

#2022/12856-6 and the Brazilian Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES).

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104341>

ID - 2968

SUBPOPULAÇÕES MONOCITÁRIAS NA IMUNOFENOTIPAGEM: COORTE DE TRÊS ANOS DIFERENCIANDO LEUCEMIA MIELOMONOCÍTICA CRÔNICA DE OUTRAS CAUSAS DE MONOCITOSE

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

AFIP, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A leucemia mielomonocítica crônica (LMMC) é uma neoplasia mieloproliferativa crônica não clássica, rara, cujos critérios diagnósticos foram atualizados, em 2022, pela Organização Mundial de Saúde (OMS), incluindo as subpopulações monocitárias por citometria de fluxo, de sangue periférico, como critério diagnóstico auxiliar. O aumento de monócitos clássicos (MO1, CD14⁺⁺/CD16⁻) $\geq 94\%$ facilitou o diagnóstico diferencial entre as causas de monocitose, especialmente em cenários sem acesso fácil à biologia molecular. **Objetivos:** Descrever a experiência de um serviço brasileiro laboratorial na aplicação do critério de subpopulações monocitárias, por citometria de fluxo, em pacientes com monocitose. **Material e métodos:** Estudo retrospectivo de 25 pacientes, com hipótese diagnóstica de LMMC, avaliados entre janeiro de 2022 e março de 2025. Foram analisados hemograma, cariótipo e BCR-ABL (quando disponíveis) e citometria de fluxo (IMUNF) de sangue periférico (n = 14) ou de medula óssea (n = 11). Painel de IMUNF utilizado: CD 3, CD4, CD8, CD11b, CD13, CD14, CD16, CD19, CD 33, CD 34, CD 36, CD45, CD 56, CD64, IREM, HLA-DR. As subpopulações monocitárias foram definidas como MO1 CD14⁺⁺/CD16⁻, MO2 CD14⁺/CD16⁺ e MO3 CD14^{low}-/CD16⁺. Classificou-se como “LMMC suspeita” pacientes com MO1 $\geq 94\%$ e monocitose absoluta $\geq 1000/uL$ e $\geq 10\%$ em sangue periférico. **Resultados:** Dos 25 pacientes, idade 15-87 anos, 4 (16%) apresentaram perfil imunofenotípico de sangue periférico sugestivo de LMMC, com MO1 $\geq 94\%$ e em hemograma monócitos $\geq 1000/uL$ e $\geq 10\%$; em 1 deles, BCR-ABL negativo; e em outro cariótipo 46XY; nos outros 2 não havia dados moleculares. 4 (16%) tiveram padrão compatível com monocitose reacional, com aumento proporcional de MO2/MO3. Os 17 restantes (68%) permaneceram como “indeterminados” pelo critério de subpopulação monocitária imunofenotípico isolado. **Discussão e conclusão:** O método de 'monocyte subset repartitioning' descreve que uma proporção de monócitos clássicos $\geq 94\%$ no sangue periférico é altamente sugestivo de LMMC e distingue com elevada acurácia a doença clonal de monocitoses reacionais. Em coortes publicadas, esse valor obteve alta sensibilidade e especificidade e foi replicado em diversos outros estudos, consolidando seu emprego como ferramenta diagnóstica acessível. Em nosso trabalho, a identificação de 16% de

pacientes com “LMMC sugestiva” e de 16% com provável monocitose reacional, sustenta a aplicabilidade do método em um cenário real brasileiro. Contudo, há importante ressalva, 44% das amostras eram de medula óssea o que pode ter prejudicado a interpretação diagnóstica desses casos já que a subpopulação monocitária de medula óssea (MO) pode diferir da periferia e não é inclusa nos critérios diagnósticos; nenhum dos casos sugestivos de LMMC eram de MO. Além disso, a ausência de dados moleculares/citogenéticos em nossa coorte limita a capacidade de confirmação definitiva do diagnóstico conforme a OMS/2022. Estudos prévios que associaram padrões imunofenotípicos a mutações específicas indicam que a combinação de IMUNF + sequenciamento de nova geração (NGS) aumenta a precisão diagnóstica e classificatória. Portanto, o uso da subpopulação monocitária por citometria de fluxo demonstrou potencial para auxiliar no diagnóstico diferencial entre as diferentes causas de monocitose, principalmente LMMC e monocitose reacional. Mesmo na ausência de testes moleculares, o critério $\geq 94\%$ de monócitos clássicos por IMUNF mostrou-se capaz de direcionar a propedêutica para LMMC, confirmando o encontrado na literatura científica atual.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104342>

ID - 2216

USO DA CITOMETRIA DE FLUXO NO DIAGNÓSTICO DE LEUCEMIAS

TBM Silva

Pulsa Goiás, Goiânia, GO, Brasil

Introdução: A citometria de fluxo (CMF) é uma técnica multiparamétrica que utiliza laser óptico para analisar características de células em suspensão, como morfologia, tamanho, complexidade e expressão de antígenos de superfície. Na hematologia, a CMF é fundamental para o diagnóstico, classificação, prognóstico e monitoramento de leucemias, permitindo a identificação de subtipos específicos, como leucemia mieloide aguda (LMA), leucemia mieloide crônica (LMC), leucemia linfóide aguda (LLA) e leucemia linfóide crônica (LLC). A imunofenotipagem por CMF detecta marcadores celulares, orientando a terapêutica e a detecção de recidivas, contribuindo para melhores desfechos clínicos. **Objetivos:** Revisar a literatura para avaliar o papel da citometria de fluxo no diagnóstico, classificação e monitoramento de leucemias, destacando sua relevância na prática clínica hematológica. **Material e métodos:** Foi realizada uma revisão bibliográfica de artigos publicados entre 1997 e 2023, em português, inglês e espanhol, nas bases Scientific Electronic Library Online (SciELO) e Google Acadêmico. Os descritores utilizados foram “leucemias”, “citometria de fluxo” e “imunofenotipagem”. Foram selecionados artigos que abordavam o uso da CMF no diagnóstico, classificação e monitoramento de leucemias. A análise foi qualitativa e quantitativa, organizando as informações para identificar o papel da técnica no manejo clínico. **Resultados:** A CMF analisa até 10^6 células por minuto, medindo dispersão de luz e fluorescência de anticorpos

monoclonais marcados com fluorocromos. Seus cinco sistemas (fluido, óptico, eletrônico, amplificação e computacional) garantem alta precisão na separação, contagem e caracterização celular. A imunofenotipagem identifica marcadores específicos, como CD33, CD13 e CD117 para LMA, CD19, CD22 e CD79a para LLA-B, e CD3 e CD7 para LLA-T, permitindo a diferenciação de subtipos leucêmicos. A técnica é crucial para casos como LMA-M0 e LMA megacariocítica, identificada por marcadores como CD41 e CD61, que desafiam métodos citotóxicos convencionais. **Discussão e conclusão:** A CMF é superior a métodos tradicionais por detectar alterações sutis nas células sanguíneas, especialmente em leucemias indiferenciadas e anemia hemolítica. Avanços recentes, como o uso de múltiplos fluorocromos e softwares especializados, aumentaram sua sensibilidade, possibilitando a análise de pequenas populações celulares e a identificação de antígenos aberrantes. A técnica monitora a resposta terapêutica e detecta doença residual mínima, permitindo ajustes no tratamento. Na hematopoiese, erros que levam à proliferação descontrolada de leucócitos são identificados pela CMF, contribuindo para o diagnóstico diferencial e o planejamento terapêutico. A capacidade de detectar leucemias bifenotípicas e avaliar clonalidade reforça sua relevância clínica. A citometria de fluxo é indispensável no diagnóstico e manejo de leucemias, oferecendo alta sensibilidade e especificidade na identificação de subtipos leucêmicos. A imunofenotipagem permite classificação precisa, monitoramento terapêutico e detecção de recidivas, contribuindo para terapias individualizadas. Avanços tecnológicos reforçam sua importância na hematologia, promovendo melhores prognósticos e qualidade de vida para os pacientes.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104343>

ID - 2965

UTILIZAÇÃO DE CELL SORTING ASSOCIADO A FISH XY/STR PARA INVESTIGAÇÃO DE QUIMERISMO E RECAÍDA DE NEOPLASIA HEMATOLÓGICA APÓS TRANSPLANTE ALOGÊNICO DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOIÉTICAS: RELATO DE CASO

RS Kojima, PM Resende, GOA Barbosa, NS Bacal, EX Souto, MA Torres, GG Lima, PV Campregheer, LGF Cortes, LC Bento, FA Sousa, RK Kishimoto, D Borri, FPS Santos, EDRP Velloso

Hospital Israelita Albert Einstein, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O transplante alogênico de células-tronco hematopoéticas (TCTH) é estratégia potencialmente curativa para leucemia mieloide aguda (LMA) e síndromes mielodisplásicas (SMD), embora a recaída pós-TCTH permaneça como uma das principais causas de falha terapêutica. A avaliação de quimerismo é fundamental no acompanhamento, permitindo

identificar quimerismo misto ou decrescente e orientar condutas como a infusão de linfócitos do doador (DLI). Em casos com células imaturas no aspirado de medula óssea, é essencial diferenciar entre recaída da doença original e Donor cell leukemia (DCL). **Descrição do caso:** Paciente masculino, 70 anos, portador de SMD de baixo risco desde 2020, com progressão para alto risco em novembro/2023 (8% blastos, mutações em ASXL1, RUNX1, KRAS, ZRSR2 e TET2), tratado com azacitidina e venetoclax, alcançando remissão completa. Em abril/2024, foi submetido a TCTH não aparentado 9/10 (doadora feminina, regime BuFlu + TMI, PTCy/tacrolimo/micofenolato como profilaxia de DECH). Evoluiu com enxertia no D +23, ausência de DECH e quimerismo >98% por STR até D +100. No D+195, a biópsia de medula óssea revelou 6% de células imaturas CD34+, mosaicismos (47,XY,+mar[1]/46,XX [19]) e FISH XY com 4% de células XY, sugerindo possível recaída do receptor. Iniciou-se intensificação terapêutica com decitabina/venetoclax e DLI. Em avaliações subsequentes, houve o desaparecimento da população CD34+ e surgimento de uma outra população imatura CD34-/CD117+ (CD13+, CD33+, HLA-DR+ e negativa para CD5, CD7, CD15, CD34, CD36, CD38, CD56, CD64, CD71 e CD105), permanecendo semelhante o quimerismo de 95% e reemergência de mutações RUNX1 e KRAS. No D+420, diante de blastos mieloides na medula, incerteza da origem celular e perda da expressão de CD34 que dificultava a separação por esferas magnéticas CD34+, realizou-se citometria de fluxo com Cell Sorting para seleção de células CD117+. A amostra foi submetida ao exame de FISH para cromossomos sexuais e análise por STR. O resultado demonstrou linhagem XY em 92% das células selecionadas e quimerismo do doador de 8%, com 3 loci informativos e coeficiente de variação de 7%, aceitável pela baixa porcentagem de quimera. Com isso, foi confirmada a origem do receptor. Adicionalmente, a investigação citogenética dessas células evidenciou evolução clonal com amplificação do cromossomo 21 pela sonda de FISH t(8;21). **Discussão:** O caso ilustra o papel da citometria de fluxo com Cell Sorting e posteriormente a análise citogenética/molecular para a elucidação da origem celular em recaídas pós-TCTH. Neste caso, demonstrou a aplicação do Cell Sorting direcionado à células CD117+ associado a FISH XY e STR. **Conclusão:** Ressaltamos neste caso, que o uso combinado de Cell Sorting, STR e FISH foi decisivo para confirmar a origem receptora do clone tumoral em recaída pós-TCTH, orientando a continuidade da estratégia com DLI e destacando o valor dessas técnicas na condução clínica.

References:

1. Hu EY, Blachly JS, Saygin C, Ozer HG, Workman SE, Lozanski A, et al. LC-FACSeq is a method for detecting rare clones in leukemia. JCI Insight. 2020;5(13):e134973. doi:10.1172/jci.insight.134973. PMID: 32614656; PMCID: PMC7401211.
2. Shah NA. Donor lymphocyte infusion in acute myeloid leukemia. Best Pract Res Clin Haematol. 2023;36(1):101484. doi:10.1016/j.beha.2022.101484. PMID: 36634981.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.104344>