



TRENDS IN
**Biomedical
Laboratory Sciences**

ABSTRACT BOOK

2024, Volume 2, N.º1

Supplement

II CONGRESSO **BioMedLab**

ASSOCIAÇÃO PORTUGUESA DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS LABORATORIAIS

COIMBRA

Convento S. Francisco

1-3 MARÇO 2024

II CONGRESSO BioMedLab

ASSOCIAÇÃO PORTUGUESA DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS LABORATORIAIS

COIMBRA

Convento S. Francisco

1-3 MARCH 2024



CELLAVISION



Contents

Welcome Message – Congress President	II
Organizing and Scientific Comitee.....	III
Scientific Programme.....	IV
INVITED SPEAKERS	1
ORAL COMUNICATIONS	18
BIOQUÍMICA E IMUNOLOGIA	19
Molecular Evolution and Computational Chemistry Analyses of SH2D1A and XIAP Genes	19
Unveiling The Antitumoral Potential Of DC-Based Vaccines	20
BIOTECNOLOGIA.....	21
Anticoagulant properties of silkworm sericin.....	21
Remodelling of the Cardiac Extracellular matrix Proteome during Chronological and Pathological Ageing	22
CITOPATOLOGIA	23
Carcinoma Papilar Variante Whartin-Like: A Propósito De Um Caso Clínico	23
Otimização e validação do método imunocitoquímico em lâminas coradas com coloração de May-Grünwald Giemsa em neoplasias do pulmão	24
GENÉTICA	25
Síndrome De Vexas: Rastreo E Determinação De Mosaicismos No Gene Uba1 Por Pcr Digital.....	25
Unveiling Nup98 Rearrangement In Pediatric Acute Myeloid Leukemia: Case Report	26
HEMATOLOGIA E CIÊNCIAS DA TRANSFUSÃO	27
Capacidade De Congelação Do Plasma Para Fracionamento Através De Arca Ultra Congeladora (-80°C).....	27
Produção de Pools de Plaquetas a partir do Sangue Total. Comparação de Duas Metodologias.....	28
Vírus da Hepatite C - tendência da infecção em doadores de sangue e população portuguesa (2015 - 2022).....	29
HISTOPATOLOGIA	30
Advancements In Histological Processing: A Sustainable Protocol For Microplastic Detection In Corbicula Fluminea.....	30
Biomarkers In Whole Slide Images Stained By Hematoxylin-Eosin: A Groundbreaking Application Using Artificial Intelligence.....	31
Combining RNAscope™ with Protein Detection: A Multi-Omics approach to archived FFPE blocks	32
HISTOQUÍMICA E IMUNOHISTOQUÍMICA	33
There is a role for DNA Mismatch Repair in Penile Cancer?	33
The Role Of Cd8+ T Cells And Cd68+ Macrophages In Penile Cancer.....	34
MICROBIOLOGIA	35
O Papel Da Microbiologia: Controlo e Prevenção Das Infecções Hospitalares Associadas às Técnicas De Gastroenterologia.....	35

O Papel Das Bombas De Efluxo Na Resistência Aos Antimicrobianos em Isolados Clínicos de Neisseria Gonorrhoeae.....	36
ONCOBIOLOGIA.....	37
Comprehensive evaluation of the peripheral immunodynamics of immune checkpoint blockade therapy for non-small cell lung cancer.....	37
Inflammation or Proliferation? Exploring New Diagnostic Markers In Feline Nasal Lymphoma	38
Microenvironment in Head and Neck Cancer: Besides Immunotherapy, what else?	39
PATOLOGIA MOLECULAR E CELULAR.....	40
Molecular Diagnosis of Gestational Trophoblastic Disease	40
SAÚDE PÚBLICA	41
The Incidence of Respiratory Viruses in Portugal: A Private Laboratory Perspective.....	41
The prevalence of antibodies to HEV in a population of Portuguese higher education students.....	42
POSTERS	43
BIOQUÍMICA E IMUNOLOGIA	44
Alteração da imunidade em crianças após a pandemia: evidência dos valores séricos de IgA	44
Hábitos Alimentares E Sucesso Académico Em Estudantes Universitários	45
Infertilidade Masculina: Formas De Diagnóstico	46
Líquidos biológicos – papel dos marcadores tumorais no contexto citológico e perfil imunofenotípico	47
Perspetiva Duma Década: Avaliação Do Diagnóstico Laboratorial De Sífilis No CHUC.....	48
Pseudohiponatremia: a propósito de um caso clínico	49
BIOTECNOLOGIA.....	50
A 3D Tumor-On-Chip Platform To Study Intravasation	50
CIÊNCIAS FORENSES E TANATOLOGIA	51
The Role of Open Education In Improving The Accuracy Of Death Certification Practices Among Biomedical Professionals.....	51
CITOPATOLOGIA	52
Histogel Vs Cellient: A Comparative Study.....	52
Nódulo Hiperplásico Adenomatóide Da Tireoide: A Propósito De Um Caso Clínico	53
Uso De Filtros No Processamento De Citologia De Base Líquida: Importante Discriminar?	54
GESTÃO E CONTROLO DE QUALIDADE	55
Avaliação Externa da Qualidade na determinação do estudo Imunohematológico no Instituto Português do Sangue e da Transplantação - Delegação do Algarve	55
Controlo da Qualidade Na Fase Pré- Analítica: Interferência da Proporção de Sangue-Anticoagulante da Análise Do Tp e Ttpa	56

Determinação Da Incerteza Associada À Fase Pré-Analítica: Estudos De Hemostase.....	57
HEMATOLOGIA E CIÊNCIAS DA TRANSFUSÃO	58
Suporte Transfusional No Hospital De Dia Polivalente Da Uls Santo António (Uls Sa)	58
Análise do Volume dos Concentrados Eritrocitários produzidos no IPST – Delegação do Algarve (LLA/IPST) e o valor da hemoglobina (Hgb) da pessoa dadora.....	59
Avaliação da perda do fator VIII no processo de produção de plasma fresco congelado destinado a fracionamento industrial.....	60
Avaliação das unidades de Sangue Total (ST) com volume não conforme processadas na Delegação do Algarve do Instituto Português do Sangue e da Transplantação, IP (LLA/IPST)	61
Avaliação de desempenho de um Hemoglobinómetro Point Of Care em Dadores de Sangue Total	62
Caracterização dos Monócitos e a sua relação com o MDW na Covid-19	63
Caraterização das células T em biópsias de gânglios com suspeita de doença linfoproliferativa crónica de células B, para posterior avaliação do seu valor prognóstico	64
Caso Clínico - Valor Preditivo Do Cariótipo.....	65
Coagulopatia no Covid-19	66
Comparação no armazenamento de plaquetas em sacos de plástico butiril trihexil citrato (BTHC) e 2-dietil-hexil ftalato (DEHP): a diferença na qualidade e nos parâmetros metabólicos	67
Duas Décadas De Dádivas De Sangue Na Uls Santo António.....	68
Fenótipo A Fraco – Subgrupo raro: Ax Caso Clínico	69
Impacto Da Infecção Por EBV Em Doentes Diagnosticados Com LLC	70
O Diagnóstico Das Hemoglobinopatias Mais Prevalentes Em Portugal.....	71
Prevalência da Grupagem Sanguínea nas Dádivas do Algarve	72
Quantificação Celular No Líquido Cefalorraquidiano Utilizando o Alinity Hq: Será a Automatização uma possibilidade?	73
Screening do agente parasitário Plasmodium spp. em pessoas dadoras da região do Algarve e suas implicações	74
Tendência da Infecção pelo Vírus Da Imunodeficiência Humana em Dadores de Sangue em Portugal (2015-2022)	75
Teste De Antiglobulina Direto Positivo em Microcoluna de Gel- Resultados em Doentes.....	76
HISTOPATOLOGIA	77
Caso Clínico: Peça De Penectomia Restante Por Recidiva De Carcinoma Epidermóide	77
Computational Pathology: What's New	78
Rampa: 1 Ano de Experiência no Processamento Histológico	79
HISTOPATOLOGIA HISTOQUÍMICA E IMUNOHISTOQUÍMICA	80
Comparação dos Subtipos Moleculares de Cancro da Mama em dois Grupos Etários diferentes	80

Finefix® Fixation In Histopathological Samples With Macroscopic, Histochemistry And Immunohistochemistry Assessment: A Systematic Literature Review.....	81
Formalin-Free Histological Fixation And Its Impact On Organs, Cells, Proteins And Nucleic Acids - A Systematic Literature Review	82
Natural Oils As Substitutes For Xylene In The Clearing Step Of Histological Tissue Processing: A Systematic Literature Review	83
Transferência de Tecidos: Uma Técnica de Apoio.....	84
MICROBIOLOGIA	85
Análise Comparativa de duas metodologias de PCR para a deteção e quantificação do EBV	85
Doença Pneumocócica Invasiva – Relato De Um Caso Clínico	86
Parasitose Intestinal – Um Diagnóstico Laboratorial cada vez mais raro.....	87
Parasitose Intestinal por Hymenolepis Nana – Caso Clínico	88
ONCOBIOLOGIA	89
Impact of CDK4/6 inhibitors-induced senescence in triple-negative breast cancer epithelial-to-mesenchymal transition	89
Incidência e Mortalidade por Cancro do Estômago em países onde predomina a Dieta Mediterrânica.....	90
PATOLOGIA MOLECULAR E CELULAR.....	91
The Importance Of The IDH Molecular Test In Glioma Diagnosis	91
Avaliação do Status Mutacional dos Genes Mmr no Cancro do Endométrio Na população que recorre ao Centro Hospitalar Universitário Do Algarve.....	92

II CONGRESSO BioMedLab

ASSOCIAÇÃO PORTUGUESA DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS LABORATORIAIS

COIMBRA

Convento S. Francisco

1-3 MARCH 2024



Diana Martins
II Congresso BioMedLab President

BioMedLab: Juntos somos mais fortes

A BioMedLab pelo segundo ano consecutivo preparou para os colegas, um evento de cariz científico, na área da Biomedicina Laboratorial, ímpar em Portugal. Durante os dias 1, 2 e 3 de março de 2024, no Convento São Francisco em Coimbra, reuniram-se mais de 400 profissionais de saúde, dando corpo e expressão ao atual desenvolvimento científico e profissional das Ciências Biomédicas Laboratoriais em Portugal e Europa.

Como profissionais de saúde, a formação contínua e atualização de conhecimentos revela-se crucial, senão obrigatória! O II Congresso BioMedLab contribui inequivocamente e solidamente para estes objetivos no que concerne ao biomédico laboratorial, uma vez que, para além dos cursos pré-congresso nas mais diversas áreas de atuação destes profissionais de saúde, como sejam as ciências da transfusão, ciências forenses, citopatologia, citomorfologia hematológica, microbiologia, e macroscopia, elaborou um programa científico inovador, repleto de palestrantes e tópicos altamente relevantes nas Ciências Biomédicas Laboratoriais. O II Congresso BioMedLab é uma entidade viva, sendo os seus principais atores, os nossos estudantes e colegas licenciados em Análises Clínicas e Saúde Pública, em Anatomia Patológica, Citológica e Tanatológica e em Ciências Biomédicas Laboratoriais, ou seja, Biomédicos Laboratoriais. A sua participação neste evento, demonstra o “DNA” deste grupo de profissionais de saúde, colocando o foco no papel destes nos cuidados de saúde, na investigação, bem como no uso das novas tecnologias e inteligência artificial no laboratório.

O II Congresso BioMedLab afirmou de forma ímpar as Ciências Biomédicas Laboratoriais em Portugal e juntos fizemos deste congresso um evento inesquecível!

II Congresso BioMedLab Coimbra, 1-3 March

CONGRESS PRESIDENT:

Diana Martins (Coimbra)

ORGANIZING COMMITTEE:

Presidente: António Metello (Coimbra)

Ana Rodrigues (Coimbra)

Ana Sousa (Porto)

Anabela Metello (Coimbra)

Anabela Pereira (Coimbra)

Carolina Melo (Lisboa)

Cláudia Silva (Salamanca)

Cristiana Mourato (Faro)

Daniela Sousa (Covilhã)

Josiana Vaz (Bragança)

Marilisa Borges (Coimbra)

Maria Manuela Novo (Lisboa)

Mónica Curado (Porto)

Raquel Lopes (Lisboa)

Rúben Nunes (Lisboa)

Rúben Roque (Lisboa)

Sandra Carvalho (Lisboa)

Susana Silva (Porto)

SCIENTIFIC COMMITTEE:

Presidente – Fernando Mendes (Coimbra)

Amadeu Borges-Ferro (Lisboa)

Licinia Santos (Gotemburgo)

Paulo Rodrigues-Santos (Coimbra)

Silvia Fernandes (Porto)

Vanda Póvoa (Lisboa)

Vera Calhau (Coimbra)

II Congresso BioMedLab Coimbra, 1-3 March

SATURDAY 02-03-2024

- 9:30 – 10:00
Sessão solene de abertura
- 10:00 – 11:00
As Ciências Biomédicas Laboratoriais:
The sky is (not) the limit
- 11:00 – 11:30
Coffee break
- 11:30 – 12:30
Conferência Magna
Da Investigação à Clínica:
O Papel do Laboratório na Medicina
Personalizada
- 12:30 – 14:00
Almoço
- 14:00 – 15:00
Painel Científico I
Inovações Tecnológicas: Future Today!
- 15:00 – 16:00
Painel Científico II
Imunoterapia: A game changer!
- 16:00 – 16:30
Coffee break
- 16:30 – 17:30
Painel Científico III
Investigação: From the bench to the stars!
- 17:30
Assembleia Geral da BioMedLab
- 20:30
Jantar de Gala

SUNDAY 03-03-2024

- 10:00 – 11:00
Painel Científico IV
Diagnóstico pré-natal e Embriofetopatologia:
Early detection, brighter future
- 11:00 – 11:30
Coffee break
- 11:30 – 12:30
Painel Científico V
Patologia Molecular: What else?
- 12:30 – 12:45
Entrega de prémios
- 12:45 – 13:00
Sessão de Encerramento

COURSES PRE-CONGRESS:

01-03-2023

FORENSIC SCIENCES: FROM TRACE TO PROOF

CYTOPATHOLOGY: FROM IMMUNOCYTOCHEMISTRY
TO NEXT GENERATION SEQUENCING

HEMATOLOGICAL CYTOMORPHOLOGY

DYNAMIC MICROBIOLOGY: WHERE ARE WE GOING?
NEW CHALLENGES IN SCIENCE TRANSFUSION

NGG: NEXT GENERATION GROSSING

INVITED SPEAKERS

II Congresso BioMedLab
Coimbra, 1-3 March

CONFERÊNCIA MAGNA

**DA INVESTIGAÇÃO À CLÍNICA:
O PAPEL DO LABORATÓRIO NA MEDICINA PERSONALIZADA**



Manuel Sobrinho Simões

II Congresso BioMedLab **Coimbra, 1-3 March**

BIOMARKERS DEVELOPMENT: FROM EXPLORATORY DISCOVERY TO CLINICAL & INDUSTRY IMPACT



André Albergaria

Coordenador da Translational Research & Industry Partnerships - i3S
Docente na Faculdade de Medicina da Universidade do Porto

In the emerging era of biomarkers in medicine, we witness a profound shift towards personalized healthcare. These molecular indicators offer unprecedented insights into disease mechanisms and patient responses to treatments, revolutionizing diagnostic accuracy and therapeutic efficacy. Moreover, biomarkers serve as pivotal points for fostering dynamic collaborations between academia and industry, facilitating the translation of groundbreaking research into clinical applications. This synergy enables rapid validation and optimization of novel biomarkers, expediting the development of targeted therapies and diagnostic tools. Consequently, biomarker-driven approaches streamline drug development pipelines, mitigating risks and enhancing the success rate of clinical trials. Ultimately, the integration of biomarkers into drug development processes not only accelerates market entry but also ensures the delivery of tailored treatments, heralding a new era of precision medicine.

II Congresso BioMedLab Coimbra, 1-3 March

TECHNOLOGY IMPROVING PATHOLOGY



João Vale

TSDT no Laboratório de Anatomia Patológica do Instituto de Patologia e Imunologia Molecular Da Universidade Do Porto (Ipatimup)
Docente na Escola Superior Saúde Do Instituto Politécnico Do Porto

Technological development is revolutionizing the healthcare sector, which provides a range of benefits for healthcare professionals and patients.

Pathological Anatomy has evolved significantly with the implementation of digital and computational pathology in diagnostic laboratories, making it imperative to implement automation mechanisms in all laboratory procedures.

Automation is crucial to ensure process standardization, optimize workflow, and increase laboratory productivity. Technological transformation, supported by the efficiency of methods and systems, is essential for ensuring quality in all phases of the anatomopathological examination. This disruptive revolution culminates in a drastic reduction in errors and response time, greatly contributing to accurate and rapid diagnoses.

II Congresso BioMedLab Coimbra, 1-3 March

A BIÓPSIA LÍQUIDA NA ERA DA MEDICINA MOLECULAR, PERSONALIZADA E DE PRECISÃO



Rúben Fernandes

Professor Catedrático da Escola de Medicina e Ciências Biomédicas, Universidade Fernando Pessoa

A biópsia líquida representa um avanço significativo na deteção e gestão da doença oncológica, mediante a análise de DNA tumoral circulante (ctDNA) e de células tumorais circulantes (CTCs) em fluidos biológicos como o sangue. Esta abordagem distingue-se por minimizar a necessidade de intervenções cirúrgicas invasivas, oferecendo uma alternativa que possibilita um diagnóstico precoce, monitorização da progressão da doença e avaliação da eficácia terapêutica com elevada precisão.

Tecnologias como PCR quantitativo (qPCR), PCR digital (ddPCR) e next generation sequencing (NGS) permitem a analisar facilmente ctDNA, o que identificar mutações, variantes genéticas e biomarcadores com uma precisão sem precedentes. No contexto da medicina personalizada, a biópsia líquida permite também abordar a questão da heterogeneidade tumoral, proporcionando informações cruciais para a escolha de tratamentos personalizados, ajustados às características específicas do tumor de cada paciente.

Apesar dos avanços, desafios importantes persistem: é necessário melhorar a sensibilidade e a especificidade das técnicas de deteção, elaborar diretrizes claras e facilitar a implementação clínica. Os altos custos e a escassez de profissionais de saúde qualificados para integrar estas tecnologias no quotidiano clínico também representam obstáculos significativos. Contudo, a biópsia líquida brevemente afirmar-se-á como um pilar crucial na oncologia de precisão, contribuindo substancialmente em direção à medicina personalizada.

II Congresso BioMedLab Coimbra, 1-3 March

DCMATTERS



Lúcio Lara Santos

Diretor do Departamento de Oncologia Cirúrgica
Coordenador do Grupo de Investigação de Patologia e Terapêutica Experimental do Centro de Investigação
IPO - Porto

O projeto DCMatters visou estudar uma abordagem terapêutica inovadora baseada na combinação de vacina de células dendríticas (DC) associado a inibidores de checkpoint imunológico, como terapêutica de primeira linha em doentes com tumores malignos (sólidos).

As células dendríticas são isoladas do doente através do sangue periférico ou da medula óssea. Essas células dendríticas são manipuladas em laboratório para serem expostas a antígenos específicos relevantes para a doença que se pretende combater, como antígenos de vírus, bactérias ou células tumorais.

Após a exposição aos antígenos, as células dendríticas são ativadas e maturadas, o que as tornam prontas para desencadear uma resposta imune quando reintroduzidas no doente.

As células dendríticas modificadas ou ativadas são posteriormente reinfundidas no doente.

As vacinas baseadas em células dendríticas têm o potencial de serem personalizadas para cada indivíduo.

Aborda-se as atividades já realizadas e as futuras.

II Congresso BioMedLab Coimbra, 1-3 March

IMUNOCITOQUÍMICA: GO BIG OR GO HOME



Cláudia Pen

Técnica de Anatomia Patológica na Unidade Local de Saúde de São José, EPE

Biomarkers are integral to personalized cancer care, especially in immunotherapy, guiding treatment decisions by predicting responses. By analyzing biomarker profiles, clinicians can tailor immunotherapy regimens to individual patients, maximizing efficacy while minimizing side effects, thus advancing the era of precision oncology. Immunocytochemistry (ICQ) is part of a big journey which proves essential in modern cancer diagnosis, precisely identifying tissue proteins for accurate disease classification. Delve into the BIG 5 key multidimensional approaches to personalized healthcare in cancer: genomic profiling, molecular diagnostics, liquid biopsy, radiomics and imaging, and ICQ. Discover how biomedical scientists ensure accurate cellular protein detection, a game changer in cancer diagnosis. Explore the BIG 4 tumors utilizing ICQ as In vitro diagnostics assays: lung cancer, breast cancer, prostate cancer, and colorectal cancer. Uncover the BIG 3 main types of immunotherapy treatments: checkpoint inhibitors, CAR-T cell therapy, and monoclonal antibodies. Address the BIG 2 elephants in the room, two significant challenges encountered at the laboratory bench: standardization and quality control, and advanced technology integration like digital pathology and artificial intelligence. Emphasize the BIG 1 team: the importance in fostering talent and proficiency as a team. In the context of ICQ on the bench, adopting an approach that is bold, ambitious, and comprehensive when tackling diagnostic challenge, implies that one should not settle for mediocrity but instead aim for excellence in order to provide the highest quality of care and improve patient outcomes. So remember, in Immunocytochemistry, it's "Go BIG or Go Home."

II Congresso BioMedLab Coimbra, 1-3 March

EXPLORING THE IMPACT OF IMMUNE RECONSTITUTION ON CLINICAL OUTCOMES FOLLOWING ALLOGENEIC STEM CELL TRANSPLANTATION AND CAR-T CELL THERAPY



Hayley Foy-Stones
Biomedical Scientist at St James's Hospital, Dublin
PhD student at Trinity College Dublin

Introduction/Background:

Immune therapies such as allogeneic stem cell transplantation (allo-SCT) and chimeric antigen receptor T (CAR-T) cell therapy are proven treatments for patients whose blood cancers have not responded to chemotherapy. However, up to 50% of patients relapse. The recovery of the patient's immune system, particularly T-cells, significantly influences survival rates.

Materials and Methods:

In this longitudinal study, we biobanked peripheral blood mononuclear cells from twenty patients undergoing allo-SCT and from ten patients who received CAR-T cell therapy. We utilised multicolour flow cytometry to analyse CD4+ T-cells, CD8+ T-cells, mucosal-associated invariant T (MAIT) cells, invariant natural killer T (iNKT) cells, CD56+ T-cells, NK cells, monocytes, and subsets of $\gamma\delta$ T-cells. In the CAR-T cell therapy cohort, we assessed circulating CD19 CAR-T cells and their exhaustion marker phenotype. Statistical analysis was conducted using R Studio (V4.2.3) and GraphPad (V10.2.0).

Results:

Preliminary findings in the allo-SCT group linked slower T-cell recovery and poor outcomes, particularly CD56+ T-cells, known for their potent anti-tumour activities. In the CAR-T cell therapy group, patients achieving a complete response (CR) showed higher numbers of CAR-T cells compared to those with persistent disease (PD). Conversely, the persistent disease (PD) group exhibited higher levels of T-cell exhaustion markers.

Conclusion:

Our preliminary findings suggest that tracking immune profiles following allogeneic stem cell transplant could serve as valuable predictors of clinical outcomes. In the CAR-T cell therapy cohort, we observed a potential correlation between sustained CD19 CAR-T cell persistence and favourable outcomes, while the presence of exhaustion markers may signify poor clinical prognoses.

II Congresso BioMedLab Coimbra, 1-3 March

DRUG DELIVERY FOR TISSUE REGENERATION AND AGEING



Lino Ferreira

Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra
Laboratório Associado CIBB

In the first part of my talk, I will present different formulations composed of light-activatable nanoparticles for gene editing. Formulations allow in vitro spatial control in gene editing after activation with near-infrared light. We will demonstrate the potential of the formulations in vivo through three different paradigms: (i) gene editing in neurogenic niches, (ii) gene editing in the ventral tegmental area to facilitate monitoring of edited cells by precise optogenetic control of reward and reinforcement, and (iii) gene editing in a localized brain region via a noninvasive administration route (i.e., intranasal). In the second part, I will speak about formulations for the release of mRNA. Clinical implementation of mRNA-based therapies warrants formulations capable of delivering them safely and effectively to target sites. I will present our recent results about the identification of polymeric nanoformulations for the efficient transfection of fibroblasts. Overall, the results presented will highlight the use of high-throughput screening strategies to rapidly identify chemical features towards the design of highly efficient mRNA delivery systems targeting fibrotic diseases.

II Congresso BioMedLab Coimbra, 1-3 March

RECYCLING THE DISCARDED OVARIAN CANCER ASCITES TO MONITOR THERAPY RESISTANCE



Sara Ricardo

Differentiation and Cancer Group, Institute for Research and Innovation in Health (i3S), Institute of Molecular Pathology and Immunology, University of Porto (IPATIMUP)
TOXRUN-Toxicology Research Unit, University Institute of Health Sciences, CESPU

Ascites in ovarian carcinoma (OC) is one of the signs of peritoneal metastasis and is often present at diagnosis in late stages and recurrence of the disease. Ascitic fluid analysis is a unique opportunity to monitor the kinetics of tumour cells present during disease progression without additional invasive procedures. The objective of this work was to estimate the potential of this biological material to evaluate the expression of proteins associated with chemotherapy resistance. We received ascites from IPO-Porto patients diagnosed with high-grade serous carcinoma obtained at diagnosis and during treatment. After centrifugation of the entire fluid volume, the samples were fixed and included in Histogel™. In these cytological samples, immunocytochemistry was performed to evaluate the expression of four biomarkers associated with chemoresistance. Our results show that the centrifugation of the total fluid volume contains a satisfactory number of cells to perform various histological techniques and molecular studies. Expression of cancer stem cell markers, ALDH1, SOX2 and CD44v6, in samples before chemotherapy was often negative or with low expression levels. However, in samples received after or during chemotherapy, a greater number of samples expressing at least one of these biomarkers is observed. The expression of the multidrug resistance marker (P-gp) was exclusively observed in samples from patients with refractory disease. Our results show the potential of evaluating stem markers or markers associated with chemoresistance in ascitic fluids drained from patients during the course of the disease and reveal a new clinical utility of ascites in the context of OC.

II Congresso BioMedLab Coimbra, 1-3 March

UNRAVELING THE GLOBIN GENE SWITCH MECHANISM IN HUMAN ASTRONAUTS



Joseph Borg
L-Università ta' Malta
Investigator NASA GeneLab

The intricacies of space exert profound effects on gene expression, especially in pathways governing blood homeostasis and erythropoiesis. My groups' investigation, looks at haemoglobin biosynthesis on both earth and space platforms. Our space omics research leverages comprehensive multi-omic datasets from NASA's GeneLab, encompassing the NASA Twins Study, JAXA CFE study, and the SpaceX Inspiration4 mission. Analyzing the developmental expression of haemoglobin across time and space, our findings unveil compelling variations in globin gene expression mirroring distinct spatiotemporal dynamics within the collected samples. This study not only sheds light on the dynamic regulation of globin genes in response to the space environment but also offers valuable insights for biomedical scientists. As part of our ongoing efforts, our laboratory in Malta is actively engaged in blood profiling of human astronauts. Through this, we aim to discern various haemoglobin fractions, providing essential knowledge for understanding haemoglobin gene control and regulation. Beyond space exploration, our research holds significance for thalassaemia and sickle cell studies, contributing to the broader landscape of biomedical science. I invite you all to join us as we embark on a journey through the cosmos of haemoglobin research, unlocking secrets that resonate not only in space but also hold promise for human health.

II Congresso BioMedLab Coimbra, 1-3 March

RASTREIO E DIAGNÓSTICO PRÉ-NATAL DE ANOMALIAS CROMOSSÓMICAS



Sérgio Castedo
Diretor da Unidade de Diagnóstico Genético do IPATIMUP
Investigador do IPATIMUP

A evolução dos métodos de rastreio e diagnóstico pré-natal de anomalias cromossómicas nos últimos 50 anos é uma jornada fascinante, que se inicia pela idade materna como indicador inicial, se desenvolve com o rastreio ecográfico e bioquímico e, mais recentemente, atinge uma precisão sem precedentes com a análise do DNA fetal livre circulante.

Esta evolução proporcionou às gestantes e profissionais de saúde uma maior segurança e precisão no diagnóstico pré-natal, permitindo intervenções mais precisas e seguras, mas também criando alguns dilemas na interpretação dos resultados.

II Congresso BioMedLab Coimbra, 1-3 March

DIAGNÓSTICO MOLECULAR PRÉ-NATAL DE DOENÇAS MONOGÉNICAS



Nuno Maia

Clínica de Genética e Patologia, Unidade Local de Saúde de Santo António
Unidade Multidisciplinar de Investigação Biomédica e Laboratório associado para a Investigação Integrativa e Translacional em Saúde Populacional, Porto
Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto

As doenças monogénicas dizem respeito a um grupo de doenças genéticas diretamente relacionadas com alterações num único gene, que normalmente seguem um padrão de hereditariedade mendeliana. O diagnóstico molecular pré-natal deste grupo de patologias tem como objetivo o rastreio de uma variante patogénica previamente identificada na família ou, em caso de ausência de história familiar, a caracterização de um defeito molecular que possa explicar um conjunto de alterações fenotípicas apresentadas pelo feto. A evolução tecnológica tem permitindo o desenvolvimento de novos procedimentos de diagnóstico não-invasivos que, apesar dos bons resultados na identificação das aneuploidias mais comuns, apresentam algumas limitações na caracterização de defeitos monogénicos. São várias as estratégias e condicionalismos a considerar num diagnóstico pré-natal, nomeadamente relacionados com a natureza da amostra ou o tempo de gestação. Para além disso, estão disponíveis várias técnicas moleculares cuja aplicação deverá estar em concordância com o tipo de variante que se pretende rastrear ou com a suspeita clínica subjacente. Todos estes condicionalismos, aliados à importância evidente de um diagnóstico atempado e aos elevados níveis de ansiedade associados a uma possível patologia fetal, tornam o diagnóstico molecular pré-natal um verdadeiro desafio quer para os clínicos, quer para os profissionais do laboratório.

II Congresso BioMedLab Coimbra, 1-3 March

O IMPACTO DE EMBRIOFETOPATOLOGIA NO DIAGNÓSTICO PRÉ-NATAL



Catarina Cerdeira
Técnica de Anatomia Patológica CHUC
Centro de Anatomia Patológica Germano de Sousa
ESTeSC

O Serviço de Anatomia Patológica da Unidade Local de Saúde de Coimbra é atualmente reconhecido como Centro de Referência na autópsia fetal e pediátrica pela Sociedade Europeia de Patologia, registando em média 154 autópsias anuais.

No ano de 2022, a maioria dos casos (92%, n=150) referem-se a autópsias fetais, das quais 70% (n=104) resultaram de interrupções médicas da gravidez (IMG) e 30% (n=46) de mortes fetais. As principais causas de IMG foram patologias com envolvimento de vários órgãos e sistemas (25%) e patologias do Sistema Nervoso Central (24%).

Em relação às mortes fetais, 69% foram atribuídas a causas placentárias/maternas com predomínio da patologia inflamatória (34%), seguida pela má perfusão vascular materna (29%). As causas fetais representaram 23% dos casos, enquanto 9% permaneceram de causa indeterminada.

Um estudo recente nesta instituição sobre os defeitos do SNC averiguou a concordância entre o diagnóstico pré-natal e os achados post-mortem. Os defeitos do tubo neural e as anomalias da linha média demonstraram os maiores índices de kappa, registando valores de 0,916 e 0,830 ($p < 0,001$), respetivamente, indicando uma concordância excelente entre os métodos de diagnóstico. Muitas gestações terminam adversamente, quer seja por morte fetal ou por IMG, por vezes sem um diagnóstico claro. Deste modo, o exame post-mortem constitui um elemento fundamental, na medida em que permite confirmar, esclarecer ou refutar o diagnóstico pré-natal.

Assim sendo, a autópsia fetal não deve ser subestimada porque permite: estimar o risco de recorrência e o encaminhamento para aconselhamento pré-natal de gestações futuras; facultar dados sobre a prevalência de malformações congénitas para a investigação científica; constitui uma ferramenta de controlo de qualidade interno e de melhoria contínua do diagnóstico imagiológico.

II Congresso BioMedLab Coimbra, 1-3 March

NGS IN CYTOLOGY SPECIMEN



Fernando Schmitt

Professor of Pathology at Medical Faculty of Porto University
Head of the Molecular Pathology Unit, IPATIMUP
Director, RISE (Health Research Network)
President of the International Academy of Cytology

Cytological samples play a crucial role in molecular analysis across large gene panels, especially in the landscape of next-generation sequencing (NGS). The significance lies in their ability to provide high-quality nucleic acids, including DNA and RNA, which are essential for comprehensive genomic profiling. These samples, derived from various cytological preparations such as direct smears, liquid-based slides, and cell blocks, offer intact whole cells and exhibit higher cellular yield, purity, and tumor fraction, ensuring reliable results in downstream molecular assays. Cytological samples play a pivotal role in the application of Next-Generation Sequencing (NGS) across major types of solid tumors, including lung, pancreas, breast, and effusions. Their utilization in NGS has proven to be instrumental in advancing our understanding and treatment approaches in oncology. The non-invasive nature of cytological procedures, coupled with the power of NGS, enhances the precision of diagnosis and facilitates the identification of personalized therapeutic options across diverse oncological contexts.

II Congresso BioMedLab Coimbra, 1-3 March

COMPLEMENTARIDADE DA IMUNOFENOTIPAGEM NO DIAGNÓSTICO, PROGNÓSTICO E DECISÃO TERAPÊUTICA DE NEOPLASIAS SÓLIDAS



Artur Paiva

Unidade Funcional de Citometria de Fluxo do Serviço de Patologia Clínica da ULS Coimbra
Biobanco do Centro Académico Clínico de Coimbra (CHUC/Universidade de Coimbra)
Escola Superior de Tecnologia da Saúde, Instituto Politécnico de Coimbra
Coimbra Institute for Clinical and Biomedical Research (iCBR), Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Portugal

A citometria de fluxo assume, desde há muito tempo, um papel de relevo no diagnóstico, prognóstico e monitorização terapêutica das hemopatias malignas.

Nos últimos anos, fruto do aumento da sua capacidade multiparamétrica, podendo caracterizar ao nível de uma única célula mais de 40 parâmetros diferentes, e com o esforço de promover a standardização de todo o seu procedimento, incluindo a análise dos ficheiros gerados, tornou-se claramente uma ferramenta importante no contributo que pode dar para a medicina de precisão, nomeadamente na área dos tumores sólidos.

De facto, começam a aparecer as primeiras evidências que a citometria pode contribuir para o diagnóstico de tumores sólidos. Mas, acima de tudo, a citometria surge como um forte candidato para assumir um papel determinante na caracterização do microambiente tumoral, identificando diferentes subpopulações de células imunes, bem como na avaliação da expressão de checkpoints imunes, quer nas células tumorais, quer nas células imunes, contribuindo para o prognóstico e decisões terapêuticas a serem instituídas em doentes específicos.

Mais, fruto da sua elevada sensibilidade (1 célula/milhão), a citometria de fluxo pode identificar e quantificar células tumorais circulantes, ou mesmo células do sistema imune muito pouco representadas no sangue periférico e provenientes do tecido tumoral, podendo contribuir, desta forma, para a deteção de biomarcadores de prognóstico com recurso a colheitas menos invasivas.

A sinergia entre a citologia e a citometria de fluxo pode vir a contribuir para a construção de algoritmos mais robustos, passíveis de serem aplicados no grande desafio que se avizinha da medicina personalizada.

II Congresso BioMedLab Coimbra, 1-3 March

MEDICINA DE PRECISÃO APLICADA À ONCOLOGIA



Catarina Silveira
Diretora Técnica Adjunta GenoMed

A conclusão do Projecto do Genoma Humano em 2003, iniciou o caminho na era da Medicina de Precisão. O conhecimento, e entendimento, sobre a origem do cancro e a sua biologia tem sido alvo de enormes avanços. Inúmeros fármacos têm vindo a ser desenvolvidos, com base no perfil genómico dos tumores, com o objectivo de actuar num alvo molecular específico – mutações accionáveis. A escolha da metodologia e da amostra a estudar é crucial para o sucesso da Oncologia de Precisão. E porque diferentes questões pedem diferentes abordagens, serão apresentadas as principais técnicas moleculares usadas no laboratório de biologia molecular, e a sua aplicação na Oncologia de Precisão.

ORAL COMMUNICATIONS

BIOQUÍMICA E IMUNOLOGIA

Molecular Evolution and Computational Chemistry Analyses of SH2D1A and XIAP Genes

Nuno de Sousa^{1,2}, Luana Ramos^{1,2} & Agostinho Antunes^{1,2}

1. Department of Biology, Faculty of Sciences, University of Porto, Rua do Campo Alegre, 4169-007, Porto, Portugal; 2. CIIMAR/CIMAR, Interdisciplinary Centre of Marine and Environmental Research, University of Porto, Terminal de Cruzeiros do Porto de Leixões, Av. General Norton de Matos, s/n, 4450-208, Porto, Portugal.

X-linked disorders, resulting from gene mutations affecting protein function, particularly in immune-related genes, have widespread impacts on organ systems. X-linked lymphoproliferative syndrome (XLP), which predominantly affects young males, stems from mutations in SH2D1A and XIAP genes. Comparative genomics tools, crucial for identifying selective forces and unravelling biological interactions, are explored in this study, focusing on SH2D1A, SH2D1B, and XIAP genes. Coding sequences from representative mammalian species underwent phylogenetic and selection analyses, revealing robust purifying selection and strong conservation, especially in SH2D1A and XIAP. This suggests immune function conservation across mammalian evolution, with preserved protein structural configurations.

Deleterious XLP variations undergo negative selection, aiding their elimination in the population. We then assessed mutation impacts on the SH2D1A protein structure. Using in silico tools, 23 highly deleterious SNPs were identified, affecting conserved amino acids and compromising stability. Molecular dynamics simulations illustrated diverse effects on stability, flexibility, and structure, indicating intricate relationships. These SNPs increased protein stability and compactness, justifying impaired tyrosine-

based switch motif (ITSM) binding and reduced half-life. While experimental validation is crucial, these findings suggest potential personalized medicine interventions based on genetic profiles, generating opportunities for the discovery of new drugs.

Keywords: X-linked lymphoproliferative syndrome, SH2D1A, XIAP, Selection analyses, SNPs analyses

Unveiling The Antitumoral Potential Of DC-Based Vaccines

Gonçalo Simões^{1,2,3}, Filomena Oliveira^{2,3,4}, Ana Isabel Sebastião^{2,3,5}, Daniela Mateus^{2,3,5,6}, Daniel Ferreira⁷, Mylène A. Carrascal⁸, Maria Teresa Cruz^{2,3,5} & Bruno Neves^{1,9}

1. Departamento De Ciências Médicas, Universidade De Aveiro, Aveiro, Portugal; 2. Centro De Neurociências E Biologia Celular - Universidade De Coimbra, Coimbra, Portugal; 3. Center For Innovative Biomedicine And Biotechnology (Cibb), Universidade De Coimbra, Coimbra, Portugal; 4. Faculdade De Medicina, Universidade De Coimbra, Coimbra, Portugal; 5. Faculdade De Farmácia, Universidade De Coimbra, Coimbra, Portugal; 6. Biomark@Uc/Ceb—Labbels, Departamento De Engenharia Química, Faculdade De Ciências E Tecnologia, Universidade De Coimbra, Coimbra, Portugal; 7. Instituto Do Ambiente, Tecnologia E Vida (Iatv), Faculdade De Ciências E Tecnologia, Universidade De Coimbra, Coimbra, Portugal; 8. Grupo Tecnimede, Sintra, Portugal; 9. Instituto De Biomedicina (Ibimed), Universidade De Aveiro, Aveiro

Dendritic cell-based antitumor vaccines have undergone significant development in the last decades and have proven to be a safe therapeutic approach. During vaccine development, it is essential to monitor their ability to elicit an effective immune response. A crucial parameter for determining their effectiveness is the assessment of their ability to (cross)present antigens to CD8 T lymphocytes. It can be assessed by some in vitro protocols, which are time/resource consuming, hence a faster protocol needs to be established. This study aimed to optimize the mixed lymphocyte reaction (MLR) protocol and implement an alternative protocol.

The first MLR assay optimization involved replacing the culture medium with a more available and economical alternative. The results showed that this replacement neither maintained nor improved antigen presentation and cell proliferation outcomes. Conversely, delaying IL-2 supplementation and MLR restimulation with autologous peptide-loaded monocyte-derived dendritic cells (moDCs) contributed to a slight increase in antigen-specific clones. Another aim was to replace the cytotoxicity detection method to increase the sensitivity of the method, which was achieved using a flow cytometry protocol. The alternative protocol focused on the response of clones when co-cultured with peptide-loaded moDCs for 24h.

Preliminary results obtained by IFN- γ levels quantification demonstrated a correlation with previous cytotoxicity testing data. To establish a pure cell population for future testing, attempts were made to expand these clones, using a stimulus of IL-2, anti-CD3, and feeder cells which proved to be suboptimal. In sum, it was possible to improve the MLR assay efficiency in assessing antigen presentation. Also, the replacement of the cytotoxicity detection method allows for a more correct interpretation of the results. Lastly, the alternative protocol was shown to be promising by significantly reducing the time and resources required.

Keywords: Dendritic Cells; Immunotherapy; DC-Based Vaccine; Antigen Presentation; Antigen-Specific T Cell

BIOTECNOLOGIA

Anticoagulant properties of silkworm sericin

Sara Reis¹, Paula Coutinho^{2,3}, & [Josiana A. Vaz](#)^{1,4}

1. Instituto Politécnico De Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal; 2. Cpirn-lpg—Center Of Potential And Innovation Of Natural Resources, Polytechnic Institute Of Guarda, Guarda, Portugal; 3. Cics-Ubi—Health Sciences Research Centre, University Of Beira Interior, Covilhã, Portugal; 4. Laboratório Associado Para A Sustentabilidade E Tecnologia Em Regiões De Montanha (Sustec), Instituto Politécnico De Bragança, Campus de Santa Apolónia, 5300-253 Bragança, Portugal.

Hemostasis is a biological process that regulates blood flow in vessels, preventing bleeding from injuries. It balances pro-coagulant and anticoagulant factors; genetic or acquired conditions can disrupt this balance, leading to increased thrombus formation. Anticoagulant activity is increasingly vital in artificial organs and clinical medical devices. However, oral anticoagulants exhibit severe adverse reactions, including bleeding in the gastrointestinal tract, pericardial tamponade, retroperitoneal hematoma, intracranial hemorrhage, hemothorax, valve thrombosis, ischemic stroke, acute cold leg, and mesenteric ischemia. Consequently, an urgent need exists for a novel therapeutic approach to reduce current adverse effects of anticoagulant drugs without compromising efficacy. Recently, considerable attention has focused on discovering natural products

as effective supplements or alternatives to medications. Sericin, discarded as waste from the textile silk industry, has shown significant biomedical potential in recent studies. This potential is influenced by its extraction method, origin, and cocoon variety. This study aimed to extract and determine the anticoagulant potential of sericin. Cocoons from Bragança and Castelo Branco were collected, and sericin was extracted using the autoclave method. Its intrinsic anticoagulant activity was

determined by APTT assay. All sericin samples exhibited a significant effect at the highest concentration (1.6mg/mL) compared to the control. At the lowest concentration (0.025 mg/mL), all samples exceeded the controlled time. These findings suggest that sericin has the potential to extend coagulation time. In contrast to our results, other studies investigating the potential of sericin and sulphated sericin found that sericin did not prolong clotting time, and only sulphated sericin demonstrated higher values than the control. Further studies are required to gain a comprehensive understanding of the mechanism of action of sericin.

Keywords: Silk Protein, Natural Products, Silk Waste, APTT Assay

Remodelling of the Cardiac Extracellular matrix Proteome during Chronological and Pathological Ageing

Deolinda Santinha^{1,2}, Andreia Vilaça^{2,3}, Luís Estronca^{1,2}, Svenja C. Schöler⁴, Catherine Bartoli⁵, Annachiara De Sandre-Giovannoli^{5,6}, Arnaldo Figueiredo⁷, Maximilian Quaas⁸, Tilo Pompe⁸, Alessandro Ori⁴ & Lino Ferreira^{1,2}

1. Faculty Of Medicine, University Of Coimbra, Azinhaga De Santa Comba, Celas, 3000-548 Coimbra; 2. Cnc - Center For Neuroscience And Cell Biology, Cibb - Centre For Innovative Biomedicine And Biotechnology, University Of Coimbra, Rua Larga, 3004-504 Coimbra, Portugal; 3. Carim School For Cardiovascular Diseases, Faculty Of Health, Medicine And Life Sciences, Maastricht University, Maastricht, Netherlands; 4. Leibniz Institute On Aging, Fritz Lipmann Institute, Beutenbergstrasse 11, 07745 Jena, Germany; 5. Aix Marseille Univ, Inserm, Mmg, U1251, Marseille, France; 6. Molecular Genetics Laboratory, La Timone Children's Hospital, Marseille, France; 7. Serviço De Urologia E Transplantação Renal, Centro Hospitalar Universitário Coimbra Epe, Faculty Of Medicine, University Of Coimbra, Coimbra, Portugal; 8. Institute Of Biochemistry, Faculty Of Life Sciences, Leipzig University, 04103 Leipzig, German.

Impaired extracellular matrix (ECM) remodelling is a hallmark of many chronic inflammatory disorders that can lead to cellular dysfunction, ageing, and disease progression. The ECM of the aged heart and its effects on cardiac cells during chronological and pathological ageing are poorly understood across species. For this purpose, we first used mass spectrometry-based proteomics to quantitatively characterize age-related remodelling of the left ventricle (LV) of mice and humans during chronological and pathological (Hutchinson-Gilford progeria syndrome (HGPS)) ageing. Of the approximately 300 ECM and ECM-associated proteins quantified (named as Matrisome), we identified 13 proteins that were increased during aging, including lactadherin (MFGE8), collagen VI $\alpha 6$ (COL6A6), vitronectin (VTN) and immunoglobulin heavy constant mu (IGHM), whereas fibulin-5 (FBLN5) was decreased in most of the data sets analysed. We show that lactadherin accumulates with age in large cardiac blood vessels and when immobilized, triggers phosphorylation of several phosphosites of GSK3B, MAPK isoforms 1, 3, and 14, and MTOR kinases in aortic endothelial cells (ECs). In addition, immobilized lactadherin increased the expression of pro-inflammatory markers

associated with an ageing phenotype. These results extend our knowledge of the LV proteome remodelling induced by chronological and pathological ageing in different species (mouse and human). The lactadherin-triggered changes in the proteome and phosphoproteome of ECs suggest a straight link between ECM component remodelling and the ageing process of ECs, which may provide an additional layer to prevent cardiac ageing.

Keywords: Aging, extracellular matrix, proteomic, Hutchinson-Gilford progeria syndrome, decellularization, lactadherin

CITOPATOLOGIA

Carcinoma Papilar Variante Whartin-Like: A Propósito De Um Caso Clínico

Neuza Costa¹, Maria João Silva¹, Paula Agapito^{1, 2, 3} & Vitor De Sousa^{2,3,4}

1. Instituto Politécnico De Coimbra, Estesc, Ucpobl, Rua 5 De Outubro-Sm Bispo, Apartado 7006, 3046-854 Coimbra, Portugal; 2. Serviço De Anatomia Patológica, Uls De Coimbra: Centro Hospitalar E Universitário De Coimbra, Praceta Prof. Mota Pinto, 3000-075 Coimbra, Portugal; 3. Centro De Anatomia Patológica Germano De Sousa, Rua S. Teotónio, Lote 5, Nº21, 3000-377 Coimbra, Portugal; 4. Faculdade De Medicina Da Universidade De Coimbra, Azinhaga De Santa Comba, Celas, 3000-548, Coimbra, Portugal.

O carcinoma papilar da tiroide surge como a neoplasia maligna endócrina mais frequente, podendo apresentar variantes morfológicas com características arquitetónicas e/ou citológicas distintas. O carcinoma papilar Warthin-Like é uma variante rara, reconhecida como um subtipo distinto de carcinoma papilar da tiroide na Classificação de Tumores da Tiroide da OMS. Apresenta uma incidência maior no género feminino e na quarta década de vida. Caracteriza-se por ser um tumor circunscrito, com arquitetura papilar, presença de células neoplásicas oncócicas e estroma linfocítico proeminente, mimetizando o tumor de Warthin da glândula paratiroide.

Caso clínico: Indivíduo do sexo masculino, com 51 anos, submetido a citologia aspirativa da tiroide por

apresentar nódulo sólido no lobo esquerdo, hipocogénico, com calcificações, medindo 14 mm.

No exame citológico observou-se abundante celularidade à custa de reconhecimento de células com citoplasma amplo do tipo das células de Hürthle. Observaram-se características típicas de um carcinoma papilar com formação de estruturas papilares com um eixo fibrovascular nítido

revestido à periferia pelas células epiteliais. Constatou-se presença de frequentes pseudoinclusões nucleares e os núcleos encontravam-se aumentados, de dimensão e contorno discretamente irregular. O diagnóstico citológico enunciado foi: suspeito de carcinoma papilar. O tratamento seguiu a abordagem padrão, a tireoidectomia. No exame histológico observou-se um carcinoma papilar com predomínio de formação de papilas, com eixos fibrovasculares e infiltrado linfocítico, em áreas do tipo da variante Warthin-Like. Concluiu-se como diagnóstico final: carcinoma papilar variante Whartin-Like. O seu diagnóstico citológico continua a ser bastante desafiador. É de extrema relevância o diagnóstico diferencial principalmente, com a variante de células altas e subtipos oncócicos de modo a garantir um diagnóstico preciso desta condição clínica.

Palavras-chave: Carcinoma Papilar Da Tiroide, Variante Whartin-Like, Células De Hürthle, Citologia, Caso Clínico

Otimização e validação do método imunocitoquímico em lâminas coradas com coloração de May-Grünwald Giemsa em neoplasias do pulmão

Catarina Maciel¹, Rúben Roque^{2,3}, Francisco Pina Martins⁴, Teresa Pereira², Carla Pinheiro², João Matos², Rita Fagulha², Sónia Morgado², Vanessa Tavares², Saudade André²

1. Departamento de Biologia Animal, Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal; 2. Serviço de Anatomia Patológica, IPO Lisboa, Lisboa, Portugal; 3. Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa, Lisboa, Portugal; 4. Centre for Ecology, Evolution and Environmental Changes & CHANGE - Global Change and Sustainability Institute, Departamento de Biologia Animal Faculdade de Ciências, Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal.

A coloração de May-Grünwald Giemsa (MGG) é uma das colorações de rotina em Citologia. As colorações de rotina nem sempre são suficientes para um diagnóstico definitivo, podendo ser necessária a aplicação de técnicas complementares como a imunocitoquímica (ICQ). As lâminas coradas com MGG podem ser as únicas disponíveis para ICQ, mas estão descritos resultados variáveis com esta coloração. Com o presente projeto visamos otimizar e validar protocolos de ICQ em amostras citológicas coradas com MGG, para pesquisa dos antígenos pan-citoqueratina AE1/AE3, CD45 e TTF-1, avaliar a qualidade da técnica ICQ e calcular a sensibilidade e especificidade de cada soro. Para cada antígeno em estudo foram utilizados 10 derrames pleurais. Em cada derrame foi realizada ICQ com três protocolos, utilizando: esfregaços corados com MGG, esfregaços preservados em polietilenoglicol (PEG) e citoblocos (CB). As amostras em PEG e CB serviram como padrão para o cálculo da sensibilidade e especificidade. Para todas as lâminas foi avaliada a qualidade da técnica ICQ com recurso a uma escala de 0 a 27 pontos. Os soros CD45, AE1/AE3 e TTF-1 obtiveram, todos, valores de especificidade de 100%. Quanto à sensibilidade obtiveram-se valores de 100%, 100% e 40%, respetivamente. A pontuação média para cada um dos soros foi de 16.1 pontos (TTF-1),

21.1 pontos (CD45) e 22.2 pontos (pan-citoqueratina AE1/AE3). Foi possível otimizar protocolos para os três soros em estudo, no entanto só foi possível validar dois deles – CD45 e pan-citoqueratina AE1/AE3. A validação do TTF-1 não foi possível devido à sensibilidade ter sido inferior a 90%. Nos protocolos efetuados não foram encontrados resultados falsos-positivos. A coloração MGG afeta apenas a qualidade da ICQ quando é utilizada com o soro TTF-1.

Palavras-chave: Imunocitoquímica; May-Grünwald Giemsa

GENÉTICA

Síndrome De Vexas: Rastreo E Determinação De Mosaicismos No Gene Uba1 Por Pcr Digital

Gonçalo Novais^{1,2}, Ana Gonçalves^{2,3}, Sandra Marlene Mota^{1,4}, Maria Manuela Amorim^{1,4} & Rosário Santos^{2,3}

1. Escola Superior De Saúde, Instituto Politécnico Do Porto, Porto, Portugal; 2. Laboratório De Genética Molecular, Serviço De Genética Laboratorial, Centro De Genética Médica Jacinto Magalhães, Unidade Local De Saúde De Santo António, Porto, Portugal; 3. Unidade Multidisciplinar De Investigação Biomédica (Umib), Instituto De Ciências Biomédicas Abel Salazar (Icbas) E Laboratório Para A Investigação Integrativa E Translacional Em Saúde Populacional (Itr), Universidade Do Porto, Porto, Portugal; 4. Requimte/Laqv, Escola Superior De Saúde, Porto, Portugal.

A síndrome de VEXAS (Vacuoles, E1, X-linked; autoinflammatory, somatic) é uma doença autoinflamatória com maior incidência a partir de 4ª década de vida, causada por variantes somáticas no gene UBA1 (cromossoma X), que codifica a enzima E1 responsável pela ativação da ubiquitina na via metabólica ubiquitina proteossoma. Esta patologia apresenta um quadro clínico muito variável, associado a sintomas reumatológicos e hematológicos, tendo como principal achado a presença de vacúolos nas células precursoras das linhas eritróides e mielóides. Das 10 variantes patogénicas e provavelmente patogénicas atualmente descritas no

gene UBA1, três (p.Met41Leu; p.Met41Val; p.Met41Thr) têm elevada incidência na população mundial. Uma das metodologias mais utilizadas para o diagnóstico desta patologia é a sequenciação de Sanger que, no entanto, tem capacidade limitada para deteção de mosaicismos de frequência reduzida. O PCR digital (dPCR), devido à sua elevada sensibilidade e capacidade de quantificar de forma absoluta as sequências de interesse, revela-se uma alternativa capaz de colmatar estas dificuldades. Este trabalho teve como objetivo avaliar a capacidade de diagnóstico do dPCR na síndrome de VEXAS. Após desenho e

otimização, foi efetuado o rastreio das três variantes patogénicas mais frequentes em 51 amostras de doentes com suspeita de VEXAS. Foram utilizadas como controlos positivos sete amostras com diagnóstico prévio para as três variantes. Resultados preliminares deste trabalho não revelaram a presença de mosaicismos de baixa frequência para as variantes estudadas. O estudo das amostras positivas permitiu confirmar a especificidade das sondas na deteção das três variantes e ainda determinar com maior exatidão a sua percentagem de mosaicismo. O dPCR demonstrou ser uma ferramenta viável e útil como primeira abordagem no diagnóstico da síndrome de VEXAS devido à sua sensibilidade e rapidez, e com potencial de monitorização da eficácia terapêutica.

Palavras-chave: Síndrome De Vexas; Pcr Digital; Gene Uba1; Mosaicismo

Unveiling Nup98 Rearrangement In Pediatric Acute Myeloid Leukemia: Case Report

Andreia Sousa¹, Pedro Facção¹, Silvana Pereira¹, Rodolfo Serra¹,
Inês Luz¹, Gilberto Marques¹, Teresa Pereira², Nélia Jerónimo¹,
Fernando Rodrigues¹

1. Centro Hospitalar E Universitário De Coimbra, Coimbra, Portugal; 2. Instituto Português De Oncologia De Lisboa Francisco Gentil, Lisboa, Portugal.

Pediatric Acute Myeloid Leukemia (AML) is a rare disease driven by gene fusions that influence the classification, management and prognosis. The 2022 5th World Health Organization Classification identifies Nucleoporin 98 (NUP98) rearrangement as a novel, high-risk AML subgroup resistant to current therapies, associated with poor outcomes. This report presents a one-month-old newborn with skin lesions suggestive of leukemia cutis. Immunophenotypic analyses of a skin biopsy confirmed AML systemic infiltration. Bone marrow evaluation was made and despite negative molecular biology and next generation sequencing (NGS) results for AML panels, the karyotype revealed the t(10;11)(q11;p15) translocation. Four months later, Fluorescent In Situ Hybridization (FISH) analysis using the NUP98 Break Apart (BA) probe on preserved initial bone marrow cells, confirmed AML with NUP98 rearrangement. On diagnosis the NUP98 BA probe was unavailable and it couldn't be applied. A positive response was obtained with the Nordic Society of Pediatric Hematology and Oncology - Danish Society for Pediatric Hematology and Oncology (NOPHO-DBH) AML 2012 Protocol induction cycles and a consolidation cycle with HAM was performed. This positive response was followed by a relapse and a reinduction cycle with DNX-FLA-GO from the RELAPSE AML 2010/01 Protocol was adopted. In order to program a potential hematopoietic stem cell transplant (HSCT), HLA studies were carried out. This case emphasizes the paramount importance of preserving initial samples for ongoing studies and the need for the multidisciplinary team to be updated with AML classifications

for managing rare subgroups. Early knowledge of NUP98 rearrangement could impact treatment strategies, such as combining initial chemotherapy protocol with Venetoclax, a BCL2-inhibitor proven effective as a bridge to HSCT in pediatric high-risk AML.

Keywords: Pediatric Acute Myeloid Leukemia, NUP98 Fusions, 2022 WHO Classification, Venetoclax

HEMATOLOGIA E CIÊNCIAS DA TRANSFUSÃO

Capacidade De Congelação Do Plasma Para Fracionamento Através De Arca Ultra Congeladora (-80°C)

João Fernandes¹, Marta Gomes¹ & Sandra Sousa¹

1. Unidade Local De Saúde Do Médio Tejo, Epe, Portugal.

Nos países desenvolvidos, milhões de litros de plasma são descartados por serem impróprios para o fracionamento, uma perda económica e moralmente imperdoável. O aproveitamento do Plasma é uma recomendação do Conselho da Europa e uma estratégia nacional, visando a diminuição do desperdício, bem como a dependência externa de medicamentos dele derivados, possibilitando que os doentes portugueses possam receber tratamento com produtos de origem portuguesa, país onde a atividade de colheita, análise, processamento e distribuição de sangue é legislada, regulamentada e inspecionada, aumentando assim o nível de segurança para todos os envolvidos. O plasma obtido de uma dádiva de sangue total destinado à recuperação de proteínas lábeis deve ser congelado até 24 horas após a colheita, de forma a garantir que

a temperatura de -25°C seja atingida no "core" de cada unidade de plasma, dentro de 12 horas. Deste modo, torna-se pertinente avaliar a capacidade de congelação do core do plasma para fracionamento (PF) utilizando uma arca ultra congeladora - 80°C, marca Thermo Scientific, modelo HFU700TV, 949 litros. O processo de validação da congelação foi realizado de acordo com as operações de rotina diárias. Durante o mês de novembro de 2022 foi validada a congelação de 42 plasmas (volume médio de 277ml) nas duas

prateleiras superiores na sua total capacidade, sendo a duração média de congelação de 7 horas e 30 minutos. Para um número de colheitas superior, não se verificou a congelação do "core" em menos de 12 horas. Após cada ciclo de congelação, a arca demorou a recuperar e a atingir o "set point" de -80°C, consequência da grande variação térmica provocada pela abertura da porta e pela temperatura dos plasmas aquando da colocação. O serviço avaliou o risco inerente a esta condição e propôs a aquisição de um congelador rápido de plasmas, que já se encontra instalado e em fase de validação.

Palavras-chave: Plasma para fracionamento, Arca ultra-congeladora

Produção de Pools de Plaquetas a partir do Sangue Total. Comparação de Duas Metodologias

Porfírio Guimarães¹; Joana Abreu¹; Catarina Carvalho¹; Maria Rosales¹

1. Serviço de Imuno-Hemoterapia do Instituto Português de Oncologia do Porto

O objetivo deste estudo foi avaliar a qualidade e comparar a produção de pools de plaquetas (PLT) obtidos através de duas metodologias diferentes na separação de sangue total (ST) de doadores de sangue. Foi avaliado o período compreendido entre maio de 2021 (data de implementação do método automatizado Buffy-coat spleet) e dezembro de 2023, em que foram separadas 19265 colheitas de ST e produzidos 5153 pools de 3 ou 4 unidades intermédias de plaquetas (UIPs) de doadores. Esse período foi comparado com o intervalo de janeiro de 2019 e março de 2021, em que foram separadas 19488 colheitas de ST pelo método semiautomático PRP (Plasma Rico em Plaquetas) e produzidos 3825 pools de 5 concentrados de plaquetas (CPs) de doadores. Durante esses períodos foram escolhidos aleatoriamente e avaliados 1398 pools de PLT (3,6%). Nos valores de controlo da qualidade e pelo preconizado pelos Decretos-Lei em vigor 267/2007 e 100/2011, foram obtidos 97,9% de conformidade em 798 pools de PLT pelo método automatizado e 95,0% de conformidade em 600 pools de PLT avaliados pelo método semiautomático. Dos parâmetros de controlo da qualidade analisados, foram obtidas médias semelhantes em ambos os métodos para: volume (ml/60x10E9 PLT), concentração de PLT (PLTx10E11), leucócitos residuais (WBCx10E6), turbilhão e pH. O exame bacteriológico no método automatizado foi negativo em todos os testes realizados (2773 UIPs) ao contrário do método semiautomático, em que se verificou uma taxa de contaminação de 0,174% (2873 CPs testados). Houve um aumento de 36,2% na produção de pools de PLT com a implementação da automatização. Ambos

os métodos produzem pools de PLT com níveis de qualidade segundo as normativas em vigor. O aumento da produção de pools de PLT e a inexistência de contaminação bacteriológica no método automatizado são mais valias muito significativas, para além da rastreabilidade do processo, otimização da gestão de recursos humanos e diminuição de procedimentos manuais pelo operador.

Palavras-chave: Separação De ST, Controlo De Qualidade, Pools De Plaquetas, Buffy-Coat Spleet, Método PRP

Vírus da Hepatite C - tendência da infecção em dadores de sangue e população portuguesa (2015 - 2022)

Isaias Pedro¹ & João Almeida Santos^{2,3}

1. Instituto Português do Sangue e da Transplantação I.P. (IPST), Lisboa, Portugal; 2. Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge I.P. (INSA), Lisboa, Portugal; 3. Comprehensive Health Research Center (CHRC), Escola Nacional de Saúde Pública, Universidade NOVA, Lisboa, Portugal

A infecção pelo vírus da Hepatite C (VHC) pode permanecer assintomática por décadas antes que complicações graves se desenvolvam, o que atrasa o seu diagnóstico mas aumenta a possibilidade. A utilização de testes serológicos e testes de amplificação de ácidos nucleicos altamente sensíveis tem permitido minimizar o risco de transmissão por transfusão sanguínea. Descrever a tendência da infecção por VHC em dadores de sangue e população portuguesa entre 2015 e 2022. Estudo retrospectivo com dados do IPST, DGS e INE. Foi calculada a proporção anual de dadores VHC positivos por 100000 dadores e a proporção de VHC positivos por 100 000 habitantes (população portuguesa). A tendência da variação percentual média anual (AAPC) foi estimada com o software Joinpoint. Entre 2015 e 2022, foram confirmados 136 dadores de sangue com VHC (média de 17 casos/ano) e 1721 casos notificados na população portuguesa (média de 215 casos/ano). Em termos de tendência, a proporção de dádivas VHC positivas tem vindo a diminuir mas sem que esta diminuição seja estatisticamente significativa (AAPC=-2.9%). Na população portuguesa, as notificações de casos de VHC tem vindo a diminuir, sendo esta tendência estatisticamente significativa (AAPC=-7.4%, p=0.02). A tendência em dadores, quando diferenciado por sexo, revelou que nas mulheres esta se manteve constante (AAPC=1.0%) e nos homens apresentou uma tendência decrescente (AAPC=-7.1%), embora não fossem estatisticamente significativas. O avanço tecnológico das técnicas de rastreio e os dados da

hemovigilância em Portugal evidenciam um esforço continuado na deteção de dadores VHC positivos mantendo o risco residual infeccioso em valores perto de zero (0.0-0.09/100 000 dádivas). Porém, continuam a existir pessoas que desconhecem estar infetados, o que representa um risco para o próprio, para a comunidade, e para a dádiva de sangue.

Palavras-chave: VHC, Dadores de Sangue, Transfusão Sanguínea, Saúde Pública, Rastreio

HISTOPATOLOGIA

Advancements In Histological Processing: A Sustainable Protocol For Microplastic Detection In *Corbicula Fluminea*

Beatriz Azevedo^{1,2}, Mário Quaresma^{2,3}, Rute Noiva^{2,3}

1. Faculdade De Medicina Veterinária, Universidade De Lisboa, Lisboa, Portugal; 2. Ciisa – Centro De Investigação Interdisciplinar Em Sanidade Animal, Faculdade De Medicina Veterinária, Universidade De Lisboa, Lisboa, Portugal; 3. Associate Laboratory For Animal And Veterinary Sciences (Al4animals), Lisboa, Portugal.

Growing apprehensions concerning public health and the presence of microplastics (MPs) along the ecosystems of the Portuguese coast have prompted multiple studies in recent years. The correlation between specific factors, such as geographical origin and harvest season of indigenous clams, with the presence of MPs and their effects at cell level, remains an understudied area. The detection of MPs in biological tissues presents challenges due their susceptibility to degradation when exposed to organic solvents like xylene during routine histological processing. This hampers the optimization of protocols for conventional paraffin wax embedding, as well as routine staining. Therefore, this study aimed at developing a laboratory protocol capable of preserving and identifying microplastics in histological samples of *Corbicula fluminea*. Formalin fixed specimens (n=10) of *C. fluminea* were subjected to 2 different protocols of xylene-free processing based on dehydration and clarification with isopropanol: Long (n=5, 13h) and Short (n=5, 7h15). Two different protocols for slide deparaffinization were then tested: Tween20 solution (10 min, 720W) and Soapy solution (2x 2min, 90°C). DPX®, Mount Quick®, and glycerin were tested as mounting media. The slides were evaluated by a technician and a pathologist for overall

quality and preservation. Overall, processing and preservation of tissues and inorganic particles were successful in all samples, and the best protocol was Short processing combined with deparaffinization in Soapy solution and mounting with DPX®. Moreover, this protocol was less time-consuming, cheaper, and used fewer reagents for processing, with lower exposure to harmful substances, compared to routine protocols using xylene. Implementation of this protocol holds potential advantages, not only for use in environmental research but also as a more sustainable option that reduces exposure to toxic substances.

Keywords: *Corbicula Fluminea*, Histopathology, Xylene-Free, One Health, Microplastics

Biomarkers In Whole Slide Images Stained By Hematoxylin-Eosin: A Groundbreaking Application Using Artificial Intelligence

Gonçalo Borrecho^{1,2,3}, Mónica Curado^{4,5}, João Vale^{4,5}, Tiago Vinagre¹, Mariana Geraldés^{6,7}, Teresa Assunção⁸, Daniel Coelho⁹, Inês Ferreira⁹, Ana Ferreira⁵, Ana Isabel Fernandes¹⁰, Amélia França¹⁰, Fernando Mendes^{11,12,13,14,15}, Diana Martins^{11,12,13,14}

1. Unidade Local De Saúde Alentejo Central - Hospital Espírito Santo, Epe (Ulsac), Évora, Portugal; 2. Comprehensive Health Research Centre (Chrc), Évora, Portugal; 3. Egas Moniz Center For Interdisciplinary Research (Ciem), Almada, Portugal; 4. Laboratório De Anatomia Patológica Do Instituto De Patologia E Imunologia Molecular Da Universidade Do Porto (Ipatimup), Porto, Portugal; 5. Área Técnico-Científica De Anatomia Patológica, Citológica E Tanatológica, Escola Superior Saúde Do Instituto Politécnico Do Porto (Ess|P.Porto), Porto, Portugal; 6. Unidade Local Saúde São José, Lisboa, Portugal; 7. Hospital Das Forças Armadas, Lisboa, Portugal; 8. Instituto Português De Oncologia De Coimbra Francisco Gentil, Epe, Coimbra, Portugal; 9. Centro De Anatomia Patológica Germano De Sousa, Coimbra, Portugal; 10. Unilabs - Laboratório De Anatomia Patológica, Porto, Portugal; 11. Instituto Politécnico De Coimbra, Estesc, UCPCBL Coimbra, Portugal; 12. European Association for Professions in Biomedical Sciences, B-1000 Brussels, Belgium; 13. Biophysics Institute of Faculty of Medicine, Coimbra Institute for Clinical and Biomedical Research (ICBR) Area of Environment Genetics and Oncobiology (CIMAGO), University of Coimbra, 3000-548 Coimbra, Portugal; 14. Center for Innovative Biomedicine and Biotechnology (CIBB), University of Coimbra, 3000-548 Coimbra, Portugal; 15. Clinical Academic Center of Coimbra (CACC), 3000-548 Coimbra, Portugal.

Biomarkers play a fundamental role in the diagnosis, prognosis and prediction of diseases. The study of biomarkers requires the performance of complementary diagnostic tests, which entails high costs and inevitably leads to an increase in response time, which could have a severe impact on the patient's outcome. The digital transformation in Pathology Laboratories, accompanied by the wide implementation of slide digitalization, has been decisive for the development and application of digital intelligence algorithms in a diagnostic context. The aim of this review is to assess artificial intelligence algorithms for evaluating biomarkers that can be applied to whole slide images stained by hematoxylin-eosin (WSI-HE) and to understand their advantages and limitations. There are several types of algorithms, some established on the identification and quantification of morphological biomarkers, such as nuclear density, cellular heterogeneity, the presence of certain cellular structures, tissue organization and other features. The usage of WSI-HE is enormously promising, as it reveals additional information that is not visually

observable but can help or even expand the pathologists capabilities. The identification and validation of morphological biomarkers in WSI-HE still presents challenges, such as the need for large data sets annotated using multimodal data (information from different sources, such as histopathological images, clinical data, radiological information, genomic data, among others), the interpretability of deep learning models, the integration of these biomarkers into clinical practice, among others. The application of algorithms in WSI-HE could represent an important change in patient management, contributing to timely precision medicine.

Keywords: Digital Pathology, Computational Pathology, Biomarkers, Whole Slide Image, Hematoxylin-Eosin

Combining RNAscope™ with Protein Detection: A Multi-Omics approach to archived FFPE blocks

Ana Biscaia Santos¹; Diana Santos²

1. Unidade de Patologia Comparada, Instituto de Medicina Molecular JLA, Lisboa, Portugal; 2. AESousa Lab, Instituto de Medicina Molecular JLA, Lisboa, Portugal.

Gene expression analysis is vital to understand the complex interactions between cells and to characterize complex tissues. Combining the detection of genes and proteins when using formalin-fixed, paraffin embedded (FFPE) tissue sections, became an essential multi-omics approach to better understand the cellular cross talk between different cell populations within a spatial context. Objectives: In this study we aimed to combine RNAscope™ - a new generation of in situ hybridization technology - that detects target RNA expression with high sensitivity and specificity at single-cell resolution with immunofluorescence (IF) in one protocol to simultaneously visualize gene expression and protein in human gut and ileum FFPE biopsies. Methods: RNAscope™ workflow was optimized and implemented using the Fluorescent multi-plex RNAscope for archived human gut and ileum biopsies from HIV-2+ and HIV-1+ individuals, with antisense probes for gag-pol mRNA. Samples were first assessed for RNA preservation using a control probe for PPIB housekeeping gene. In parallel, IF conventional protocols were optimized for the following proteins: CD3, CD68 and CD163. After single optimization processes, the Integrated Co-detection workflow (ICW) was applied to the 24 samples cohort. Digital scans were taken using Zeiss Cell Observer SD and will be analyzed using QuPath v0.5.0. Results: We identified viral mRNA in some samples with validated RNA preservation and were able to co-detect CD3, and CD68 CD163 by using the ICW protocol. Conclusions: This study proved that RNAscope™ is a valuable resource for a highly specific detection of viral mRNA and circumvents the lack of robustness and

sensitivity of other In situ hybridization techniques. The ICW method proved a valuable source of evidences to characterize these samples, which is remarkable given the wide range of disease stages, as well as the diversity of source of FFPE samples and date of sample collection.

Keywords: FFPE, RNAscope, Multi-omics, Dual ISH-IHC, Spatial Profiling

HISTOQUÍMICA E IMUNOHISTOQUÍMICA

There is a role for DNA Mismatch Repair in Penile Cancer?

Ana Gabriela Marques^{1,2}, Diana Martins^{2,3,4,5}, Rui Almeida⁶,
Marisa Vilela^{2,6}, Maria Fátima Silva^{2,6}, Paulo Teixeira⁶, Fernando
Mendes^{2,3,4,5,6,7}

1. Unilabs , Porto, Portugal; 2. Instituto Politécnico De Coimbra, ESTeSC, UCPCBL Coimbra, Portugal; 3. Biophysics Institute of Faculty of Medicine, Coimbra Institute for Clinical and Biomedical Research (ICBR) Area of Environment Genetics and Oncobiology (CIMAGO), University of Coimbra, 3000-548 Coimbra, Portugal; 4. Center for Innovative Biomedicine and Biotechnology (CIBB), University of Coimbra, 3000-548 Coimbra, Portugal; 5. Clinical Academic Center of Coimbra (CACC), 3000-548 Coimbra, Portugal; 6. Pathology Department, University Hospital Center of Coimbra, Coimbra, Portugal; 7. European Association for Professions in Biomedical Sciences, B-1000 Brussels, Belgium.

Penile cancer (PeCa) is a rare tumor with high mortality and morbidity rates, characterized for being an aggressive disease with invasive growth and early spread to lymph nodes. To achieve satisfactory oncological results, the gold standard treatment is surgery, which is physical and psychologically devastating. Until recently, effective treatment innovation was missing. Such innovation treatment involves the use of immune checkpoint inhibitors (ICI) in cancers with a mismatch repair deficient phenotype (dMMR). Since dMMR has shown results associated to clinical benefit in response to ICI, FDA has approved the use of ICI in solid tumours dMMR, regardless of cancer site and histology. Our aim was to study the role of microsatellite instability to better understand their role in PeCa. Immunohistochemistry for the four MMR proteins (MLH1, MSH2, MSH6 AND PMS2) was performed on paraffin-

embedded samples of the tumor tissue, in a Portuguese cohort of Peca patients.

All 40 PeCa samples analyzed, none of them exhibited loss of any MMR protein. Therefore,

dMMR is not frequent mark in PeCa, suggesting that cannot be used as a prognostic or ICI related marker.

Keywords: Penile Cancer, Deficient Mismatch Repair, Microsatellite Instability, Immune Check Point Inhibitors

The Role Of Cd8+ T Cells And Cd68+ Macrophages In Penile Cancer

Mónica Silva^{1,2}, Marisa Vilela^{1,3}, Rui Almeida³, Maria Fátima Silva^{1,3}, Paulo Teixeira³, Fernando Mendes^{1,3,4,5,6,7}, Diana Martins^{1,3,4,5,6}

1. Instituto Politécnico De Coimbra, ESTeSC, UCPCBL Coimbra, Portugal; 2. Unilabs, Porto, Portugal; 3. Pathology Department, University Hospital Center of Coimbra, Coimbra, Portugal; 4. Biophysics Institute of Faculty of Medicine, Coimbra Institute for Clinical and Biomedical Research (ICBR) Area of Environment Genetics and Oncobiology (CIMAGO), University of Coimbra, 3000-548 Coimbra, Portugal; 5. Center for Innovative Biomedicine and Biotechnology (CIBB), University of Coimbra, 3000-548 Coimbra, Portugal; 6. Clinical Academic Center of Coimbra (CACC), 3000-548 Coimbra, Portugal; 7. European Association for Professions in Biomedical Sciences, B-1000 Brussels, Belgium.

Penile Cancer (PeCa) is a rare and aggressive squamous cell carcinoma, characterised by invasive growth and early lymph node metastasis. Although organ-sparing surgery is an effective treatment, surgical intervention alone is often not curative for penile cancer. Chemotherapy has proven to be of limited efficacy, and is associated with high toxicity. The limited treatment options and poor prognosis indicate the need for new therapeutic approaches for penile cancer. A retrospective study was conducted from 2010 to 2020, including 37 patients with PeCa, with the aim of investigating the tumour microenvironment and the presence of immune cells, such as CD8+ T cells and CD68+ macrophages, and the expression of PD-L1 in tumour cells, in order to understand their role in this neoplasia and contribute to improving the treatment of penile cancer. Immunohistochemical analysis of PD-L1 and intratumoral and peritumoral CD8 and CD68 was performed in paraffin-embedded tissues. The expression of PD-L1 was observed in 14 cases (37,8%) of PeCa. Regarding CD8 expression, 18 cases (48,6%) demonstrated intratumoral expression and 28 (75,7%) peritumoral CD8 expression. The expression of CD8 was not associated with any histological characteristics, however we found a tendency between its expression and tumour differentiation. Intratumoral expression of CD68 was observed in 16 cases (43,2%), while peritumoral expression was present in 31 cases (83,8%). We found a

statistically significant association between the expression of this marker and tumour stage and pathological nodal status. The presence of CD8 T cells and CD68 macrophages at the intratumoral or peritumoral counterpart seems to be associated with different outcomes, and their study in the tumour microenvironment may be important for new therapeutic targets in PeCa.

Keywords: Penile Neoplasms, Tumour Microenvironment, Immune System, Immune Checkpoint Inhibitors

MICROBIOLOGIA

O Papel Da Microbiologia: Controlo e Prevenção Das Infeções Hospitalares Associadas às Técnicas De Gastroenterologia

Sofia Galvão¹, Ana B. Carpalhoso¹, Ana I. Câmara¹, Ana L. Silva¹, Helena Santos¹, Maria A. Santos¹, Maria G. Maximiano¹, Sara Roda¹, Suse Silva¹, Vanessa Pinto¹, Yola Ribeiro¹, Filipa Silva¹, Gina Marrão¹, Ricardo Castro¹**

1. Unidade Local De Saúde Da Região De Leiria, E.P.E

* Responsável Pelo Laboratório De Microbiologia

** Diretor Do Serviço De Patologia Clínica

O controlo interno da desinfeção adequada dos equipamentos médicos (EM) é essencial para o controlo de infeções. Vários estudos demonstram o risco de transmissão de microrganismos inerente à utilização destes equipamentos caso não se realize o reprocessamento adequado. Foi estabelecido um protocolo entre o serviço de gastroenterologia e o serviço de patologia clínica, nomeadamente o laboratório de microbiologia da Unidade Local de Saúde da Região de Leiria, de modo a avaliar a correta desinfeção dos EM utilizados em alguns exames, como os colonoscópios, duodenoscópios e endoscópios. As amostras são enviadas

para o laboratório em frascos estéreis de material que advém da irrigação com cloreto de sódio de cada canal dos EM, após o ciclo de desinfeção no reprocessador automático de endoscópios (RAE). Após receção, as amostras são semeadas em gelose de sangue pela técnica de inundação e incubadas a 37°C até 72h. Durante esse período, o equipamento em avaliação fica fora de circulação até resultado negativo das análises microbiológicas. A desinfeção dos RAE é também avaliada através da

análise aos adaptadores do fluxo de ar do armário de barreira bem como as suas superfícies. Foram avaliados os resultados microbiológicos de cada EM de 2019 a 2023 sendo classificados como contaminados ou não contaminados. Avaliaram-se 157 colonoscópios, 82 duodenoscópios e 97 endoscópios. Destes resultaram 24%, 33% e 22% contaminados, respetivamente, sendo que no caso dos colonoscópios só 4% demonstraram estar não contaminados após o 4º reprocessamento. Analisámos ainda 23 amostras dos RAE, sendo que cerca de 9% eram amostras contaminadas, que após 1 reprocessamento ficaram não contaminadas. Através da revisão dos nossos resultados é possível verificar a extrema importância deste protocolo no controlo de infeções hospitalares. Assim, foi possível otimizar os procedimentos de limpeza e desinfeção dos EM e evitar a disseminação de agentes patogénicos.

Palavras-chave: Controlo, Infeção, Dispositivos Médicos, Desinfeção, Reprocessamento

O Papel Das Bombas De Efluxo Na Resistência Aos Antimicrobianos em Isolados Clínicos de *Neisseria Gonorrhoeae*

Teresa Paulino¹, Sofia Santos Costa¹, Liliana Rodrigues¹

1. Global Health And Tropical Medicine, Ghtm, Associate Laboratory In Translation And Innovation Towards Global Health, La-Real, Instituto De Higiene E Medicina Tropical, Ihmt, Universidade Nova De Lisboa, Unl, Lisboa, Portugal

A gonorreia, causada pelo agente etiológico *Neisseria gonorrhoeae*, é a segunda infecção bacteriana de transmissão sexual mais frequente. Em 2020, a Organização Mundial da Saúde estimou 82,4 milhões de casos desta infecção. A emergência de resistência às diferentes classes de antibióticos, impõe sérias limitações terapêuticas. A atividade de bombas de efluxo (BEs) demonstrou ser uma componente importante no desenvolvimento de resistência. Identificaram-se pelo menos cinco sistemas de efluxo, MtrCDE, MtrF, MacAB, NorM e FarAB, associados ao transporte de diversos antimicrobianos. Neste trabalho, estudou-se o contributo das BEs no desenvolvimento de resistência antimicrobiana em *N. gonorrhoeae*. Avaliou-se a atividade de efluxo em dez isolados clínicos através de: (i) Determinação da concentração mínima inibitória (CMI) de antibióticos substratos de BEs, e também do brometo de etídio (EtBr); (ii) Determinação de CMIs dos substratos na presença de inibidores de efluxo (IEs), como a clorpromazina (CPZ), tioridazina (TZ), verapamil (VP) e amlodipina (AML); (iii) Detecção da acumulação de EtBr, por fluorimetria em tempo real (iv) Quantificação, por RT-qPCR, da expressão de genes codificantes e reguladores de BEs. Sete isolados clínicos apresentaram uma CMI 4x superior ao valor da CMI da estirpe de referência para a tetraciclina, eritromicina e rifampicina. O isolado NG10 apresentou uma redução de 4x do valor de CMI para a eritromicina na presença de IEs (TZ e CPZ). Os isolados NG02, NG07, NG08, NG09 e NG10 apresentaram menor acumulação de EtBr, verificando-se aumento da expressão

relativa dos genes *mtrD* para NG08, *macA* e *norM* para NG09 e *mtrR*, *macA*, *macB* e *norM* para NG10, o que sugere aumento da atividade de BEs. Em conclusão, este trabalho demonstrou que as BEs contribuem para a resistência antimicrobiana em *N. gonorrhoeae*, salientando a sua importância como alvo terapêutico, nomeadamente para o desenvolvimento de IEs que possam ser utilizados como abordagem terapêutica.

Palavras-chave: *Neisseria Gonorrhoeae*, Bombas De Efluxo, Resistência Aos Antimicrobianos, Inibidores De Efluxo.

ONCOBIOLOGIA

Comprehensive evaluation of the peripheral immunodynamics of immune checkpoint blockade therapy for non-small cell lung cancer

Paulo Rodrigues-Santos^{1,2,3,4,5,6}, Luana Madalena Sousa¹, Jani Sofia Almeida^{1,2,3,4,5,6}, Fernando Barata^{6,7}, Ana Figueiredo^{6,7}

1. Universidade de Coimbra, Centro de Neurociências e Biologia Celular (CNC), Laboratório de Imunologia e Oncologia, Coimbra, Portugal; 2. Universidade de Coimbra, Faculdade de Medicina (FMUC), Instituto de Imunologia, Coimbra, Portugal; 3. Universidade de Coimbra, Faculdade de Medicina, Centro de Investigação em Ambiente e Oncobiologia (CIMAGO), Coimbra, Portugal; 4. Universidade de Coimbra, Faculdade de Medicina, Instituto de Investigação Clínica e Biomédica de Coimbra (ICBR), Coimbra, Portugal; 5. Universidade de Coimbra, Centro de Inovação em Biomedicina e Biotecnologia (CIBB), Coimbra, Portugal; 6. Centro Académico Clínico de Coimbra (CACC), Coimbra, Portugal; 7. Unidade Local de Saúde de Coimbra (ULSC), Serviço de Pneumologia, Coimbra, Portugal.

The assessment of peripheral immune parameters is pivotal in the selection of patients, monitoring treatment responses, and addressing side effects during immunotherapy for non-small cell lung cancer (NSCLC). This research aims to assess the peripheral immune status of stage IIIB/IV NSCLC patients, comparing samples at diagnostics (DX), post-chemotherapy (CT), and following immune checkpoint blockade (ICB) immunotherapy. Comprehensive immunophenotyping, including over 200

parameters, was conducted on 51 stage IIIB/IV NSCLC patients. The study also involved quantification of immune-related gene expression for 103 target genes using RT-qPCR and the measurement of 99 immune-related plasmatic factors through xMAP (Luminex®) technology. The key finding underscores a significant rise in myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) in all NSCLC patients compared to controls, particularly monocytic MDSCs (M-MDSC). Notably, T cell subsets (CD8, activated CD8, memory CD8, and Tregs), transitional B cells,

CD56bright NK cells, and NKT-like cells exhibited substantial increases in ICB-treated patients. Gene expression analysis revealed correlations with genes associated with T cell responses, MHC class I expression, metabolism, adhesion molecules, and vascular endothelial growth factors. Moreover, NSCLC patients undergoing immunotherapy displayed a noteworthy increase in VISTA/B7-H5. Employing unsupervised machine-learning clustering analysis algorithms, a global signature linked to ICB therapy and treatment response was identified. In conclusion, this study underscores the importance of a thorough assessment of both cellular and soluble immune factors, including immune-related gene expression. This comprehensive evaluation holds potential utility in the selection and monitoring of patients undergoing immunotherapy for lung cancer.

Keywords: Cancer immunotherapy, immunodynamics, transcriptomics, soluble proteome, exoproteome

Inflammation or Proliferation? Exploring New Diagnostic Markers In Feline Nasal Lymphoma

Sandra Vieira De Carvalho^{1,2}, Renata Gaspar¹, Rodolfo Leal^{1,2}, Rute Noiva^{1,2}

1. CIISA – Centro De Investigação Interdisciplinar Em Sanidade Animal, Faculdade De Medicina Veterinária, Universidade De Lisboa, Lisboa, Portugal; 2. Associate Laboratory For Animal And Veterinary Sciences (AI4animals), Lisboa, Portugal.

In a population of 100,000 cats, 200 will develop lymphoid neoplasia. Lymphoma is the most common nasal cavity tumor in cats. While aggressive nasal large B-cell lymphomas are the most common, epitheliotropic types often have longer survival. In comparison, feline lymphoplasmacytic rhinitis (FLPCR) is a progressive nasal disease with cycles of lymphoplasmacytic inflammation, tissue damage and repair. Not only are clinical signs similar for feline nasal lymphoma (FNL) and FLPCR, imaging findings in inflammatory mass-like lesions overlap with findings for nasal neoplasms. Importantly, lymphoid inflammatory infiltrates are also commonly seen in and around nasal lymphomas. Therefore, new tools with diagnostic or prognostic value are needed in clinical practice. In this retrospective study, we used immunohistochemistry to detect expression of CD3, CD20, BCL-2, STAT5, MLH1 and MSH6 to characterize FNL and FLPCR lymphoid populations. Cases of chronic nasal disease (n=10) diagnosed via nasal biopsy, between 2019 and 2021 at the Veterinary Teaching Hospital, University of Lisbon were divided into two groups (FNL (n=5) and FLPCR (n=5)) based on cell morphology and behavior on routine histopathology. In the lymphoma group, neoplastic cells were predominantly CD20+ (5/5), moderately to strongly STAT5+, MLH1+ and MSH6+ (5/5), and occasionally but strongly BCL-2+ (2/5). STAT5 expression in these cells was almost exclusively cytoplasmic. In both the lymphoma and the rhinitis groups, inflammatory lymphoid cells were BCL-2- (10/10), variably and weakly MLH1+ (2/10), and often weakly STAT5+ (9/10)

and MSH6+ (7/10). STAT5 expression in these cells was exclusively nuclear. Both CD3+ and CD20+ were seen in similar numbers in the rhinitis cases, while inflammatory lymphocytes were predominately CD3+ in lymphoma cases. Our results suggest that STAT5, MLH1 and MSH6 show potential as diagnostic markers in differentiating FNL from FLPCR, justifying future studies in a wider case pool.

Keywords: Feline Nasal Lymphoma, Feline Lymphoplasmacytic Rhinitis, Nasal Rhinitis, Lymphoma, Feline Immunohistochemistry, Oncology

Microenvironment in Head and Neck Cancer: Besides Immunotherapy, what else?

Beatriz Sousa¹, Fernando Mendes^{1,2,3,4,5,6}, Diana Martins^{1,2,3,4,5}

1. Instituto Politécnico De Coimbra, ESTeSC, UCPCBL Coimbra, Portugal; 2. Unilabs, Porto, Portugal; 3 Biophysics Institute of Faculty of Medicine, Coimbra Institute for Clinical and Biomedical Research (iCBR) Area of Environment Genetics and Oncobiology (CIMAGO), University of Coimbra, 3000-548 Coimbra, Portugal; 4. Center for Innovative Biomedicine and Biotechnology (CIBB), University of Coimbra, 3000-548 Coimbra, Portugal; 5. Clinical Academic Center of Coimbra (CACC), 3000-548 Coimbra, Portugal; 6. European Association for Professions in Biomedical Sciences, B-1000 Brussels, Belgium.

Head and neck cancer (HNC) is the 6th most common cancer worldwide, with high rates of morbidity and mortality. HNC can severely affect the patients quality of life as they are very aggressive and respond poorly to therapy. Unfortunately, many patients are diagnosed at a very late stage of the disease which increases the possibility of developing recurrence or metastasis. The prognosis of these patients is poor, especially in more advanced stages of the disease and therapeutic options other than palliative chemotherapy or immunotherapy are urgently needed. With this systematic review, we aim to explore new innovative molecules in the treatment of patients with HNC. Since the tumor microenvironment (TME) plays a key role in regulating tumor progression and treatment response, thereby affecting prognosis, the identification of new biomarkers can identify new therapeutic targets and improve patient outcomes. The results obtained shown that, overall, TME-based targeted therapies have the potential to improve, either alone or in combination, patient outcomes and survival. Lapatinib and bintrafusp alpha, showed to be effective in reducing cell proliferation in HNC patients. Clinical trials are ongoing to include immune checkpoint inhibitors in the neo or adjuvant treatment of HNC as well as in novel combinations with other drugs in the recurrent/metastatic setting to improve response rates and survival and help overcome resistance mechanisms to immune checkpoint blockade. Therefore,

more studies are needed in this field in order to improve HNC patients outcome.

Keywords: Head and Neck Neoplasm, Tumor Microenvironment, Therapeutics

PATOLOGIA MOLECULAR E CELULAR

Molecular Diagnosis of Gestational Trophoblastic Disease

Sara Cardoso^{1,3}, Jorge Ferreira², Rui Santos², Paula Lopes²,
Carla Pinto⁵, Marta Rodrigues⁷, Maria João Pinheiro⁶, Liliانا
Capela⁶, Carmen Jerónimo^{3,4}, Carla Bartosch^{2,7}

1. Clinical Pathology Department, Portuguese Oncology Institute of Porto, Porto, Portugal; 2. Pathology Department, Portuguese Oncology Institute of Porto, Porto, Portugal; 3. Cancer Biology & Epigenetics Group, Research Center of IPO Porto (CI-IPOP) / RISE@CI-IPOP (Health Research Network), Portuguese Oncology Institute of Porto (IPO Porto) / Porto Comprehensive Cancer Center Raquel Seruca (Porto.CCC), Porto, Portugal; 4. Department of Pathology and Molecular Immunology, ICBAS-School of Medicine and Biomedical Sciences, University of Porto; 5. Genetics Department, Portuguese Oncology Institute of Porto, Porto, Portugal; 6. Genetics Department Centro Hospitalar Universitário S.João, Porto, Portugal; 7. Pathology Department, Centro Hospitalar Universitário S.João, Porto, Portugal.

Introduction: Gestational trophoblast disease is characterized by an abnormal proliferation of placental trophoblast. This group of entities exhibit different clinical, imaging and histological features. Generally, they have high cure rates, but they depend on early and accurate diagnosis, appropriate follow-up and treatment, as well as posttreatment surveillance for early diagnosis of complications. However

histopathological evaluation has shown to be subjective due to the overlap of phenotypic features among these entities. Additional molecular tests closely correlated with morphology have improved the accuracy of differential diagnosis. Our study aims to assess the quality of histological and molecular diagnosis in a series of products of conception using molecular genotyping and p57 immunohistochemistry. **Material and methods:** DNA was extracted from FFPE samples for molecular analysis. Immunohistochemical study of p57 was performed on histological sections. Definitive diagnosis was established through the correlation of the reviewed morphological study with the results obtained from these ancillary tests. **Results:** Were selected 44 cases initially diagnosed as complete mole (n=11), partial mole (n=11) and non-molar

POCs as controls. According to the morphological and molecular analysis, we concluded that 8 cases were originally misdiagnosed. Genotyping supported the morphological diagnosis and determined the genetic content profile. We identified 7 monospermic and 3 dispermic diandric diploid conceptuses, 13 dispermic diandric triploidies, 6 digynic triploid gestations and 14 non-molar biparental gestations. **Conclusions:** Genotyping is confirmed to be a practical and highly accurate approach for the confirmation and subclassification of molar and non-molar specimens. Although p57 immunostaining study cannot distinguish PHM from non-molar specimens, it is a relatively inexpensive and reproducible technique in supporting the diagnosis of complete moles.

Keywords: GTD, hydatidiform mole, diagnosis, molecular genotyping, p57, immunohistochemistry

SAÚDE PÚBLICA

The Incidence of Respiratory Viruses in Portugal: A Private Laboratory Perspective

Ana Rita Pinto¹, Ana Rita Silva¹, Ana Alves¹, Aleksandra Wozniak¹, Hugo Silva¹, Luís Conceição¹, Ricardo Moreira¹, Sílvia Azinheira¹, Sónia Loureiro¹ & Carlos Sousa¹

1. Unilabs Portugal - Laboratório de Biologia Molecular, Porto, Portugal.

The recent pandemic of Covid-19 modulated the activity of the most common respiratory viruses. According to the main European health organizations, the influenza virus activity has returned to pre-pandemic levels. The screening on respiratory virus conducted at Unilabs between the week 48/2023 and the week 04/2024 evaluated the activity of the main four circulating respiratory viruses: the Severe acute respiratory syndrome coronavirus 2 (SARS-CoV-2), Influenza type A and type B (FluA and FluB) and Respiratory syncytial virus (RSV). The analysis was performed in biological samples from the upper respiratory tract (nasopharyngeal exudate) by RT-PCR (Allplex™ SARS-CoV-2/FluA/FluB/RSV Assay, Seegene Inc., Korea). The comparative analysis with the data from the European official reports demonstrated that the seasonal FluA is circulating at higher levels than SARS-CoV-2 and RSV and those were both declining in Portugal, as in most European countries. It was verified an increase in FluA since the week 50 with a peak of cases in the week 1, with a 28% of positivity rate. The ages above the 65 years were the most affected by respiratory infections and the north of Portugal was the region with the highest number of positive cases for the researched viruses. The high level of infections was also accompanied by an increased rate of deaths between the weeks 52/2023 and 01/2024. The obtained results are in agreement with the Infectious Disease and Epidemiology Department of National Health Institute Doutor Ricardo Jorge and European Center for Disease

Prevention and Control reports, showing that Portugal follows the European trend for FluA spread and circulation.

Keywords: Virus, Influenza A, Respiratory Infection

The prevalence of antibodies to HEV in a population of Portuguese higher education students

Alexandre Guerreiro¹, Fernando Mendes^{1,2,3,4,5}, Clara Rocha^{1,6}, Célia Ferreira^{1,7}

1. Instituto Politécnico De Coimbra, ESTeSC, UCPCBL Coimbra, Portugal; Portugal; 2. Biophysics Institute of Faculty of Medicine, Coimbra Institute for Clinical and Biomedical Research (ICBR) Area of Environment Genetics and Oncobiology (CIMAGO), University of Coimbra, 3000-548 Coimbra, Portugal; 3. Center for Innovative Biomedicine and Biotechnology (CIBB), University of Coimbra, 3000-548 Coimbra, Portugal; 4. Clinical Academic Center of Coimbra (CACC), 3000-548 Coimbra, Portugal; 5. European Association for Professions in Biomedical Sciences, B-1000 Brussels, Belgium; 6. Polytechnic of Coimbra, ESTESC, UCPNS, Rua 5 de Outubro, SM Bispo, Apartado 7006, 3046-854 Coimbra, Portugal; 7. Serviço de Sangue e Medicina Transfusional, centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, Coimbra, Portugal.

Hepatitis E is a cause of acute viral hepatitis worldwide, being Portugal considered an endemic country for hepatitis E virus (HEV). HEV infects humans through the consumption of water contaminated with human faeces or the consumption of meat from infected animals, with pigs, deer and wild boar being the main reservoirs. Infection is usually asymptomatic, acute, and self-limiting. The incubation period of HEV infection is usually 2 to 6 weeks. The first markers of infection to be detected are HEV RNA and anti-HEV IgM antibodies, followed by anti-HEV IgG antibodies. Anti-HEV IgM antibody positivity in serum indicates acute HEV infection. Given the lack of data on HEV seroprevalence in the general Portuguese population, this experimental study aims to estimate the prevalence of IgM and IgG antibodies against HEV in a population of Portuguese higher education students, to better understand the possible association between disease prevalence and environmental, familial, and nutritional risk factors. Serum from a representative sample of Coimbra Health School (ESTeSC) - Polytechnic Institute of Coimbra (PIC) (n=212) in different geographical locations and ages (18–38 years) was collected between April 2023 and June 2023 and tested for the presence of anti- HEV IgG and IgM by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay. The

overall seroprevalence of HEV IgG was 1,9%. Of the 212 samples, 4 were positive for anti-HEV IgG indicating resolved HEV infection but no significant differences were found concerning genders and regions of Portugal, nor in the studied behavioural risk factors. Regarding anti-HEV IgM seroprevalence (acute infection), no case was detected. The seroprevalence of 1,9% of HEV is in line with the low number of hepatitis E cases reported in the country.

Keywords: Hepatitis E Virus, Seroprevalence, Epidemiology, Antibodies, Portugal

POSTERS

BIOQUÍMICA E IMUNOLOGIA

Alteração da imunidade em crianças após a pandemia: evidência dos valores séricos de IgA

Luis Martinho¹, Preciosa Sousa¹, José Carvalho¹, Eliana Costa¹

¹.Unidade Local De Saúde De Trás-Os-Montes E Alto Douro, Vila Real, Portugal

O alvo inicial do SARS-CoV-2 são as células epiteliais que revestem a superfície mucosa das narinas, nasofaringe e cavidade oral. O bloqueio desta interação é crucial sendo a Imunoglobulina Humana A (IgA) o principal mediador de anticorpos nas mucosas funcionando como um bom biomarcador de infeção. Os anticorpos IgA aparecem precocemente no curso da infeção e o seu aumento está correlacionado com doença crítica principalmente em indivíduos em idade pediátrica, nos quais se verifica uma grande prevalência de doenças respiratórias, maioritariamente de etiologia vírica. Os níveis de IgA estão correlacionados com a gravidade da doença estando atribuído à maior capacidade de resposta imunológica do sistema respiratório que enfrenta uma infeção respiratória grave. Foi realizado um estudo retrospectivo dos níveis séricos de IgA em crianças, na Unidade Local de Saúde de Trás-os-Montes e Alto Douro, com idades inferiores a 18 anos ao longo de 6 anos. Os dados demográficos foram divididos em pré-pandemia (2018 e 2019), durante a pandemia (2020 e 2021) e pós-pandemia (2022 e 2023). Foram realizadas 4112 quantificações séricas de IgA em mg/dL. O método analítico utilizado foi o imunoturbidimétrico no equipamento cobas c702 – Roche®. O Teste t de Student foi utilizado para comparar a significância dos resultados e a plataforma SuperPlotsOfData para realizar os gráficos.

As variações dos níveis de IgA sugerem que durante os diferentes períodos avaliados existe uma variação significativa ($p < 0,01$),

permitindo verificar que após a pandemia e contacto com o SARS-CoV-2, os valores de IgA sofreram um aumento exponencial. Este aumento dos valores de IgA, desde a pandemia, faz pressupor que o SARS-CoV-2 é o vírus respiratório que mais contribuiu para o aumento de IgA no soro durante o contacto, reforçando o sistema imunitário para futuras infeções respiratórias em crianças. Este facto poderá justificar o procedimento de revisão e atualização dos valores de referência de IgA séricos.

Palavras-chave: Imunoglobulina Humana A, Sars-Cov-2, Crianças, Infeção Respiratória

Hábitos Alimentares E Sucesso Académico Em Estudantes Universitários

Adriana Pires¹, Ana Beatriz Mota¹, Carolina Canteiro¹, Andrea Afonso¹, [António Nogueira](#)^{1,2}, Cristina Teixeira^{1,3}

1. Escola Superior De Saúde De Bragança, Instituto Politécnico De Bragança, Bragança, Portugal; 2. Centro De Investigação De Montanha (Cimo), Instituto Politécnico De Bragança, Bragança, Portugal, 3. Epi – Unit, Instituto De Saúde Pública Da Universidade Do Porto, Porto, Portugal

Existe uma relação entre os hábitos alimentares e o desempenho académico dos estudantes universitários. Um comportamento alimentar saudável para além de fornecer energia e bem-estar, permite um melhor desenvolvimento físico e mental. Este estudo teve como objetivo a realização de uma revisão sistemática sobre a relação entre os hábitos alimentares e o sucesso escolar, em estudantes universitários. Realizou-se uma revisão sistemática de acordo com as normas PRISMA e foi avaliada a qualidade de evidência segundo o sistema GRADE. Utilizaram-se as seguintes palavras-chave: “university students”, “eating habits” “academic performance” combinadas com o operador booleano AND. Foram incluídos todos os artigos em texto integral (web of science) que relacionam hábitos alimentares e desempenho académico em estudantes universitários. De 53 citações foram excluídas 31 pelo título, 20 pelo resumo e analisaram-se os 2 artigos incluídos para o estudo. Os dois estudos selecionados envolveram um total de 856 participantes: 279 participantes da universidade de Nagpur (Índia) (152 do sexo masculino e 127 do sexo feminino) e 577 participantes da universidade da Flórida (Estados Unidos da América) (460 do sexo feminino e 117 do sexo masculino). A idade média dos participantes foi de 18 a 25 anos. Na universidade de Nagpur a performance escolar foi avaliada através da média de 1 a 10 valores e na universidade da Flórida foi avaliada através da média final das notas. Nos dois estudos foi avaliada a associação entre os hábitos alimentares e o desempenho escolar. Verificou-se em ambos os estudos, que os estudantes que mais vezes realizaram a

refeição do pequeno-almoço, com variedade de alimentos e de acordo com as normas nutricionais, apresentaram um sucesso académico mais elevado.

Palavras-chave: Estudantes Universitários, Alimentação Saudável, Hábitos Alimentares, Performance Académica, Sucesso Académico

Infertilidade Masculina: Formas De Diagnóstico

Aline Correia¹, Marilene Barbosa¹, Mayra Duarte¹, Micaela Gomes¹, Andrea Afonso¹, Cristina Teixeira^{1,2}, António Nogueira^{1,3}

1.Escola Superior De Saúde De Bragança, Instituto Politécnico De Bragança, Bragança, Portugal; 2.Epi – Unit, Instituto De Saúde Pública Da Universidade Do Porto, Porto, Portugal; 3.Centro De Investigação De Montanha (Cimo), Instituto Politécnico De Bragança, Bragança, Portugal

O diagnóstico da infertilidade é fundamental para o tratamento e concretização do projeto parental. Muitos fatores contribuem para um quadro de infertilidade, incluindo fisiológicos e genéticos, que devem ser considerados para um correto diagnóstico. O objetivo deste estudo foi caracterizar as diferentes técnicas que existem para diagnóstico da infertilidade masculina utilizando a metodologia de scoping review. Utilizaram-se as seguintes palavras-chave: “fertility”, “diagnosis”, “couple” combinadas com o operador booleano AND. Foram incluídos todos os artigos em texto integral publicados entre 2013 e 2023 (web of science), que abordam métodos de diagnóstico de infertilidade masculina. De 687 citações foram excluídos 614 pelo título, 34 pelo resumo e 28 após leitura do texto integral e analisaram-se os 11 artigos incluídos para o estudo. Os primeiros testes de diagnóstico desenvolvidos consideravam a análise manual do sêmen como o método mais confiável para avaliação dos parâmetros de contagem, motilidade e morfologia do espermatozoário. Mais recentemente desenvolveram-se testes de diagnóstico com base em avaliação genética e molecular, permitindo uma melhor avaliação da etiologia da infertilidade masculina, resultando em tratamentos mais eficazes. Conhecer o desenvolvimento das tecnologias de diagnóstico de infertilidade masculina, pelos diferentes profissionais de saúde permitirá um aconselhamento eficaz dos casais para um tratamento atempado.

Palavras-chave: Infertilidade, Diagnóstico, Infertilidade Masculina, Saúde Reprodutiva, Scoping Review

Líquidos biológicos – papel dos marcadores tumorais no contexto citológico e perfil imunofenotípico

Catarina Lopes¹, Ana Cristina Oliveira¹, Ana Menezes¹, Ana Guerra¹, Cristiana Oliveira¹, Martinha Anastácio¹, Lina Santos¹, Rita Cunha¹, Sandrine Mendes¹ e Ricardo Castro^{1,2}

1. Laboratório de Hematologia do Serviço de Patologia Clínica da Unidade Local de Saúde da região de Leiria; 2. Diretor do Serviço de Patologia Clínica da Unidade Local de Saúde da região de Leiria

Os líquidos serosos derivam do plasma e existem normalmente em pequena quantidade na cavidade pleural e peritoneal. Em certas condições fisiológicas, secundárias a processos benignos ou malignos, acumula-se uma maior quantidade de líquido que requer investigação da etiologia. O estudo citológico é limitado quando o número de células é pequeno e as características morfológicas das células dificultam a sua apreciação. Nesse sentido são importantes métodos de maior sensibilidade e especificidade como a citometria de fluxo. Os marcadores tumorais, macromoléculas presentes no tumor, no sangue ou outros líquidos biológicos, estão relacionadas com a gênese e o crescimento de células neoplásicas e cuja avaliação é importante para diagnóstico, prognóstico e avaliação da resposta terapêutica. A sensibilidade diagnóstica é relativa, sendo o seu uso acompanhado de outros exames.

Neste trabalho foram analisados 24 líquidos biológicos (11 ascíticos e 13 pleurais). Da citologia encontramos um predomínio de células polimorfonucleares no líquido ascítico e de mononucleares no líquido pleural e uma percentagem mais significativa de células não leucocitárias no líquido pleural, verificando-se, com a citometria de fluxo, células tumorais em cerca de 42% das amostras. No líquido ascítico encontramos macrófagos e células mesoteliais, relacionadas com processos inflamatórios e reativos e uma ausência de células tumorais. Quanto aos marcadores tumorais verificamos a elevação generalizada e inespecífica do CA125

mostrando pouca sensibilidade diagnóstica. O seu doseamento nos líquidos biológicos deve sempre ser acompanhado do respetivo soro para monitorização clínica. Este trabalho, embora aplicado a um painel reduzido de amostras, mostra que o estudo laboratorial dos líquidos biológicos é de grande importância clínica para o diagnóstico da sua etiologia, sendo mais eficaz o uso combinado de variadas metodologias para melhor sensibilidade e especificidade.

Palavras-chave: líquido pleural, líquido ascítico, marcadores tumorais, citologia, imunofenotipagem

Perspetiva Duma Década: Avaliação Do Diagnóstico Laboratorial De Sífilis No CHUC

Sabina Brito¹, Matilde Moreira¹, Paula Pedreira¹, Cristiana Lopes¹, Teresa Reis¹, Carla Oliveira², Maria Lopes², Sílvia Rodrigues², Anália Carmo³, Lucília Araújo¹

1.Laboratório De Serologia, Serviço De Patologia Clínica Do Centro Hospitalar E Universitário De Coimbra, Unidade De Saúde Local Coimbra, Coimbra, Portugal; 2. Laboratório De Bioquímica, Serviço De Patologia Clínica Do Centro Hospitalar E Universitário De Coimbra, Unidade De Saúde Local Coimbra, Coimbra, Portugal; 3. Laboratório De Microbiologia, Serviço De Patologia Clínica Do Centro Hospitalar E Universitário De Coimbra, Unidade De Saúde Local Coimbra, Coimbra, Portugal.

De acordo com a OMS, em julho de 2023 a prevalência de casos de sífilis ativa ultrapassava os 11 milhões de pessoas em todo o mundo. Na edição de 2020 das Diretrizes Europeias sobre a gestão da sífilis foi também relatado que apesar dos esforços feitos para eliminar a doença se tinha observado um aumento preocupante dos casos da doença entre Homens que fazem Sexo com Homens (HSH) e em particular entre aqueles que são seropositivos. Em Portugal, a prevalência de sífilis é desconhecida, tendo sido efetuados alguns estudos envolvendo populações de risco. Este estudo teve como objetivo realizar um estudo retrospectivo anonimizado, baseado na análise do diagnóstico laboratorial de testes treponémicos (TT) e não treponémicos (TNT) realizados no Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra. Foi feita uma pesquisa parametrizada anonimizada que contemplou a análise dos resultados dos testes TT e TNT realizados entre 1 de janeiro de 2013 e 31 de dezembro de 2023. Nos TT usou-se como metodologia a hemaglutinação indireta para o teste TPHA (Treponemal Haemagglutination Assay) e imunoensaio de quimioluminescência (CMIA) para o teste de sífilis screening. Nos TNT usou-se como metodologia a aglutinação com carvão ativado para o teste RPR (Rapid Plasm Reagin). Na década avaliada (2013-2023) foram realizados 152608 testes (n= 98287 pacientes) e 6,1% dos TT foram positivos (n=9269 testes) sendo 81%

do sexo masculino (n=7465) e 19% do sexo feminino (n=1804). O sexo masculino verificou ao longo dos anos, sempre uma maior incidência sendo a média de idade de 48,4 anos \pm 16,6 anos. Verificou-se que dos 1503 pacientes com diagnóstico de sífilis confirmado, 464 tinham também HIV positivo (31%) sendo 418 do sexo masculino (90,1%) e 46 do sexo feminino. Os dados revelam um pico de novos casos de sífilis em 2015 e em 2019, sendo o ano 2023 o de maior incidência. No período pandémico 2020/2021, o número total de testes e o número de novos casos diminuiu.

Palavras-chave: Sífilis, Testes Serológicos, Diagnóstico Laboratorial.

Pseudohiponatremia: a propósito de um caso clínico

Líliã Cardoso¹, Mylene Costa¹, Ana Paula Gonçalo¹, Sara Cardoso¹, Nuno Gonçalves¹, Gabriela Martins¹, Carlos Mendes¹

1. Instituto Português De Oncologia, Porto, Portugal

A hiponatremia é a alteração eletrolítica mais frequentemente observada na prática clínica hospitalar. Atualmente, para a quantificação dos eletrólitos, a maioria dos autoanalisadores presentes no laboratório utilizam a tecnologia de elétrodos seletivos de iões (ISEs) por potenciometria que pode ser direta (D) ou indireta (I). A pseudohiponatremia representa uma redução artificial da concentração de sódio no sangue (soro ou plasma) medida por potenciometria indireta com ISE, que se deve geralmente a um aumento anormal dos componentes não aquosos do sangue, resultando em erros na determinação quantitativa do sódio. Indivíduo do sexo masculino, caucasiano, 83 anos de idade, com diagnóstico de colangiocarcinoma peri-hilar tipo II. O doente foi proposto para resseção cirúrgica do colangiocarcinoma com hepatojejunostomia e esvaziamento ganglionar. Relativamente aos resultados laboratoriais obtidos, o ionograma obtido por ISE-I apresenta hiponatremia. Para além disso, temos um comprometimento da função hepática, com colestase sendo caracterizada pelo aumento acentuado de bilirrubinas total e direta, aspartato aminotransferase, alanina aminotransferase, fosfatase alcalina e GGT. Por se tratar de uma suspeita de pseudohiponatremia, acrescentou-se o perfil lipídico e as proteínas totais. Verificou-se que o colesterol total se encontrava extremamente elevado. Após a repetição do ionograma por ISE-D verificou-se que o ionograma foi corrigido para valores dentro do intervalo de referência. A pseudohiponatremia pode ser causada pelo aumento plasmático de proteínas, triglicérides e colesterol. Embora incomum, a hipercolesterolemia foi descrita como causa de pseudohiponatremia no contexto de icterícia obstrutiva e níveis elevados de lipoproteína X. No caso clínico apresentado verificou-se que a concentração de sódio

determinada por ISE-I foi corrigida para valores dentro do intervalo de referência utilizando a metodologia de ISE-D, o que comprova a necessidade de o laboratório clínico ter implementada a metodologia potenciometria direta de forma a discernir uma hiponatremia real de uma pseudohiponatremia.

Palavras-chave: Pseudohiponatremia, hipercolesterolemia, potenciometria

BIOTECNOLOGIA

A 3D Tumor-On-Chip Platform To Study Intravasation

Diogo Coutinho¹, Carolina Morais¹, David Barata^{1,2}, Bruno Freitas^{1,3}, William Roman^{1,4}, Edgar Gomes¹, Cláudio A. Franco^{1,5}, Luís Costa^{1,6}, Sérgio Dias¹, Ana Magalhães¹

1.Instituto De Medicina Molecular - João Lobo Antunes, Faculdade De Medicina Da Universidade De Lisboa, Lisbon, Portugal; 2. Department Of Tissue Regeneration, University Of Twente, Enschede, The Netherlands; 3. Cancer Metastasis Group, I3s - Instituto De Investigação E Inovação Em Saúde, Universidade Do Porto, Porto, Portugal; 4. Australian Regenerative Medicine Institute, Monash University: Melbourne, Melbourne, Australia; 5. Universidade Católica Portuguesa, Católica Medical School, Católica Biomedical Research Centre, Lisbon, Portugal; 6.Oncology Division, Hospital De Santa Maria, Centro Hospitalar Universitário Lisboa Norte, Lisbon, Portugal

Metastasis is the primary cause of death in cancer patients and occurs mainly through hematogenous dissemination. As such, one of the first steps of metastasis is intravasation, the entry of tumour cells (TCs) in circulation. Intravasation is, however, one of the poorest understood processes of the metastatic cascade, mainly due to the lack of adequate in vitro systems to mimic it. Particularly unknown is how blood flow shear stress affects intravasation. In this study, we present a new perfusable 3D cancer-on chip system to study breast cancer (BC) intravasation. To optimize the system, we tested the cell viability and migration capacity of BC cells on different extracellular matrices (ECM), with different cell culture media and in microfluidic devices made of PDMS. These devices were comprised of adjacent channels encapsulating hydrogel matrices to create a 3D microenvironment for cell homing and migration towards a hollow chamber, reachable for media exchange and vessel formation. In parallel, we optimized the conditions to generate a vessel-on-chip structure using different ECM coatings and endothelial cell (EC) plating techniques. Finally, we perfused the endothelial lined channel and evaluated vessel integrity using anti-VE-cadherin antibodies and confocal imaging. This system allows that (at least) 80% of TCs are viable and invade the ECM, migrating

collectively and reaching the endothelia seven days after being seeded. We were able to image with high resolution the interaction of TCs with ECs during intravasation under static conditions and we will now image intravasation under vessel perfusion. Overall, here we present a more sophisticated, hierarchical, and micro-physiological system to study intravasation than the generally used. We believe that this will contribute to better understand intravasation and to the development of new predictive, preventive, and therapeutic strategies to stop metastasis.

Keywords: Cancer, Metastasis, Intravasation, Microfluidics

CIÊNCIAS FORENSES E TANATOLOGIA

The Role of Open Education In Improving The Accuracy Of Death Certification Practices Among Biomedical Professionals

Amadeu Borges-Ferro^{1,2}, Sara Brandão³, Maria do Carmo
Teixeira Pinto¹, João Paz¹, António Moreira Teixeira¹

1.Laboratório De Educação A Distância E E-Learning,
Universidade Aberta, Portugal; 2. Instituto Politécnico De
Lisboa, Escola Superior De Tecnologia Da Saúde De Lisboa,
Portugal; 3.USF São Julião, ACES Lisboa Ocidental E Oeiras,
ARSLVT, Portugal.

As recently demonstrated during the CoViD-19 pandemic, mortality data provide a better understanding of epidemiological trends and the impacts of health policies within a population. The accurate way information on causes of death is recorded, coded, and published is therefore critical. Despite using an online platform for registering death certificates since 2014, Portugal records a relatively high proportion of deaths attributed to non-useful codes in public health analyses. This is mainly due to inappropriate certification practices. However, due to the limited resources available, using traditional in-person learning formats does not seem sustainable. In the framework of the European CODA-EU project (Erasmus+ Program), an international multidisciplinary team of experts from biomedical, social and education sciences designed a Multilingual MOOC on certification on the causes of death. It targets health professionals for whom the competencies in cause-of-death certification are important, such as Biomedical Scientists. The "Certification of Causes of Death" MOOC was produced in 4 different versions adapted to the member countries of the consortium (France, Poland, Greece and Portugal) and delivered in each country's respective language. It takes approximately 3 hours to complete and

consists of 3 main modules (1. Legal and organisational aspects of death registration; 2. International Statistical Classification of Diseases and Related Health Problems; 3. Most common errors in the certification of causes of death). In Portugal, the MOOC attracted 369 participants, of which 95 passed the final exam, including several Biomedical Laboratory Scientists. The feedback from participants demonstrates high satisfaction with this learning experience. Moreover, representatives from the Portuguese Ministry of Health have recognised the contribution of this MOOC to the updating and improvement of staff.

Keywords: Certification Of Causes Of Death, Open Education, MOOC, Elearning Course

CITOPATOLOGIA

Histogel Vs Cellient: A Comparative Study

Rita Fagulha¹, Rúben Roque^{1,2}, Carla Pinheiro¹, Vanessa Tavares¹, Saudade André¹

1.Serviço de Anatomia Patológica, Instituto Português de Oncologia de Lisboa Francisco Gentil, 1099-023 Lisboa, Portugal; 2.Escola Superior de Tecnologia da saúde de Lisboa, IPL – Politécnico de Lisboa, 1990-096 Lisboa, Portugal.

Cell-block (CB) is a technique of paramount importance on a cytopathology laboratory, allowing complementary techniques that permit full characterization of a lesion. Several methods exist for CB preparation. In this study, we compare Histogel (HG) and Cellient (CL) methods for processing cytology specimens, concerning cellularity, morphologic characteristics, diagnostic and time spending. Twenty-nine CB were prepared from 20 malignant, 5 suspicious and 4 negative specimens (16 effusions, 2 gynaecological, 5 bronchial washings, 1 diaphragm brushing and 5 fine needle aspiration cytology). CB were processed according HG and CL protocols. The samples were divided in equal volume to prepare CB. Cellularity (number of diagnostic cells), morphology (chromatin pattern, nuclear detail and aggregation pattern) and diagnostics were evaluated. We also assessed time spending for each method. Concerning cellularity, both methods achieve good results (the percentage of samples with >100 cells on HG was 69% vs 86% on CL; $p=0.321$). Morphologically, CL allows better nuclear detail (69% had excellent detail vs 7% HG; $p=0.000$). In the other morphologic characteristics, CL has a predominance of isolated cellular pattern (83%), chromatin pattern varies between vesicular (42%) and granular (38%). On HG there is no predominance of cellular distribution (half had clusters and the other half isolated cells), and smudged chromatin pattern was observed on 58% of the CB. No differences were observed concerning diagnostic. Time processing for CL is 4 hours and for HG is 24 hours. Both methods produce good quality CB. HG method,

although showed inferior chromatin preservation, maintain morphology architecture, that could be a diagnostic advantage. Otherwise, CL reduces the number of erythrocytes on the sample, showed higher cellularity and revealed to be a significantly faster method. Both methods allow specimen diagnostic. The choice between them should be based on laboratory preferences.

Keywords: Cell-Block, Histogel, Cellient

Nódulo Hiperplásico Adenomatóide Da Tireoide: A Propósito De Um Caso Clínico

Neuza Costa¹, Maria João Silva¹, Paula Agapito^{1, 2, 3} & Vitor De Sousa^{2, 3, 4}

1. Politécnico De Coimbra, Estesc, Ucpobl, Rua 5 De Outubro – Sm Bispo, Apartado 7006, 3046-854 Coimbra, Portugal; 2. Serviço De Anatomia Patológica, Uls De Coimbra: Centro Hospitalar E Universitário De Coimbra, Praceta Prof. Mota Pinto, 3000-075 Coimbra, Portugal; 3. Centro De Anatomia Patológica Germano De Sousa, Rua S. Teotónio, Lote 5, N^o21, 3000-377 Coimbra, Portugal; 4. Faculdade De Medicina Da Universidade De Coimbra, Azinhaga De Santa Comba, Celas, 3000-548, Coimbra, Portugal.

A patologia nodular da tireoide apresenta uma elevada prevalência na população em geral. A maioria dos diagnósticos caracterizam-se por ser de carácter benigno, sendo apenas uma minoria de natureza maligna. Estes representam menos de 1% da totalidade dos carcinomas, no entanto, o cancro da tireoide surge como a neoplasia endócrina mais frequente. Caso clínico: Utente do sexo masculino, com 51 anos, realizou Punção Aspirativa por Agulha Fina (PAAF) à tireoide, pela presença de um nódulo único cervical na região tiroideia, com cerca de 15 mm, localizado no lobo esquerdo. No exame citológico, observou-se a presença de células tiroideias isoladas ou agrupadas, por vezes, com fenótipo oncocítico (células de Hürthle) a esboçar folículos. O fundo era de escassa coloide. Concluiu-se tratar-se de um tumor com origem nas células do epitélio folicular, com células de Hürthle pelo que, segundo a classificação de Bethesda integraria a categoria IV- Neoplasia folicular ou suspeita de neoplasia folicular. O tratamento padrão neste contexto é tireoidectomia. Após intervenção cirúrgica, foi realizado estudo histopatológico para esclarecimento diagnóstico. Histologicamente, atendendo à hiper celularidade e características citomorfológicas apresentadas, foi ponderado o diagnóstico de adenoma folicular, no entanto, não se verificou a formação de uma cápsula bem delimitada pelo que, o diagnóstico final foi de Nódulo Hiperplásico Adenomatóide. Estamos perante um pitfall em que, pela citologia, poderia pensar-se num tumor folicular, no

entanto, pela histologia tratar-se-ia de um nódulo hiperplásico, sem critérios para diagnóstico efetivo de adenoma folicular. Dada a complexidade do diagnóstico é extremamente importante o estudo aprofundado da informação clínica, resultados citológicos, resultados histológicos e/ou imunohistoquímicos, para melhor caracterização da condição clínica do doente.

Palavras-chave: Tumor Folicular Da Tireoide, Células De Hürthle, Nódulo Hiperplásico Adenomatóide, Citologia Aspirativa

Uso De Filtros No Processamento De Citologia De Base Líquida: Importante Discriminar?

Tiago Monteiro¹, Sílvia Fernandes^{1,2,3}, Regina Silva^{1,3}

1.Área Técnico-Científica De Anatomia Patológica, Citológica E Tanatológica, Escola Superior De Saúde Do Instituto Politécnico Do Porto (Ess-Ipp), Rua Dr. António Bernardino De Almeida, 400, 4200- 072 Porto, Portugal;2.Center For Translational Health And Medical Biotechnology Research (Tbio), Escola Superior De Saúde Do Instituto Politécnico Do Porto (Ess-Ipp), Rua Dr. António Bernardino De Almeida, 400, 4200- 072 Porto, Portugal; 3.Center For Research On Health And Environment, Escola Superior De Saúde Do Instituto Politécnico Do Porto (Ess-Ipp), Rua Dr. António Bernardino De Almeida, 400, 4200-072 Porto, Portugal

Regularmente em todo mundo, sendo a filtração com recurso a filtros descartáveis a metodologia mais utilizada. Apesar de existirem filtros específicos para diversos tipos de processamento, pouco se sabe acerca das suas características, da forma como são empregues e do impacto da sua utilização no processamento de citologia de base líquida e consequente diagnóstico citológico. O estudo teve como principal objetivo avaliar e registar as características dos filtros usados em citologia de base líquida, e avaliar o impacto do seu uso indiscriminado, em Portugal. Para tal, estudou-se microscopicamente os poros de uma área de 7500 μm^2 de membrana de policarbonato de filtros de citologia de base líquida, indicados para processamento de amostras ginecológicas (Gyn) e não ginecológicas (Não Gyn), de três marcas diferentes. Procedeu-se à sua caracterização quanto ao número, diâmetro e distribuição dos poros. Foi ainda administrado um questionário a laboratórios de citologia em Portugal, e os dados recolhidos foram analisados com o intuito de caracterizar o uso das metodologias. Os resultados obtidos permitem concluir que existem diferenças entre os filtros destinados aos vários tipos de processamento e entre filtros de diferentes marcas. Os filtros destinados ao processamento de amostras Gyn, para além de poros de maiores dimensões (7.2-7.5 μm), apresentam um menor número de poros (92-98) e respetiva sobreposição em 55 a 58% da

área em análise. Por sua vez, os filtros recomendados para amostras Não Gyn apresentam menor diâmetro (5.7-6.1 μm), maior número de poros (107-122) e respetiva sobreposição numa maior área (60 a 83%). Considerados globalmente, os resultados revelam que as diferenças verificadas entre os filtros podem resultar na alteração ao nível da representação de estruturas celulares e de microrganismos, e o seu uso indiscriminado a nível laboratorial pode comprometer a avaliação citopatológica.

Keywords: Citologia De Base Líquida, Monocamada, Filtros, Poros, Representação Celular

GESTÃO E CONTROLO DE QUALIDADE

Avaliação Externa da Qualidade na determinação do estudo Imunohematológico no Instituto Português do Sangue e da Transplantação - Delegação do Algarve

Paula Rasteiro^{1,2}, Mónica Baptista¹, Fábria Encarnação^{1,2}, Isa Oliveira^{1,2}, Marta Saias^{1,2}, Vera Maria^{1,2}, & Eugénia Vasconcelos¹

1. Instituto Português do Sangue e da Transplantação, I.P.(IPST), Lisboa, Portugal; 2. Administração Regional de Saúde do Algarve, I.P. (ARS), Faro, Portugal

Delegação do Algarve do Instituto Português do Sangue e da Transplantação (LLA/IPST) integra a área funcional do Sangue do Centro de Sangue e da Transplantação de Lisboa do IPST desde 2013. De acordo com o Decreto-Lei 185/2015 e o "Guide to the preparation, use and quality assurance of BLOOD COMPONENTS" da European Directorate for the Quality of Medicine & Healthcare (EDQM) é obrigatória a determinação do grupo ABO/RhD a todas as unidades de sangue total e de aférese, assim como a Pesquisa de anticorpos irregulares (PAI) em todas as dádivas correspondentes a dadores de primeira vez e posteriormente em pessoas dadoras do género feminino em situações específicas. No LLA/IPST o estudo imunohematológico realizado consiste na determinação do Grupo ABO/RhD, do fenótipo Rh e Kell e na PAI.

Sendo um serviço certificado pela Associação Portuguesa de Certificação (APCER), de acordo com a norma NP EN ISO 9001:2015, e pertencendo a um Sistema de Gestão de Qualidade Integrado, o LLA/IPST participa no programa de Avaliação Externa da Qualidade (AEQ) – "Blood Transfusion laboratory Practice" – distribuído pela United Kingdom National External Quality Assessment Scheme (UK Neqas). A avaliação do desempenho do LLA/IPST na determinação do estudo

imunohematológico foi realizada através da análise dos resultados obtidos nos últimos 5 anos durante a participação no programa de AEQ. Para tal, foram analisados os relatórios obtidos, de 2019 a 2023 inclusive, aferindo 44 exercícios. Verificou-se que os resultados dos exercícios propostos do estudo imunohematológico referente ao ABO/RhD, fenótipo Rh e Kell e PAI, foram 100% satisfatórios. Em conclusão, os resultados apresentados pelo LLA/IPST no Programa de AEQ explanam o bom desempenho técnico, assim como as boas práticas instituídas, garantindo a segurança transfusional dos componentes sanguíneos produzidos e disponibilizados.

Palavras-chave: Avaliação externa da qualidade, imunohematologia, ABO/Rh, Rh e Kell, PAI

Controlo da Qualidade Na Fase Pré- Analítica: Interferência da Proporção de Sangue-Anticoagulante da Análise Do Tp e Ttpa

Ana Silva¹, Ana Martins¹, Samuel Lourenço¹, Rui Vassa², Inês Rodrigues^{1,3}, João Furtado^{1,3}, Eduardo Lucas¹, Ana Rita Possante^{1,2}, Rui Raposo^{1,3}

1. Escola Superior De Saúde Da Universidade Do Algarve (Essualg), Portugal; 2. Centro Hospitalar Universitário Do Algarve (CHUA), Portugal; 3. Centro De Estudos Em Saúde Da Universidade Do Algarve (Cesualg), Portugal

A fase pré-analítica constitui-se no conjunto de processos até à análise laboratorial. É uma fase fundamental do processo, a mais propícia à ocorrência de erros. O estudo da hemostase permite avaliar o funcionamento dos vasos sanguíneos, plaquetas e fatores de coagulação, em testes como o tempo de protrombina (TP) e o tempo de tromboplastina parcial ativada (TTPa). Foi objetivo determinar possíveis interferências da variação no volume de amostra/proporção sangue/anticoagulante, aquando da colheita, nas análises referidas. Estudo experimental. Foram colhidos 6 tubos de sangue, a 35 voluntários saudáveis, três em citrato de sódio a 3,8% e três a 3,2%. A distribuição de amostra, em conjuntos, foi: tubo 1) 100% da capacidade respeitado a proporção sangue/aditivo recomendada (amostra controlo); tubo 2) menos 20%; tubo 3) menos 40%. Foram analisados os plasmas e avaliados os resultados/variações, através da comparação dos valores das médias para amostras emparelhadas. No grupo de concentração 3,8%, no teste TP, quer no tubo 2), como no tubo 3), verificou-se diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$), o mesmo acontecendo com o tubo 3), no teste TTPa. Já no citrato de sódio a 3,2%, observou-se significância estatística ($p < 0,05$) também em ambos os testes, mas unicamente no tubo 2), preenchido com apenas 60% do volume requerido. Constatou-se a existência de influência do volume de amostra nos resultados laboratoriais, concluindo-se que, em estudos da hemostase, em tubos de citrato de sódio

de concentração de 3,2% de anticoagulante, podem ser utilizadas amostras com um volume de até 80%, em ambos os testes (TP e TTPa), sem que existam interferências que levem a alterações significativas nos resultados. Nos tubos de 3,8%, apenas no teste do TTPa pode ser considerada a utilização de colheitas com esse volume de amostra, enquanto o teste do TP apenas deve de ser realizado com a quantidade recomendada de amostra.

Palavras-chave: TP, TTPa, Pré-analítica, Controlo Qualidade, Hemostase

Determinação Da Incerteza Associada À Fase Pré-Analítica: Estudos De Hemostase

Filipa Alves¹, Carolina Correia¹, Emma Santos¹, Marília Faisca², Sandra Coelho^{1,3}, Inês Rodrigues^{1,3}, João Furtado^{1,3}, Eduardo Lucas¹, Rui Raposo^{1,3}

1. Escola Superior de Saúde da Universidade do Algarve (ESSUAlg), Portugal; 2. SYNLABHealth Algarve, Portugal; 3. Centro de Estudos em Saúde da Universidade do Algarve (CESUAlg), Portugal

A determinação da incerteza dos resultados obtidos é obrigatória no processo de acreditação do laboratório clínico (ISO 15189). A fase pré-analítica, onde ocorrem cerca de 70% dos erros laboratoriais, deve ser considerada nesta grandeza, sendo uma potencial fonte de variabilidade. Os ensaios de coagulação são dos mais suscetíveis à padronização deficiente de processos como homogeneização, transporte e armazenamento. Em parceria com o laboratório SYNLABHealth Algarve, acreditado pela Norma NP EN ISO15189:2014, pretendeu-se determinar a consequência de erros pré-analíticos nos resultados de hemostase (PT, APTT e fibrinogénio), através da quantificação da incerteza associada aos mesmos. O estudo focou-se nas fontes de variabilidade - homogeneização, transporte e armazenamento - reunindo uma amostra de 43 utentes do laboratório, com prescrição de análises de sangue. Para avaliar as fontes de variabilidade, foram efetuadas duas punções venosas para comparar o procedimento padrão do laboratório com o protocolo experimental alternativo. A congelação das amostras foi a fonte de variabilidade com maiores valores de incerteza associados, com maior impacto no parâmetro de fibrinogénio. A ausência de homogeneização teve um impacto maior em comparação com a agitação vigorosa. No transporte, o fibrinogénio foi o parâmetro mais afetado. A punção, em si, foi o fator com menor potencial de variação nos resultados, sendo o APTT o parâmetro mais afetado. Este estudo proporcionou um maior conhecimento acerca da quantificação dos erros e da influência das fontes de

variabilidade pré-analíticas, destacando a sua importância nos resultados analíticos e na determinação da incerteza. Salientou a relevância de considerar estas fontes no processo de acreditação dos laboratórios e enfatizou a necessidade de implementar medidas preventivas e de controlo para assegurar a confiabilidade e a exatidão dos resultados.

Palavras-chave: Acreditação, Incerteza, Fase Pré-Analítica, Fontes De Variabilidade, Hemostase

HEMATOLOGIA E CIÊNCIAS DA TRANSFUSÃO

Suporte Transfusional No Hospital De Dia Polivalente Da Uls Santo António (Uls Sa)

Carla Ferreira¹; [Andreia Reis¹](#); Anabela Martins¹; Susana da Ponte¹; Elizabeth Santos, ¹; Marco Sampaio¹; Marika Bini¹

1. Serviço de Imuno-Hemoterapia, ULS Santo António (ULS SA), Largo Prof. Abel Salazar, 4099-001, Porto, Portugal

O Hospital de Dia Polivalente (HDP), permite o tratamento em regime de ambulatório, traduzindo-se numa melhoria significativa na qualidade de vida destes doentes. A transfusão de Concentrados de Eritrócitos Desleucocitados (CED) é a principal opção de tratamento da anemia nos doentes oncológicos. Este estudo teve como objetivo comparar o número de unidades de CED preparadas para o HDP da ULS SA, com o número efetivo de transfusões administradas, com o intuito de melhorar a gestão de recursos utilizados. Através de uma análise descritiva utilizando o Microsoft Excel 365 e a base de dados do programa informático Gestão de Sangue, foi efetuado um estudo retrospectivo do número de CED preparadas para o HDP entre 2018 e 2023, com o número de CED administradas no mesmo período. Utilizando o Rácio Unidades Preparadas versus Unidades Transfundidas (UP/UT). Os resultados indicam que no período de 2018 a 2023, foram solicitados pelo HDP um total 22.965 CED ao serviço de Imuno-Hemoterapia. Destes pedidos, apenas foram administradas no HDP 15.933 CED, resultando 7.032 unidades pedidas e não transfundidas. Verificando-se um Rácio >1, em todo o período do estudo, colocando o ano de 2023 com um Rácio de 1.59. De acordo com este estudo concluiu-se que todos os anos são solicitados mais CED do que são administrados, colocando o ano 2023 com maior demanda por parte do HDP ao nosso serviço (4133 Unidades Preparadas para 2601 Unidades Transfundidas). Uma solicitação “exagerada” por parte dos clínicos, leva a um acréscimo de trabalho no

serviço de Imuno-Hemoterapia, um custo desnecessário de reagentes, e numa altura em que as reservas de sangue estão em carência. A falta de guidelines cada vez mais rigorosas faz com que exista uma prática variável entre os clínicos.

Palavras-chave: Concentrados Eritrócitos Desleucocitados (Ced), Hospital De Dia Polivalente (Hdp), Unidades Preparadas (Up), Unidades Transfundidas (Ut)

Análise do Volume dos Concentrados Eritrocitários produzidos no IPST – Delegação do Algarve (LLA/IPST) e o valor da hemoglobina (Hgb) da pessoa dadora

Mónica Baptista¹, Paula Rasteiro^{1,2}, Fábria Encarnação^{1,2}, Isa Oliveira^{1,2}, Marta Saias^{1,2}, Vera Maria^{1,2} & Eugénia Vasconcelos¹

1. Instituto Português do Sangue e da Transplantação, I.P.(IPST), Lisboa, Portugal; 2. Administração Regional de Saúde do Algarve, I.P. (ARS), Faro, Portugal

De acordo com o "Guide to the preparation, use and quality assurance of BLOOD COMPONENTS" da European Directorate for the Quality of Medicine & Healthcare (EDQM), o volume das unidades de sangue total (ST) deve estar compreendido entre 450 ± 50 ml, para o método aplicado. O volume mínimo aceitável para um Concentrado Eritrocitário sem Buffy-Coat (CEB) é determinado pelo processo de produção que está a ser utilizado, desde que 90% dos CEB produzidos atinjam esse valor.[1] No LLA/IPST o volume mínimo definido é de 230ml, CEBs de volume inferior são submetidos a Controlo de Qualidade hematológico. Os valores de Hgb pré-dádiva devem ser ≥ 13.5 g/dl nas pessoas dadoras do género masculino e ≥ 12.5 g/dl no género feminino. Podem ser aceites dádivas com Hgb inferiores, por indicação do médico responsável para esse efeito. Pretende-se com este estudo verificar a existência de uma relação entre a produção de um CEB de baixo volume, originado de um ST de volume conforme, e a Hgb da pessoa dadora. Os valores de Hgb da pessoa dadora foram obtidos por determinação capilar e registados no sistema informático. Entre 2015 e 2023, o LLA/IPST produziu 807 CEB de volume inferior a 230ml, representando 0.9% da sua produção. Destes, 93% correspondem a pessoas dadoras do género feminino e 7% masculino. Os valores mínimos e máximos de Hgb das pessoas dadoras, cujas dádivas originaram os CEB de baixo volume, foram de 13g/dl e 16.6g/dl nos homens, e de 12g/dl e

13.7g/dl nas mulheres. Verificou-se que a maior percentagem dos CEB de baixo volume (77.4%), originados de pessoas dadoras do género feminino, apresentaram um intervalo de Hgb pré-dádiva de 12 a 13g/dl, e no género masculino (60.8%) de 13 a 14.8g/dl. 71.6% destes CEB têm uma concentração de Hgb inferior ao recomendado (40g/U). Após análise dos dados podemos concluir que, não sendo causa única, o valor de Hgb pré-dádiva da pessoa dadora, tem um peso bastante significativo na produção de CEB de volume inferior às especificações.

Palavras-chave: Produção de componentes, Volume CEB, Hemoglobina

Avaliação da perda do fator VIII no processo de produção de plasma fresco congelado destinado a fracionamento industrial

Susana da Ponte¹, Miguel de Oliveira¹, Eduarda Valente¹, Francisco Dias¹, Andreia Reis¹, Anabela Martins¹, Carla Ferreira¹, Eduarda Pinto¹, Marco Sampaio¹, Marika Antunes¹

1. Serviço de Imuno-Hemoterapia, ULS Santo António, Largo Prof. Abel Salazar, Porto, Portugal.

O plasma fresco congelado (PFC) é obtido a partir de sangue total por centrifugação num período de tempo e temperatura adequados, com vista à manutenção dos fatores de coagulação lábeis num estado funcional. O PFC colhido na instituição é enviado para fracionamento industrial e inativação por solvente/detergente. De acordo com as boas práticas de fabrico e no cumprimento dos requisitos mínimos de controlo de qualidade publicadas no EDQM 21^ªed., a média do FVIII na descongelação do PFC deve ser >70 UI/100mL em pelo menos 90% das unidades testadas. Este estudo tem como objetivo a validação do PFC produzido para disponibilização para a indústria farmacêutica. Foi realizado um estudo retrospectivo, com uma seleção aleatória de 32 pools de PFC, obtidos a partir de sangue total por centrifugação, separação e congelamento, entre 2016 e 2023. Foi doseado o FVIII no plasma fresco que, posteriormente, foi congelado a -30°C até 6 horas após a separação e até 24 horas após a flebotomia. O plasma foi descongelado após 3 meses e procedeu-se, novamente, ao doseamento do FVIII. Para o doseamento foi utilizado o método cromogénico (equipamento BCS-XP-Siemens Healthineers), o qual apresenta duas fases: no passo inicial é gerado Fator Xa (FXa) e, no passo seguinte, o FXa é medido através de um substrato específico. A atividade do FVIII é proporcional à quantidade do FXa. O doseamento de FVIII pré-congelamento apresentou uma média de 128.8 (±14.28) IU/100mL e pós-congelamento de 103.18 (±15.39) IU/100mL. A perda média de FVIII no armazenamento foi de 19.67% (±9.99), sendo significativamente diferente do valor de

referência de 30% (95%, IC: [-13.93; -6.72], $p < 0.001$). Os doseamentos de FVIII traduzem o cumprimento dos requisitos mínimos de qualidade do PFC colhido e processado. O decréscimo médio de FVIII durante o armazenamento foi inferior ao máximo pré-definido, confirmando um correto armazenamento do produto na Instituição antes da sua disponibilização para a indústria farmacêutica.

Palavras-chave: PFC, Fator VIII

Avaliação das unidades de Sangue Total (ST) com volume não conforme processadas na Delegação do Algarve do Instituto Português do Sangue e da Transplantação, IP (LLA/IPST)

Isa Oliveira^{1,2}, Fábia Encarnação^{1,2}, Vera Maria^{1,2}, Paula Rasteiro^{1,2} & Eugénia Vasconcelos¹

1. Instituto Português Do Sangue E Da Transplantação I.P. (IPST), Lisboa, Portugal; 2. Administração Regional De Saúde Do Algarve I.P. (ARS), Faro, Portugal.

Segundo o "Guide to the preparation, use and quality assurance of BLOOD COMPONENTS" (EDQM) e o Decreto-Lei 185/2015 de 2 setembro, o volume de uma dádiva de ST deve encontrar-se entre 450ml±50ml (excluindo anti-coagulante. No LLA/IPST os Concentrados de Eritrócitos (CE) obtidos a partir de dádivas com volume não conforme são submetidos a Controlo de Qualidade (CQ): os provenientes de ST com volume <400ml são sujeitos a CQ hematológico para identificação do teor de hemoglobina (Hgb); e os provenientes de ST com volume >500ml a contagem de leucócitos residuais (LR) para identificação de eventual falha de desleucocitação. O objetivo deste estudo foi avaliar o número de CE distribuídos pelo LLA/IPST, obtidos a partir de ST com volume não conforme, entre 2015 e 2023. Das 91026 ST colhidas na região do Algarve e processadas no LLA/IPST, 420 apresentavam volume fora das especificações, correspondendo a 0,46% das ST recebidas, sendo que 0,42% apresentavam volume >500 ml e 0,04% volume <400 ml. A relação entre o número de ST com volume não conforme e o número total de ST foi: 32/12638 (2015); 34/12615 (2016); 26/11768 (2017); 44/10602 (2018); 62/8466 (2019); 14/3172 (2020); 111/11232 (2021); 46/10354 (2022) e 51/10179 (2023). Dos 420 CE obtidos a partir das ST supracitadas, submetidos a CQ e inspeção visual, 412 estavam conformes. Dos 8 resultados não conformes, 1 advém de ST de alto volume cuja contagem de LR foi >1x10⁶WBC/U, e 7 de ST com volume <400ml,

cujo valor de Hgb foi <40g/U. Destes, 4 foram inutilizados (Hgb<36g/U) e 3 distribuídos, após comunicação e aceitação pelo hospital (Hgb entre 38-39 g/U). O sangue é um bem precioso e raro e, atualmente, sem alternativa terapêutica que permita a sua dispensa. Foi assim possível, após realização de CQ, maximizar os componentes disponíveis para transfusão. A partilha de informação entre o LLA/IPST e as instituições com atividade de colheita, permite mitigar as possíveis causas da obtenção de ST com volume não conforme.

Palavras-chave: Concentrado de Eritrócitos, Leucócitos, Hemoglobina

Avaliação de desempenho de um Hemoglobinómetro Point Of Care em Dadores de Sangue Total

Anabela Martins¹, Susana Ponte¹, Andreia Reis¹, Carla Ferreira¹, Sérgio Peixoto¹, Francisco Dias¹, Miguel Oliveira¹, Marco Sampaio¹, Marika Antunes¹

1. Serviço de Imuno-Hemoterapia, ULS Santo António, Largo Abel Salazar, Porto, Portugal

Os dadores de sangue devem cumprir várias condições antes de uma dádiva tanto para a sua segurança como para a segurança e qualidade dos componentes finais. Durante a avaliação médica é verificado o valor de hemoglobina do dador. Os hemoglobinómetros point-of-care surgem como uma opção fornecendo resultados imediatos poupando o dador a uma punção venosa adicional e fornecendo resultados imediatos. Os valores de hemoglobina de dádivas de sangue de 1 de janeiro a 31 de dezembro de 2021 obtidos por determinação point-of-care realizada por um método de punção capilar (CompoLab TM,) e amostras de sangue analisadas num contador hematológico Beckman-Coulter LH780 (método de referência), foram alvo de uma análise estatística usando o IBM SPSS® Statistics versão 26 (IBM, Nova Iorque, EUA). Foram avaliadas 6988 determinações de hemoglobina, variando de 125g/L a 185g/L na determinação point-of-care e de 93,8g/L a 183,7g/L no contador hematológico. Os limites de concordância foram calculados usando os percentis 2,5 e 97,5 com um intervalo de confiança (IC) de 95. A diferença máxima de 2,4 g/L no intervalo de confiança no percentil 97,5 significa que um dador com 125 g/L poderia ter, no mínimo, 122,6 g/L, sendo improvável causar dano clinicamente significativo ao dador. Dadas as vantagens significativas do sistema point-of-care, consideramos o equipamento clinicamente válido para avaliação inicial da hemoglobina em dadores de sangue.

Palavras-chave: Dador De Sangue, Hemoglobina, Point-Of-Care, Contador Hematológico

Caracterização dos Monócitos e a sua relação com o MDW na Covid-19

Cristiana Oliveira¹, Ana Alvim¹, Ana Carriço¹, Ana Oliveira¹, Ana Câmara¹, Ana Silva¹, Ana Menezes¹, Ana Carvalho¹, Ana Guerra¹, Augusta Santos¹, Beatriz Carpalhoso¹, Catarina Lopes¹, Cecília Silva¹, Cláudia Ervilha¹, Daniela Órfão¹, Diane Gomes¹, Eduardo Couto², Filipa Constantino¹, Filipa Silva¹, Gina Marrão¹, Gorete Figueiredo¹, Helena Santos¹, Inês Silva¹, Jorge Pinheiro¹, Martinha Anastácio¹, Joana Pedrosa¹, Leticia Pires¹, Liliانا Casalinho¹, Liliانا Luís¹, Liliانا Vieira¹, Lina Santos¹, Maria Vieira¹, Nádia Gaspar¹, Nélia Louro¹, Rita Cunha¹, Rui Vieira¹, Sara Cardeira¹, Sara Roda¹, Sofia Galvão¹, Suse Silva¹, Yola Ribeiro¹, Telma Almeida¹, Vanessa Pinto¹, Sandrine Mendes¹, Ricardo Castro¹

1. Instituto Português do Sangue e da Transplantação I.P. (IPST), Lisboa, Portugal; 2. Administração Regional de Saúde do Algarve I.P. (ARS), Faro, Portugal.

A Covid-19 é uma doença respiratória causada pelo novo coronavírus (SARS-CoV-2), altamente infeccioso, sendo transmissível entre indivíduos através de gotículas e secreções respiratórias. Embora esteja amplamente documentado que a Covid-19 se exterioriza primariamente no sistema respiratório, dados emergentes sugerem que envolva também outros sistemas fisiológicos, como por exemplo, o imunológico. O sistema imunológico é afetado através da ativação da imunidade inata, nomeadamente os monócitos, produzindo citocinas pró-inflamatórias de forma desregulada no local da infeção ("tempestade de citocinas") e assim, desempenhando um papel importante no curso clínico da Covid-19. Estes são ainda classificados em 3 subtipos de acordo com a expressão de CD14/CD16: clássicos (cMo), intermédios (iMo) e não clássicos (ncMo). Para além destes, existem várias evidências que têm destacado o parâmetro hematológico MDW (monocyte distribution width), previamente associado a sépsis, como marcador de prognóstico no risco de agravamento da infeção por SARS-CoV-2, avaliando a distribuição do volume dos monócitos de acordo com o seu grau de ativação perante a infeção. Este estudo teve como objetivo a caracterização dos monócitos absolutos e os seus subtipos, bem como o MDW, em 3 grupos populacionais: com Covid-19, sem Covid-19, mas com outras patologias respiratórias, e grupo controlo,

num total de 54 amostras. Os resultados obtidos apresentaram o MDW elevado nos grupos de doentes patológicos, maioritariamente na Covid-19, contribuindo para um pior prognóstico. Por outro lado, houve uma diminuição pouco significativa dos ncMo, uma diminuição dos cMo e um aumento acentuado dos iMo em doentes com Covid-19, sugerindo um aumento da maturação dos monócitos e a sua migração para as zonas periféricas de infeção, intensificando a inflamação. Estas conclusões representam descobertas valiosas sobre a resposta imunológica na Covid-19, contribuindo para avanços no prognóstico e terapêutica.

Palavras-chave: Monócitos, MDW, Caracterização, Covid-19, Infeção

Caraterização das células T em biópsias de gânglios com suspeita de doença linfoproliferativa crónica de células B, para posterior avaliação do seu valor prognóstico

Isabel Silva¹, Mariana Baptista², Paulo Silva³, Sandra Silva¹, Patrícia Tomé¹, Ana Guedes¹, Marta Pereira¹, Manuela Fortuna¹, Rui Bártolo¹ e Artur Paiva¹

1. Unidade Funcional de Citometria de Fluxo, Serviço de Patologia Clínica do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, ULSC; 2. Serviço de Hematologia Clínica do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, ULSC; 3. Serviço de Patologia Clínica do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, ULSC

Nos últimos anos tem vindo a assumir particular importância a caracterização imunológica do microambiente tumoral, nomeadamente ao nível das células T, e que esta pode integrar algoritmos de decisão terapêutica nesta nova era da medicina personalizada. O objectivo deste estudo foi o de quantificar, nas biópsias de gânglio, as células T, e nestas, as subpopulações CD4, CD8 e $\gamma\delta$, avaliando se esta infiltração varia de acordo com a doença linfoproliferativa crónica de células B presente, e comparando-a com os valores obtidos em gânglios normais/reactivos. Para este efeito estudaram-se 82 biópsias de gânglios, 10 normais/reactivos, 16 com diagnóstico de linfoma B da zona marginal, 7 linfomas B difusos de células grandes (LBDGC) CD10-, 11 LBDGC CD10+, 22 linfomas foliculares, 11 linfomas B de células do manto (LBCM) e 5 linfomas linfocíticos. A quantificação das células T e das suas subpopulações principais foi efetuada por citometria de fluxo. Observou-se um aumento significativo na frequência de células TCD8 no LBCM (39,4%±17,2%), quando comparado com o grupo normal/reactivo (22,5%±4,4%) e com o grupo de linfoma folicular (22,8%±10,8%). Este aumento também ocorre no LBDGC CD10+ (32,9%±14,5%), embora de forma menos vincada, apresentando também diferenças estatísticas quando comparado com o linfoma folicular. Relativamente às

células TCD4 ocorre uma diminuição significativa da sua frequência no LBCM (55,9%±17%) e, em menor extensão, no LBDGC CD10+(62,6%±15,6%), quando comparado com o grupo normal/reactivo (73,4%±4,4%) e com o linfoma folicular (69,9%±14,6%). Os resultados preliminares sugerem uma resposta imune mediada pelas células T citotóxicas mais efetiva no linfoma B de células do manto e no LBDGC centro-germinativo (CD10+), o que pode contribuir para o prognóstico destas entidades.

Palavras-chave: Citometria de Fluxo, Célula T, fenótipagem, linfoma

Caso Clínico - Valor Preditivo Do Cariótipo

Rodolfo Serra¹, Raquel Costa², Andreia Sousa¹, Pedro Facão¹, Nélia Jerónimo¹

1. Laboratório De Citogenética, Serviço De Patologia Clínica, Centro Hospitalar E Universitário De Coimbra, Coimbra, Portugal; 2. Serviço De Patologia Clínica, Centro Hospitalar E Universitário De Coimbra, Coimbra, Portugal.

O Valor Preditivo do Cariótipo é, apesar de pouco abordado, intemporal, sendo capaz de identificar alterações cromossómicas que podem preceder as manifestações clínicas entre 6 a 8 meses. É fundamental na eficácia da decisão terapêutica, nomeadamente, no impacto da escolha dos alvos terapêuticos e na necessidade emergente de transplante. É o caso da leucemia linfoblástica aguda de percursoros T (LLA-T), uma neoplasia responsável por aproximadamente 15% dos casos de LLA em crianças e 25% em adultos, sendo que o último grupo apesar da alta taxa de remissão (80%), revela mau prognóstico logo ao diagnóstico, havendo necessidade assim que possível de transplante. O caso clínico aborda uma mulher de 47 anos, portadora de LLA-T, com um cariótipo inicial 46,XX,del(1)(p32p35), apresentando ainda uma metafase com inversão pericêntrica do cromossoma 7 e uma metafase com trissomia do cromossoma 14, em que um destes se encontrava em isocromossoma (tetrassomia).

Não sendo um cariótipo complexo, de acordo com as guidelines, as alterações secundárias identificadas sugestivas de evolução clonal já evidenciavam um agravamento no prognóstico da doente. A doente conseguiu atingir remissão completa da doença, tendo sido de imediato proposta para alotransplante. Contudo, a doença recidivou e o cariótipo evoluiu para complexo, 46,XX,del(1)(p32p35),inv(7)(p15q34),t(11;14)(p15q11)[6] como previsto. Sendo este o único caso no mundo de portadores de LLA-T com t(11;14)(p15q11) em adultos, descrita apenas anteriormente em crianças (1%) com mau prognóstico, acrescido o facto da inv(7)(p15q34), presente em 3,3% dos casos, ser também considerada mau prognóstico,

poder-se-ia prever uma elevada taxa de recidiva. Após mais dois ciclos de tratamento e tendo alcançado remissão completa da doença pela segunda vez, não reuniu condições analíticas para alotransplante. Acabou por voltar a recidivar pela terceira vez, como o cariótipo inicial assim o previa, levando ao falecimento da doente em meses.

Palavras-chave: Valor Preditivo, Cariótipo, LLA-T, Adulto, t(11;14)(p15q11)

Coagulopatia no Covid-19

Beatriz Marques¹

1. Escola Superior De Saúde Dr. Lopes Dias, Instituto Politécnico De Castelo Branco, Castelo Branco

Este trabalho aborda a coagulopatia associada ao SARS-CoV-2, destacando a necessidade de informações sobre vírus de RNA similares, como Ebola, Lassa e Dengue, para compreender melhor as complicações vasculares. Embora o coronavírus não cause hemorragias, pacientes podem desenvolver SDRA com coagulopatia DIC, contribuindo para elevadas taxas de mortalidade. Mecanismos de ativação da coagulação envolvem citocinas pró-inflamatórias e quimiocinas, estimulando respostas imunes e desencadeando cascatas de coagulação. Biomarcadores como D-dímeros e tempo de protrombina são indicativos, com baixas contagens de plaquetas associadas a gravidade. O dano endotelial é fundamental na patogénese da COVID-19, resultante da entrada do vírus nas células endoteliais vasculares. A morte celular, especialmente a apoptose de linfócitos T, e as terapias, incluindo inibidores de trombina e anticoagulantes, são discutidas. A eficácia dessas terapias ainda carece de evidências robustas, destacando a necessidade de estudos clínicos adicionais para confirmar benefícios.

Palavras-chave: Coagulopatia, SARS-CoV-2, Biomarcadores, Dano endotelial, Terapias anticoagulantes

Comparação no armazenamento de plaquetas em sacos de plástico butiril trihexil citrato (BTHC) e 2-dietil-hexil ftalato (DEHP): a diferença na qualidade e nos parâmetros metabólicos

Susana da Ponte¹, Miguel de Oliveira¹, Rita Marinho¹, Eduarda Valente¹, Francisco Dias¹, Andreia Reis¹, Anabela Martins¹, Carla Ferreira¹, Sergio Peixoto¹, Marco Sampaio¹, Marika Antunes¹

1. Serviço de Imuno-Hemoterapia, ULS Santo António, Largo Prof. Abel Salazar, Porto, Portugal.

Os ftalatos estão entre os plastificantes mais utilizados, sendo o 2-dietil-hexil ftalato (DEHP) o mais comum e amplamente utilizado em sacos de colheita e armazenamento de componentes sanguíneos, tornando-os mais maleáveis, flexíveis e translúcidos. Proporciona tolerância à temperatura, resistência e durabilidade. O DEHP liga-se ao policloreto de vinil (PVC) de uma forma não covalente, resultando na lixiviação do polímero, afetando o conteúdo dos sacos. Embora o DEHP tenha um efeito protetor nas membranas dos glóbulos rubros, possui uma permeabilidade mais baixa ao oxigénio e dióxido de carbono, o que limita a vida útil das plaquetas e parece reduzir a sua agregação. O DEHP também parece interagir com os sistemas reprodutivo e endócrino, rins, pulmões, coração e fígado. Estudaram-se as diferenças nos parâmetros de qualidade e metabólicos de 32 pools de plaquetas de Buffy-Coats, provenientes de unidades de sangue total e selecionados aleatoriamente para serem armazenados em sacos BTHC ou DEHP. Os pools foram submetidos a inspeção visual quanto ao "swirling", alterações de cor ou coágulos. Avaliaram-se o volume, contagem de plaquetas e leucócitos residuais. Na data de produção e no final do prazo avaliaram-se o pH, pO₂ e pCO₂, bicarbonato, concentrações de glicose e lactato e controlo microbiológico. A diminuição do pH foi mais acentuada nos sacos BTHC (p = 0,036). A variação em pCO₂ e pO₂ foi maior

nos sacos DEHP (p = 0,026 e p <0,001, respetivamente). A perda de plaquetas durante o armazenamento foi maior nos sacos DEHP (p = 0,036). Não houve diferenças significativas na alteração percentual de HCO₃⁻ (p = 0,950), glicose (p = 0,787) e níveis de lactato (p = 0,229), nem no volume médio (p = 0,885). Os sacos BTHC são não inferiores aos sacos DEHP no armazenamento de plaquetas por um período de 5 dias. Os sacos BTHC têm uma permeabilidade gasosa maior e uma menor perda de plaquetas. Consideramos esses sacos apropriados para a recolha e armazenamento de plaquetas.

Palavras-chave: butiril trihexil citrato (BTHC), 2-dietil-hexil ftalato (DEHP)

Duas Décadas De Dádivas De Sangue Na Uls Santo António

Carla Ferreira¹, Ana Mota¹, Francisco Dias¹, Susana Ponte¹, Marco Sampaio¹ & Marika Bini¹

1. ULS Santo António, Largo Prof. Abel Salazar, 4099-001, Porto, Portugal,

O rastreio de dádivas de sangue para deteção de infeções transmissíveis por transfusão representa um elemento de estratégias em prol de segurança e disponibilidade de sangue. A primeira medida de defesa para proporcionar uma reserva de sangue seguro e minimizar o risco de infeções transmissíveis por transfusão consiste em colheita de sangue de dadores corretamente avaliados, voluntários e não remunerados, provenientes de populações com pouco risco, especialmente aqueles que dão sangue regularmente. Estudo longitudinal e retrospectivo da evolução do número de dádivas de sangue efetuadas entre 2003 a 2023, avaliando a afilência dos dadores (Dadores Regulares e Novos Dadores), tendo em consideração a distribuição por idade e sexo dos dadores. Num total de 254.527 dádivas homólogas voluntárias, obtidas a partir de 162.614 Dadores Regulares (DR) e 25.719 Novos Dadores (ND), sendo que 51.64% foram do sexo masculino e 48.36% do sexo feminino, com idades compreendidas entre os 18 e os 65 anos (98.35%) e 1.65% com mais de 65 anos. À semelhança da maioria dos países europeus, assistimos a um decréscimo acentuado das dádivas de sangue. Os anos 2012 e 2013 são o momento charneira a que fenómenos socioeconómicos (entrada da troika em Portugal, emigração de jovens) não são alheios. Quando comparando dadores regulares e novos dadores verificamos um decréscimo acentuado do número de DR contrariamente ao número de ND. Embora ambos os sexos mantenham em número de dádivas, valores próximos, durante o período em estudo, é durante a pandemia que o sexo feminino predomina. Impera nesta amostra a faixa etária ativa (25-65 anos) responsável pela maioria das dádivas homólogas. Estes dados, se por um lado reafirmam um decréscimo do número de dadores/dádivas, alertam para a

necessidade de motivar a população mais jovem (18 e 24 anos) para a fidelização na dádiva; seja no período de formação escolar seja no início da carreira.

Palavras-chave: Dádivas Sangue, Dadores Regulares, Novos Dadores

Fenótipo A Fraco – Subgrupo raro: Ax Caso Clínico

Andreia Reis¹, Ana Mota¹, Anabela Martins¹, Carla Ferreira¹, Elisabete Machado¹, Elisabete Santos¹, Margarida Couto¹, Rute Araújo¹, Susana da Ponte¹, Marco Sampaio¹ & Marika Antunes¹

1. Serviço de Imuno-Hemoterapia, ULS Santo António, Largo Prof. Abel Salazar, Porto, Portugal.

o sistema sanguíneo ABO é o sistema mais importante na medicina transfusional. A determinação correta do grupo sanguíneo no sistema ABO exige concordância entre prova globular (direta), que verifica a presença ou ausência dos antígenos nos eritrócitos utilizando soros-teste, e prova sérica (reversa), que verifica a presença de anticorpos utilizando eritrócitos-teste. Uma discordância entre resultados das provas globular e sérica pode significar a existência de variante com expressão antigénica mais fraca. Descrição de caso de um homem, 61 anos, que recorre ao serviço de Imuno-hemoterapia, para dádiva de sangue em 2016. O estudo imuno-hematológico da dádiva revelou discrepância ABO nos testes serológicos. Utilizou-se metodologia em microplaca (Diamed-MP test) e por técnica de aglutinação em coluna de gel (ID-Diamed) e de microesferas de vidro (Ortho Clinical Diagnostics). Na prova globular o resultado foi negativo com soros anti-A, anti-B e anti-A,B, sugerindo grupo sanguíneo O. Na prova sérica, com eritrócitos A1 a reação foi positiva muito fraca em microplaca e negativa em gel, e com eritrócitos B a reação foi positiva (1+) em microplaca e em gel. Com microesferas, alargou-se o estudo na prova sérica: eritrócitos A1 reação positivo muito fraco, A2 negativo, B positivo 2+, O negativo, detetando-se um anti-A extremamente fraco e um anti-B. Foi realizado genotipagem ABO, no Instituto Português de Sangue e Transplantação, cujo resultado foi subgrupo Ax. Com este caso pretende-se destacar a importância da valorização da discrepância ABO por intensidade de reação nos testes serológicos, a sensibilidade das metodologias na deteção de subgrupos fracos e raros, e a atitude crítica dos profissionais perante estes casos para se obter a correta tipagem, promovendo a

segurança transfusional. Como dador este indivíduo é considerado A, mas como recetor terá que ser considerado O.

Palavras-chave: Discrepância ABO, subgrupo Ax, testes serológicos, segurança transfusional, dador de sangue

Impacto Da Infecção Por EBV Em Doentes Diagnosticados Com LLC

Raquel Costa¹, Rodolfo Serra²

1. Laboratório de Virologia, Serviço de Patologia Clínica, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, Coimbra, Portugal; 2. Laboratório de Citogenética, Serviço de Patologia Clínica, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, Coimbra, Portugal

Leucemia Linfocítica Crónica (LLC) é uma patologia hemato-oncológica caracterizada pela lenta proliferação clonal de células B, representando 30% de todas as leucemias e apresentando uma sobrevida média de 10 anos. O vírus Epstein-Barr (EBV), vírus oncogénico, infeta as células B e tem capacidade de estabelecer latência e induzir reativação viral. A relação entre a infeção por EBV e o prognóstico de doentes com LLC ainda não obteve consenso científico, contudo permanece em estudo. O objetivo deste estudo é analisar e correlacionar a prevalência de infeção EBV e o seu impacto no prognóstico de doentes diagnosticados com LLC. De um total de 438 amostras de doentes com diagnóstico de LLC, apenas 46 apresentaram caracterização da patologia através da análise combinada de alterações citogenéticas e teste serológico de anticorpos EBV-VCA IgG e IgM. Os dados foram obtidos entre 2016 e 2023 através de uma pesquisa parametrizada no sistema de gestão laboratorial e tratados com recurso ao Excel. Dos 46 doentes analisados, a média de idades foi de 69 anos, com maior percentagem em indivíduos do sexo masculino. Destes, 39% apresentavam bom prognóstico (sem alterações ou del13q34), 15% prognóstico intermédio (trissomia do cromossoma 12) e 46% mau prognóstico (del11q22.3 ou del17q13.1). A prevalência de infeção EBV em doentes com LLC foi de 30%. Sendo que destes, 71% apresentavam bom prognóstico, 7% prognóstico intermédio e 22% mau prognóstico. Dos doentes com LLC e infeção EBV ativa, 64% evoluíram para óbito, contrastando com a população sem infeção EBV ativa (28%). Os dados sugerem uma relação entre a infeção ativa por EBV e um prognóstico mais agressivo de LLC, pois uma proporção significativa de doentes

evoluiu para óbito apesar da doença apresentar um curso clínico lento. Estes resultados, destacam a importância da pesquisa de infeção por EBV em doentes com LLC, de modo a avaliar o prognóstico e aplicar a terapia mais adequada, permitindo um aumento da sobrevida do doente.

Palavras-chave: LLC, EBV, Prognóstico, Impacto

O Diagnóstico Das Hemoglobinopatias Mais Prevalentes Em Portugal

Liliana Luís¹, Sandrine Mendes¹, Ricardo Castro¹

¹. Serviço De Patologia Clínica Da Unidade Local De Saúde Da Região De Leiria.

As hemoglobinopatias são anormalidades hereditárias das cadeias da hemoglobina. A mais frequentes em Portugal são a talassemia e a Drepanocitose. A Drepanocitose ou anemia de células falciformes é uma doença causada pela presença de uma Hb variante, HbS e caracteriza-se por uma anemia com hemoglobina de 7 a 8 g/dL, o hemograma apresenta anisocitose (RDW aumentado), redução da Hb e do Hct (hematócrito), VCM aumentado e HCM normal ou elevado. No esfregaço temos drepanócitos (eritrócitos falciformes), células em alvo, policromasia e eritrócitos com corpos de Howell-Jolly. A β Talassémia, é uma hemoglobinopatia cuja alteração é a redução da velocidade de síntese das cadeias de globina. Indivíduos com β talassémia menor, apresentam microcitose (diminuição do tamanho do eritrócito, redução do VCM), hipocromia e HCM reduzido. Para o diagnóstico das hemoglobinopatias recorreremos ao Hemograma, efetuado no DX900 da Beckman coulter®, esfregaço de sangue periférico, efetuado no SMS II da Beckman coulter® e visualizado ao microscópio e electroforeses da hemoglobina por capilaridade no equipamento Capillarys3 Octa da Sébia®. Apresentação de dois casos clínicos: CASO1 Indivíduo do sexo feminino de 29 anos, estudo feito por rastreio pré-Natal, diagnóstico Hemoglobina S (drepanocitose). Com uma Hb de 14, HCM e VCM normal e RDW aumentado, no esfregaço de sangue periférico apresenta raros drepanócitos, células alvo e corpos de Howell-Jolly. A electroforese da Hb revelou a presença de uma HbS de 35,1%. CASO2: Indivíduo do sexo feminino de 49 anos, ligeira anemia, microcítica hipocrômica, hemoglobina A2 diminuída, diagnóstico β talassémia. Com uma Hb de 10,4, HCM e VCM diminuídas e RDW aumentado, no ESP temos inúmeras

células alvo e Corpúsculos de Heinz. A electroforese da Hb revela presença de HbA2 de 4,2%.

Palavras-chave: Hemoglobinopatias, Drepanocitose, Hbs, β Talassémia, Vcm

Prevalência da Grupagem Sanguínea nas Dádivas do Algarve

Vera Maria^{1,2}, Daniela Silvestre¹, Marta Saias^{1,2}, Paula Rasteiro^{1,2}, Fábria Encarnação^{1,2}, Isa Oliveira^{1,2}, Mónica Baptista¹, & Eugénia Vasconcelos¹

1. Instituto Português do Sangue e da Transplantação I.P. (IPST), Lisboa, Portugal; 2. Administração Regional de Saúde do Algarve I.P. (ARS), Faro, Portugal.

O Decreto-Lei 185/2015 e o "Guide to the preparation, use and quality assurance of BLOOD COMPONENTS", regulamentam a determinação do grupo ABO e RhD a todas as unidades de sangue total (ST) e de aférese. A frequência dos grupos sanguíneos no sistema ABO varia significativamente em diferentes populações e grupos étnicos. O objetivo deste estudo foi verificar se as dádivas processadas no Laboratório Regional de Saúde Pública Dr^a Laura Ayres/IPST (LLA/IPST) correspondem à distribuição da grupagem ABO e RhD encontradas por Duran et al.(2007), que incluía as pessoas dadoras do Algarve. As amostras referentes às dádivas processadas no LLA/IPST foram analisadas nos equipamentos AutoVue Innova (ORTHO Clinical Diagnostics), NEO (IMMUCOR) e NEO Íris (IMMUCOR/Werfen). Relativamente à grupagem ABO, RhD e fenótipo Rh/Kell foram analisados 118216 ST, colhidos a 18030 pessoas dadoras, registadas entre 2013 e 2023 no Sistema de Aplicação para Bancos de Sangue (ASIS). No que respeita à grupagem ABO, verificou-se que 44,38% das amostras analisadas são O, 43,33% são A, 8,60% são B e 3,68% são AB. Relativamente à grupagem RhD 84% são Rh positivas e 16% Rh negativas. Os fenótipos Rh/Kell mais frequentes, para as pessoas dadoras Rh positivas, foram: CcDee K negativo (32,4 %); CCDee K negativo (17,8%); CcDEe K negativo (10,5%); ccDEe K negativo (9,5%). Para as grupagens Rh negativas o fenótipo mais frequente foi: ccddee K negativo (13,9%). Comparativamente ao estudo de Duran et al. (2007) verificou-se que nas dádivas do Algarve, entre 2013 e 2023, houve um aumento na percentagem das pessoas dadoras do grupo O e B, e uma diminuição das do grupo A e AB. Observou-se um

aumento das pessoas dadoras Rh negativas. Em 2007, na região do Algarve, não foram detetados os fenótipos CcDEE,CcddEe,CCddee. No presente estudo verificaram-se as seguintes percentagens: 0,033%; 0,028%; 0,006%. Estas variações podem estar associadas a fatores migratórios e à elevada sazonalidade da população algarvia.

Palavras-chave: Grupagem Sanguínea, ABO, Rh, Kell

Quantificação Celular No Líquido Cefalorraquidiano Utilizando o Alinity Hq: Será a Automatização uma possibilidade?

Frederico Bragança^{1,2}, Rui Barreira¹, Edna Ribeiro³

1. Instituto Português De Oncologia De Lisboa Francisco Gentil, R. Prof. Lima Basto 1099-023, Lisboa, Portugal; 2. Escola Superior De Tecnologia Da Saúde, Instituto Politécnico De Lisboa, Av. D. João II, Lote 4.69.01, Parque Das Nações, 1990-096 Lisboa, Portugal; 3. H&Trc- Health & Technology Research Center, Estesl- Escola Superior De Tecnologia Da Saúde, Instituto Politécnico De Lisboa, Av. D. João II, Lote 4.69.01, Parque Das Nações, 1990-096 Lisboa, Portugal.

A contagem de células no líquido cefalorraquidiano (LCR) é um procedimento fundamental num serviço de patologia clínica, quando existe suspeita de doenças neuro-inflamatórias, hemorragias subaracnoideias e doenças hemato-oncológicas. Estas patologias obrigam a que não só o procedimento, como também profissionais altamente qualificados, estejam sempre disponíveis. A metodologia de referência para a contagem total de células no LCR é a contagem manual em câmara. A implementação de contadores automáticos de células para este procedimento tem apresentado vários desafios, principalmente técnicos, uma vez que os equipamentos disponíveis não foram concebidos para a contagem de células em amostras com baixa concentração celular, assim como para o tipo de células que eventualmente possam estar presentes no LCR. Estudou-se a viabilidade da automatização da contagem total de células no LCR, com o objetivo de validar e implementar o método. Comparou-se o método manual de contagem de células do LCR (método de referência) com o método automático do Alinity hq em 222 amostras provenientes do Instituto Português de Oncologia de Lisboa Francisco Gentil. Os dados obtidos foram tratados estatisticamente utilizando o método de Bland-Altman, de modo a determinar a concordância entre os métodos, assim como a capacidade de o Alinity hq diferenciar as amostras patológicas (≥ 5 leucócitos/ μL) das

normais (<5 leucócitos/ μL). Para a contagem de leucócitos obteve-se uma diferença média entre o método manual e o Alinity hq de $-2,0$ leucócitos/ μL e uma concordância (com intervalo de confiança de 95%) de $[-30,18$ a $26,18$ leucócitos/ μL]. Para os eritrócitos, a diferença média obtida foi de $-106,36$ eritrócitos/ μL e uma concordância (com intervalo de confiança de 95%) de $[-934,64$ a $721,96$ eritrócitos/ μL]. Neste estudo concluímos que a baixa concentração celular do LCR e os valores de aceitação clínica definidos para o método, não apoiam a implementação do Alinity hq na prática clínica.

Palavras-chave: Líquido Cefalorraquidiano, Hemocitómetro, Automatização, Alinity Hq, Contagem Diferencial De Células

Screening do agente parasitário *Plasmodium spp.* em pessoas dadoras da região do Algarve e suas implicações

Fábia Encarnação^{1,2}, Isa Oliveira^{1,2}, Vera Maria^{1,2}, Mónica Baptista¹, [Paula Rasteiro](#)^{1,2} & Eugénia Vasconcelos¹

1. Instituto Português Do Sangue E Da Transplantação I.P. (IPST), Lisboa, Portugal; 2. Administração Regional De Saúde Do Algarve I.P. (ARS), Faro, Portugal.

Segundo o "Guide to the preparation, use and quality assurance of BLOOD COMPONENTS" da European Directorate for the Quality of Medicine & Healthcare (EDQM) e o Decreto-Lei 185/2015 de 2 setembro, a produção de concentrado de eritrócitos (CE) seguros para transfusão requer o rastreio e deteção dos seguintes agentes infecciosos: Hepatite B, Hepatite C e HIV1/2. Sempre que necessário é realizado o screening seletivo para um outro agente infeccioso para redução do risco potencial de transmissão de infeção através da transfusão, como é o caso da malária. Se o resultado analítico for reativo, implica a suspensão temporária da pessoa dadora (PD) e inutilização dos componentes produzidos. Este estudo teve por objetivo analisar o número de amostras de PD enviadas pelo Centro Hospitalar Universitário do Algarve para screening de *Plasmodium spp.*, assim como, nos casos de ter havido colheita de sangue total (ST) associada, o número de CE processados e distribuídos pela Delegação do Algarve do Instituto Português do Sangue e da Transplantação, após realização do screening para o *Plasmodium spp.*. Analisaram-se, entre 2021 e 2023, os dados retirados do Sistema de Aplicação para Bancos de Sangue (ASIS) com breve caracterização da PD. A determinação do anticorpo anti-*Plasmodium spp.* realizou-se através de ensaio imuno-enzimático no equipamento Evolis da BioRad. Testaram-se 727 PD (2,29% das dádivas entre 2021 e 2023). 47 amostras corresponderam a repetição analítica e destas 19,1% foram reativas. Das 680 amostras com colheita de ST associada, 5,9% apresentaram reatividade, implicando a distribuição de 94,1% dos CE produzidos. Nos resultados reativos identificaram-se 7

nacionalidades, sendo indiana a predominante (42,86%). Dada a baixa taxa de reatividade encontrada, o processamento de CE com pedido de screening para o *Plasmodium spp.* associado, agiliza a sua disponibilização para transfusão. Estas colheitas de ST promovem uma maior captação de pessoas candidatas à dádiva de sangue.

Palavras-chave: Concentrado de Eritrócitos, *Plasmodium spp.*, Segurança Transfusional

Tendência da Infecção pelo Vírus Da Imunodeficiência Humana em Dadores de Sangue em Portugal (2015-2022)

Isaias Pedro¹, Pedro Mendonça¹, Maria Antónia Escoval¹ & João Almeida Santos^{2,3}

1. Instituto Português do Sangue e da Transplantação I.P. (IPST), Lisboa, Portugal; 2. Instituto Nacional de Saúde Dr. Ricardo Jorge I.P. (INSA), Lisboa, Portugal; 3. Comprehensive Health Research Center (CHRC), Escola Nacional de Saúde Pública, Universidade NOVA, Lisboa, Portugal

Devido ao impacto da infecção pelo vírus da imunodeficiência humana (VIH) na saúde pública, tem havido um esforço constante de implementação de testes serológicos e de biologia molecular cada vez mais sensíveis, de forma a detetar precocemente potenciais casos de infeção e assim minimizar o risco de transmissão do VIH por transfusão sanguínea. Caracterizar a evolução da infeção por VIH em dadores de sangue em Portugal (2015-2022). Material e métodos: Estudo retrospectivo com dados do IPST. Foi calculada a proporção anual de dadores VIH positivos por 100000 dadores, a tendência da variação percentual média anual e a tendência da variação percentual anual de infeções por VIH. Foram identificadas 126 dadores com VIH, 72.2% eram do sexo masculino. Em termos globais, a tendência de casos de VIH apresentou uma tendência decrescente não estatisticamente significativa (-7.7%). No entanto, foi possível observar que entre 2015 e 2022 ocorreram dois períodos com tendência distintas: 2015-2019 com tendência decrescente estatisticamente significativa (-27.8%); 2019-2022 com uma tendência crescente embora não estatisticamente significativa (+34.5%). Os homens apresentaram igualmente dois períodos distintos: 2015-2019 - tendência decrescente significativa (-30.8%); 2019-2022 - tendência crescente não significativa (+51.1%). As mulheres apresentaram apenas uma tendência decrescente significativa (-12.5%). Os resultados obtidos permitem constatar que a infeção por VIH permanece um problema de saúde pública em Portugal,

com indivíduos a desconhecer que se encontram infetados. Estes casos representam não só um risco para a população geral, como também uma potencial fonte de transmissão através da dádiva de sangue. No entanto, os dados da hemovigilância em Portugal demonstram um esforço continuado na melhoria da deteção destes casos, o que tem permitido manter o risco potencial infeccioso em valores perto de zero (0.04-0.2/100 000 dádivas).

Palavras-chave: VIH; Dádiva Sangue; Saúde Pública; Rastreo

Teste De Antiglobulina Direto Positivo em Microcoluna de Gel- Resultados em Doentes

Paula Fernandes¹, Graça Almeida¹

¹. Centro De Sangue E Da Transplantação De Lisboa (Cstl), Portugal

O Teste de Antiglobulina Direto (TAD) é o teste que deteta a ligação de anticorpos ou complemento nos eritrócitos dos doentes, indicando uma sensibilização in vivo. A reação do TAD é detetada utilizando reagentes mono/poliespecíficos, que se ligam aos eritrócitos sensibilizados. Embora seja um teste de fácil execução, a sua aplicação e interpretação é complexa. Importa conhecer o diagnóstico e os dados laboratoriais do doente e as causas de falsos resultados do teste. O TAD efetua-se na suspeita de anemias hemolíticas por drogas ou autoimunes, na doença hemolítica do recém-nascido, nos doentes transfundidos. Este estudo tem por objetivo interpretar os resultados de dez amostras de doentes admitidos no Centro de Sangue e da Transplantação de Lisboa, para a realização de testes pré-transfusionais, com TAD positivo, no período de dois meses e meio (2023-24), recorrendo à microcoluna em gel e comparando com o método em tubo. A maior parte dos doentes apresentava especificidade IgG e Pesquisa de Anticorpos Irregulares positiva. O método em microcoluna de gel detetou num doente um TAD positivo forte, mas com resultado negativo em tubo. A explicação poderá residir no reduzido número de moléculas ligadas aos eritrócitos, nos reagentes utilizados e na sensibilidade dos métodos.

Palavras-chave: Teste de Antiglobulina Direto, Anemia Hemolítica Autoimune, Doentes

HISTOPATOLOGIA

Caso Clínico: Peça De Penectomia Restante Por Recidiva De Carcinoma Epidermóide

Catarina Barata¹, [Madalena Fernandes¹](#), Telma Tavares¹

1. Chuc, Centro Hospitalar E Universitário De Coimbra, Coimbra, Portugal

Contextualização: Doente do sexo masculino, 50 anos, encaminhado de outro hospital, submetido a amputação parcial do pénis, com diagnóstico de carcinoma epidermóide, para realizar quimioterapia sistémica, por mostrar metastização no estudo complementar com TC-TAP. O exame anatomopatológico prévio revelou carcinoma epidermóide do pénis com 4,5cm, que infiltra a uretra peniana, corpo esponjoso e cavernosos, atingindo as margens. Na TC TAP, observam-se adenomegalias mediastínicas, hilares e inguinais, gânglio axilar direito suspeito e vários nódulos pulmonares inespecíficos. Ao exame objetivo, identificam-se aspetos sugestivos de recidiva local, cheiro fétido e adenopatias inguinais bilaterais. Realizada PET que reúne características imagiológicas sugestivas de extensa doença neoplásica maligna que se relaciona com a neoplasia conhecida, com adenopatias inguinais e ilíacas externas bilaterais, mediastínica, axilar direita e nugal direita, sugestivas de metastização. Revela ainda imagens nodulares pulmonares, sugestivas de metástases pulmonares e algumas lesões ósseas secundárias suspeitas. Proposta para cirurgia paliativa de totalização de penectomia e uretostomia perineal. Estudo anatomopatológico: Recebeu-se no serviço de Anatomia Patológica do CHUC, peça de penectomia com 16,5cm de comprimento e 7cm de diâmetro, com volumosa lesão tumoral a exteriorizar na extremidade cutânea, que se estende a todo o comprimento da peça. A nível microscópico, corresponde a neoplasia epitelial maligna extensa, que invade amplamente o corpo

esponjoso e os corpos cavernosos, atingindo as margens de resseção cirúrgica proximal e circunferencial. Conclusão: Peça de penectomia restante com carcinoma de células escamosas do pénis, associado ao HPV, clinicamente conhecido, com invasão do corpo esponjoso e corpos cavernosos, com margens cirúrgicas positivas. pTNM/AJCC (8^a ed): pT3 Nx Mx, estadio IIB (se NO e MO).

Palavras-chave: Penectomia, Carcinoma

Computational Pathology: What's New

Daniel Coelho¹, Teresa Assunção², Gonçalo Borrecho^{3,4,5}, Mariana Geraldés^{6,7}, Tiago Vinagre³, Inês Ferreira¹, Ana Ferreira⁸, Ana Isabel Fernandes⁹, Amélia França⁹, João Vale^{8,10}, Mónica Curado^{8,10}, Fernando Mendes^{11,12,13,14,15} & Diana Martins^{11,12,13,14}

1. Centro De Anatomia Patológica Germano De Sousa, Coimbra, Portugal; 2. Instituto Português De Oncologia de Coimbra Francisco Gentil, EPE, Coimbra, Portugal; 3. Unidade Local De Saúde Alentejo Central - Hospital Espírito Santo, Epe (Ulsac), Évora, Portugal; 4. Comprehensive Health Research Centre (Chrc), Évora, Portugal; 5. Egas Moniz Center For Interdisciplinary Research (Ciim), Almada, Portugal; 6. Unidade Local Saúde São José, Lisboa, Portugal; 7. Hospital Das Forças Armadas, Lisboa, Portugal; 8. Área Técnico-Científica De Anatomia Patológica, Citológica E Tanatológica, Escola Superior Saúde Do Instituto Politécnico Do Porto (Ess|P.Porto), Porto, Portugal; 9. Unilabs - Laboratório De Anatomia Patológica, Porto, Portugal; 10. Laboratório De Anatomia Patológica Do Instituto De Patologia E Imunologia Molecular Da Universidade Do Porto (Ipatimup), Porto, Portugal; 11. Instituto Politécnico De Coimbra, Estesc, UCPCBL Coimbra, Portugal; 12. Biophysics Institute of Faculty of Medicine, Coimbra Institute for Clinical and Biomedical Research (iCBR) Area of Environment Genetics and Oncobiology (CIMAGO), University of Coimbra, 3000-548 Coimbra, Portugal; 13. Center for Innovative Biomedicine and Biotechnology (CIBB), University of Coimbra, 3000-548 Coimbra, Portugal; 14. Clinical Academic Center of Coimbra (CACC), 3000-548 Coimbra, Portugal; 15. European Association for Professions in Biomedical Sciences, B-1000 Brussels, Belgium.

The term computational pathology (CPath) has become a buzz-word among the digital pathology community. Advances in scanning systems, imaging technologies and storage devices are generating an ever-increasing volume of whole-slide images (WSI) acquired in clinical settings, which can be computationally analyzed using artificial intelligence (AI), such as deep learning technologies, in a new area of development called CPath. The purpose of the review is to disseminate the latest news and futures perspectives by CPath. Deep learning in the context of CPath has methodological contributions that can be distinguished into approaches based on the final purpose of the analysis: predicting clinical endpoints such as cancer subtype, patient survival or genetic mutations from WSI and AI-based assistive tools, such as segmentation methods for WSI or virtual staining. The emergence of multiplex imaging, spatially resolved genomic assays and 3D pathology, among other methodologies, will accelerate this trend, providing new opportunities for

multimodal integration and discovering new biomarkers. Additionally, these developments will help automating labor-intensive manual work and reducing inter-observer variability diagnosis between pathologists, contributing to a better patient care. CPath will underpin the development of the next generation of cancer therapies and diagnostics, changing the clinical research and ultimately leading towards new cures or improved patient outcomes.

Keywords: Digital Pathology, Computational Pathology, Artificial Intelligence

Rampa: 1 Ano de Experiência no Processamento Histológico

Paula Fonseca¹, Armando Castro², Monica Queirós¹, Alexandre Salvador², J. Ramon Vizcaino¹

1. Unidade Local De Saúde De Santo António, E.P.E, Porto, Portugal; 2. Enzifarma S.A, Porto, Portugal

A limitação de recursos humanos e o crescente volume de trabalho nos laboratórios de histotecnologia permite a implementação de estratégias, como a automatização, que visam a libertação de recursos humanos e automatização de fases no processo de preparação das amostras. Uma das fases passíveis de automatização é a inclusão, através da introdução de um sistema que permita a realização automática após conclusão do processamento. Tendo em conta as preocupações ambientais, seria importante reduzir ou eliminar o mais possível a utilização de reagentes tóxicos do processamento e posteriormente do laboratório. Assim, o objetivo deste estudo seria a utilização de um processador automatizado com o intuito de diminuir a intervenção do operador, otimizando a produção de blocos a cortar. O processador Magnus da Milestone Medical SRL (Enzifarma S.A), incluindo o sistema Synergy foi utilizado para processar toda a rotina do laboratório, incluindo biópsias, num total de 56945 blocos durante o ano de 2023, numa média de 226 blocos por dia. Verificamos que o equipamento processa, de forma automática e sequencial todas as amostras. Durante a fase de otimização dos protocolos foi introduzido o Isopropanol em prol do xilol, que se revelou uma reagente chave para maximizar a durabilidade e qualidade da parafina usada, bem como diminuir a retração de tecido em alguns blocos. A implantação de uma nova forma de trabalho, método e equipamento é sempre um processo difícil e que requer uma grande articulação de recursos. A equipa do laboratório evidencia níveis de satisfação elevados, sendo a opinião generalizada de que a solução implementada supera as expectativas do serviço, o que se traduz uma melhoria substancial da qualidade das amostras. Como conclusão evidenciamos

que o equipamento permite otimizar os recursos humanos e tempos de resposta do laboratório, traduzindo-se numa melhoria significativa das amostras (inclusão e qualidade de corte), assim como numa melhoria dos recursos humanos.

Palavras-chave: Processamento Histológico, Magnus, Synergy

HISTOPATOLOGIA HISTOQUÍMICA E IMUNOHISTOQUÍMICA

Comparação dos Subtipos Moleculares de Cancro da Mama em dois Grupos Etários diferentes

Bruna Duarte¹, Pedro Antunes¹, Teresa Coelho¹, Marta Gonçalves¹, Susana Vicente^{1,3}, Ana Rita Possante^{1,2}, Inês Gago-Rodrigues^{1,2}, João Furtado^{1,2,4}, Rui Raposo^{1,2}

1. Escola Superior De Saúde Da Universidade Do Algarve, Faro, Portugal; 2. Centro De Estudos Em Saúde Da Escola Superior De Saúde Da Universidade Do Algarve, Faro, Portugal; 3. Centro Hospitalar Universitário Do Algarve, Serviço De Anatomia Patológica; 4. Stem Cells Biology Laboratory, Faro, Portugal

O cancro da mama (CM) é um grave problema de saúde pública, pela alta incidência e mortalidade, sobretudo no género feminino. Em Portugal, foram diagnosticados em 2020, aproximadamente 7.000 novos casos e 1.800 mulheres morreram com esta doença. O CM nas mulheres jovens (≤ 40 anos) tende a ser mais agressivo, ou seja, grau histológico mais elevado, estado hormonal desfavorável, por consequência uma taxa de mortalidade global mais elevada comparativamente com as mulheres mais velhas (>40). Atualmente, as estratégias de tratamento dependem da caracterização do status de expressão dos recetores hormonais de estrogénio (RE) e progesterona (RP), do Ki-67 e do HER2 (Human Epidermal growth factor Receptor-type 2) ou da sua deteção genética. A avaliação destas proteínas de valor preditivo e prognóstico, permitindo subdividir este cancro em cinco grupos: Luminal A, Luminal B HER2+, Luminal B HER2-, Triplo Negativo e HER2 positivo. Métodos: Foram recolhidos dados referentes a 438 mulheres de dois grupos etários diferentes (≤ 40 anos e > 40 anos), no CHUA entre os anos de 2020 e 2022. Verificou-se uma maior prevalência em mulheres > 40 anos, comparativamente com as mulheres ≤ 40 anos (95% vs. 5%). O tipo histológico mais

frequente foi o invasivo sem tipo especial (72,36% vs. 86,36%) e observou-se uma predominância do Grau Histológico 1 (61,78% vs. 50,00%). Em relação ao estadiamento o mais prevalente foi o II (36,30% vs. 36,36%). O subtipo predominante nas mulheres mais velhas foi o Luminal A (40,47% vs. 27,27%) e nas mulheres jovens o Triplo Negativo (10,82% vs. 40,91%). Os resultados confirmaram diferenças entre os grupos da faixa etária, inclusive, a taxa do CM é mais predominante nas mulheres mais velhas. No entanto, nas mulheres jovens os cancros tendem a ser mais agressivos e com piores prognósticos.

Palavras-chave: Cancro Da Mama, Recetor De Estrogénio, Recetor De Progesterona, HER-2, Triplo Negativo

Finefix® Fixation In Histopathological Samples With Macroscopic, Histochemistry And Immunohistochemistry Assessment: A Systematic Literature Review

João Filipe¹, Mariana Silva¹, Natacha Monteiro¹, Mário Maia Matos¹ & Amadeu Borges-Ferre¹

¹.Escola Superior De Tecnologia Da Saúde De Lisboa, Instituto Politécnico De Lisboa, Lisboa, Portugal.

Fixation aims to preserve biological tissues and their components against natural degradation providing them with the necessary robustness to withstand further processing. The most used fixative is 10% Neutral Buffered Formalin (NBF), which offers some advantages over other solutions. However, it is considered a mutagenic and carcinogenic agent by the International Agency for Research on Cancer (IARC). To reduce the associated risk, other alternatives have been investigated. The working solution with FineFix® has a concentration of 70% ethanol, and, according to the patent, its additives mitigate the disadvantages associated with alcoholic fixatives. This review aims to assess the existing information regarding the fixation quality of FineFix®, considering macroscopic, histochemical, and immunohistochemical findings, to determine whether Pathology laboratories can adopt it. Articles, between the years 1990 and 2023, were selected following the PRISMA Methodology, searching the Pubmed, Google Scholar and B-On databases using the MeSH terms: "FineFix", "FineFix" AND "Fixative" OR "Fixation", crossing over in English, Portuguese, and Spanish.

After analysing the initial 1339 articles with eligibility criteria and quality control, a final total of 6 articles, dated from 2009 to 2013, was obtained. Original research articles mentioning FineFix® as an alternative fixation agent in Pathology and evaluating at least one of the parameters assessed in the review were selected. Information was analysed and collected regarding the type of

sample used, the fixation stage itself, results obtained for the studied methodologies, and strategies for analysing research results. Upon reviewing the results, it was concluded that FineFix® has the potential as an alternative fixative. However, additional studies considering the optimisation of routine protocols and techniques for this fixative are needed.

Keywords: Finefix®, Fixation, Macroscopy, Histochemistry, Immunohistochemistry

Formalin-Free Histological Fixation And Its Impact On Organs, Cells, Proteins And Nucleic Acids - A Systematic Literature Review

Keywords: Fixation, Alternative Fixatives, Formalin

Inês Lino¹, Joana Carneiro¹, Sara Viegas¹, Amadeu Borges-Ferro¹

¹. Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa, Instituto Politécnico de Lisboa, Lisboa, Portugal.

To preserve biological tissues and their components against natural degradation, a Fixation step must be used providing it with the necessary robustness to withstand further processing. 10% Neutral Buffered Formalin (NBF) is the most widely used fixative, however, this is highly toxic and carcinogenic, posing a risk to the health of professionals and the environment. This review arises from the need to find a less harmful alternative to formalin that could lead to the reduction/elimination of exposure to this reagent. To research the possibility of eliminating the use of formalin, this review aims to compare the results obtained using formalin with alternative formalin-free compounds in biological targets (e.g., organs, cells, proteins, and nucleic acids). Articles were selected following the PRISMA Methodology, searching the Pubmed and Google Scholar databases using the terms: "Formalin", "Formalin Fixation", "Fixative", "Alternative Fixatives" and "Formalin Substitutes". After analysing the initial articles with eligibility criteria and quality control, a final total of 16 articles, dated from 2004 to 2017, was obtained. Next, the 16 obtained articles were read, and relevant data for the study were systematized using identification criteria collected in tables for comparative analysis. In the literature seven formalin-free fixatives (RCL2®, Glyo-Fixx®, FineFIX®, ExcellPlus®, Boonfix®, Methacarn®, and KINFix®) were identified, and their results on the biological targets under study were generally similar to the results achieved by formalin, potentially serving as less toxic alternatives.

Natural Oils As Substitutes For Xylene In The Clearing Step Of Histological Tissue Processing: A Systematic Literature Review

Keywords: Xylene, Clearing, Alternative Oils, Histological Processing

Cátia Pinto¹, Inês Loureiro¹, Luis Bernardo¹, Paula Mendonça¹ & Amadeu Borges-Ferro¹

¹.Escola Superior De Tecnologia Da Saúde De Lisboa, Instituto Politécnico De Lisboa, Lisboa, Portugal.

Histological tissue processing involves a series of steps to prepare tissues for microscopic analysis, using various reagents, notably Xylene, a harmful and problematic substance for health and the environment. Therefore, it is relevant to explore ways to minimize this exposure. In this regard, a systematic review was conducted on the substitution of Xylene in histological processing with a clearing agent of natural origin that can perform similar functions but has lower toxicity. Articles were selected following the PRISMA Methodology, searching the Pubmed and Web of Science databases with various combinations of the keywords "xylene", "clearing", "oil" and "natural substitute". Only original articles in English between the years 1990 and 2023 that replaced Xylene with natural oils in the clearing stage were accepted. The search identified 2614 articles, of which, after applying eligibility criteria and quality control, only 7 remained. These were analysed, gathering information on the substitute oil characteristics, studied tissue types, clearing conditions, and strategies for analysing research results. All oils (Coconut, Cedar, Carrot, Rose, Palm, Pine, and Olive) showed similar or superior results to Xylene in all assessed parameters - rigidity, translucency, shrinkage, ease of sectioning and H&E staining. Based on the results, it was concluded that Olive Oil and Coconut Oil are the most suitable natural substitutes. Since the literature on the subject is scarce and there are few articles addressing this substitution, further studies are important.

Transferência de Tecidos: Uma Técnica de Apoio

Maria Manuela Novo¹

1. Serviço de Anatomia Patológica da Unidade Local de Saúde Amadora/Sintra, EPE, Lisboa, Portugal.

O trabalho laboratorial, tal como qualquer outro, nunca está isento de dificuldades ou erros. Uma das situações que mais preocupa qualquer laboratório de diagnóstico de Anatomia Patológica é a falta ou perda de material do utente para realização adequada do diagnóstico. Quando a dificuldade emerge, cabe, por vezes, ao Técnico Superior de Diagnóstico e Terapêutica resolver o problema encontrando uma solução sem prejuízo para o utente. Embora raramente utilizada no nosso serviço, a técnica da Transferência de Tecidos já ajudou a resolver questões relacionadas com a falta de tecido para diagnóstico de vários casos. Esta técnica tem vindo a ser referenciada em publicações pelo menos desde 1993 por múltiplos autores e apresentada em diversos eventos científicos e tem variadas aplicações. Pretende-se partilhar a técnica da Transferência de Tecidos como uma ferramenta útil para resolução de dificuldades técnicas relacionadas com a escassez de material biológico para análise, diagnóstico ou investigação. Protocolo: seleccionar zona de interesse na lâmina de Hematoxilina & Eosina; remover a lamela; cobrir a lâmina totalmente com meio de montagem sintético; colocar em água destilada; cortar o meio de montagem com a zona pretendida e colocar numa lâmina adesivada; colocar um peso em cima; retirar o meio de montagem; hidratar; realizar a técnica pretendida. Podem-se verificar alguns artefactos com esta técnica, no entanto, no nosso serviço, quando verificados nunca impossibilitaram o diagnóstico. A Transferência de Tecido é uma técnica demorada, porém simples, fácil de executar e importante de se conhecer para poder dar resposta a situações adversas e/ou inesperadas que por vezes acontecem no dia-a-dia do trabalho laboratorial. A partilha de técnicas é importante para a comunidade científica

promovendo o enriquecimento da prática em geral e resultando na melhoria do serviço prestado ao utente.

Palavras-chave: Transferência de Tecido; Diagnóstico; Material Escasso

MICROBIOLOGIA

Análise Comparativa de duas metodologias de PCR para a deteção e quantificação do EBV

Raquel Costa¹, Rodolfo Serra², Alexandra Mendes¹, Ana Alves¹, Célia Morais¹, João Pereira-Vaz¹, Anália Carmo¹, Lurdes Correia¹, Fernando Rodrigues²

1. Laboratório De Virologia, Serviço De Patologia Clínica, Centro Hospitalar E Universitário De Coimbra, Coimbra, Portugal; 2. Serviço De Patologia Clínica, Centro Hospitalar E Universitário De Coimbra, Coimbra, Portugal

O diagnóstico e/ou monitorização da infeção por vírus Epstein-Barr (EBV) é fundamental em indivíduos imunocomprometidos. A determinação da carga viral do EBV por diferentes metodologias de PCR pode originar variabilidade nos resultados, pois podem ser usadas sequências alvo diferentes. Os métodos de extração também podem ter implicações nos desempenhos analíticos dos ensaios. O objetivo deste trabalho foi comparar o desempenho analítico de duas metodologias de PCR em tempo real para a quantificação de DNA do EBV. Foram analisadas 114 amostras de plasma imunocomprometidos, acompanhados num centro de referência em Portugal. Compararam-se os ensaios RealStar EBV PCR Kit 1.0 e cobas EBV. O ensaio cobas EBV foi realizado no sistema automático Cobas 6800 (Roche Diagnostics). Para o ensaio RealStar EBV (altana Diagnostics), a extração dos ácidos nucleicos foi efetuada na plataforma EZ2 Connect (QIAGEN) e a amplificação e deteção do DNA alvo no CFX96 Real-Time System (Biorad). Foi observada uma concordância de 61% na deteção do DNA do EBV pelas duas metodologias. Das 45 amostras discordantes, 44 foram apenas detetadas pelo ensaio cobas EBV. Nas amostras discordantes, 78% das quantificações eram inferiores aos limites de deteção estabelecidos para os dois ensaios. Foi encontrada uma correlação de Pearson de $r=0,8$ ($t=10,8$; $P < 0,001$). A variação média de

quantificação foi de 0,626 log₁₀ U/ml. Os resultados sugerem uma correlação minimamente aceitável entre os dois ensaios, sendo que o ensaio cobas EBV apresentou uma sensibilidade superior. No entanto, não será recomendado utilizar os dois testes de modo intercambiável ou realizar comparações quantitativas entre as metodologias, podendo originar interpretações clínicas erróneas. A automatização do ensaio cobas EBV é uma contribuição significativa para a eficiência da rotina laboratorial, permitindo uma maior capacidade no processamento das amostras, redução do tempo de análise e agilidade na obtenção de resultados.

Palavras-chave: Ebv, Correlação, PCR Em Tempo Real, Cobas, Realstar

Doença Pneumocócica Invasiva – Relato De Um Caso Clínico

Anabela Rodrigues¹, Olimpia Alves¹, Maria Leite¹, Tânia Guerra¹, Ana Pinto¹, Ana Fontes¹, Eliana Costa¹

1. Unidade Local De Saude De Trás-Os-Montes E Alto Douro, Vila Real, Portugal

O *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*) é uma bactéria aeróbia e encapsulada em forma de cocos gram-positivos, pertencente à flora saprófita da orofaringe do ser humano. É a principal causa de otite média (OMA) e de pneumonia adquirida na comunidade (PAC), e a segunda causa mais importante de meningite em crianças <2 anos. O diagnóstico é realizado através do exame bacteriológico direto e cultural. O tratamento recomendado é a antibioterapia. Homem, 71 anos, antecedentes pessoais de Diabetes mellitus tipo II e Discrasia de Plasmócitos em estudo. Recorreu ao Serviço de Urgência com um quadro de febre, cefaleia, vômitos, depressão da vigília e afasia. Ao exame objetivo apresentava-se febril, taquicárdico, com rigidez da nuca, nistagmo horizontal e sinais de supuração no ouvido direito (OD). A Tomografia Computorizada (TC) crânio-encefálica excluiu um evento cerebrovascular agudo, mas detetou uma coleção inflamatória no OD. Analiticamente apresentava trombocitopenia [$60 \times 10^3/uL$ ($150-400 \times 10^3$)], PCR aumentada [$6,8 \text{ mg/dL}$ ($<0,5$)] e antigénio urinário de *S. pneumoniae* positivo. O exame bioquímico do líquido (LCR) revelou glicose diminuída [0 mg/dL ($40-76$)] e proteinorráquia [1.09 g/L ($<0,45$)]. O exame bacteriológico do LCR e das hemoculturas foi positivo para *S. pneumoniae*; o teste de sensibilidade aos antimicrobianos revelou-se multissensível. Após 8 dias de tratamento com ceftriaxona e ampicilina, o doente apresentou uma evolução favorável. Apresenta-se um caso representativo de Doença Pneumocócica Invasiva: uma Meningite Bacteriana Aguda com Bacteriémia por *S. pneumoniae*, com provável ponto de partida numa OMA. O *S. pneumoniae* é um dos principais agentes

bacterianos causadores de OMA, PAC, sépsis e meningite, tendo vindo a desenvolver resistência a múltiplos antibióticos. Dada a potencial gravidade do quadro clínico, particularmente em doentes suscetíveis e >65 anos, a vacinação reveste-se de especial importância como medida preventiva.

Palavras-chave: *Streptococcus Pneumoniae*, Meningite Pneumocócica, LCR

Parasitose Intestinal – Um Diagnóstico Laboratorial cada vez mais raro

Cláudia Freitas¹

1. Hospital Dr. Nélio Mendonça, Funchal, Portugal

As parasitoses intestinais constituem um importante problema de saúde pública em países subdesenvolvidos. Os estudos epidemiológicos das parasitoses intestinais em Portugal são escassos, no entanto no final das últimas décadas assistimos a uma diminuição do número de casos, relacionados com a melhoria das condições de higiene e sanitárias. No período de janeiro a dezembro de 2022, foram realizados 3499 exames parasitológicos das fezes, no laboratório de Patologia Clínica do Hospital Dr. Nélio Mendonça (Funchal), utilizando um dispositivo que tem como base o método de sedimentação por centrifugação de Ritchie. Dos exames parasitológicos nas fezes realizados, 3,86% obtiveram resultado positivo, sendo que o protozoário patogénico com maior prevalência foi a *Giardia lamblia* (0,57%) e o helminta foi o *Enterobius vermicularis* (0,49%). A baixa prevalência de parasitoses intestinais, na população da Região Autónoma da Madeira, deve-se ao acesso da população a água potável, a boas condições de saneamento básico, ao acesso aos serviços de saúde e à desparasitação por rotina com anti-helmínticos na idade infantil.

Palavras-chave: Parasitose, Intestinal, Protozoários, Helmintas, Região Autónoma da Madeira

Parasitose Intestinal por *Hymenolepis Nana* – Caso Clínico

Cláudia Freitas¹

1. Hospital Dr. Nélio Mendonça, Funchal, Portugal

A *Hymenolepis nana* é uma ténia anã, sendo o céstodo mais pequeno que infecta o intestino humano. O caso clínico apresentado descreve um homem de 46 anos, natural de Angola mas a residir no Funchal. Apresentava um quadro de diarreia, vómitos e dor abdominal. Foi utilizado no exame parasitológico das fezes, um dispositivo que tem como base o método de sedimentação por centrifugação de Ritchie. As amostras fecais após processadas, foram observadas ao microscópio ótico para deteção e identificação de larvas, ovos e quistos de acordo com as características morfológicas. O exame parasitológico revelou a presença de ovos característicos de *Hymenolepis nana*. Perante esta parasitose intestinal foi instituída terapêutica com praziquantel na dosagem de 25 mg/Kg em toma única.

Palavras-chave: Parasitose, Intestinal, Céstodo, Ténia, Ovos, *Hymenolepis Nana*

ONCOBIOLOGIA

Impact of CDK4/6 inhibitors-induced senescence in triple-negative breast cancer epithelial-to-mesenchymal transition

Érica B. Martins¹, Joana Martins¹, Luís Costa^{1,2}, Sandra Casimiro¹

1. Luís Costa Lab, Instituto De Medicina Molecular – João Lobo Antunes, Lisbon Medical School, Lisbon, Portugal; 2. Oncology Division, Hospital De Santa Maria – Centro Hospitalar Universitário Lisboa Norte, Lisbon, Portugal

The receptor activator of nuclear factor κ B (RANK) pathway is the key regulator of bone physiopathology and progesterone-induced breast carcinogenesis, being associated with breast cancer (BC) aggressiveness. In triple-negative breast cancer (TNBC) RANK induces epithelial-mesenchymal transition (EMT) and stemness, promoting tumorigenesis and metastasis, and RANK pathway inhibitors may have a positive impact on outcomes. Cyclin-dependent kinase 4/6 inhibitors (CDK4/6i) are used in the treatment of hormone-responsive BC and clinical trials in TNBC. We have shown that RANK pathway inhibitors can sensitize TNBC to CDK4/6i. Recent studies showed that CDK4/6i induced-senescence might enhance migration and invasion of cancer cells via senescence-associated secretory phenotype (SASP). In this work, we aimed to assess the impact of CDK4/6i±RANKLi in TNBC epithelial-to-mesenchymal transition (EMT). In our study, we used Rb-proficient TNBC cell lines MDA-MB-231 and BT-20, to assess the expression of senescence and EMT markers after treatment with CDK4/6i (palbociclib), with or without RANKLi (OPG-Fc and RANK-Fc), or after exposure to CDK4/6i-treated cells' conditioned medium (CM). SA-beta-Gal staining was used to quantify senescent cells. Data was analyzed with unpaired t-test, or one-way ANOVA, as appropriate. P-value<0.05 was considered significant. We found that therapy-induced senescence and EMT were characteristic of CDK4/6i-treated cells, being unaffected by RANK inhibitors. Alongside, the CM of

Palbociclib-treated cells was able to induce senescence and a hybrid EMT phenotype in untreated cells, which is expected to be driven by SASP components. The CM also had an impact on the migration and invasion of cancer cells. Overall, our data supports that therapy-induced senescence can induce hybrid EMT in Rb-proficient TNBC via SASP. The impact of such effect on therapy outcomes warrants further studies.

Palavras-chave: Triple Negative Breast Cancer, CDK4/6i, EMT, Senescence

Incidência e Mortalidade por Cancro do Estômago em países onde predomina a Dieta Mediterrânica

Beatriz Correia¹, Cristiana Mesquita¹, Fausta Fonseca¹, Andrea Afonso¹, Cristina Teixeira^{1,2}, [António Nogueira](#)^{1,3}

1. Escola Superior De Saúde De Bragança, Instituto Politécnico De Bragança, Bragança, Portugal; 2. Epi – Unit, Instituto De Saúde Pública Da Universidade Do Porto, Porto, Portugal; 3. Centro De Investigação De Montanha (Cimo), Instituto Politécnico De Bragança, Bragança, Portugal

Países como Portugal, Espanha, Itália, Grécia, Marrocos, Croácia e Chipre, onde se pratica uma dieta do tipo mediterrânica é expetável um baixo índice de neoplasias gástricas. Com este estudo, pretende-se analisar a incidência e a mortalidade por cancro do estômago, em países onde predomina a dieta mediterrânica. Recolheram-se dados sobre novos casos e óbitos por cancro gástrico, reportados em 2020, nos países em que predomina a dieta mediterrânica. Calculou-se a razão padronizada de incidência (RPI) e mortalidade (RPM) e o respetivo intervalo de confiança a 95% (IC95%). Dos países em estudo, Portugal apresenta valores mais elevados quer de incidência quer de mortalidade por cancro do estômago. Relativamente à incidência de cancro do estômago, verificou-se que Portugal apresenta valores significativamente superiores ao esperado com RPI decrescente com a idade, variando entre 125% (IC95%: 116-134) e 201% (IC95%: 177-226) nos homens e entre 140% (IC95%: 128-152) e 162% (IC95%: 135-192) nas mulheres. Padrão semelhante verificou-se para a mortalidade quer nos homens quer nas mulheres. Embora nestes países em estudo predomine a dieta mediterrânica, Portugal apresentou valores de incidência e mortalidade, por cancro do estômago, superiores a todos os outros países em estudo.

Palavras-chave: Cancro do Estômago, Portugal, Dieta Mediterrânica, Incidência, Mortalidade

PATOLOGIA MOLECULAR E CELULAR

The Importance Of The IDH Molecular Test In Glioma Diagnosis

Ana Sofia Lopes^{1,2}; Ana Filipa Santos^{1,3}; Catarina Pardelha¹ & Martinha Chorão¹

1. Unidade Local De Saúde De Lisboa Ocidental - Serviço De Anatomia Patológica, Lisboa, Portugal; 2. Faculdade De Ciências, Universidade De Lisboa, Lisboa, Portugal; 3. Instituto De Higiene E Medicina Tropical, Universidade Nova De Lisboa, Lisboa, Portugal

Glioma, the most prevalent type of neoplasm in the central nervous system (CNS), originates from glial cells supporting neurons in the brain, such as astrocytes, oligodendrocytes, and ependymal cells. Glioblastoma with wildtype Isocitrate dehydrogenase 1 or 2 (IDH) is particularly malignant, presenting one of the poorest overall prognoses among CNS cancer types. According to the literature, IDH mutations are also present in more than 70% of astrocytomas and oligodendrogliomas. The R132H mutation of IDH1 is the most common, accounting for more than 90% of cases, but other variants, including R132C, R132S, R132G and R132L, have also been observed. IDH2 mutations are also present in approximately 10% of WHO grade II or III gliomas. The R172K mutation of IDH2 is the most common, followed by the R172M and R172W9 mutations. Patients with mutations in IDH1/2 show a better response to chemotherapy and/or radiotherapy, compared to those with wildtype IDH genes. Following the anatomopathological diagnosis, an immunohistochemical study is performed to establish IDH status. However, the antibody used only detects the IDH1 R132H mutated form, leading to a considerable number of mutations not being identified, and thus, these tumors being erroneously classified as wildtype. Introduction of molecular techniques in our laboratory, using real time qPCR methodology, allowed us to identify all clinically relevant mutations in the IDH1/IDH2

genes, according to the latest revision of the WHO classification of CNS tumors. With this, it is possible to stratify the tumor classification and, consequently, the patient's therapeutic options and outcome.

Keywords: Glioma, Molecular, Mutation, Diagnostic

Avaliação do Status Mutacional dos Genes Mmr no Cancro do Endométrio Na população que recorre ao Centro Hospitalar Universitário Do Algarve

Joana Coelho¹; Laura Neves¹; Vitória Vilarinho¹; Susana Vicente^{1,4}; José Morera^{1,4}; Inês Gago-Rodrigues^{1,2}; João Furtado^{1,2,3}

1. Escola Superior De Saúde Da Universidade Do Algarve; 2. Centro De Estudos Em Saúde Da Escola Superior De Saúde Da Universidade Do Algarve; 3. Stem Cells Biology Laboratory (ABC-RI); 4. Centro Hospitalar Universitário Do Algarve, Serviço De Anatomia Patológica

O cancro do endométrio (CE) é o mais comum entre as neoplasias ginecológicas e representa a quinta causa de morte relacionada com o cancro no mundo. A instabilidade de microssatélites (MSI) é uma condição genómica caracterizada pela acumulação descontrolada de mutações genéticas, resultante de mutações nas linhagens germinativas dos genes envolvidos no sistema de reparação do DNA do tipo "mismatch repair" (MMR). Os genes MSH2, MSH6, MLH1 e PMS2 são afetados principalmente por essas mutações, levando à perda de função e ao desenvolvimento de instabilidade genómica (dMMR). A instabilidade de microssatélites está associada a várias formas de cancro, incluindo ginecológicos. Estudos sugerem que o fenótipo MSI-H/dMMR pode servir como um biomarcador preditivo para a terapia com inibidores de checkpoint em várias doenças malignas, incluindo CE. Métodos: Estudo observacional retrospectivo, de 132 casos de CE diagnosticados entre 2019 e 2022, no Centro Hospitalar Universitário do Algarve. Foram observadas associações entre variáveis sociodemográficas, histológicas e moleculares. Resultados: Dos 43 casos em que houve avaliação imunohistoquímica (IHQ) das quatro proteínas MMR, 76,7% apresentam expressão preservada e consequentemente uma baixa probabilidade de MSI, relativamente à perda de expressão, é mais prevalente em idades mais jovens (40%) e a

maior percentagem (23,3%) correspondia a PMS2. Observou-se um padrão mutado de p53 em 14,9%, sendo mais frequente no G3 (50%) e estando presente em co-ocorrência com o fenótipo dMMR em apenas 2 pacientes. Conclusão: Este estudo demonstrou que através do subtipo histológico, grau histológico e classificação FIGO pode-se determinar a probabilidade de um paciente ser do fenótipo MSI. Pretende-se assim contribuir, para a identificação de pacientes candidatos ao teste de linhagem germinativa MMR, de forma a favorecer um diagnóstico mais precoce e terapêutica mais direcionada.

Palavras-chave: Cancro do Endométrio, Instabilidade De Microssatélites, Dmmr, Terapêutica



COIMBRA
Convento S. Francisco

1-3 MARÇO 2024

II CONGRESSO BioMedLab

ASSOCIAÇÃO PORTUGUESA DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS LABORATORIAIS