mieloide aguda definida por alterações citomorfológicas e translocações cromossômicas específicas e tem como principal característica o aumento de células imaturas com fenótipo de promielócitos anômalos na medula óssea, com ou sem envolvimento do sangue periférico. Sua gravidade está relacionada à suscetibilidade dos indivíduos a apresentarem sangramentos, resultando em uma coagulopatia grave e potencialmente fatal. O diagnóstico da LPA é realizado através da correlação do quadro clínico do indivíduo, que irá apresentar manifestações hemorrágicas, junto aos exames laboratoriais, como a imunofenotipagem, citogenética e biologia molecular. Embora os achados do hemograma sejam importantes, nem sempre são suficientes para orientar uma suspeita diagnóstica, o que torna fundamental a análise citomorfológica da amostra. Este relato de caso tem como objetivo ressaltar a importância do exame de citomorfologia como ferramenta para o direcionamento da pesquisa imunofenotípica. **Descrição do caso:** Paciente feminina, idosa, deu entrada no hospital hematológico apresentando os seguintes sintomas e sinais clínicos: otorragia, equimoses, episódios de epistaxe, hiporexia e hematúria. O material de sangue periférico foi encaminhado ao laboratório de citometria de fluxo com a indicação clínica informando anemia, monocitose e trombocitopenia. A análise citomorfológica foi realizada antes da imunofenotipagem e revelou a presença de células mononucleares atípicas, apresentando alta relação núcleo/citoplasma, núcleo clivado em formato de “asa de borboleta” ou

bilobado, cromatina frouxa com áreas de heterocromatina contendo de 0 a 2 nucléolos, citoplasma acidófilo a basofílico (rosa-claro a avermelhado e azul-arroxado) com granações finas ou hipogranulares, características semelhantes aos promielócitos observados na variante microgranular da LPA. A partir desses achados, a montagem do painel de anticorpos foi direcionada para a investigação dessa neoplasia. A imunofenotipagem identificou 81% de promielócitos com fenótipo anômalo, apresentando expressão moderada de CD45 e positividade para os marcadores mielóides como o CD13, CD33 e MPO. Observou-se perda de expressão de CD15, expressão fraca do marcador mielóide/monocítico CD64, expressão parcial de CD117 e expressão parcial anômala de CD2. As células não apresentaram expressão dos marcadores de imaturidade CD34 e HLA-DR, tampouco do marcador CD56, associado a um prognóstico desfavorável na LPA. O exame foi liberado com a hipótese diagnóstica de LPA e sugestão para pesquisa citogenética do rearranjo gênico PML-RAR α (t(15;17)), característico da doença. Após avaliação do resultado, foi realizada a punção da medula óssea da paciente. O material foi encaminhado para citogenética, biologia molecular e novamente para imunofenotipagem. O imunofenótipo observado foi semelhante ao da amostra de sangue periférico. A citogenética molecular (FISH) e a biologia molecular (RT-PCR) detectaram a presença do rearranjo PML-RAR α , confirmando o diagnóstico de LPA. **Conclusão:** Esse caso evidencia a importância da análise citomorfológica como ferramenta para otimização da imunofenotipagem no laboratório de citometria de fluxo. A observação prévia de promielócitos anormais no esfregaço sanguíneo direcionou a investigação imunofenotípica, o que tornou o processo diagnóstico mais eficiente, agilizando desta forma a entrega dos resultados e, consequentemente, o início do tratamento adequado.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104330>

ID - 2056

IMUNOFENOTIPAGEM POR CITOMETRIA DE FLUXO NA CLASSIFICAÇÃO DE LEUCEMIAS: DO DIAGNÓSTICO À DETECÇÃO DA DOENÇA RESIDUAL MÍNIMA

EMTLd Azevêdo, FAM Esteves, FB Magalhães

Centro Universitário Tabosa de Almeida (ASCES-UNITA), Caruaru, PE, Brasil

Introdução: A imunofenotipagem por citometria de fluxo é uma técnica fundamental para o diagnóstico, classificação e monitoramento de neoplasias hematológicas. Sua capacidade de analisar milhares de células simultaneamente e identificar marcadores antigênicos específicos permite diferenciar células neoplásicas de progenitores normais, caracterizar linhagens celulares e identificar padrões antigênicos aberrantes. Essa abordagem é crucial para a detecção da doença residual mínima (DRM), agora frequentemente referida como doença residual mensurável, que representa a persistência de células tumorais indetectáveis por métodos convencionais. Dada sua alta sensibilidade, especificidade e aplicabilidade clínica, a imunofenotipagem complementa a análise citomorfológica, aprimorando o diagnóstico e contribuindo para decisões

terapêuticas mais eficazes. **Objetivos:** O presente estudo tem como objetivo revisar a aplicação da imunofenotipagem por citometria de fluxo na classificação das leucemias, destacando sua importância no diagnóstico diferencial dos subtipos da doença e no monitoramento da DRM. **Material e métodos:** Realizou-se uma revisão narrativa com buscas nas bases de dados PubMed, Portal de Periódicos da CAPES, SciELO e Google Acadêmico. Foram utilizados os descritores controlados “immunophenotyping”, “neoplasm”, “residual”, “flow cytometry” e “leukemia”, combinados por operadores booleanos. Foram incluídos artigos originais, revisões de literatura e metanálises em português e inglês, publicados nos últimos cinco anos. **Discussão e conclusão:** A imunofenotipagem por citometria de fluxo consiste na marcação de células em suspensão com anticorpos monoclonais conjugados a fluorocromos, específicos para antígenos de superfície ou citoplasmáticos. Após a incubação, as células são analisadas individualmente pelo citômetro de fluxo, que excita os fluorocromos por laser e registra os sinais emitidos. Os dados são processados em gráficos, permitindo distinguir as subpopulações celulares com base em seus perfis imunofenotípicos. Por exemplo, na leucemia linfóide aguda (LLA), linfoblastos B tipicamente expressam um conjunto específico de marcadores como CD10, CD19, CD22 e CD79a, enquanto linfoblastos T se caracterizam pela expressão de CD2, CD3, CD5 e CD7. Similarmente, na leucemia mieloide aguda (LMA), predominam marcadores como MPO, CD33, CD13 e CD117. A análise combinada desses perfis imunofenotípicos não só permite o diagnóstico diferencial preciso entre as diversas leucemias, mas também a detecção de padrões de expressão anormais (“aberrantes”) que são característicos das células malignas, mesmo em baixa quantidade. Sua elevada sensibilidade permite a detecção da DRM, crucial para monitorar a resposta terapêutica, detectar recidivas e melhorar o monitoramento do prognóstico, uma vez que a persistência de pequenas quantidades de células leucêmicas remanescentes é indetectável por métodos convencionais. A literatura consultada confirma a imunofenotipagem como ferramenta indispensável no diagnóstico e definição das estratégias de manejo das leucemias. Sua rapidez, sensibilidade e especificidade garantem diagnóstico diferencial precoce, permitindo intervenções oportunas e eficazes. Além de caracterizar os subtipos, orienta terapias adequadas e possibilita o monitoramento preciso da DRM, otimizando o prognóstico e o seguimento clínico dos pacientes.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104331>

ID - 3038

INFECÇÃO POR EBV MIMETIZANDO ACHADOS LABORATORIAIS DE LEUCEMIA LINFOBLÁSTICA AGUDA T: RELATO DE CASO

VDC Queiroz, P Vicari, ACP Silva, ADC Vaz, KMDS Lacerda, JTMD Oliveira, D Ramadan, S Tufik

AFIP, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O vírus Epstein-Barr (EBV), também conhecido como herpesvírus humano tipo 4, é um patógeno comum que