

TRENDS IN
**Biomedical
Laboratory Sciences**

ABSTRACT BOOK

2023, Volume 1, N.º1
Supplement

**I CONGRESSO
BioMedLab**

ASSOCIAÇÃO PORTUGUESA DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS LABORATORIAIS

**10-12 MARCH 2023
Alfândega do Porto**

I Congress BioMedLab

Alfândega do Porto, 10-12 March 2023



enzifarma



MICROGENE



Palex
LUSOPALEX



master-in Vitro
master diagnóstica®



RANDOX



A.MENARINI
diagnostics



SARSTEDT

CELLAVISION



Volume 1 | Congress Supplement

I Congress BioMedLab

Alfândega do Porto, 10-12 March 2023

Contents:

Welcome Message - Congress President	1
Scientific Programme	2
Invited Speakers	3
Oral Communications	20
Posters	41

Volume 1 | Congress Supplement

I Congress BioMedLab

Alfândega do Porto, 10-12 March 2023



Fernando Mendes
Presidente do I Congresso BioMedLab

Ciências Biomédicas Laboratoriais: O todo é maior do que a soma das partes!

A Associação Portuguesa de Ciências Biomédicas Laboratoriais (BioMedLaB), imaginou, desenhou e preparou o seu primeiro congresso - I Congresso da BioMedLab.

Pretende-se que no panorama Nacional, este evento seja um marco e um fórum de partilha de conhecimentos e experiências na área das Ciências Biomédicas Laboratoriais. Os conhecimentos, competências e aptidões destes profissionais de saúde há muito que deixaram de ser estanques, funcionando como vasos comunicantes, fluindo entre as diferentes áreas do laboratório, seja na investigação, diagnóstico, tratamento, prognóstico e monitorização, com um objetivo maior, o utente/doente.

Um dos melhores exemplos desta realidade é o I Congresso da BioMedLab, que este ano (2023) no Centro de Congressos da Alfândega do Porto entre os dias 10 a 12 de março, reúne mais de 475 congressistas e 40 oradores promovendo a transferência de conhecimento e o debate em áreas de grande relevância para o utente/doente, como o cancro, a e-Heth, a investigação, a transplantação e a virologia, entre outras. Sendo igualmente um espaço de formação contínua profissional, com cursos em vários formatos, que versam matérias diversas e abrangentes às Ciências Biomédicas Laboratoriais, nomeadamente, dedicados a temas como "Ciências Forenses", "Sinergias no Estudo da Medula Óssea", "Next-Generation Sequencing", "Estratégias para Identificação de Anticorpos com Sucesso", "Curso avançado em exames citológicos extemporâneos (ROSE)" e "Controlo da Qualidade Pré-Analítico". Estas formações decorrem no primeiro dia do evento, 10 de março.

As Ciências Biomédicas Laboratoriais são um excelente exemplo da democratização do conhecimento, uma vez que permitem a estes alunos e profissionais de saúde obter conhecimento basilar que posteriormente adequa às diferentes realidades laboratoriais em que se encontram inseridos, com uma visão ampla no panorama das ciências da saúde.

A equipa multigeracional que desenvolve o projeto BioMedLab, integra licenciados em Ciências Biomédicas Laboratoriais, Análises Clínicas e Saúde Pública e Anatomia Patológica, Citológica e Tanatológica e, desta forma consegue na sua plenitude em todos os seus projetos adicionar pontos de vista distintos, que devido ao âmbito profissional em que atuam se revelam unificadores. Assim, estes profissionais de saúde, docentes, investigadores e estudantes uniram-se à volta de um objetivo único – a BioMedLab, com vontade singular de reconciliar a história e os intervenientes deste grupo profissional, em que todos são bem vindos, num projeto com comparabilidade Europeia e Internacional, afirmando inequivocamente as Ciências Biomédicas Laboratoriais no âmbito das ciências da saúde em Portugal, em que "O todo é maior do que a soma das partes".

I Congress BioMedLab
Alfândega do Porto, 10-12 March

SATURDAY 11-03-2023

- **8:30 – 9:30**
Registration
- **9:30 – 10:00**
Opening Session
- **10:00 – 11:00**
Biomedical Laboratory Sciences: Challenges for the future
- **11:00 – 11:30**
Coffee break
- **11:30 – 12:30**
Magna Conference- From research to patient:the laboratory in the integrated approach to health
- **12:30 – 14:00**
Lunch
- **14:00 – 15:00**
Scientific panel I- Cancer: Advances in Laboratory Approach
- **15:00 – 16:00**
Scientific panel II – e-Health in the laboratory: challenges of artificial intelligence
- **16:00 – 16:30**
Coffee break
- **16:30 – 17:30**
Scientific panel III – Research: From bench to diagnosis
- **17:30**
BioMedLab General Assembly
- **20:30**
Social Dinner

DOMINGO 12-03-2023

- **10:00 – 11:00**
Scientific panel III - Virology: "Virus shaping life"
- **11:00 – 11:30**
Coffee break
- **11:30 – 12:30**
Scientific panel IV- Transplantation at the center of the perfect trilogy
- **12:30 – 12:45**
Award ceremony
- **12:45 – 13:00**
Closing Session

**CURSOS
PRÉ-CONGRESSO:**

10-03-2023

- FORENSIC SCIENCES
- SYNERGIES IN BONE MARROW STUDY
- NEXT-GENERATION SEQUENCING (NGS)
- TRANSFUSION SCIENCES
- NON-GYNECOLOGICAL CYTOLOGY
- PRE-ANALYTICAL QUALITY CONTROL

I Congress BioMedLab

Alfândega do Porto, 10-12 March

AVATARS FOR PERSONALIZED MEDICINE & TUMOR-INNATE IMMUNE INTERACTIONS



Vanda Póvoa

Champalimaud Foundation, Lisbon, Portugal

With the exception of a few biomarker-driven therapies, the majority of cancer patients are treated with chemo- or radiotherapy and many times go through rounds of trial-and-error approaches to find the best treatment. One of our major goals in the Lab is to develop a sensitive and predictive test to help MDs to choose the best available therapy for each particular patient, using zebrafish Avatars. If this model proves successful, it will be possible to implement the test in the clinical practice to tailor treatments, improving efficacy rates, overall survival, patient well-being, and lowering health-care costs. The Lab also investigates the cellular and molecular interactions that occur between human tumor cells and zebrafish innate immune cells. Innate immune cells are the first line of defense of the organism against infection, damage or any other threats, and are highly abundant in the tumor microenvironment. These cells can behave as “good cops” (protecting the host against cancer) or as corrupted “bad cops” (helping the tumor). Our goal is to understand these processes and discover new innate immunomodulators to be combined with immune checkpoint blockers, to engage both arms of the immune system to fight cancer.

Keywords: Cancer, Zebrafish Avatar, innate immunity, tumor microenvironment

I Congress BioMedLab

Alfândega do Porto, 10-12 March

DIAGNÓSTICO MOLECULAR DOS VÍRUS: ALÉM COVID



Ana Constança Mendes

Unidade de Biologia Molecular, Serviço de Microbiologia, Centro Hospitalar Universitário do Porto, Porto, Portugal.
UCIBIO/REQUIMTE and Associate Laboratory i4HB - Institute for Health and Bioeconomy.

Laboratório de Microbiologia, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto, Porto, Portugal.

Desde 1989 têm sido documentadas pandemias causadas por vírus, ameaçando a saúde pública a nível global. Desde a gripe Asiática e Espanhola, ao HIV, ao ainda presente SARS-CoV-2, os vírus têm demonstrado o seu enorme potencial de morbilidade e mortalidade, ainda que outras espécies de vírus coexistam no microbioma humano com benefícios para o hospedeiro.

A fase inicial da pandemia COVID-19 trouxe ao laboratório de biologia molecular desafios inéditos, entre eles a absoluta escassez de recursos materiais, que obrigou a uma seleção criteriosa dos testes moleculares não-COVID a efetuar. Foi necessário responder à população mais suscetível, deslocando recursos para a determinação de carga viral de VIH e VHC, mas também na monitorização de CMV e BKV nos doentes sujeitos a transplantes, sem esquecer os quadros agudos, como as meningites de etiologia vírica. No decorrer dos últimos anos, sugeriram novos desafios, desde as hepatites pediátricas de origem desconhecida, onde parece existir associação com a infeção por Adenovírus, ao Mpox, um patógeno humano emergente. Recentemente assistimos a uma alteração de padrão na prevalência de vírus respiratórios sazonais, em particular o Vírus Sincicial Respiratório, quer na população pediátrica, quer em adultos.

Nos últimos três anos o diagnóstico molecular dos vírus foi dominado pelo SARS-CoV-2, quer ao nível laboratorial, quer ao nível da indústria. Numa altura em que se procura retomar a rotina laboratorial pós COVID, será interessante perceber como se otimizarão os recursos instalados, bem como a tecnologia disponível, nomeadamente NGS, no diagnóstico virológico.

Keywords: Vírus, SARS-CoV-2, VIH

I Congress BioMedLab Alfândega do Porto, 10-12 March

DIGITAL CELL MORPHOLOGY AND ITS CONTRIBUTION TO THE HEMATOLOGY LABORATORY



Daniel Gala
CellaVision

Hematology has always been one of the most manual task-based areas of the clinical diagnosis laboratory. This been said, the digitalization of the diagnosis is no longer something to dream about, it's here and it will change the way we diagnose patients. It is well known and established the importance of the blood smear when it comes to a patients diagnose, and the traditional microscopy is still the gold-standard regarding morphology diagnosis. This presentation will dive into the hematology lab workflow, identifying the limitations of the traditional microscopy and how digital morphology can positively impact the diagnosis outcome. Insight of the technology used, principles of operation and how Artificial Neural Networks can pre-classify cells, structures and events when reviewing a blood smear are at the core of enhancing the future of the microscopy. Overlooking the benefits provided by the digital morphology technology and how it impacts the diagnosis through standardization, rare event detection and consultation with peers, the potential of digital morphology becomes clear. The impact of digital morphology in the laboratory workflow is proven to be both time and cost saving. The reduction of sample review time, improved TAT and reduction of false negatives can be laid out using clinical cases. Digital Morphology already revolutionized hematology lab, but there as still several future application areas to look into the near future.

Keywords: digital morphology, hematology, microscopy

I Congress BioMedLab **Alfândega do Porto, 10-12 March**

DIGITAL PATHOLOGY AS AN ALLY FOR EFFICIENCY, SAFETY AND QUALITY IN THE LABORATORY



Mónica Curado

Institute of Pathology and Molecular Immunology at the University of Porto (Ipatimup), Porto, Portugal

Digital pathology using whole slide images (WSIs) for diagnosis is becoming a fundamental subject in pathology with recent developments such as the rapid growth of related technologies. There are several challenges in the usage of artificial intelligence algorithms in a laboratory workflow, with the baseline quality of WSI being preponderant to obtaining reliable results.

The quality of the WSIs depends primarily on the quality of the glass slides produced by the pathology laboratory, where the technician plays a tremendous important role.

In this presentation I will share our experience, demonstrating that careful planning and adoption of simple measures related to sample management when implementing a digital pathology workflow, can be adopted by any pathology laboratory in all areas, to achieve higher efficiency, safety, and quality.

I will also stress the value of the technician, as a center piece in this journey, and provide some tips to achieve superior glass slides capable of being scanned for primary diagnosis in a fully digital laboratory setting.

Keywords: Digital pathology, Whole slide images, Digital workflow, Quality

I Congress BioMedLab

Alfândega do Porto, 10-12 March

FERRAMENTAS PARA UM DIAGNÓSTICO DE PRECISÃO EM PATOLOGIA ONCOLÓGICA



Paula Fonseca

Centro Hospitalar Universitário do Porto, Porto, Portugal.

Os 30 anos como TSDT de Anatomia Patológica permitiram-me assistir à evolução desta área, que tem cada vez mais um papel de extrema importância no diagnóstico, prognóstico, orientação terapêutica e monitorização do cancro, tendo sempre em vista o doente. Ao longo destes anos fomos assistindo à introdução progressiva de novos procedimentos e tecnologias, sempre com vista a uma resposta cada vez mais personalizada.

Para além da imunohistoquímica e do FISH, assistimos mais recentemente à introdução da sequenciação de nova geração (NGS) que tem vindo a mudar profundamente a prática laboratorial. Toda esta inovação tecnológica obrigou os laboratórios a terem ainda mais atenção às variáveis pré-analíticas, nomeadamente o tempo de isquemia fria, o tempo de fixação, a descalcificação e o processamento, visto serem fatores que interferem na qualidade do DNA e RNA, influenciando a precisão e a confiabilidade dos resultados, particularmente do NGS, sendo fundamental a sua otimização.

O presente e o futuro focam-se cada vez mais no tratamento, com base na presença ou ausência de determinados biomarcadores.

Keywords: NGS, Biomarcadores, Imunohistoquímica, FISH

I Congress BioMedLab **Alfândega do Porto, 10-12 March**

FROM SCIENTIFIC ADVANCEMENTS TO CLINICAL APPLICATION: THE PARADIGM OF ALZHEIMER'S DISEASE



Catarina Resende Oliveira
Faculty of Medicine, University of Coimbra
Agência para a Investigação Clínica e Inovação Biomédica (AICIB), Portugal

The translation of basic science discoveries into a new drug, a device or other intervention that helps to foster human health and wellbeing is a complex process which requires the involvement of multidisciplinary teams, facilitating the emergence of novel concepts and approaches in a bidirectional continuum. Despite the advances in biology leading to a better understanding of the molecular pathogenesis of disease, translation of basic biomedical results into biomarkers that allow early diagnosis and stratification of patient populations, are challenging key factors to the success of clinical trials. In this study we focus on Alzheimer's disease, a brain disorder with a complex pathobiology, in which the extracellular accumulation of amyloid B peptides as senile plaques in the brain, and the intraneuronal accumulation of hyperphosphorylated tau protein as neurofibrillary tangles, are hallmarks of disease. CSF and blood biochemical tests and brain imaging methodologies for the analysis of these disease biomarkers have been developed, leading to a more accurate diagnosis and targeted therapeutical approaches in early phases of the disease. Although a better patients' characterization can be achieved, most clinical trials have failed to demonstrate benefits. The opportunity for developing future disease-modifying therapeutical strategies based on advances in the understanding of Alzheimer's disease pathobiology, is discussed.

Keywords: Translational research, Biomarkers, Therapeutical strategies

I Congress BioMedLab **Alfândega do Porto, 10-12 March**

HLA E TRANSPLANTAÇÃO



Manuel Dias
Instituto Português do Sangue e da Transplantação

Os primeiros trabalhos que fazem referência a antígenos leucocitários humanos foram publicados em 1958 por Jean Dausset, Jon Van Rood e Rose Payne (e colaboradores) e estabeleceram as bases do que, mais tarde, foi denominado como sistema HLA, elemento constitutivo do sistema imune. A comunidade científica rapidamente se apercebeu das interrogações que se colocavam: a relação entre os diferentes antígenos leucocitários identificados, os polimorfismos e a sua base genética. Assim, promoveram “workshops” onde punham em prática as suas experiências para comparar reagentes, metodologias e resultados. No III International Histocompatibility Workshop (IHWS) (Itália, 1967) já vários investigadores utilizaram a técnica de microcitotoxicidade, desenvolvida por Paul Terasaki, mais rápida e fiável, que se veio a tornar padrão para a tipagem serológica dos antígenos HLA. O tópico principal do VII IHWS (UK, 1977) foi a confirmação da existência de, para além de determinantes antigénicos definidos serologicamente, antígenos definidos pelos linfócitos, já identificados e descritos anteriormente através da cultura de linfócitos de dois indivíduos distintos (Mixed Lymphocyte Culture - MLC) que se tornou num teste particularmente importante no transplante de células progenitoras hematopoiéticas. Os primeiros dados que relacionam o sucesso do transplante renal e a compatibilidade HLA foram descritos bem cedo, considerando o transplante entre irmãos HLA idênticos como os de melhor prognóstico. A tipagem HLA para obter as melhores compatibilidades tornou-se procedimento comum no transplante de doadores vivos e também se estendeu ao dador cadáver. Trinta anos depois do primeiro IHWS, no XI, as metodologias de Biologia Molecular instalaram-se no laboratório de histocompatibilidade e mais sentido passaram a fazer as palavras de Jean Dausset: “numa perspectiva a longo prazo, o estudo dos antígenos leucocitários pode vir a tornar-se da maior importância na transplantação de tecidos, em particular na transplantação de medula”.

Keywords: HLA

I Congress BioMedLab Alfândega do Porto, 10-12 March

HPV-INDUCED CANCERS



Gabriella Lillsunde Larsson

School of Health Sciences, Örebro University, Örebro, Sweden.

Department of Laboratory Medicine, Faculty of Medicine and Health, Örebro University, Örebro, Sweden.

The global cancer incidence increases every year. A substantial amount of cancer cases are caused by infectious agents such as the human papillomavirus (HPV). HPV-induced cancers are a global health concern despite the fact that there are vaccines preventing the virus and thereby potential cancer development. More than 500 000 women were diagnosed with and over 300 000 died of cervical cancer in 2018, but HPV can also give rise to cancer in other anogenital areas and in the head- and neck region.

Cervical cancer can be prevented by screening and the knowledge that HPV causes the disease has led to a shift in screening approaches where HPV can be used as primary screening. However, since HPV is a relatively common gynaecological infection, triage testing of women positive for HPV that are in risk for cervical disease is needed. A sample for HPV testing can also be taken by the woman herself and this can lead to increased participation in screening programs but may also lead to new triage test alternatives.

Keywords: Human Papillomavirus Viruses, Neoplasms, Molecular Diagnostic Techniques

I Congress BioMedLab Alfândega do Porto, 10-12 March

INTELIGÊNCIA ARTIFICIAL NO DIAGNÓSTICO ANÁTOMO-PATOLÓGICO: PRINCÍPIOS, APLICAÇÕES E LIMITAÇÕES



António Polónia
Ipatimup, Porto, Portugal
I3S, Porto, Portugal

A aprovação de sistemas de patologia digital pela FDA promoveu a sua recente implementação nos laboratórios de Anatomia Patológica. Uma das grandes vantagens inclui a criação e aplicação de ferramentas de análise de imagem de suporte ao diagnóstico, com o objectivo de acelerar o processo do diagnóstico, bem como aumentar a sua acuidade.

A aplicação da inteligência artificial (IA) em análise de imagem surge como a mais recente e promissora ferramenta na Anatomia Patológica prometendo revolucionar o diagnóstico médico. Nesta sessão serão abordados os princípios básicos de inteligência artificial usados na análise de imagens em Anatomia Patológica, assim como as aplicações mais recentemente aprovadas. Por fim, discutir-se-ão as suas utilidades na prática clínica bem como as suas limitações.

Keywords: artificial intelligence, surgical pathology

I Congress BioMedLab Alfândega do Porto, 10-12 March

O CONHECIMENTO COMO PILAR DA DEMOCRACIA



Alexandre Quintanilha

Doutorou-se em física, estudou o stress oxidativo nos seres vivos e interessa-se pela forma como lidamos com o risco. Criou e ajudou a criar vários institutos de investigação e vários programas doutorais em Berkeley e no Porto, sempre multidisciplinares. Hoje, como parlamentar, espera contribuir para uma política baseada no conhecimento.

Os desafios que enfrentamos nos diferentes domínios da Biomedicina são enormes. Mas os avanços também têm sido surpreendentes. Será sobre estes dois tópicos que vou concentrar a minha intervenção.

Keywords: Biomedicina, Conhecimento, Democracia

I Congress BioMedLab Alfândega do Porto, 10-12 March

O LABORATÓRIO NA TRANSPLANTAÇÃO | RIM, FÍGADO E CORAÇÃO



Ilda Simões

Serviço de Anatomia Patológica - Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, Coimbra, Portugal;
Escola Superior das Tecnologias de Saúde de Coimbra, Coimbra, Portugal.

A integração da Anatomia Patológica na transplantação, no CHUC, teve início em 1992, com o primeiro transplante de fígado. Desde então essa colaboração tem sido contínua, sendo integrado o transplante renal, pouco tempo depois.

O apoio á transplantação assenta em duas vertentes: o Pré-transplante e o Pós-transplante. No primeiro caso existe a necessidade de avaliar histologicamente, se o órgão do dador é viável para transplantar. No rim, este procedimento é obrigatório, nos dadores com critérios expandidos (mais de 60 anos, portadores de doenças que comprometam a boa função renal, como a Diabetes, Hipertensão Arterial, Creatinemia). Essa avaliação é feita através de um processamento rápido da biópsia renal, pelo TSDT, findo o qual o Anatomopatologista avalia a viabilidade do órgão, pelo Score de Remuzzi (Lesão vascular, Fibrose intersticial, Esclerose glomerular e Atrofia tubular). Relativamente ao fígado, a intervenção anatomopatológica faz-se apenas quando o órgão é macroscopicamente suspeito, ou se os resultados analíticos da função hepática levantarem algumas dúvidas. Assim, é realizado um exame extemporâneo de congelação, de um pequeno fragmento e rapidamente temos a indicação da viabilidade/inviabilidade para transplante.

No pós-transplante, os recetores são monitorizados periodicamente, através da realização de biópsias, para avaliar o bom funcionamento do enxerto e se existe rejeição. Nesta vertente inclui-se também o transplante cardíaco. O estudo histológico dessas biópsias, consiste no processamento e coloração, por métodos histoquímicos e/ou imunohistoquímicos, cujo objetivo é um correto diagnóstico anatomopatológico, que permita atuar rapidamente, quando se conclui que o enxerto não está a funcionar corretamente.

Keywords: transplante, dador, fígado, rim, anatomopatológico

I Congress BioMedLab **Alfândega do Porto, 10-12 March**

PATHOLOGY IN THE FRONTLINE OF DELIVERING PRECISION CANCER MEDICINE



Rui Henrique

Portuguese Oncology Institute of Porto & Porto Comprehensive Cancer Centre (Porto.CCC), Department of Pathology and Cancer Biology & Epigenetics Group – Research Center/RISE@CI-IPOP (Health Research Network), Rua Dr. António Bernardino de Almeida, 4200-072 Porto, Portugal;
University of Porto, School of Medicine and Biomedical Sciences (ICBAS), Department of Pathology and Molecular Immunology, Rua de Jorge Viterbo Ferreira, 228, 4050-313 Porto, Portugal.

Cancer is and will remain a leading public health burden over the next decades, owing to population aging and exposure to carcinogens, that will continue to boost incidence. Primary prevention is deemed critical to decrease cancer burden, but results from this intervention take decades to become apparent and require major changes in society's attitude towards factors that negatively impact on human health. Thus, early diagnosis coupled with appropriate therapy will continue to be the mainstays for effectively fighting cancer, reducing its associated mortality and morbidity. Nonetheless, the ever-increasing costs in healthcare, mostly related to innovative diagnostic technologies and therapeutics, allied to the growing awareness about quality of life, entail the need for development of more accurate strategies, targeting a specific tumor in a specific host. In this context, Precision Medicine applied to Cancer (i.e., Precision Oncology) holds the promise to deliver cancer- and patient-tailored diagnostics and therapeutics, reducing unwanted side effects, decreasing costs, and increasing patients' satisfaction. In this presentation, I will address some of the current promises, challenges, and caveats of Precision Oncology and how Pathology is decisively contributing to this end.

Keywords: Cancer, Diagnosis, Precision Cancer Medicine, Pathology

I Congress BioMedLab Alfândega do Porto, 10-12 March

STIMULATING MUCUS PRODUCTION IN THE STOMACH DECREASES THE DENSITY OF HELICOBACTER PYLORI



Licinia Santos

Department of Medical Biochemistry and Cell Biology, Institute of Biomedicine, Sahlgrenska Academy, University of Gothenburg, Gothenburg, Sweden

Helicobacter pylori is prone to develop antibiotic resistance making treatment with these problematic. The pathogen can be detected attached to the gastric epithelial cells; however, it's mostly found within the gastric mucus layer. Mucin binding to *H. pylori* helps in removing the pathogen from the gastric niche. Therefore, we aim to reduce *H. pylori* density by increasing mucus production in the stomach.

C57BL/6 mice were infected with SS1 and treated with agents that potentially affect mucin production in a direct or indirect way. At 14 days post-infection the stomachs were collected for histopathological analysis, evaluation of mucin production and transport with a metabolic label (an azide-modified galactosamine, GalNAz) and *H. pylori* density assessment by fluorescence in situ hybridization. From the agents used, Rebamipide, Roxatidine, (R)- α -methylhistamine and Interleukine-4 had protective effect by preserving the oxyntic mucosa and overall tissue morphology of infected mice. Moreover, these agents stimulated the production and transport of the newly synthesized mucins in the mucus-producing cells resulting in a lower bacterial density compared to their non-treated infected counterparts.

In conclusion, agents that stimulate mucin production in the gastric mucosa can aid in the removal of pathogens from the gastric niche while preserving the oxyntic mucosa. Such agents could be considered antibiotic-free alternatives to counterattack *H. pylori* infection; however, further investigation is still needed to identify more potent treatment regimens or agents.

Keywords: *Helicobacter pylori*, stomach, mucus, mucins

I Congress BioMedLab

Alfândega do Porto, 10-12 March

THE IMPORTANCE OF CHIMERISM ANALYSIS IN THE FOLLOW-UP OF ACUTE LEUKAEMIAS AFTER ALLOGENEIC HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION



Carla Serra

Serviço de Patologia Clínica do Instituto Português de Oncologia FG, EPE-Porto, Porto, Portugal;
Escola Superior de Saúde do Porto, Instituto Politécnico do Porto, Porto, Portugal.

In developed countries, neoplastic pathologies are considered the second leading cause of death worldwide and are responsible for the current high morbidity rate. According to the WHO, it is estimated that in 2030 the worldwide incidence of leukaemia will be 561000 cases, with an associated mortality of 383000 cases.

Acute leukaemia is a biologically aggressive disease, and a significant number of these adverse-risk patients will relapse after allo-HSCT and face a shortened overall survival. Given the lack of effective salvage therapies for relapsed leukaemia, strategies are required to identify patients at high risk of relapse, which may allow the initiation of pre-emptive therapy to prevent relapse. These biomarkers should be reproducible, highly sensitive, and specific for disease relapse and validated in independent cohorts. In HSCT, chimerism refers to the presence of hematopoietic cells of donor origin after allogeneic transplantation. Chimerism monitoring is vital to determine the engraftment of the infused donor stem cells and to monitor disease relapse after allo-HSCT in patients with leukaemia.

After allogeneic transplantation, chimerism is a dynamic process affected by pre-transplant factors and the intensity of post-transplant immunosuppressive treatment. Post-allo-HSCT chimerism determination results from the interaction of all these factors.

The reference method for monitoring chimerism of allo-HSCT patients is based on the amplification of highly polymorphic DNA sequences. This method determines the type of chimerism and the percentage of donor and recipient cells allowing regular and accurate monitoring after allo-HSCT, which is essential in the control of rejection.

Keywords: Chimerism, leukaemia, allo-HSCT, relapse, biomarkers

I Congress BioMedLab Alfândega do Porto, 10-12 March

TRANSPLANTE DE PROGENITORES HEMATOPOIÉTICOS E TERAPIAS CELULARES AVANÇADAS



João Forjaz de Lacerda
Hospital de Santa Maria
Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa
Instituto de Medicina Molecular João Lobo Antunes

O transplante de progenitores hematopoiéticos (TPH) é uma forma de terapia celular alogénica bem estabelecida no tratamento de doenças hematológicas graves, malignas e não malignas. No primeiro caso, o enxerto exerce um efeito imunológico importante no combate à doença oncológica e este é um dos principais motivos para esta indicação terapêutica. Em paralelo, surgiram na última década novas formas de terapêuticas celulares que cedo se estabeleceram como standard. As células T CAR são terapias celulares personalizadas em que um receptor quimérico é introduzido em células T, constituído por um domínio extra-celular semelhante ao receptor de células B, com reconhecimento antigénico simplificado independente da compatibilidade HLA, e o domínio intra-celular do receptor de células T. Esta tecnologia tem sido maioritariamente utilizada em neoplasias linfóides de imunofenótipo B. Em paralelo, a utilização de inibidores de checkpoint permitem o desbloqueio da resposta imunológica T contra neoplasias com elevado nível mutacional e, em consequência, muito visíveis para o sistema imune. Esta tecnologia tem sido muito utilizada em neoplasias sólidas.

I Congress BioMedLab

Alfândega do Porto, 10-12 March

VIRUS SHAPING LIFE: FROM DARWIN TO HUMAN BIOLOGY AND THE HISTORY OF CIVILIZATIONS



Rui Medeiros

Molecular Oncology and Viral Pathology Group, Research Center of IPO Porto (CI-IPOP)/ Pathology and Laboratory Medicine Dep., Clinical Pathology SV/ RISE@CI-IPOP (Health Research Network), Portuguese Oncology Institute of Porto (IPO Porto)/Porto Comprehensive Cancer Center (Porto.CCC), 4200-072, Porto, Portugal.

The extraordinary increase of knowledge on virus, their structure and mechanisms of interaction with eucariotic cells, can lead to an updated understanding of their impact on human biology. In addition, the viral influence on the etiology and the natural history of diseases has led to new therapeutic or prevention strategies as in the case of vaccination. Furthermore, new hypothesis have been draft on viral associated diseases and their impact on the History of civilizations.

ORAL COMMUNICATIONS

Alteração da Expressão Fenotípica no Sistema ABO

Leonardo Fonseca*¹ & António Aleixo Martins^{1,2}

1-Escola Superior de Saúde Dr. Lopes Dias, Instituto Politécnico de Castelo Branco, Castelo Branco, Portugal;
2- Centro Hospitalar Universitário de Coimbra, Coimbra, Portugal

A importância do sistema ABO no contexto transfusional e transplante, é irrevogável. Estes antigénios expressam-se nos eritrócitos desde a nascença, e os anticorpos, surgem naturalmente a partir dos 4-6 meses. Implicando uma necessária compatibilidade de grupos na hora de selecionar dadas sanguíneas ou órgãos.

A génese destes antigénios depende da transcrição de determinados genes, que codificam enzimas responsáveis pela formação do substrato H, e dos antigénios H, A e B. Estes antigénios têm a particularidade de ser impossível existir um antigénio A ou B, sem existir o antigénio H, assim como a formação do antigénio H sem que exista o substrato H, independentemente de existir informação codificadora.

A epigenética é uma área de estudo recente, e em grande expansão, que tem vindo a desvendar novos métodos de controle do código genético, que ocorrem de forma natural, mas que também ocorrem devido à exposição de agentes externos ou alterações do organismo.

O surgimento de diversas neoplasias, espelham o aumento da exposição a agentes que proporcionam estes episódios epigenéticos, sendo tais patologias também desencadeadores. As alterações neoplásicas podem levar a alterações epigenéticas nas transferases que codificam os antigénios A e/ou B. Estas alterações na expressão antigénica, podem ser prognósticas de maior potencial metastático ou de evolução para mielodisplasia.

O aumento destes casos faz surgir episódios de alterações imprevisíveis em indivíduos. É exemplo o caso clínico deste póster, onde um indivíduo diagnosticado com um oligodendroglioma, do grupo AB, tornou-se do grupo B, com formação de anticorpos anti-A, sem ser submetido a um alotransplante.

Keywords: Metilação, ABO, Antigénios

Análise de Gânglios Sentinela em Cancro da mama: O Papel do Ensaio OSNA® na Caracterização das Micrometástases e Macrometástases

Catarina Teixeira*¹, Filipa Q Vieira^{2,3}, Marta Santos⁴, José Frutuoso^{2,4} & Regina A Silva^{2,3}

1-Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto (ESS|P.PORTO), Porto, Portugal; 2-Área Técnico-Científica de Anatomia Patológica, Citológica e Tanatológica, ESS|P.PORTO, Porto, Portugal; 3- Centro de Investigação em Saúde e Ambiente, ESS|P.PORTO, Porto, Portugal; 4- Serviço de Anatomia Patológica, Hospital Pedro Hispano, Unidade Local de Saúde de Matosinhos, Matosinhos, Portugal

Em 2020, o cancro da mama foi o tumor maligno com maior incidência mundial e o segundo mais letal. O estado do gânglio axilar é um indicador chave no prognóstico deste tipo de cancro, sendo os métodos comumente utilizados para estudar o gânglio sentinela durante um exame extemporâneo o imprint ou corte de congelação. O ensaio OSNA® tem surgido como um método molecular mais sensível na pesquisa de metástases classificando-as micrometástases ou macrometástases. Este ensaio permite auxiliar a decisão terapêutica de realizar ou não o esvaziamento ganglionar axilar, com o objetivo de diminuir a morbilidade associada.

O principal objetivo deste trabalho foi conhecer a realidade dos casos em que se realizou OSNA® no Hospital Pedro Hispano. Para tal, foi feita uma avaliação retrospectiva comparando os resultados obtidos no ensaio de OSNA® com as técnicas convencionais de avaliação de gânglios sentinela e

avaliadas possíveis associações entre os resultados obtidos e parâmetros clinicopatológicos.

Um total de 79 pacientes com metástases no gânglio sentinela detetadas pelo OSNA® foram incluídas no estudo. A análise permitiu confirmar que o OSNA® é uma metodologia mais sensível na deteção de metástases ganglionares quando comparada à técnica convencional, principalmente para a deteção de micrometástases. No entanto, não se verificou nenhum padrão que determinasse um perfil característico do tipo de metastização do gânglio sentinela pelo OSNA®.

Um estudo futuro que integre todas as pacientes com cancro da mama que realizaram o ensaio molecular OSNA® permitirá compreender melhor os perfis clínicos e anatomopatológicos dos tumores associando ao resultado do OSNA®.

Palavras-chave: Breast Neoplasms, Keratin-19, Neoplasm Micrometastasis, Neoplasm Metastasis, Sentinel Lymph Node

Antimicrobial activity of *Vigna Unguiculata* root extracts

Ana Sofia Dias^{1*}, Madalena Soares², Alexandra Camelo³, Inês Brandão³, Christophe Espírito Santo³, Francisco Rodrigues⁴

1. Instituto Politécnico de Castelo Branco, Escola Superior de Saúde Dr. Lopes Dias; Castelo Branco; Portugal 2. Universidade da Beira Interior; Covilhã; Portugal 3. CATAA - Centro de Apoio Tecnológico Agro Alimentar; Castelo Branco; Portugal 4. Instituto Politécnico de Castelo Branco, Escola Superior de Saúde Dr. Lopes Dias, UID QRural; Castelo Branco; Portugal

*A wide variety of microorganisms are responsible for food spoilage, causing a negative impact on nutritional and economic value. The infections that may result from this deterioration represent a serious public health problem. Natural extracts to prevent and combat pathogenic agents in food have been studied as possible effective, safe and natural alternatives for application in the food industry. In this study, the antimicrobial activity of cowpea root (*Vigna Unguiculata*) was evaluated. This legume stands out for resisting extreme conditions, such as drought or infertile soils. It is also a nitrogen fixing crop, contributing to the enrichment of the soil. These characteristics make cowpea a resource of interest for the future, which should be explored in different ways.*

*Aqueous and ethanolic extracts of cowpea root were prepared and their antimicrobial activity was evaluated using the disk-diffusion method in agar for different microorganisms, *Staphylococcus aureus*, *Listeria monocytogenes* and *Pseudomonas**

*aeruginosa. Both the aqueous extract and the ethanolic extract of cowpea root showed some antimicrobial activity. This is the first report on the inhibitory effect of *Vigna Unguiculata* root extracts on the growth of the aforementioned pathogens. The results are consistent with a previous study that revealed the presence of proteins with antimicrobial activity in cowpea root exudates.*

Keywords: foodspoilage, plant extracts, antimicrobial activity

Association of KIR polymorphism, epigenetic regulation by microRNAs, gene expression and repertoire on Natural Killer cells in Chronic Myeloid Leukemia patients treated with Tyrosine Kinase Inhibitors

Paulo Rodrigues-Santos^{1,2,3,4,5,6*}, Patrícia Couceiro^{1,3,4}, Sónia Oliveira¹, Jani Sofia Almeida^{1,2,3,4,5,6}, Lenka Růžičková⁷, Paulo Freitas-Tavares⁷, Manuel Santos-Rosa^{2,3,4,5,6}

1. CNC - Laboratory of Immunology and Oncology, Center of Neurosciences and Cell Biology, University of Coimbra, Coimbra, Portugal; 2. FMUC - Institute of Immunology, Faculty of Medicine, University of Coimbra, Coimbra, Portugal; 3. CIMAGO - Center for Research in Environment and Oncobiology, Faculty of Medicine, University of Coimbra, Coimbra, Portugal; 4. iCBR - Institute of Clinical and Biomedical Research of Coimbra, Faculty of Medicine, University of Coimbra, Coimbra, Portugal; 5. CIBB - Center for Innovation in Biomedicine and Biotechnology, University of Coimbra, Coimbra, Portugal; 6. CAC - Clinical Academic Center of Coimbra, Coimbra, Portugal; 7. CHUC - Hematology Service, Coimbra Hospital and University Centre, Coimbra, Portugal;

Because the recognition of HLA molecules by Killer Immunoglobulin-like Receptors (KIR) modulates Natural Killer (NK) cells, and also because these cells are important for attacking tumors, variation in KIR and HLA have been thought to intensely interfere with the risk of developing cancer. This

study aimed at the analysis of KIR and NK cells in CML during tyrosine kinase inhibitor (TKI) therapy and its correlation with therapy response. Chronic phase CML patients (n=60) and matched healthy controls (n=53) were included in this study. KIR genotyping was performed by xMAP (Luminex®) and copy number variation and gene expression was analyzed by RT-qPCR. Multiparametric flow cytometry was used for the analysis of the expression of KIR by NK cells and NK cell mediated killing of K562 cell line. A panel of 846 miRNA was analyzed by RT-qPCR. KIR2DS1 in the absence of HLA-C2 ligand was found protective to CML. Expression of KIR2DL1 and KIR2DS1 by CML patients NK cells was found significantly decreased. KIR2DS3 was found to be associated with low Sokal score risk as also to major molecular response (MMR) to TKI therapy. Analysis of miRNAs of peripheral blood from CML patients suggests regulation of KIR2DL1/2 by miR-181d, miR-34 and miR-373, as well as of KIR2DS1 by miR-378, miR-635, miR-24 and miR-549. Our data suggests that KIR polymorphism and expression on NK cells could play a role in CML susceptibility and response to TKI therapy in CML.

Keywords: chronic myeloid leukemia, tyrosine kinase inhibitors, killer immunoglobulin-like receptors, epigenetics, gene expression

Biomarkers combined with PD-L1: A better clinical decision in Non-Small Cell Lung Cancer

Mariana Freire¹, Diana Martins^{1,2,3,4,5}, Maria Filomena Botelho^{3,4,5}, Fernando Mendes^{*1,2,3,4,5,6}

1-Politécnico de Coimbra, ESTeSC, UCPCBL, Coimbra, Portugal; 2-Laboratório de Investigação em Ciências Aplicadas à Saúde (LabinSaúde), Politécnico de Coimbra, ESTeSC, Coimbra, Portugal; 3- Coimbra Institute for Clinical and Biomedical Research (iCBR) Area of Environment Genetics and Oncobiology (CIMAGO), Biophysics Institute of Faculty of Medicine, University of Coimbra, Coimbra, Portugal; 4- Center for Innovative Biomedicine and Biotechnology (CIBB), University of Coimbra, Coimbra, Portugal; 5- Clinical Academic Center of Coimbra (CACC), Coimbra, Portugal; 6- European Association for Professions in Biomedical Sciences, Brussels, Belgium.

The use of immune checkpoint inhibitors (ICI) mainly PD1 and PD-L1, has become one of the most promising approaches in the field of cancer therapy, including non-small cell lung cancer (NSCLC). However, several challenges were described, such as a small percentage of the beneficiary population, primary and acquired resistance and the lack of predictive and prognostic biomarkers. Our aim was to identify possible biomarkers associated with immunotherapy response in NSCLC, suggesting new treatment options to improve NSCLC

outcomes. We conducted a search on the PubMed database. English language, Free-full text articles were primarily established and all manuscripts off the subject were excluded. The quality of the evidence was assessed with the ROBVIS risk of bias tool. This systematic review is registered at the International Platform of Registered Systematic Review and Meta-analysis Protocols. Of the 588 records, data for qualitative synthesis 26 studies were eligible. High expression of tumor mutational burden was correlated with longer median overall survival and progression-free survival. Harboring certain types of mutations showed worse ICI outcomes and assessment of CTC and ctDNA revealed a crucial impact on patients stratification for immunotherapy. An exploration of the underlying mechanisms of PD-1/PD-L1 blockade therapy and biomarkers identification will maximize the application of ICI in NSCLC, suggesting that tumor mutational burden, mutation profile and liquid biopsies are promising complementary biomarkers.

Keywords: NSCLC; Immunotherapy; Resistance; Biomarkers; Liquid Biopsy.

Casuística Virus Monkeypox no CHUSJ

Silvia Conde*¹, Ana Marques¹, Bárbara Lima¹, Emanuel Prata¹, Patrícia Jejundo¹, Patrícia Vieira¹, Sara Rocha¹, Sérgio Teixeira¹ & Sandra Rebelo^{2,3,4}

¹ Serviço de Patologia Clínica, Laboratório Biopatologia Molecular, Centro Hospitalar Universitário de São João (CHUSJ), Porto, Portugal, ² Serviço de Patologia Clínica, Laboratório Biopatologia Molecular, CHUSJ, Porto, Portugal, ³ Departamento de Biomedicina, Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Porto, Portugal, ⁴ I3S, Universidade do Porto, Porto, Portugal

O vírus Monkeypox, descoberto em 1958, da família Poxviridae e do género Orthopoxvirus é responsável pela doença zoonótica designada com o mesmo nome. Esta doença teve, em 2022, particular ênfase devido ao aumento do número de casos a nível mundial, sendo declarada emergência de saúde pública mundial pela OMS. Os principais sintomas são febre, cefaleias, mialgias e aparecimento progressivo de lesões que atingem a pele e mucosas. O período infeccioso oscila entre duas a quatro semanas e o tratamento, na maioria dos casos, é de suporte. Existe uma vacina de terceira geração contra a varíola disponível, sendo elegíveis os grupos de

risco e pessoas com contacto próximo com caso confirmado. Para o diagnóstico laboratorial, a DGS preconizou a colheita de exsudado de lesões cutâneas, orofaringe e ano-genital (se justificável) para a identificação molecular. Em meados de Maio de 2022, o Laboratório de Biopatologia Molecular do Serviço de Patologia Clínica do CHUSJ, iniciou o diagnóstico molecular deste vírus em paralelo com o INSA. Para tal foi elaborado um protocolo de identificação molecular usando PCR em tempo real. O presente estudo pretende fazer uma descrição dos principais resultados, tendo como base uma amostra de 104 indivíduos, com idades compreendidas entre 17-75 anos, que recorreram ao Serviço de Urgência ou Consulta de Doenças Infecciosas entre Maio e Dezembro de 2022. A infeção foi diagnosticada maioritariamente em indivíduos do sexo masculino (63%), havendo apenas um resultado positivo numa mulher jovem. O total de casos positivos foi de 57.7%. O diagnóstico molecular revelou-se fundamental para a contenção do surto e exclusão de outras etiologias de interesse para a Saúde Pública.

Keywords: Monkeypox, diagnóstico molecular, lesões cutâneas

Controlos de Imunocitoquímica em amostras citológicas: implementação de boas práticas

Rita Fagulha^{1*}; Rúben Roque^{1,2}; Carla Pinheiro¹; Vanessa Tavares¹; Teresa Pereira¹; Irena Kirbis³; Saudade André¹

1-Anatomic Pathology Department, Portuguese Oncology Institute – Lisbon Centre, Lisbon, Portugal; 2- Lisbon School of Health Technology, IPL – Politécnico de Lisboa, 1990-096 Lisbon, Portugal.3- Institute of Pathology, Faculty of Medicine, University of Ljubljana, Korytkova 2, 1000 Ljubljana, Slovenia

A utilização de controlos com condições semelhantes à da amostra a analisar são um requisito para imunocitoquímica (ICQ). Habitualmente, em amostras citológicas, devido à dificuldade em colocar controlo na mesma lâmina da amostra em análise, há necessidade de adicionar uma lâmina extra como controlo. Temos como objetivo analisar o impacto, na qualidade e custo, do uso do controlo na mesma lâmina.

Utilizaram-se dois procedimentos para preparação de controlos, recorrendo a suspensões celulares: 1. Na periferia da lâmina com a amostra a diagnosticar depositou-se o controlo por citocentrifugação, fixou-se e realizou-se ICQ; 2. Na impossibilidade de

colocar controlo, foi preparada uma lâmina adicional, sendo as duas processadas em simultâneo. Efetuou-se análise estatística dos dois procedimentos, realizados entre janeiro 2019 e dezembro 2022.

Processaram-se 2717 lâminas de ICQ, 1199 (44,1%) tiveram controlo na lâmina do doente (Procedimento 1). Para as restantes 1518 lâminas (55,9%) (Procedimento 2), foram preparados 1089 controlos em separado (um controlo é utilizado para várias lâminas do mesmo anticorpo primário). A utilização do Procedimento 1 permitiu redução de custos de 22.601,40€ e garantiu a conformidade com as boas práticas para realização de técnicas de ICQ. Verificou-se assim incremento na qualidade técnica, com manutenção das condições analíticas entre caso e controlo.

A utilização do controlo e de amostra para diagnóstico na mesma lâmina, usando suspensões celulares, permite a realização da técnica e a interpretação simultâneas da ICQ. Verificou-se que este é um procedimento eficiente em custo e tempo, que assegura um elevado padrão de qualidade em imunocitoquímica.

Palavras-Chave: Imunocitoquímica; controlo da qualidade

Cytochemical characterization of Ascitic Fluid from a patient with Ovarian Cancer- a Case Report

Susana Silva^{1*}, Regina A. Silva^{1,2}, Verónica Ferreira³, Cláudia Lobo³, Paula Monteiro³, Miguel Henriques Abreu^{4,5}, Carla Bartosch^{3,4,6}, Sara Ricardo^{7,8}

1-Área Técnico-Científica de Anatomia Patológica, Citológica e Tanatológica, Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto (ESS|P.PORTO, Porto, Portugal; 2-Centro de Investigação em Saúde e Ambiente, ESS|P.PORTO, Porto, Portugal; 3- Departamento de Patologia, Instituto Português de Oncologia do Porto (IPOP), Porto, Portugal; 4- Porto Comprehensive Cancer Center Raquel Seruca, Porto, Portugal; 5- Serviço de Oncologia Médica, Instituto Português de Oncologia do Porto (IPOP), Porto, Portugal; 6- Grupo Biologia do Cancro & Epigenética, Centro de Investigação do Instituto Português de Oncologia do Porto (IPOP), Porto, Portugal; 7- Instituto de Investigação e Inovação em Saúde (i3S) da Universidade do Porto, Porto, Portugal; 8-Unidade de Investigação em Toxicologia (TOXRUN), Cooperativa de Ensino Superior Politécnico e Universitário (CESPU), 485-116 Gandra, Portugal; 9-Faculdade de Medicina da Universidade do Porto (FMUP), 4200-319 Porto, Portugal

Epithelial ovarian cancer is the most lethal gynecological malignancy and peritoneal metastases are the leading cause of morbidity and mortality. Malignant cells shed from primary tumor and float in ascitic fluid, as single cells or multicellular spheroids, and later implant on the peritoneal lining.

Aggregation of cancer cell in spheroids is particularly beneficial for the success of the

transcoelomic spread and is associated with disease progression and chemotherapy resistance.

The accumulation of ascitic fluid containing malignant cells has been described as a prerequisite for the peritoneal spread by facilitating the dissemination of cancer cell spheroids and acting as a growth-promoting medium. The study of ascites components allows a better understanding of the tumor dissemination process as well new therapeutic strategies design.

The present study aims to cytochemical characterize an ascitic fluid sample from a patient with high-grade serous ovarian carcinoma. The sample contained multiple mucoid fragments, that were formalin-fixed and paraffin-embedded. Serial cuts were made to evaluate extracellular matrix components present in these mucoid fragments where 3D spheroids are trapped, using Masson's Trichrome, Orcein, Gordon and Sweet's Silver, Periodic Acid Schiff and Alcian Blue stains.

Cytochemical stains showed that the matrix surrounding the spheroids is rich in glycogen and acid mucins, and didn't contain collagen neither elastin fibers. Our Gordon and Sweet's Silver staining showed tumor cells are surrounded by an argentic component, which are more prominent on the surfaces of spheroids.

This extracellular matrix coating on spheroids surface may play a decisive role in survival of these floating cells.

Keywords: ascites, extracellular matrix, neoplasm metastasis, ovarian neoplasms

Desafios na Avaliação Macroscópica do Plasma

Ana Teles*¹, Elton Santos*¹, Andreia Cavaleiro*¹, Germano Fernandes*¹ & Eugénia Vasconcelos¹

1.Centro de Sangue e Transplantação de Lisboa, Lisboa, Portugal

É incontestável a importância que o sangue, os componentes sanguíneos e os medicamentos derivados do plasma têm no tratamento de diversas patologias, não existindo até ao momento em muitos dos casos outras alternativas terapêuticas.

De entre os componentes sanguíneos disponíveis, destacamos neste estudo o plasma humano. Este componente pode ser obtido a partir da dádiva de uma unidade de sangue total ou de uma dádiva por aférese. Consoante o tipo de dádiva e metodologia de separação, são originados diferentes tipos de plasma fresco, que serão posteriormente submetidos a um processo de congelação para obtenção de plasma fresco congelado. A etapa que antecede a congelação

denomina-se de avaliação macroscópica, consistindo na inspeção visual do plasma, com avaliação do seu aspeto (límpido ou turvo), da alteração de cor (verde a castanho), da contaminação de eritrócitos e da existência de coágulos. Uma vez que estas alterações podem comprometer a qualidade do plasma e conseqüentemente dos seus derivados, durante esta etapa são rejeitados todos aqueles que não cumprem os requisitos, sendo apenas congelados os que estão em conformidade com o preconizado. No entanto, tratando-se de uma etapa que está intimamente dependente do operador, verifica-se que nem sempre as leituras são coincidentes entre os profissionais que a executam. O grande desafio será implementar critérios de padronização que permitam minimizar a subjetividade de interpretação inerente a esta etapa. Como base nesse objetivo e após avaliação de centenas de unidades de plasma fresco foram elaboradas três escalas de aspeto/alteração de cor.

Keywords: plasma, avaliação macroscópica, transfusão

DGCR8 Microprocessor Subunit Mutation and Expression Deregulation in Thyroid Lesions

Lia Rodrigues^{1,2,3}, Sule Canberk^{2,3,4}, Sofia Macedo^{2,3,4}, Paula Soares^{2,3,5} & João Vinagre^{*2,3,5}

1-Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto, Porto, Portugal; 2- Instituto de Investigação e Inovação em Saúde da Universidade do Porto (I3S), Porto, Portugal; 3-Instituto de Patologia e Imunologia Molecular da Universidade do Porto (Ipatimup), Porto, Portugal; 4- Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade do Porto (ICBAS), Porto, Portugal; 5- Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Porto, Portugal

Deregulation of microRNA (miRNA) processing is a driver event in several tumours including thyroid cancer. DiGeorge Critical Region 8 (DGCR8) gene holds a critical role in miRNA biogenesis, as a microprocessor complex component, and in the development of the thyroid. Previous studies identified a DGCR8 mutation – the variant c.1552G>A p.(E518K) – in cases of thyroid cancer and proposed to cause a familial

syndrome characterized by multinodular goitre (MNG) and schwannomatosis. The goal of this study was to characterize the variant p.(E518K) of DGCR8 in thyroid lesions and evaluate its expression.

A series of thyroid lesions were evaluated by sequencing for the c.1552G>A p.(E518K) variant. When frozen tissue was available, DGCR8 mRNA expression was analysed by qPCR. Formalin-fixed paraffin-embedded tissues were studied for DGCR8 immunoeexpression.

We present for the first time the p.(E518K) mutation in a case of poorly differentiated thyroid carcinoma and present the deregulation of DGCR8 expression at mRNA level in follicular-patterned tumours. The obtained data solidify DGCR8 as another important player of miRNA-related gene mutations in thyroid tumorigenesis, particularly in follicular-patterned thyroid tumours.

Keywords: miRNA; thyroid cancer; microprocessor complex; DGCR8; p.(E518K).

Immune exoproteome and soluble proteome profiles of anti-PD-1 therapy in phase IIIB/IV Non-Small Cell Lung Cancer: relevance of immunosuppressive factors

Paulo Rodrigues-Santos^{1,2,3,4,5,6*}, Luana Madalena Sousa¹, Jani Sofia Almeida^{1,2,3,4,5,6}, Manuel Santos-Rosa^{2,3,4,5,6}, Fernando Barata⁷, Ana Figueiredo⁷

1. CNC – Laboratory of Immunology and Oncology, Center of Neurosciences and Cell Biology, University of Coimbra, Coimbra, Portugal; 2. FMUC – Institute of Immunology, Faculty of Medicine, University of Coimbra, Coimbra, Portugal; 3. CIMAGO – Center for Research in Environment and Oncobiology, Faculty of Medicine, University of Coimbra, Coimbra, Portugal; 4. iCBR – Institute of Clinical and Biomedical Research of Coimbra, Faculty of Medicine, University of Coimbra, Coimbra, Portugal; 5. CIBB – Center for Innovation in Biomedicine and Biotechnology, University of Coimbra, Coimbra, Portugal; 6. CAC – Clinical Academic Center of Coimbra, Coimbra, Portugal; 7. CHUC – Pulmonology Service, Coimbra Hospital and University Centre, Coimbra, Portugal.

This study intended to evaluate the immunological status of patients with stage IIIB/IV non-small cell lung cancer (NSCLC) comparing samples at diagnostics (DX), after chemotherapy (CT) and undergoing immune checkpoint blockade (ICB) immunotherapy. Comprehensive immunophenotyping (>200 parameters defining T, B, NK, NKT-like cells, monocytes, dendritic cells, and myeloid-derived suppressor cells) was performed using peripheral blood from 37 stage IIIB/IV NSCLC patients. Additionally, 103 immune-related plasmatic factors

(cytokines, chemokines, growth factors and soluble immune checkpoints) were quantified using xMAP (Luminex®) technology. Most important finding consists in myeloid-derived suppressor cells (MDSCs) significant increase in all NSCLC patients compared to CTRL, particularly monocytic MDSC (M-MDSC) defined as Lin-HLA-DR-CD33+CD11b+CD14+CD15-. Similarly, type 2 myeloid dendritic cells (mDC2), defined as Lin-HLA-DR+CD11c+CD123+, demonstrated the same results for ICB patients. Particular T cells subsets (CD8, activated CD8+HLA-DR+CD38+, memory CD8+CCR7-CD45RA+ and Tregs), B cells (transitional CD24^{high}CD38^{high}), CD56^{bright} NK cells and NKT-like cells were found significantly increased in ICB patients. Concerning the soluble factors associated with M-MDSC, a significant increase in VISTA/B7-H5 was observed in NSCLC patients under immunotherapy. A significant increase in IL-10 was observed, thus promoting the differentiation of Treg cells by type 2 conventional dendritic cells (cDC2). Using unsupervised machine-learning clustering analysis algorithms we were able to identify a signature associated with checkpoint inhibitor blockade therapy. In conclusion, this study suggests the importance of an extensive evaluation of cellular and soluble immune factors, which may prove useful in the selection and monitoring of patients undergoing immunotherapy in lung cancer.

Keywords: cancer immunotherapy, non-small cell lung cancer, exoproteome, soluble proteome, immune checkpoint blockade

Imunocitoquímica em lâminas coradas com May-Grünwald Giemsa: análise retrospectiva de resultados

Catarina Maciel¹; * Rúben Roque^{2,3}; Carla Pinheiro²; João Matos²; Marta Mesquita²; Rita Fagulha²; Sónia Oliveira²; Vanessa Tavares²; Teresa Pereira²; Saudade André²

1-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.

A realização de imunocitoquímica (ICQ) em amostras coradas com May-Grünwald Giemsa (MGG) é relatada na literatura como possível, embora com resultados inconsistentes. Temos como objetivo analisar retrospectivamente os resultados da ICQ em lâminas coradas com MGG, no IPO de Lisboa.

Analisámos todas as amostras citológicas coradas com MGG e posterior aplicação de ICQ, em 2022. O resultado da avaliação das lâminas observadas foi classificado como positivo ou negativo. Foi confirmada a presença de células de interesse, de forma a garantir a sensibilidade da ICQ. O resultado

da ICQ foi comparado com exames de follow-up (histopatológicos e citopatológicos) e, efetuou-se análise descritiva dos resultados.

Das 96 lâminas em que se realizou ICQ, observou-se 31 inespecífica em 23 (23,9%), sendo as restantes negativas. Foi realizada deteção de 16 antígenos, sendo o soro mais utilizado a citoqueratina AE1/AE3 (n=45). Obteve-se follow-up de 53 lâminas (55,2%), sendo que destas, 46 (86,8%) foram concordantes com os exames subsequentes. As 7 lâminas discordantes (13,2%) foram registadas em 3 soros primários: citoqueratina AE1/AE3 (n=4), p40 (n=2) e GATA3 (n=1). Estes casos foram revistos e foi efetuada a análise da causa-raiz da discrepância observada.

A aplicação de ICQ em lâminas coradas com MGG revelou-se fidedigna na maioria dos anticorpos primários. Nos soros em que se verificaram discrepâncias será necessária uma revalidação da técnica, dado que a sensibilidade foi inferior a 90%, valor mínimo definido pela literatura para validação de um método imunocitoquímico.

Palavras-Chave: Imunocitoquímica, May-Grünwald Giemsa

Infeção por SARS-CoV-2 e marcadores de autoimunidade

Cláudio Reis*^{1,2}, Ana Sofia Marinho¹, Angélica Ramos¹, Iolanda Wolfango², João Tiago Guimarães^{1,3,4}, Luís Ribeiro¹ & Maria João Cardoso¹

1. Serviço de Patologia Clínica, Centro Hospital Universitário São João, Porto, Portugal; 2. Escola Superior de Saúde, Instituto Politécnico do Porto, Portugal; 3. Departamento de Bioquímica, Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Portugal; 4. Instituto de Saúde Pública, Universidade do Porto, Portugal.

Meses após o aparecimento da COVID-19 começou-se a investigar uma possível ligação da infeção por SARS-CoV-2 e o desenvolvimento de autoimunidade, uma vez que, tem vindo a ser descrita a associação da infeção por alguns vírus com o desenvolvimento de doenças autoimunes (DAI). Neste estudo, pretendemos avaliar a relação entre a infeção por SARS-CoV-2 e o desenvolvimento de autoimunidade, através da produção de autoanticorpos.

Foram selecionados 269 doentes (154 mulheres e 115 homens) do Centro Hospitalar Universitário de São João, entre março de 2020 e março de 2022, com um teste molecular positivo ao SARS-CoV-2. Nestes doentes foi feita a pesquisa oportunística de diferentes autoanticorpos no soro após o diagnóstico de COVID-19: anticorpos anti-

nucleares (ANA, em 215 doentes), fator reumatoide (FR, 154), anticorpos anti-péptido citrulinado cíclico (aCCP, 96), anticorpos anti-cardiolipina (aCA) IgG e IgM, anti- β 2 glicoproteína I (a β 2GPI) IgG e IgM (74) e anti-recetor TSH (TRAb, 37). Esta pesquisa foi efetuada no período temporal de 0 dias a 2 anos e 4 meses. Todos os doentes que apresentassem uma DAI prévia foram excluídos.

Em 56,1% dos doentes encontrou-se positividade em algum dos autoanticorpos estudados. Os autoanticorpos presentes com maior prevalência foram os ANA (62,79%). O FR foi observado em 9,09% dos doentes, os aCCP em 5,21%, aCA IgG 5,41%, aCA IgM 6,76%, a β 2GPI IgG 1,35%, a β 2GPI IgM 2,70% e os TRAb 21,62%.

A presença de autoanticorpos após a infeção por SARS-CoV-2 poderá refletir um papel patogénico de desregulação imune, necessitando de estudos complementares para averiguar o papel deste vírus no desenvolvimento de uma DAI. Além disso, é fundamental realizar o doseamento destes autoanticorpos ao longo do tempo de forma a verificar se a sua presença no soro foi transitória ou se persiste.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19, autoimunidade, autoanticorpos.

Kidney transplant recipients present impaired SARS-CoV-2 specific cellular and antibody responses upon COVID-19

Ricardo Monteiro^{1,2,3,#}, Manuela Bustorff^{4,#}, Begoña Pérez-Cabezas^{1,2}, Ricardo Ribeiro^{1,5,6,7}, Inês Costa^{1,2,3,±}, Sofia Esteves^{1,2,3,±}, Ana Rafaela Teixeira^{1,2,3,±}, Teresa Reis^{6,±}, Alexandre Afonso⁸, Vitor Pinheiro⁸, Maria Isabel Antunes⁸, Maria Lucília Araújo⁶, João Niza Ribeiro^{9,10}, Nuno Santarém^{1,2,3}, Anabela Cordeiro-da-Silva^{1,2,3} & Joana Tavares^{1,2,3,*}

1. i3S, Instituto de Investigação e Inovação em Saúde, Universidade do Porto; 2. IBMC, Instituto de Biologia Molecular e Celular, Universidade do Porto; 3. Departamento de Ciências Biológicas, Faculdade de Farmácia, Universidade do Porto; 4. Departamento de Nefrologia, Centro Hospitalar Universitário de São João; 5. INEB, Instituto Nacional de Engenharia Biomédica, Universidade do Porto; 6. Departamento de Patologia Clínica, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra; 7. Instituto de Saúde Ambiental, Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa; 8. Departamento de Saúde Ocupacional, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra; 9. ISPU, Instituto de Saúde Pública, Universidade do Porto; 10. ICBAS, Instituto de Ciências Biomédicas Abel Salazar, Universidade do Porto. #, ± Equal contribution.

Solid organ transplant (SOT) recipients undergo continuous immunosuppressive treatment to prevent rejection. Thus, these patients have increased susceptibility to infectious diseases. In fact, SOT recipients are among the most vulnerable group to COVID-19, with higher hospitalization rates and estimated 15% mortality. Vaccine effectiveness against symptomatic COVID-19 was estimated 95% in healthy patients for the 2-dose mRNA vaccines. In contrast, SOT recipients have impaired seroconversion and higher risk of breakthrough infection. Despite neutralizing antibodies being correlates of protection, specific T-cell responses were still detected 17 years post-infection in the context of SARS-CoV. Using whole-blood stimulation we found that following COVID-19, healthy individuals present functional IL-2 (87%) and IFN- γ (83%) specific

responses for HLA predicted peptide pools of spike (S) and nucleocapsid (N) protein. However, kidney transplant recipients present diminished IFN- γ (41%) response, while IL-2 response was comparable to healthy individuals (94%). Regarding humoral response, an in-house IgG ELISA was optimized for high sensitivity, using spike S1 subunit, receptor binding domain (RBD), and N protein. After infection, only 50% of kidney transplant recipients were seropositive for S1, 59% for RBD, and 32% for N protein. Cellular and humoral responses were boosted after vaccination, independently of the vaccine used. In fact, vaccinated kidney transplant recipients following COVID-19 presented significant IFN- γ (86%) and IL-2 (91%) responses. Moreover, 96% were also seropositive for S1. In conclusion, our study highlights the need of evaluating the immune response following vaccination of these vulnerable groups to define predictors of vaccination efficiency and thus the strategy for vaccination.

Keywords: SARS-CoV-2, COVID-19, Cellular Immune Response, COVID-19 Serological Testing

Molecular techniques for the Neonatal Screening of Spinal Muscular Atrophy

Renata Oliveira*¹, Sara Granja^{2,3}, Regina A. Silva², Hugo Rocha^{2,4}

1-Escola Superior Saúde do Instituto Politécnico do Porto, (ESS|P:PORTO), Porto, Portugal; 2- Área Técnico-Científica de Anatomia Patológica, Citológica e Tanatológica, ESS|P:PORTO, Rua Dr. António Bernardino de Almeida, 400, 4200-072 Porto, Portugal; 3- ICVS/3B's-PT Laboratório Associado, 4710-057 Braga, Portugal; 4- Unidade de Rastreio Neonatal, Metabolismo e Genética, Departamento de Genética Humana, Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge, Rua de Alexandre Herculano, 321, 4000-053 Porto, Portugal.

Spinal muscular atrophy (SMA) is neurodegenerative disease mainly caused by the homozygous deletion of the functional telomeric survival motor neuron 1 gene (SMN1) exon 7. This absence causes a lack of the ubiquitous SMN protein which selectively destroys alpha motor neurons. Due to the disease severity, it is the leading genetic cause of infant death. The copy number of the centromeric SMN2 gene has an inverse correlation with the phenotype. SMA is currently classified in 5 types – Type 0 (lethal in womb or in the first weeks of life), Type 1

(approximately 50% of cases), Type 2 (children can sit alone), Type 3 (children can walk independently) and Type 4 (mildest form that appears in adults). Diagnosis is only made when symptoms arise and, by then, motor neurons are already irreversibly lost. Three therapies are now available, but they are most effective in the asymptomatic phase. To achieve this objective, the strategy is to include SMA in the panel of diseases screened in the Neonatal Screening (NS) Programs. In this sense, we describe the implementation of an in-house assay, that detects the absence of exon 7 of the SMN1 gene through the real-time polymerase chain reaction technique, adapted to NS. Normal controls and pathological samples collected from Guthrie cards were used. Our results show 100% concordance with the known genotypes (100% sensitivity and specificity). This method is a reliable, simple and affordable way to screen for this lethal disease.

Keywords: Neonatal Screening; Muscular Atrophy, Spinal; Real-Time Polymerase Chain Reaction

Molecular typing of *Brucella* sp. By PCR and electrophoresis: optimization of the Bruce Ladder methodology

André Rodrigues¹, João Costa², Cláudia Almendra², R. P. Roberto Costa^{1,3}, Inês Crespo⁴, [Ana Lopes](#)^{*1,3}

¹Instituto Politécnico de Coimbra, Escola Superior Agrária de Coimbra, Bencanta, 3045-601 Coimbra, Portugal; ²Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, Vairão, Portugal; ³CERNAS- Centro de Estudos de Recursos Naturais Ambiente e Sociedade, Instituto Politécnico de Coimbra, Escola Superior Agrária de Coimbra, Coimbra, Portugal; ⁴CIVG – Vasco da Gama Research Center, Vasco da Gama University School, Coimbra, Portugal.

*Brucellosis is a zoonosis caused by *Brucella* sp., transmissible by direct contact and ingestion of contaminated food. The main reservoirs are infected cattle and small ruminants that can be clinical, with abortion and infertility, or subclinical.*

The clinical diagnosis of brucellosis can be complemented by serological tests, such as rose Bengal or complement fixation, and microbiological culture, but the former are limited in sensitivity and specificity and the latter are time consuming.

In eradication plans, to detect subclinical animals, the multiplex PCR method called

Bruce Ladder is used, which is fast, safe and specific.

The objective is to optimize the Bruce Ladder method at the Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária.

*16 *Brucella* samples were used, including vaccine strains and previously identified non-vaccine pathogenic strains. The established Bruce Ladder method was used as control. In the Bruce Ladder test method, the master mix was changed from Multiplex PCR NZYProof 2× Green Master Mix to Supreme NZYtaq II 2× Green Master Mix®, the number of amplification cycles from 25 to 35, the temperature of annealing from 64°C to 60°C, the electrophoresis buffer from Tris-Acetate-EDTA to Tris-Borate-EDTA and the agarose gel concentration from 1.5% to 2%.*

*The annealing temperature, the change in the mastermix and the variation in the concentration of the agarose gel allowed the identification of a greater number of bands of fragments of the *Brucella* species.*

*This work allowed to optimize the Bruce-Ladder method of molecular diagnosis of *Brucella*.*

Keywords: Brucellosis; Polymerase Chain Reaction; Bacterial Zoonosis

Peritonite Bacteriana Espontânea – Análise Retrospectiva na Unidade Local de Saúde do Nordeste (ULSNE)

João Rodrigues¹, Cristiana Batouxas^{*1}, Maria Montanha¹, Pedro Barros¹, Sara Remelhe¹.

1-Unidade Local de Saúde do Nordeste, Portugal.

A peritonite bacteriana espontânea (PBE) é uma complicação frequente e grave nos doentes com cirrose e ascite, associada a elevada morbimortalidade e risco de recorrência nos doentes que sobrevivem após um episódio. Laboratorialmente, o diagnóstico baseia-se na contagem de polimorfonucleares (PMN) superior a 250/mm³ no líquido ascítico (LA) e por uma maior prevalência de bacilos entéricos Gramnegativos.

Análise retrospectiva de todas as amostras de LA, com critérios de PBE, ao longo de 5 anos (de 2017 a 2021), na ULSNE e

caracterização dos isolamentos microbiológicos, grau de resistência microrganismos isolados, demora média do internamento, taxa de mortalidade e das características clínicas dos utentes incluídos, nomeadamente a etiologia e gravidade da doença hepática, recorrência de PBE e associação com outras complicações da doença.

A amostra inclui 39 doentes e 47 episódios de PBE. 90 % (n=35) eram do género masculino, com idade média de 64 ±9.9 anos. Verificou-se isolamento de microrganismos no LA em 16 casos (34%), sendo os Gram-negativos os mais prevalentes: Escherichia coli (44%), Klebsiella pneumoniae (25%), Pasteurella multocida (6 %) e Morganella morganii (6%). Os Gram-positivos foram isolados em apenas 19%. No que diz respeito ao perfil de resistência antibiótica, 4 casos apresentavam resistência a mais do que uma classe de antibióticos.

Keywords: Peritonite 36nespecífi 36nespecífi, Polimorfonucleares, Multirresistência

Prevalência dos Tumores Encefálicos na População que recorre ao Centro Hospitalar Universitário do Algarve

Caleffi, L.*¹; Soares, K.¹; Takano, C.¹; Possante, A.R.^{1,3}; Morera, J.^{1,2}; Furtado, J.^{1,3,4}

1 – Escola Superior de Saúde da Universidade do Algarve; 2 – Centro Hospitalar Universitário do Algarve, Serviço de Anatomia Patológica; 3 – Centro de Estudos em Saúde da Escola Superior de Saúde da Universidade do Algarve; 4 – Stem Cells Biology Laboratory (ABC-RI).

Os tumores do sistema nervoso central são responsáveis por 14% da mortalidade de todos os cancros, com uma taxa de 4,2% em Portugal. Epidemiologicamente, estudos já realizados demonstram que há discrepância entre as regiões, sexo e idade. Este estudo objetiva avaliar a prevalência de tumores encefálicos e caracterizar sociodemográfica e clinicamente bem como possíveis correlações em pacientes diagnosticados com tumores encefálicos, seguidos no Centro Hospitalar Universitário do Algarve (CHUA). Estudo observacional retrospectivo de case-reports, com n=278, recolhidas da base SNOMED do CHUA entre 2017 e 2020 de utentes diagnosticados com tumores encefálicos residentes no Algarve. Foi observado maior prevalência de

tumores encefálicos primários (246 casos para 32 metastáticos), em mulheres (54,3%) e na faixa etária dos 51 aos 70 anos (45,6%). Os tumores primários mais prevalentes foram gliomas (39,8%), meningiomas (36,2%) e adenomas hipofisários (6,5%), dos quais entre os gliomas prevalecerem os tumores malignos (73,5% glioblastomas), enquanto entre os meningiomas, os benignos (40,3% transicionais). Este primeiro mais prevalente nos homens (31F:46M) e o segundo nas mulheres (27F:9M), acompanhada da taxa de mortalidade maior em homens (51,9%), assim como em glioblastoma e idosos. Metástases mais comuns provenientes do pulmão. Índice KI67 verifica-se como principal biomarcador, assim como co-deleção 1p19q e mutação IDH1/2. Portanto, assim como dados mundiais e europeus, a prevalência foi de gliomas, meningiomas e adenomas hipofisários, e a taxa de mortalidade segue-se naqueles diagnosticados com tumores de mais alto grau, mais predispostos às mutações e de sistema imune mais debilitado: glioblastoma, homens e idosos.

Keywords: encefálico, glioblastoma, meningioma, prevalência, tumores.

Quantificação da carga viral de HPV de alto risco e associação com o desenvolvimento de lesões cervicais

Telma Oliveira*¹, Sílvia Fernandes^{2,3}, Daniela Alves⁴, Amaro Frutuoso^{2,4}, & Regina A Silva^{2,5}

1. Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto (ESS|P:PORTO), Porto, Portugal; 2. Área Técnico-Científica de Anatomia Patológica, Citológica e Tanatológica, ESS|P:PORTO Porto, Portugal; 3. Center for Translational Health and Medical Biotechnology Research; 4. Serviço de Anatomia Patológica, Hospital Pedro Hispano, Unidade Local de Saúde de Matosinhos Matosinhos, Portugal 5. Centro de Investigação em Saúde e Ambiente, ESS|P:PORTO, Porto, Portugal.

O desenvolvimento de métodos quantitativos para estimar a carga viral tem vindo a melhorar a capacidade de controlar a progressão de doenças e avaliar a eficácia dos tratamentos.

Com o presente estudo pretende-se estimar a carga viral em mulheres infetadas com o Vírus do Papiloma Humano (HPV) de alto risco, e avaliar a sua associação com os dados clinicopatológicos para determinação da sua utilidade como fator de prognóstico.

Foram consideradas no estudo 365 mulheres seguidas em consulta de ginecologia da Unidade Local de Saúde de Matosinhos, com resultado positivo para infeção por HPV de alto risco, determinada por PCR semi-quantitativo. A carga viral foi estimada usando retas de calibração construídas com base em amostras padrão.

Os resultados mostram que existe associação entre a carga viral e o grau das lesões cervicais, verificando-se uma maior carga viral em resultados citológicos de LSIL e HSIL/ASC-H quando comparados com situações reativas ou de NILM ($p < 0,05$). Adicionalmente, uma carga viral superior a 2000 Cp/mL apresenta grande valor prognóstico, uma vez que no follow up este grupo de mulheres apresenta uma maior proporção de lesões CIN2/3 ($p = 0,0235$).

O presente estudo transversal sugere que a carga viral pode ser útil na monitorização e follow-up das lesões cervicais, e deve ser considerado no prognóstico de mulheres com infeção por HPV de alto risco.

Keywords: HPV; Carga viral; Citologia; Histologia

The yin and yang role of A_{2A} and P2X7 receptors in neonatal invasive Group B Streptococcus disease

Sara Fialho¹, Andreia Monteiro¹, Diogo Ferreira¹, Elva Bonifácio Andrade^{1,2}, Adília Ribeiro^{1,2}, Paula Ferreira^{1,2}, Laura Oliveira^{*1,3}

1 – ICBAS – Instituto de Ciências Biomédicas de Abel Salazar, Universidade do Porto, Porto, Portugal; 2 – i3S – Instituto de Investigação e Inovação em Saúde, Universidade do Porto, Porto, Portugal; 3 – MedInUP – Centro de Investigação Farmacológica e Medicamentosa, Universidade do Porto, Porto, Portugal

Invasive disease due to group B Streptococcus (GBS) infection remains as a main source of neurodevelopmental impairment and mortality in neonates. The search for alternative therapies is mandatory and P2X7 receptors (P2X7R) and A_{2A} receptors (A_{2A}R) have been emerging as potential therapeutic molecular targets in diseases associated to infection/inflammatory processes and neuronal dysfunction. To address the therapeutic potential of P2X7R and A_{2A}R signalling in neonatal invasive GBS infection, pups born from Balb/c dams intravaginally inoculated with GBS were subcutaneously administered daily from postnatal day 1 (PND1) to PND4 with the selective P2X7R agonist, Bz-ATP (2.5 mg/kg/day), or antagonist, Oxi-ATP (10 mg/kg/day), or the selective A_{2A}R agonist,

CGS21680C (0.1 mg/kg/day), and monitored for survival curve and neonatal clinical scores (NCS). Organs were collected to quantify bacterial load and myeloperoxidase (MPO) activity. Neurodevelopmental behaviour was evaluated by using Fox's battery of tests between PND2 and PND21. Oxi-ATP treatment exacerbated mortality rate and decreased life expectancy. Systemic P2X7R activation prevented GBS induced death ($p < 0,002$), disease severity, motor neurodevelopmental impairment and decreased organ colonization. CGS21680C treatment failed to modify the survival rate but induced a progressive aggravation of NCS and an increase in bacterial dissemination. Interestingly, both P2X7R and A_{2A}R activation promoted a higher MPO activity. Our results suggest a harmful role of A_{2A}R stimulation and a protective role for P2X7R in invasive bacterial infection probably by controlling neutrophils bacterial clearance. P2X7R activation or prevention of extracellular ATP metabolism and/or blockade of A_{2A}R activation may be therapeutically useful to control neonatal invasive GBS disease.

Keywords: Neonatal Diseases, Group B Streptococcal Infections, P2X7 Receptor, Adenosine A_{2A} Receptor

POSTERS

A importância do uso dos Biomarcadores do cancro colorretal

Angélica Ribeiro*¹, Ana Kunua¹, Dayane Mendes¹, José Neves¹, Ana Sousa^{1,2}, Rute Dominguez^{1,3}

1. Escola Superior de Saúde – Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, Portugal; 2. Centro de Investigação – Instituto Português de Oncologia do Porto, Porto, Portugal; 3. Serviço de Anatomia Patológica – Hospital de Pedro Hispano, Matosinhos, Portugal.

As formações polipoides do cólon e reto, podem originar cancro colorretal (CCR), tendo sido estudados biomarcadores para CCR de valor preditivo; diagnóstico e prognóstico. Serão descritos os biomarcadores preditivos, de diagnóstico e prognóstico do CCR, a sua influência no tratamento e uma correlação entre biomarcadores específicos e o diagnóstico precoce. Na revisão bibliográfica foi utilizada a Pubmed como base de dados, selecionando artigos entre 2011 e 2021, utilizando critérios de inclusão e exclusão. Nos estudos analisados, as mutações KRAS, BRAF e NRAS têm diferentes valores de prognóstico. Anteriormente, a taxa de sobrevivida em 41nespecífi com mutações BRAF era muito baixa, mas estudos

demonstram que a taxa de sobrevivida tem aumentado. Nas mutações NRAS e KRAS, a taxa de sobrevivida mostrou-se mais elevada. O microRNA-224 é um forte biomarcador prognóstico, embora mostre uma sobrevivida global baixa em pacientes com adenocarcinoma. O miR-326 é um biomarcador de valor preditivo promissor não invasivo para determinar um diagnóstico, embora apresente uma baixa taxa de sobrevivida. A expressão de miR-29c sérico combinado com miR-149 estabeleceu um novo biomarcador não invasivo para o diagnóstico precoce. Nos estudos analisados observou-se ainda que os biomarcadores específicos são relevantes, quer no diagnóstico, quer no tratamento em 41nespecí mais avançados, possibilitando terapias mais direcionadas. Apesar da existência de orientações internacionais para o diagnóstico e tratamento, estas não são aplicadas de forma global na prática clínica atual. Serão necessários mais estudos neste campo de investigação, como a implementação de protocolos que uniformizem a abordagem e tratamento a qualquer paciente com CCR.

Keywords: Cancro colorretal; Biomarcadores; Gene, ras; Quinase BRAF; MicroRNA

A New Cytology Staining Method: A Fast Approach for Rapid On-Site Evaluation on Thyroid Fine-Needle Aspiration Cytology

Paula de Melo Alves^{*1,2}, Fernando Ferreira³, Telma Oliveira², Daniela Alves⁴, Sule Canberk^{1,5,6} & Fernando C Schmitt^{7,8,9}

1. PhD student in Pathology and Molecular Genetics, Institute of Biomedical Sciences Abel Salazar (ICBAS), University of Porto, Porto, Portugal. 2. Polytechnic Institute of Health of the North (IPSN), CESPU, Paredes, Portugal. 3. University Institute of Health Sciences (IUCS), CESPU, Paredes, Portugal. 4. Department of Pathology, Hospital Pedro Hispano, Matosinhos, Portugal. 5. I3S, Instituto de Investigação e Inovação em Saúde, University of Porto, Porto, Portugal. 6. IPATIMUP, Institute of Molecular Pathology and Immunology of University of Porto, Porto, Portugal. 7. IPATIMUP, Institute of Molecular Pathology and Immunology of University of Porto, Porto, Portugal, fernando.schmitt@ipatimup.pt. 8. CINTESIS@RISE (Health Research Network), Porto, Portugal, 42nespeci.schmitt@ipatimup.pt. 9. Department of Pathology, Faculty of Medicine, Porto University, Porto, Portugal, 42nespeci.schmitt@ipatimup.pt.

Thyroid fine-needle aspiration (FNA) is a well-established technique in the cytology literature. Through the introduction of rapid stains in cytology practice, the ever-increasing utility of rapid on-site evaluation (ROSE) has strengthened the place of FNA as a primary diagnostic method in patient management. Recently, our group

developed a new staining variant labelled as original "BlueStain[®]". From each patient, two slides were made in a total of 40 cases studied. One of the slides was stained by Diff Quik (DQ) and the other by BlueStain[®] with the following protocol: the smears were air-dried for 10 seconds, dip the slides on BlueStain[®] for 30 seconds and dip in tap water 5 to 7 times. Afterwards, the slides were compared at a microscope, evaluating the parameters of background, cellularity, details of colloid presence, cell morphology, nuclear details, cytoplasmic details, and overall staining, scoring each with 3, 2 or 1, which represent good, average and poor, respectively. The quality index was slightly better for BlueStain[®] (53% vs. 47%) but not significantly different between the two stains. BlueStain[®] provides better details in both the presence and type of colloid as well as nuclear details. Our data demonstrates that BlueStain[®] is suitable to provide good-quality slides for primary assessments of thyroid aspirates studied by ROSE. This new staining method shows better preservation of colloid and cell details, revealing itself as an alternative to the DQ stain variant, upholding performance level while being 10 times cheaper and simpler because it requires just one step of staining.

Keywords: BlueStain[®]1; Diff-Quik2; Rapid on-site evaluation3; Rapid stain4; Thyroid fine-needle aspiration5

A Telepatologia no Luxemburgo – Incorporação numa rede hospitalar com um Laboratório nacional

Paulo Miranda Alexandre¹, Daniel Val Garijo¹,
Fernando Schmitt², Michel Mittelbrönn¹

1.LABORATOIRE NATIONAL DE SANTE, DUDELANGE, LUXEMBOURG ; 2. IPATIMUP, PORTO, PORTUGAL

Em 2016 o Laboratoire National de Santé (LNS), único laboratório a nível nacional com Departamento de Anatomia Patológica, criou o projeto Telepatologia. Este projeto foi criado devido à necessidade de reduzir o tempo de realização dos exames extemporâneos provenientes dos blocos operatórios dos cinco hospitais nacionais. Uma sala de Telepatologia foi construída inicialmente em dois dos hospitais entre 2016 e 2017, com instalação de aparelho fotográfico (macroPATH) e microscópio digital (VisionTek) para transmissão das imagens macroscópicas e microscópicas dos exames extemporâneos, respetivamente. A transmissão é realizada através de uma conexão segura via internet (BeyondTrust by Bomgar). Para a aprovação da realização de exames extemporâneos, foi realizada

uma etapa de validação de vinte casos de tecido a fresco em cada hospital com comparação entre relatório realizado em Telepatologia, no LNS e relatório Anatomopatológico definitivo.

A validação resultou numa significativa redução do tempo de transmissão do relatório extemporâneo sem redução da qualidade da avaliação por parte do Patologista. O impacto benéfico no tratamento do paciente e na satisfação da equipa cirúrgica permitiu a incorporação dos restantes hospitais no projeto. Foi igualmente integrado neste projeto a realização do exame macroscópico das peças anatómicas provenientes desses hospitais (bloco operatório, dermatologia, gastroenterologia, etc.). As reservas das peças anatómicas e cassetes realizadas aquando da macroscopia são enviadas para o LNS através de um transporte diário entre as duas instituições. Adicionalmente, são realizados protocolos com instituições de investigação para a colheita de material a fresco, preservado em nitrogénio líquido, para investigações e futuramente para BioBanking.

Keywords: Telepathology, Luxembourg, Histopathology, Frozen Sections

Alelos de grupo sanguíneo do Sistema ABO e suscetibilidade para a doença COVID-19: Revisão Sistemática

Ana Amorim¹, M^a João Caldeira², Tiffany Pereira², Josiana Vaz*^{2,3} & Carina Rodrigues^{2,3}

1. Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, Portugal; 2. Centro de Investigação de Montanha (CIMO), Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, Portugal; 3. Laboratório Associado para a Sustentabilidade e Tecnologia em Regiões de Montanha (SusTEC), Instituto Politécnico de Bragança, Bragança, Portugal

O sistema de grupo sanguíneo ABO tem sido associado a várias patologias ao longo do tempo e mais recentemente à severidade e a sintomatologia da doença COVID-19. Estudos sobre os genes deste sistema, incluindo os alelos, tem sido realizados para comprovar se podem afetar na sintomatologia e severidade da COVID-19. Recorreu-se à ferramenta Rayyan para a realização desta revisão sistemática, respeitando as recomendações PRISMA (Preferred Reporting Items for Systematic Reviews and MetaAnalyses). A pesquisa realizou-se a 3 de janeiro de 2023, nas plataformas

PubMed e WebOfScience, utilizando os seguintes descritores: [ABO AND ((Allele AND Covid-19 AND (Severity OR Symptoms))]. Os critérios de elegibilidade foram: qualquer tipo de metodologia científica que relacione alelos e sintomatologia ou severidade da COVID19, sem limitações temporais. Excluíram-se estudos escritos em línguas que não a inglesa, portuguesa ou espanhola, bem como artigos de revisão. Foram identificados 33 estudos, 11 excluíram-se por duplicados, 8 por não serem relacionados com o sistema ABO, 11 por não se relacionar com alelos do gene ABO e 1 por ser de revisão. Os estudos demonstraram que a severidade por SARS-COV-2 é mais reduzida no grupo O por diferentes alelos em diferentes SNPs do gene ABO. Por se tratar de uma doença recente poucos estudos foram identificados. Porém, permitiu-nos observar uma potencial relação entre os alelos do sistema ABO e a severidade de infeção por SARS-COV-2. Mais estudos devem ser realizados para esclarecer esta relação, com amostras e populações mais significativas.

Keywords: SARS-COV-2, polimorfismos, sintomas

Análise da medula óssea o impacto da descalcificação

Anabela Pereira^{*1,2}, Cláudia Furtado², Paulo Teixeira¹, Ana Gomes¹, Raquel Pina¹, Maria Augusta Cipriano¹

1.Serviço de Anatomia Patológica, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, Coimbra, Portugal; 2. ESTSC, Departamento de Ciências Biomédicas Laboratoriais, Instituto Politécnico de Coimbra, Coimbra, Portugal.

O diagnóstico das patologias linfoproliferativas na medula óssea (MO) depende da avaliação histológica, técnicas de imunohistoquímica e moleculares, essencialmente no linfoma difuso de grandes células B. A descalcificação da MO é crucial, sendo importante o agente descalcificador, a temperatura, dimensão e agitação do soluto, para obter o melhor diagnóstico.

O objetivo é otimizar o protocolo de descalcificação de MO com patologia hematolinfóide através de uma solução comercial com agente quelante, com determinados tempos e diferentes temperaturas.

Utilizaram-se 44 MO, 30 das quais fixadas em formol e descalcificadas com agente quelante Mol-Decalcifier® à temperatura ambiente em diferentes tempos e 14 MO fixadas e descalcificadas com as mesmas

condições, à temperatura de 47 graus com agitação.

Avaliou-se a presença de artefactos morfológicos pela coloração de Hematoxilina Eosina e a intensidade das colorações de Giemsa, Periodic Acid Schiff e Reticulina. Avaliou-se a intensidade de 45nespecifica45 com marcadores BCL6 e CD10 e a presença de rearranjos de MYC, BCL2 e BCL6 através de Fluorescence in situ hybridization (FISH). As amostras descalcificadas com tempos mais prolongados evidenciaram ausência de artefactos de microtomia, logo melhor preservação morfológica, semelhante intensidade de 45nespecifica45 e de sinal na análise por FISH no linfoma difuso de grandes células B. As amostras com tempos mais curtos e as de temperatura mais elevada com agitação, evidenciaram alguns artefactos da microtomia, logo menor preservação morfológicas, mas semelhante nas outras avaliações. O estado de descalcificação com Mol-Decalcifier® com tempos prolongados foi adotado para a rotina, assim como, o de temperaturas mais altas para casos excepcionais.

Palavras-chave: descalcificação, medula óssea, morfologia, imunohistoquímica, FISH.

Análise do Índice de Capacidade do Processo (C_{pk}) dos Concentrados Eritrocitários (CE) processados no Laboratório Regional de Saúde Pública Dr.^a Laura Ayres (LRSP – LLA)/IPST

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

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

O controle da produção de componentes sanguíneos é uma exigência na União Europeia. Em Portugal o Decreto-Lei 185/2015 de 2 de setembro corresponde à segunda alteração ao Decreto-Lei n.º 267/2007, de 24 de julho que estabelece o regime jurídico da qualidade e segurança do sangue humano e dos componentes sanguíneos. O “Guide to the preparation, use and quality assurance of Blood Components” da EDQM explana metodologias de controle estatístico de processo.

O índice de Capacidade do Processo (C_{pk}) é um modelo matemático que determina o nível de desempenho da produção de

acordo com especificações internas ou legais. Segundo a literatura pode ir de $C_{pk}<1$ = processo inadequado a $C_{pk}\geq 2$ = ótimo processo, requer o mínimo de CQ.

De modo a verificar a adequada aplicabilidade do C_{pk} no processamento dos CE no LRSP-LLA, foram analisados os resultados do C_{pk} para volume em 398 CE e hemoglobina (Hgb/U) e hematócrito (Hct) de 394 CE, entre janeiro de 2021 e dezembro 2022. O C_{pk} médio do volume foi de 0,75, da Hgb/U foi de 0,78, e Hct apresentou um C_{pk} inferior médio de 1,03 e C_{pk} superior médio de 1,47.

Relativamente ao processamento dos CE, os valores de C_{pk} estão dependentes da variabilidade biológica de cada pessoa doadora. O volume, Hgb e Hct são reprodutíveis no período de estudo considerado e de acordo com o estipulado pelo EDQM. Esta limitação deve ser considerada para a interpretação e avaliação da capacidade deste processo. Neste âmbito o $C_{pk}<1$ não foi considerado indicativo de processo inadequado.

Keywords: Red Cell Index , Quality Control, Outcome and Process Assessment

As variáveis pré-analíticas no centro da 47nespecíf

Adriana Marques¹, Márcia Oliveira¹

1. Centro Hospitalar Póvoa de Varzim-Vila do Conde EPE, Póvoa de Varzim, Porto

Um estudo analítico é compreendido em três fases, sendo que todas têm influência no resultado. Ao longo do tempo, vários estudos vieram demonstrar que a maior parte dos erros ocorrem na fase pré-analítica, que inclui a colheita, o transporte, o processamento e o armazenamento da amostra.

Os estudos analíticos da coagulação, devido à própria natureza da 47nespecíf, são particularmente sensíveis a todas as variáveis pré-analíticas. Alguns dos erros comumente observados são: não cumprimento do rácio anticoagulante/amostra que poderá resultar na diluição dos fatores da coagulação; o uso prolongado do garrote que poderá levar a uma hemoconcentração, resultando no aumento do fibrinogénio e de alguns fatores de coagulação; atrasos no transporte da amostra, que podem levar à

perda de fatores da coagulação mais lábeis; a centrifugação a uma velocidade inadequada, que pode resultar em hemólise e ativação plaquetária; o armazenamento de amostras de sangue total a baixas temperaturas, que poderá levar à ativação de plaquetas e à perda de fatores da coagulação; entre outros. Estes erros têm impacto nos resultados e consequentemente influenciam a ação clínica e as decisões terapêuticas pelo que é fundamental preveni-los, de modo a garantir a validade e qualidade dos resultados. Para tal, é necessário que exista uma padronização de todos os procedimentos, de modo a assegurar que em todas as etapas são cumpridos os requisitos necessários. Além disso, é essencial que todos os profissionais intervenientes no estudo analítico estejam devidamente informados de como prevenir os principais erros, contribuindo assim para uma maior confiabilidade dos resultados.

Keywords: Blood coagulation testing, pre-analytical phase, hemostasis

Avaliação das unidades de Sangue Total (ST) com volume superior a 500 mL processadas no Laboratório Regional de Saúde Pública Dr.^a Laura Ayres (LRSP-LLA)/IPST

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

1. Instituto Português do Sangue e da Transplantação, IP (IPST), Lisboa, Portugal; 2. ARS Algarve, IP, Faro, Portugal.

De acordo com o Guide to the preparation, use and quality assurance of BLOOD COMPONENTS (EDQM), o volume de uma dádiva de Sangue Total (ST) não deve exceder 500mL (excluindo anti-coagulante).

Das 80847 unidades de ST colhidas na região do Algarve e processadas no LLA entre janeiro de 2015 e dezembro 2022, 333 apresentavam volume superior às especificações (501-560 mL), correspondendo a

0,4% dos ST recebidos. A relação entre o número de STs com volume superior às especificações e o número de STs recebidos foi: 26/12638 (2015); 27/12615 (2016); 21/11768 (2017); 41/10602 (2018); 59/8466 (2019); 14/3172 (2020); 105/11232 (2021) e 40/10354 (2022).

Os 333 concentrados eritrocitários obtidos dos ST supracitados foram inspeccionados visualmente e submetidos a análise de leucócitos residuais, de forma a avaliar a eficácia da desleucocitação, obtendo-se resultados conformes para 332 unidades. Sendo que o sangue é um recurso tão precioso e escasso, foi possível, através da análise de controlo de qualidade, não retirar de circulação os componentes conformes.

Existe uma permanente partilha de informação com as instituições que realizam a actividade de colheita, no sentido de eliminar as possíveis causas da obtenção de volumes de ST superiores às especificações.

Keywords: erythrocyte, leukocytes

Avaliação do Método Histoquímico GASMoC para demonstração de Micobactérias

Rute Cunha^{1*}, Susana Silva² & Regina Silva^{2,3}

1. Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto (ESS|P:PORTO), Rua Dr. António Bernardino de Almeida, 400, 4200-072 Porto, Portugal; 2. Área Técnico-Científica de Anatomia Patológica, Citológica e Tanatológica, ESS|P:PORTO, Rua Dr. António Bernardino de Almeida, 400, 4200-072 Porto, Portugal; 3. Centro de Investigação em Saúde e Ambiente, ESS|P:PORTO, Rua Dr. António Bernardino de Almeida, 400, 4200-072 Porto, Portugal

O método histoquímico Ziehl-Neelsen (ZN) é o método eleito em Anatomia Patológica e Microbiologia para a demonstração de micobactérias em tecidos e amostras citológicas. É usada uma solução corante de carbol-fucsina que contém fenol, um composto muito corrosivo e tóxico, que provoca efeitos adversos quando em exposição crónica. Recentemente, foi desenvolvido um método alternativo e isento de fenol (GAS-MoC), testado apenas em amostras de tecido infetado por duas espécies de Mycobacterium.

O presente estudo pretende avaliar a especificidade e sensibilidade do método GAS-MoC comparativamente ao método ZN. Foram usadas 33 amostras de tecidos fixados em formol e embebidos em parafina e

uma amostra citológica proveniente de células em cultura fixadas em paraformaldeído e processada por cytospin, infetadas com diferentes espécies de Mycobacterium, com microrganismos não álcool-ácido resistentes (controlo negativo), ou contendo pigmento de lipofucsina. De cada amostra de tecido foram realizados dois cortes seriados: um corado pelo método ZN e o outro corado pelo GASMoC. Para avaliação microscópica foram utilizados os parâmetros: presença/ausência de coloração das bactérias, intensidade da coloração das micobactérias e presença de fundo inespecífico.

Dos casos ZN positivos nos tecidos parafinados, apenas 30% foram positivos pelo método GASMoC, sendo os restantes 70% negativos pelo GASMoC. Embora o método em estudo seja específico (100%) apresenta uma sensibilidade muito baixa (35,3%), traduzida por uma menor intensidade na coloração e conseqüente deteção de menor quantidade de micobactérias.

Concluindo, o método GASMoC não é tão sensível como o método padrão ZN na deteção de diferentes espécies de micobactérias em amostras de tecidos parafinados.

Keywords: Coloring Agents, Histochemistry, Mycobacterium, Phenol, Staining and Labeling

Avaliação do Rastreio do Cancro do Colo do Útero no Algarve no ano de 2019

Mingote, A.^{#1}; Rita, P.^{#1}; Marques, R.^{#1}; Gago-Rodrigues, I.^{1,2}; Furtado, J.^{1,2,3}; Costa, R.⁴; Pos-sante, R.^{1*};

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.

Em 2019 o Algarve era a região do país com a maior taxa de mortalidade por cancro do colo do útero (CCU). O vírus do papiloma Humano (HPV) é uma infeção sexualmente transmissível que poderá ser classificado como de baixo e de alto risco (HPV-HR), estando associado a lesões benignas e pré-neoplásicas/neoplásicas, respetivamente. Em 2019, o 1º semestre do rastreio no Algarve tinha citologia como teste primário e no 2º semestre passou a ter como teste primário a genotipagem parcial (CO-BAS®4800) do HPV-HR (16, 18 e/ou outros) sendo realizada de 5 em 5 anos em mulheres entre os 25 e os 60 anos.

Este trabalho pretende avaliar os dados relativos ao rastreio do CCU durante o ano de 2019 no Algarve, através da análise estatística dos dados das citologias e da tipificação provenientes do Serviço de Anatomia Patológica do CHUA.

Foram analisadas 7316 amostras e verificou-se que 8% (n=566) das citologias apresentavam alterações celulares, sendo a mais prevalente ASC-US (55,5%; n=314), LSIL (27,6%; n=156), ASC-H (8,3%; n=47), HSIL (4,2%; n=24), e alterações glandulares (3,7%; n=21). O concelho de Faro e a faixa etária dos [35-40[possuem uma maior frequência de lesões. Cerca de 45% das amostras realizaram genotipagem, onde 14% obteve resultado HPV-HR positivo, sendo o mais prevalente o HPV-HR outros tipos (77%). Adicionalmente, 59% dos ASCUS e 96% dos LSIL foram HPV-HR positivos.

Este estudo vai de acordo com outros estudos realizados no país, onde a citologia negativa e a tipificação de HPV-HR negativo é a mais prevalente.

Palavras-chave: Cancro do colo do útero, Rastreio, Vírus do Papiloma Humano (HPV), Algarve

Avaliação semiquantitativa da retenção de cobre em casos de patologia crónica no fígado de cão (*Canis familiaris*)

Joana Freitas¹, Paula Marques², Sandra Carvalho¹, Carla Monteiro³ e Maria C. Peleteiro¹

1 – Centro Interdisciplinar de Investigação em Sanidade Animal, Laboratório Associado AL4AnimalS, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Portugal. 2- Hospital Garcia de Orta, Almada. 3 – Hospital Escolar Veterinário da Faculdade de Medicina Veterinária

As hepatites crónicas em cão são processos de etiologia variada, sendo as altas concentrações de cobre descritas como possível causa.

O objetivo deste trabalho foi correlacionar a presença de cobre no fígado com a existência de doença hepática crónica, recorrendo à técnica histoquímica da 51nespecí. Assim, foi realizado estudo retrospectivo de casos de hepatite crónica e cirrose em canídeos, selecionados do arquivo do Hospital Escolar e do Laboratório de Anatomia Patológica da FMV/Ulisboa. Amostras de fígado, obtidas por biópsia ou necrópsia, foram sujeitas à técnica atrás mencionada, usando como controle um caso de intoxicação pelo cobre em ovino. Os resultados

foram avaliados aplicando classificação semiquantitativa para a intensidade e distribuição do cobre, usando uma escala de 0 a 4, tendo em conta a percentagem e a localização dos hepatócitos positivos. Do total de 19 casos selecionados, foram observadas vesículas intracitoplasmáticas de cor vermelho alaranjado nos hepatócitos em 13 amostras, consideradas positivas. De entre estas treze, considerou-se que seis teriam concentrações de cobre passíveis de serem consideradas altas. A acumulação de cobre nos hepatócitos assumiu os níveis mais elevados nos casos avançados de hepatite crónica. Apenas um destes casos apresentou distribuição de padrão centrolobular, sugestivo de retenção primária de cobre.

Concluiu-se, assim, que a técnica histoquímica da 51nespecí é utilizável em biópsias hepáticas de canídeos, constituindo uma ferramenta de diagnóstico. Para o futuro é desejável que novas determinações sejam feitas em paralelo com a quantificação bioquímica da concentração hepática do cobre, o que permitirá validar a classificação semiquantitativa utilizada.

Palavras-chave: 51nespe, cobre, 51nespecí, hepatites crónicas, canídeos

***Bacillus cereus*: contamination blood components and blood culture bottles under investigation**

José Alípio Rodrigues¹, Paula Maio¹, Teresa Fernandes¹ and Cristina Caeiro¹

1. Centro de sangue e da transplantação de coimbra, coimbra, 52nespecí

Strain of Bacillus cereus was isolated from an initial unique contaminated blood culture bottle, without inoculation. Molecular investigation confirmed the strain. The incriminated source of contamination proved to be an isolated case.

B. cereus is a facultative aerobic endospore-former, able to survive under adverse conditions while being nutritional stress resistant.

Gram stain of the contaminated blood culture bottle; culture of the strain in solid blood agar base; bacterial identification using filogenetic analysis of ribosomal DNA

16s gene sequence; and identified strain isolated from a previous contaminated blood component was established by Random Amplified Polymorphic DNA (RAPD) analysis.

Bacillus cereus was identified as the responsible, without genetic profile correlated with an outbreak of previous contaminating strain.

This case was reported as a unique, but possible situation. As a matter of fact, is impossible to assure a 100% sterility of blood culture bottles prior inoculation.

The manufacturers reinforce strict recommendations to users, cautioning them to observe the blood culture bottles before use. A visual inspection for detection of damages or contaminations must be performed. The liquid broth medium should be transparent or with very low signs of opalescence or precipitation due to the anticoagulant.

The usage of bottles with opalescence and/or turbidity, under excessive gas pressure or a yellow sensor, must be avoided.

Brucelose, endemia esquecida – A propósito de um caso clínico.

Ana Dourado¹, Sara Ervedosa¹, Ângela Rogrigues^{1*}, Miguel Miranda^{1,2}, Ana Oliveira^{1,2}, Diogo Domingues^{1,2}, Eugénia Afonso¹ & Viviana Gonçalves¹

1. ULSNE, Bragança, Portugal; 2. Instituto Politécnico de Bragança – Escola Superior de Saúde, Bragança, Portugal.

*A Brucelose é uma das principais Zoonoses a nível mundial. Constituí uma infeção natural transmitida de animais vertebrados para humanos, sendo a *Brucella spp.* O agente etiológico estudado. Está ligada à criação e comércio de gado. Em Portugal acomete sobretudo Bragança e Guarda. O contágio ocorre tanto pela via digestiva,*

como inalatória ou cutânea, disseminando-se principalmente por via linfática. O diagnóstico parte da clínica, mas é sobretudo estabelecido com recurso a testes serológicos (destacando os testes Rosa Bengala e Wright). O tratamento, na grande generalidade, é feito com dupla antibioterapia. A presença, na maioria dos casos, de uma clínica inespecífica confunde o diagnóstico e atrasa a terapêutica, como acontece no caso clínico. Neste sentido, torna-se importante apostar na prevenção, evitando o consumo de carne mal confeccionada e produtos lácteos não pasteurizados e utilizando, no caso de caçadores e pastores, utensílios para proteção.

Keywords: Brucelose, Zoonose, *Brucella spp.*, Rosa Bengala, Wright.

Cancro mais prevalente na população do Centro Hospitalar Universitário do Algarve (CHUA)

Alexandre Formiga¹, Daniel Mendes¹, João Nunes¹, José Morera^{1,2}, Rui Raposo^{1,3}, Rita Posante¹, João Furtado^{1,3}, Inês Gago-Rodrigues^{1,3,4}

1. Escola Superior de Saúde da Universidade do Algarve ; 2 Centro Hospitalar Universitário do Algarve; 3 Centro de Estudos em Saúde da Escola Superior de Saúde da Universidade do Algarve; 4 Algarve Biomedical Center RI

Introdução: O cancro é uma das principais causas de morte e uma barreira para o aumento da expectativa de vida em todo o Mundo. No ano de 2020, ocorreram cerca de 13,5 milhões novos casos de cancro, tendo-se destacado o cancro da mama (13,5%). No mesmo ano, em Portugal, surgiram cerca de 45 mil novos casos sendo o cancro colorretal, o cancro da mama e o da próstata os mais prevalentes. Aproximadamente 72% destes correspondem a pacientes com idade superior a 60 anos.

Objetivo: Este trabalho teve como objetivo a caracterização da prevalência de cancro no Algarve, utilizando dados do CHUA.

Materiais e Métodos: Foi efetuado um estudo observacional retrospectivo, com 1727 casos de cancro diagnosticados entre 2019 e 2020, incluindo ambos os sexos e todas as idades.

Resultados: Verificou-se que o cancro mais prevalente foi o cancro da mama (31%), seguindo-se do cancro colorretal (22%) e do cancro da próstata (11%). Constatou-se uma maior prevalência do cancro na faixa etária dos 61-70 anos, seguindo-se a dos 71-80 anos. No sexo feminino a prevalência é mais elevada (54%) em comparação com o sexo masculino (46%), sendo o cancro mais prevalente o cancro da mama e o cancro colorretal, respetivamente. Os concelhos mais afetados foram os concelhos de Loulé e Faro.

Conclusões: Os resultados deste estudo aumentam o conhecimento sobre a prevalência de cancro na população do CHUA o que pode contribuir para a consciencialização sobre esta temática de modo a favorecer metodologias de identificação de pacientes alvo para diagnóstico precoce.

Keywords: Cancro, Prevalência, Diagnóstico, Rastreio, Sobrevivência, Prevenção, CHUA.

CASE REPORT

Acute myeloid leukemia with a cryptic RUNX1/RUNX1T1 t(8;13;15;21) (q22;p10;p10;q21) novel variant

Andreia Ascenso¹, Nélia Jerónimo¹, Gilberto Marques¹ e Fernando Rodrigues¹

1.Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, Coimbra, Portugal;

The translocation t(8;21)(q22;q22) is a frequent chromosomal abnormality seen in acute myeloid leukemia (AML) with favourable prognosis.

However, variant t(8;21) with additional chromosomal abnormalities is observed in 4% of the cases.

The clinical significance in these variants t(8;21) appears to be controversial, due to the lack of reported cases.

Here we report a 43 year old woman with a novel four-way variant t(8;21).

Conventional cytogenetic analysis revealed an abnormal and complex putative Karyotype: der(15) t(X;15)(p11;q11), t(8;13)(q22;p11), del(19)(q11),

der(21)(q22) with additional loss of one X chromosome.

Fluorescent In Situ Hybridization (FISH), using a dual color dual fusion probe in interphase nuclei, revealed a RUNX1/RUNX1T1 gene fusion.

Metaphase FISH studies confirmed the cryptic complex translocation t(8;13;15;21)(q22;p10;p10;q21) with the RUNX1/RUNX1T1 fusion signal on the derivative chromosome 8.

Reverse Transcriptase Polymerase Chain Reaction also confirmed the presence of RUNX1/RUNX1T1 gene transcripts.

After induction chemotherapy the patient achieved complete remission and has been stable for 2 years.

The variant we report it is a unique complex translocation, but the prognostic outcome seems to be similar to the classical t(8;21).

The present case aims to show the relevant role of conventional Karyotyping-FISH studies in the detection of cryptic chromosomal abnormalities in acute myeloid leukemia patients with complex variant translocations.

Keywords: Variant t(8;21); Acute myeloid leukemia; RUNX1/RUNX1T1; Karyotype; FISH

Concentrado de Eritrócitos sem SAG-M- alteração ao protocolo de desleucocitação

Elsa Meireles*¹; Mariana Pires¹; Melania Santos¹; Andreia Fernandes¹; Paula Meireles²; Manuela Lopes¹; Carmo Koch¹

¹Serviço de Imuno-hemoterapia, Centro Hospitalar Universitário de São João (CHUSJ). ²Laboratório para a Investigação Integrativa e Translacional em Saúde Populacional, EPIUnit -Instituto de Saúde Pública, Universidade do Porto.

Nas transfusões intrauterinas e exsanguíneas, os concentrados eritrocitários (Ces) obedecem a especificações próprias: colhidos há menos de 5 dias; não conter SAG-M; ter hematócrito próximo dos 80%; e serem irradiados.

Este estudo teve como objetivos a implementação de um novo protocolo para remoção do SAG-M no CE e avaliação dos parâmetros de qualidade dos Ces obtidos, segundo as normas europeias.

Foram selecionadas 22 dádivas benévolas de Sangue Total, do grupo O Rh D negativo, colhidas no Banco de Sangue do CHUSJ, entre novembro de 2021 e abril de 2022, em sacos CPD (63mL) – SAG-M (100mL) – Sistema Reveos® LR e a separação nos

diferentes componentes foi efetuada no Sistema Automático de Processamento de Sangue – Reveos®. A alteração ao protocolo de desleucocitação consistiu em introduzir 3 conexões estéreis. Os 22 Ces avaliados apresentaram-se conformes para todos os parâmetros da qualidade, de acordo com os valores de referência (val. Ref.) estabelecidos pelo conselho da europa (ver tabela 1). Foi determinada a mediana e os percentis (25 – 75) e calculou-se a proporção de não conformidades e o respetivo intervalo de confiança a 95% (IC) pelo método de Wil-son.

Os resultados indicam que a alteração implementada não teve efeitos na qualidade dos Ces para os parâmetros avaliados. No entanto, é importante referir as limitações resultantes do pequeno tamanho amostral do estudo, particularmente em relação à precisão da estimativa de não conformidades. Estudos futuros devem incluir uma amostra maior, para reforçar a confiança nos resultados obtidos e aumentar a precisão do IC.

Palavras-Chave:

Concentrado de Eritrócitos (Ces), parâmetros de qualidade, SAG-M, transfusões intrauterinas e exsanguíneas.

Controlos Positivos na Detecção Histoquímica de Agentes Infeciosos- a resposta pode estar na despesa

Paula Marques¹, Rute Noiva²

1 – Hospital Garcia de Orta, serviço de Anatomia Patológica
2 – CIISA – Centro de Investigação Interdisciplinar em Sanidade Animal, Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa

Com o aumento da incidência das doenças imunossupressoras virais e da utilização de tratamentos imunossupressores, as infeções oportunistas por agentes microbianos tornaram-se uma realidade quotidiana no diagnóstico histopatológico. Por todo o mundo, a deteção de agentes patogénicos fúngicos e protozoários, passa não só por análises moleculares, mas também por identificação dos agentes em amostras de aspirados, efusões, e tecidos de biópsia. Várias técnicas de histoquímica são bem conhecidas dos patologistas, mas os controlos positivos necessários para validação destas técnicas (muitas vezes amostras de tecido humano ou animal doente) são cada vez mais difíceis de adquirir.

*Este estudo visou testar as características tintoriais de leveduras *Saccharomyces cerevisiae* numa preparação comercial de fermento de padeiro desidratado para consumo humano quando coradas com as técnicas de Ácido Periódico de Schiff (PAS), Giemsa, Grocott e Azul de Toluidina.*

A preparação desidratada foi rehidratada durante 12 horas e seguidamente fixada em formol durante 24 horas. Foi preparado um cell-block em Histogel® para processamento histológico de rotina. Foram efetuados vários cortes histológicos de 4µm de espessura, que foram submetidos às várias colorações histoquímicas. Amostras de tecido não-infetado foram utilizadas como controlo negativo.

Todos os cortes histológicos apresentaram elevados números de leveduras, cuja parede celular corou de forma positiva com as várias colorações, enquanto o citoplasma permaneceu negativo, providenciando controlo interno.

As leveduras de cerveja apresentam elevado potencial como uma fonte facilmente acessível e de baixo custo para controlos positivos para as técnicas histoquímicas mais frequentemente utilizadas para deteção de fungos em histopatologia humana e veterinária.

Corrosion Casting in cardiac vascular anatomy: Optimization

Catarina Rosete Pinto¹, Mariana Ribeiro¹, Paulo Teixeira², Hélder Santos³, Fernando Mendes^{1,4,5,6,7,8} & Diana Martins^{1,4,5,6,7}

1-Politécnico de Coimbra, ESTeSC, UCPCBL, , Coimbra, Portugal; 2- Pathology Department, Coimbra Hospital and University Centre, Coimbra, Portugal; 3- Politécnico de Coimbra, ESTeSC, UCPCFC, Coimbra, Portugal; 4- Laboratório de Investigação em Ciências Aplicadas à Saúde (Labin-Saúde), Politécnico de Coimbra, ESTeSC, Coimbra, Portugal; 5- Coimbra Institute for Clinical and Biomedical Research (iCBR) Area of Environment Genetics and Oncobiology (CIMAGO), Biophysics Institute of Faculty of Medicine, University of Coimbra, Portugal; 6- Center for Innovative Biomedicine and Biotechnology (CIBB), University of Coimbra, Portugal; 7- Clinical Academic Center of Coimbra (CACC), Coimbra, Portugal; 8- European Association for Professions in Biomedical Sciences, Brussels, Belgium

The concern for the conservation and preservation of the human body has been a constant issue since ancient times. Several chemical substances have been used to avoid the natural putrefaction process to study the human body and to preserve cadaveric dissection as an essential activity in education. Corrosion casting is a technique that shows a three-dimensional structure replica (cast) of different organ systems. A solid, negative replica, using polymers or

resins, is created from a hollow anatomical structure, and liberated from its surrounding tissues. The casts avoid putrefaction, demonstrate more durability, and reduce or eliminate the biological risk associated to the manipulation of fixed specimens.

Our main aim was to optimize and implement the corrosion cast technique as a long-term preservation technique in the cardiovascular system for didactic purposes. We used piglets hearts from a slaughterhouse, and the animals were sacrificed for consumption purposes. Different conditions in injection and corrosion were used and we were able to obtain several casts from the vascular system. The resulting casts were odorless and brittle when handled, requiring great care to avoid damage or breakage. Therefore, further optimization is required to improve the resin casts. Corrosion casting technique has established itself as a key technique for preserving three-dimensional internal structure of organs, providing an important tool for teaching and research on knowledge of several organs.

Keywords: corrosion casting, synthetic resin, polymers, organ preservation; vascular system

CRISPR/Cas 9 in the treatment of cervical cancer

Inês Ribeiro*¹, Joana Liberal^{1,2}

1-Instituto Politécnico de Castelo Branco, Castelo Branco, Portugal; 2- Quality of Life in the Rural World Research Unit (Qrural)

Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats/associated protein 9 (CRISPR/Cas9) is a technology based on a bacterial adaptative immune mechanism that induces breaks in certain regions of DNA, inactivating the genes. In recent years, several studies have been conducted in order to verify the therapeutic potential of this technology in cervical cancer caused by HPV infection. This review work aims to describe the mechanisms of CRISPR/Cas9 technology involved in the treatment of this pathology, the main challenges and potentialities. Different studies have shown that

CRISPR/Cas9 is effective in inactivating E6 and E7 oncogenes, inhibits proliferation and decrease the viability of Human papillomavirus-positive cells, and promotes the apoptosis of cancer cells. CRISPR/Cas9 technology also enhances the effects of cisplatin and effectively blocks the PD-1/PD-L1 signalling pathway, promoting antitumor immunity. Therefore this literature review demonstrates that this technology has numerous benefits for the treatment of cervical cancer, however there are some factors that limit its effectiveness, such as the forms of administration and delivery of the sgRNA/Cas9 complex, the associated cytotoxicity, the long-term effects, as well as some ethical issues. Despite all these conditions, this is a very promising technology in the treatment of cervical cancer.

Keywords: CRISPR [D064112], Human Papillomavirus [D000094302], Cervical Cancer [D002583]

Desafios técnicos na implementação de Patologia Digital no CHBM

Filipa Joia*¹, Luís Antunes¹ e José Vilchez¹

1.Serviço de Anatomia Patológica, CHBM EPE;

A Patologia Digital representa uma nova era no diagnóstico anatomopatológico. A sua aplicabilidade é imensa: permite o diagnóstico à distância, facilita as revisões de casos e segundas opiniões, demonstrações em reuniões multidisciplinares, estudos e investigações. Do ponto de vista técnico é um desafio e cria espaço para melhoramentos e inovações no workflow habitual de um Serviço de Anatomia Patológica.

É um investimento musculado por parte dos serviços e requer preparação prévia e adaptação dos procedimentos ao longo da sua implementação.

A fase analítica é marcadamente influenciada, sendo necessário adaptar os procedimentos para garantir uma qualidade de imagem elevada.

Há desvios que devem ser valorizados e consideramos que os pontos mais críticos são no corte, na limpeza e secagem das lâminas e na colocação de etiquetas. Isto é, cortes fora dos limites digitalizáveis inviabilizam diagnósticos e levam a aumento do tempo de espera, as lâminas têm de estar totalmente secas e limpas para evitar desfoques e avarias no equipamento e as etiquetas corretamente coladas.

A uniformização dos resultados e garantia de qualidade envolveu o teste de múltiplas marcas e modelos de consumíveis e procedimentos rotineiros, como lâminas, lamelas, meios de montagem, técnicas de secagem de lâminas, entre outras.

A implementação bem-sucedida da Patologia Digital apresenta dificuldades a vários níveis e envolve diferentes grupos profissionais, que com o seu esforço e empenho possibilitaram o sucesso do projeto no Serviço de Anatomia Patológica do CHBM.

Keywords: Patologia Digital, WSI, implementação, sinergia

Digital Pathology and Artificial Intelligence: Applications to cancer pathology and integrated diagnostics

Beatriz Martins¹, Patrícia Aires¹, Rita Silva¹, Paulo Esteves¹, Ana Isabel Morais¹, Maria João Silva¹, Mónica Curado², João Vale², Paulo Teixeira³, Rui Caetano^{4,5}, Fernando Mendes^{1,5,6,7,8} & Diana Martins^{1,5,6,7}

1-Politécnico de Coimbra, ESTeSC, UCPCBL, Rua 5 de Outubro—SM Bispo, Apartado 7006, 3046-854 Coimbra, Portugal; 2- Pathology Laboratory, Institute of Molecular Pathology and Immunology, University of Porto, 4200-135 Porto, Portugal; 3- Pathology Department, Coimbra Hospital and University Centre, Praceta Prof. Mota Pinto, 3000-075 Coimbra, Portugal; 4- Germano de Sousa – Centro de Diagnóstico Histopatológico CEDAP, Coimbra, Portugal; 5- Coimbra Institute for Clinical and Biomedical Research (iCBR) Area of Environment Genetics and Oncobiology (CIMAGO), Biophysics Institute of Faculty of Medicine, University of Coimbra, Portugal; 6- Laboratório de Investigação em Ciências Aplicadas à Saúde (LabinSaúde), Politécnico de Coimbra, ESTeSC, Rua 5 de Outubro—SM Bispo, Coimbra, Portugal; 7- Center for Innovative Biomedicine and Biotechnology (CIBB), University of Coimbra, Portugal; 8- Clinical Academic Center of Coimbra (CACC), Coimbra, Portugal; 9- European Association for Professions in Biomedical Sciences, Brussels, Belgium

In modern clinical practice, digital pathology plays a crucial role and is gradually a technological requirement in the laboratory. The whole-slide imaging system with integration of digital slides into the pathology workflow, faster networks, and cheaper storage solutions allow the digital slide system to be implemented in the laboratories. Moreover, unprecedented developments in machine learning have enabled the

cooperation of artificial intelligence (AI) and digital pathology offering image-based diagnosis possibilities. With integration of digital slides into the pathology workflow, advanced algorithms and computer-aided diagnostic techniques extend the frontiers of the pathology laboratory and allow integration of knowledge. AI was expected to positively impact several aspects of the pathology workflow, with various applications expected to be in routine. We focused on the applications in cancer diagnosis, mainly the analysis and interpretation of histological images, algorithms for identifying cancer hotspots and tumour grading. The importance of AI in routine use for automated quantification of immunohistochemical biomarkers and lymph node metastasis identification. AI was also projected to increase diagnostic efficiency and foster the integration of pathology with other diagnostic modalities, enabling the combination of diverse data types (macroscopic, microscopic, radiologic, and genomic) in a single platform, facilitating integrated diagnostic. AI-powered integrated diagnostics is also associated to personalized healthcare by categorizing patients based on differential risk-stratification predict clinical outcomes. Based on the above, in this review, we aim to summarize and discuss advances in digital slide-based image diagnosis for cancer along with some challenges and opportunities for artificial intelligence.

Keywords: Digital Pathology, Artificial Intelligence, Slide-based image, Algorithms, Cancer

Epidemiologia do cancro do colo uterino e o impacto da vacinação contra o HPV: a realidade portuguesa no contexto europeu

Ana Marques¹, Sílvia Fernandes^{*1,2,3,4}, & Regina Silva^{1,2,4}

1. Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto (ESS|P.PORTO), Rua Dr. António Bernardino de Almeida, 400, 4200-072 Porto, Portugal. 2. Área Técnico-Científica de Anatomia Patológica, Citológica e Tanatológica, ESS|P.PORTO, Rua Dr. António Bernardino de Almeida, 400, 4200-072 Porto, Portugal. 3. Centro de Investigação em Saúde Translacional e Biotecnologia Médica, ESS|P.PORTO, Rua Dr. António Bernardino de Almeida, 400, 4200-072 Porto, Portugal. 4. Centro de Investigação em Saúde e Ambiente, ESS|P.PORTO, Rua Dr. António Bernardino de Almeida, 400, 4200-072 Porto, Portugal.

A atual disponibilidade de vacinas e testes de rastreio molecular para o HPV aumentaram a possibilidade de eliminar globalmente o cancro cervical e outras patologias relacionadas com o vírus. No entanto, têm surgido vários obstáculos à implementação dos programas de vacinação contra o HPV a nível mundial.

Este estudo tem como objetivos compilar e analisar estatisticamente a informação acerca da vacinação contra o HPV e políticas de rastreio de cancro cervical, em Portugal e em outros países europeus; e avaliar o impacto na incidência e mortalidade de cancro cervical, ao longo dos anos.

Para tal, foi feito o levantamento de informações em bases de dados europeias (Organização Mundial de Saúde – European Health Information Gateway, European Centre for Disease Prevention and Control, Cancer Today e European Cancer Information System (ECIS), assim como artigos científicos do âmbito do estudo.

Os resultados mostram que Portugal se encontra no grupo de países com cobertura vacinal elevada (>70%), verificando-se neste grupo valores de incidência e mortalidade por cancro cervical cerca de duas vezes inferiores em relação aos restantes países. Contrariamente ao esperado, nos anos em estudo, Portugal apresentou os valores mais altos de incidência e mortalidade do grupo, apesar de ser o país com cobertura vacinal registada mais elevada (94%).

As características dos diferentes planos de rastreio organizados em cada país, assim como variáveis sociodemográficas e culturais podem contribuir para este resultado. Apesar da dificuldade no acesso a dados epidemiológicos comparáveis a nível europeu, conclui-se que a vacinação contra o HPV tem sido eficaz.

Keywords: vacinação; HPV, cobertura vacinal, políticas de rastreio, epidemiologia, cancro cervical

Estado Mutacional da região variável da cadeia pesada de Imunoglobulinas (IGHV) e estereótipo BcR num grupo de doentes com Leucemia Linfocítica Crónica

Ana Teresa Simões*¹, Ana Catarina Oliveira¹, Rita Costa e Sousa², Margarida Coucelo¹, Catarina Geraldes^{2,3,4,5}

1. Unidade Funcional de Hematologia Laboratorial, Serviço de Hematologia Clínica, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, Coimbra, Portugal; 2. Serviço de Hematologia Clínica, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, Coimbra, Portugal; 3. Laboratório de Oncobiologia e Hematologia e Clínica Universitária de Hematologia, Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, Coimbra, Portugal; 4. Coimbra Institute for Clinical and Biomedical Research (iCBR) – Grupo de Investigação em Ambiente, Genética e Oncobiologia (CIMAGO), Faculdade de Medicina, Universidade de Coimbra, e Centro de Inovação em Biomedicina e Biotecnologia (CIBB), Coimbra, Portugal; 5. Centro Académico-Clinico de Coimbra (CACC) Coimbra, Portugal.

Na Leucemia Linfocítica Crónica (LLC-B), o estado mutacional do receptor da região variável da cadeia pesada de imunoglobulinas (IGHV) é um marcador prognóstico estável e independente do estadió clínico. A ausência de hipermutação somática (U-IGHV) está associada a um curso clínico mais agressivo e fraca resposta a imunoterapia, em comparação com a sua presença (M-IGHV). Cerca de 30% dos doentes LLC apresentam receptor BcR clonotípico

com características idênticas (estereótipo), dividido em 19 subsets, definindo LLCs com características clínico-biológicas semelhantes.

Determinou-se o estado mutacional IGHV num grupo de 204 doentes LLC. Avaliação pelas recomendações do grupo ERIC: i) U-IGHV: homologia >98% sequência referencial (SR); ii) M-IGHV: homologia <98%SR; iii) borderline: 97-97,9% homologia SR. Estereótipo (#) BcR determinado pela plataforma ARResT. Em 95% dos doentes identificou-se um rearranjo clonal, 5% apresentavam >1 rearranjo. Subfamílias VH3 (36%), VH1 (29%) e VH4 (24%) mais frequentes. Estado mutacional: 40.2% M-IGHV, 54.4% U-IGHV, 3.4% resultado borderline e 2% com estado mutacional inconclusivo. Vinte e oito doentes (13.7%)(7M-IGHV e 21U-IGHV) apresentavam estereótipo BcR representando 11 subsets: M-IGHV subsets: #2(n=3),#4, #14(n=2)e#77; e U-IGHV subsets:#1(n=6), #2, #3(n=4); #5(n=3); #6(n=2); #59(n=2), #7H, #31, #202. Em 3 LLC M-IGHV, a identificação do subset #2, associado a doença agressiva independentemente do estado mutacional, reforça a importância da sua identificação para a correcta estratificação prognóstica e decisão terapêutica. O subset #1 foi identificado apenas no grupo U-IGHV e o #4, associado a um curso clínico indolente, apenas no grupo M-IGHV. Os resultados obtidos estão de acordo com a literatura.

Keywords: LLC, IGHV, Estereótipo

Evaluation of saliva as an alternative to standard collection for detection of Sars-CoV-2

Paula de Melo Alves*^{1,2}, Fernando Ferreira³, Telma Oliveira², Daniela Alves⁴, Sílvia Coelho² & Inês Oliveira²

1. Pathology and Molecular Genetics, Institute of Biomedical Sciences Abel Salazar (ICBAS), University of Porto, Porto, Portugal; **2.** Polytechnic Institute of Health of the North (IPSN), CESPU, Paredes, Portugal; **3.** University Institute of Health Sciences (IUUCS), CESPU, Paredes, Portugal. **4.** Department of Pathology, Hospital Pedro Hispano, Matosinhos, Portugal.

Background: In December 2019, in Wuhan, an outbreak of a new coronavirus (SARS CoV-2) began to spread rapidly, resulting in a potentially fatal viral respiratory disease. As of August 23, 2020, more than 20 million cases of COVID-19 and nearly 80000 deaths

were confirmed in more than 200 countries. This in turn has had a severe impact on public health and the world economy. The Sars-CoV-2 pandemic also resulted in a shortage of viral transport media and the need to find different diagnostic means, such as saliva; Methods: To fill this gap in the market, a new medium of transport was created and tested with samples collected from the nasopharynx and/or oropharynx using swab and saliva samples; Results: The specificity, sensitivity and Cts of RT-PCR testing of the samples were compared, revealing concordant results with approximate sensitivity and specificity; Conclusions: Our study highlighted the need to optimize saliva sample collection and its potential use as a substitute for standard collection.

Keywords: SARS-Cov-2; Saliva; *in vitro* diagnostics medical device;

Hepatite B Oculta

Fernanda Resende¹ & Isaías Pedro^{*1}

¹Laboratório de Agentes Transmissíveis, Centro de Sangue e Transplantação de Lisboa - Área Funcional do Sangue (CSTL-S) / Instituto Português do Sangue e da Transplantação I.P., Lisboa, Portugal.

A hepatite B crónica é a principal causa cirrose hepática e carcinoma hepatocelular. Estima-se que 250 milhões de humanos estão infectados cronicamente pelo vírus da hepatite B (HBV) e anualmente morrem 887 000 pessoas com doenças hepáticas relacionadas com o HBV.

A hepatite B oculta (HBO) é definida pela presença de DNA HBV, na ausência de antígeno de superfície HBV (Ag HBs), com ou sem Anti-HBc e com ou sem Anti-HBs. A carga viral nos indivíduos com HBO é normalmente baixa e flutuante (<100 UI/ml), resultando em muitos casos na deteção intermitente do DNA HBV.

Nas últimas décadas o risco de transmissão do HBV por transfusão sanguínea tem sido

minimizado pelo desenvolvimento de ensaios cada vez mais sensíveis para deteção serológica do Ag HBs e do Anti-HBc, bem como da implementação generalizada da deteção do DNA HBV através de Técnicas de Amplificação de Ácidos Nucleicos (TAN). Em Portugal a circular normativa nº6/GDG de 23/06/2008 (ASST) veio tornar obrigatória a pesquisa do DNA HBV por TAN. O CSTL-S iniciou o estudo do DNA HBV por TAN em 2006 a todas as unidades de sangue.

Apresenta-se o caso de um Dador masculino, natural de S. Tomé e Príncipe, 58 anos, que apresentou em quatro colheitas Ag HBs e Anti-HBs negativos, Anti-HBc reactivo e apenas em duas delas foi possível detectar DNA do HBV. Estes resultados permitem evidenciar que a HBO existe e é uma realidade para a qual a comunidade científica deve estar atenta e desperta.

Keywords: Hepatite B Oculta; Ag HBs; DNA HBV; TAN.

Histology of the zebrafish injured spinal cord – methods and technical challenges for frozen sections

Raquel Quitéria¹, Dalila Neves-Silva¹, Mariana Rebocho da Costa¹ & Leonor Saúde^{1,2}

1. Instituto de Medicina Molecular – João Lobo Antunes, Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa, 1649-028 Lisboa, Portugal; 2. Instituto de Histologia e Biologia do Desenvolvimento, Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa, 1649-028 Lisboa, Portugal.

Contrary to mammals, zebrafish has the remarkable ability to regenerate its spinal cord and recover its motor and sensory function after an injury. The study of the injured zebrafish spinal cord can provide insights on how to mimic its permissive and pro-regenerative microenvironment in injured non-regenerating models to improve their motor and sensory function recovery. Histology is a powerful and essential tool to characterize the changes that occur at tissue level after an injury. Given its size and fragile nature, collecting the spinal cord and its further preparation for cryosectioning present different challenges that must be overcome to obtain quality sections for histochemistry and/or

immunohistochemistry. Whether collected with or without the surrounding tissues (including muscle and vertebrae, which require controlled decalcification), sample embedding involves the use of a stereoscope and careful handling to avoid tissue damage and assure its correct orientation, which is particularly crucial for longitudinal sections. Cryopreservation with sucrose and controlled fast freezing of the samples embedded in either gelatine or O.C.T. compound are important to maintain tissue morphology, avoiding freezing artefacts and loss sample orientation during freezing. Temperature control and correct block orientation during cryosectioning are also essential to guarantee good quality sections. The need for numerous slides with comparable sections for the execution of different histochemical and immunohistochemical protocols adds another layer of complexity, one that needs previous planning. This approach will result in sets of comparable slides that researchers can rely on to answer various scientific questions that could lead to new therapeutic breakthroughs.

Keywords: histopathology, zebrafish, spinal cord, histological techniques, cryosectioning

How to recover Lagovirus antigen from leporid tissues for IHC?

Fábio Abade dos Santos^{1,2,3,4*}, [Sandra Carvalho](#)^{1,2} & Joana Correia^{1,2}

1. Centre for Interdisciplinary Research in Animal Health (CIISA), Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade de Lisboa, Avenida da Universidade Técnica, 1300-477 Lisboa, Portugal **2.** Associate Laboratory for Animal and Veterinary Sciences (AL4Animals), Portugal **3.** Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária (INIAV, I.P.), Av. da República, Quinta do Marquês, 2780-157 Oeiras, Portugal **4.** Faculdade de Medicina Veterinária, Universidade Lusófona de Humanidades e Tecnologia, 1749-024 Lisboa, Portugal.

*The rabbit haemorrhagic disease virus (RHDV2) is the greatest viral threat to the preservation of the wild rabbit (*Oryctolagus cuniculus algirus*), an endangered species and a keystone species of Mediterranean ecosystems on which more than 40 predators depend.*

To study cellular infection by the virus in different tissues as well as analyze its distribution in tissues, we aimed to optimize a robust and highly specific immunohistochemistry technique given the lack of commercial or previously established protocols.

In this context, wild rabbit organs (liver) resulting from natural infection (preserved in 10% NBF and paraffin-embedded) were

used to evaluate different antigenic recovery protocols, namely recovery with Dako-Target Retrieval Solution, high pH 9 (10X) (Agilent Technologies, CA, USA), DakoTarget Retrieval Solution, low pH 6 (10X) (Agilent Technologies, CA, USA) both using the automatic Dako PT Link, and a manual protocol using Proteinase K. Two RHDV2 qPCR negative and positive livers were used, respectively, as negative and positive controls.

Antigenic retrieval using commercial solutions was ineffective and no virus labelling was observed in any of the organs. On the other hand, digestion with commercial proteolytic digestion solution (Proteinase K, Agilent Technologies, CA, USA) or prepared in-house resulted in completely specific labelling in 100% of samples RT-qPCR positives, with repeatability and with desirable intensity.

This study allowed us to verify that it is very important to optimize the antigenic retrieval technique in organs fixed in formalin, to obtain laboratory-robust techniques. This technique is already being used in several international studies with rabbits, mice and other species with 100% sensitivity for organs with active infection.

Keywords: immunohistochemistry, Antigen retrieval, wildlife, wild rabbit, virology

Impacto da pandemia COVID-19 nas dádivas de sangue no Centro Hospitalar Universitário do Porto (CHUP)

Carla Ferreira^{1*}; Ana Mota¹; Anabela Martins¹,
Andreia Reis¹, Elisabete Machado¹ Elisabete
Santos¹, Francisco Dias¹; Sérgio Peixoto¹ & Su-
sana Ponte¹

1-Centro Hospitalar Universitário do Porto, Largo Prof.
Abel Salazar, 4099-001, Porto, Portugal

*A presença do SAR-COV2 no sangue de pes-
soas assintomáticas, não foi completa-
mente investigada. Foram implementadas
medidas de acordo com as diretrizes do Ins-
tituto Português do Sangue e da Transplan-
tação, e da Direção Geral da Saúde, de
forma a garantir e manter um suporte tera-
p utico seguro de componentes sanguíneos
em todas as solicitações hospitalares, ape-
sar de não existir evidência, da sua trans-
missibilidade por transfusão, adotou-se o
princípio da precaução.*

*O objetivo é avaliar o impacto da pandemia
nas dádivas sangue no nosso CHUP no*

*período de contingência nacional, compa-
rando com os dois anos anteriores.*

*Estudo longitudinal e retrospectivo do im-
pacto da COVID-19 nas dádivas homólogas
de sangue no período compreendido entre
2018 a 2022. No estudo foram incluídas um
total de 44.028 dádivas homólogas, num
total de 33.029 dadores.*

*Um total de 47.088 dadores voluntários e
benévolos de sangue, que se deslocaram ao
nosso serviço, foram colhidas 44.028 d di-
vas de sangue. Das quais 51,90% foram do
sexo masculino e 48,95% do sexo feminino.
Destes, 97,08% com idades compreendidas
entre os 18 e os 65 anos e 2,92% com mais
de 66 anos. Do total das dádivas colhidas
16.68% foram Novos Dadores e 83,32% Da-
dadores Regulares.*

*Na nossa instituição, verificou-se um au-
mento significativo de dádivas de sangue
no ano 2020, em relação aos períodos ho-
m logos dos anos transatos, no entanto
com tendência a diminuir a partir de maio
2021, sendo que o ano de 2022 foi o ano
com menos colheitas efetuadas.*

Palavras-chave: Covid-19, dádivas sangue

Impacto da quarentena e isolamento social durante a pandemia da COVID-19 em utentes diabéticos da ULSNE.

Mariana Roca¹, Ângela Rogrigues¹, João Rodrigues*¹, Emanuel Costa^{1,2}, Juliana Paiva^{1,2} & Maria Montanha¹

1. ULSNE, Bragança, Portugal; 2. Instituto Politécnico de Bragança – Escola Superior de Saúde, Bragança, Portugal.

Diabetes mellitus é um grave problema de saúde pública, com elevadas taxas de morbilidade e mortalidade. O controlo glicémico do paciente pode ser efetuado com o doseamento de glicose a curto prazo e/ou com a doseamento de hemoglobina glicosilada, a qual permite avaliar, aproximadamente, 120 dias anteriores ao exame, é por este motivo o parâmetro de referência para avaliação de doentes diabéticos. A pandemia de COVID19 remeteu toda a população doente e não doente ao isolamento, com restrições de deslocação e atendimento nos postos de saúde desde 18 de março de 2020 até 17 de fevereiro de 2022. Durante este período as restrições impostas, dificultaram

a monitorização laboratorial e clínica dos pacientes. O presente trabalho tem como objetivo uma reflexão comparativa com base em dados laboratoriais, adquiridos a partir da plataforma de gestão laboratorial-SISLAB, devidamente autorizado pelo Serviço de Patologia Clínica e pelo Departamento de diabetologia no espaço temporal de 01/01/2019 a 30/09/2021. Os índices glicémicos obtidos pelo Serviço de Patologia Clínica são o doseamento da glicose, o doseamento da Hemoglobina glicosilada. A amostra compreende os utentes da consulta com mais de 18 anos e até aos 95 anos de idade, de ambos géneros. Verificamos um aumento entre 1 a 4% de pacientes com valores superiores ao recomendado (6,5% de Hemoglobina glicosilada) que foi regularizando com o retorno a atividade clínico-laboratorial. A conclusão é óbvia, os utentes dependem do suporte clínico/laboratorial para manter a o equilíbrio. Uma situação de isolamento sem apoio leva ao agravamento da doença.

Keywords: Perfil glicémico. Glicose. Hemoglobina glicosilada, COVID-19

Infeções do Trato Urinário em idade pediátrica: Perfil de resistência da *E. coli* aos antimicrobianos

Paula Martins^{1*}, Teresa Pinheiro¹, Bruno Costa¹ & Maria Calle¹

1.Centro Hospitalar do Tâmega e Sousa E.P.E., Penafiel, Portugal

A Infecção do Trato Urinário (ITU) é uma das infeções mais frequentes em idade pediátrica. A E. coli é a bactéria mais frequentemente isolada nas ITU. Nos lactentes o quadro clínico da ITU tende a ser inespecífico e a febre é em muitas das vezes o único sinal, ao contrário do que se verifica em crianças com idade mais avançada, que apresentam geralmente sintomatologia típica de ITU. A urocultura é uma mais valia para a identificação do agente causal e seu respetivo perfil de susceptibilidade. Foi realizado um estudo retrospectivo das ITU provocadas por E. coli e respetivos perfis de susceptibilidade em idade pediátrica (0 aos

18 anos), diagnosticadas no Centro Hospitalar do Tâmega e Sousa E.P.E., de 1 de janeiro de 2019 a 31 de dezembro de 2020. Durante o período de estudo, foram analisados 965 casos. Do total de casos, registaram-se 740 no sexo feminino (76,7%) e 225 casos no sexo masculino (23,3%). Grande parte dos antimicrobianos testados, apresentaram altos níveis de susceptibilidade. No entanto devido, às altas taxas de resistência in vitro da E. coli à Amoxicilina/AcidoClavulânico e à Ampicilina (superior a 35%), aconselha-se que estes antimicrobianos não sejam utilizados numa terapêutica empírica inicial, uma vez que num tratamento empírico é recomendado que a percentagem de resistência não ultrapasse os 10-20%. As altas taxas de resistência à Amoxicilina/AcidoClavulânico e à Ampicilina, e resistência moderada ao Cotrimoxazol poderão dever-se em parte ao uso alargado e de certo modo indiscriminado em ambulatório.

Keywords: Escherichia coli, Urinary Tract Infections, Pediatrics

Linfoma de Células do Manto com Expressão de CD200: um caso clínico

Faria C.*¹, Godinho I.¹, Pires A.¹, Palmeira C.¹, Sousa E.¹, Azevedo C.¹, Fonseca C.¹, Fernandes B.¹, Martins G.¹

1. Laboratório de Imunologia - Serviço de Patologia Clínica – Instituto Português de Oncologia do Porto, Porto, Portugal

O Linfoma de Células do Manto (LCM) representa 3 a 10% dos casos de linfomas não Hodgkin de células B, sendo caracterizado pela presença da t(11;14)(q13;q32) responsável pela sobreexpressão da Ciclina D1. Apesar da sua apresentação agressiva, alguns casos de LCM (~4%) exibem uma forma indolente, com prognóstico mais favorável, nos quais se observa expressão de CD200, uma glicoproteína membranar da família das imunoglobulinas tipo I. Perante linfocitose de células CD19+CD5+, o CD200 realiza diagnóstico diferencial entre LCM (-) de leucemia linfocítica crónica (LLC) (+). Sexo masculino, 72 anos, com linfócitos atípicos no sangue periférico (SP), contagem leucócitos $6,81 \times 10^9/L$ e linfócitos $3,27 \times 10^9/L$, em seguimento por trombocitopenias persistentes. Foi efetuada caracterização imunofenotípica por citometria de

fluxo (CF) no SP, detetando-se 13,25% linfócitos B patológicos com o fenótipo: CD5+, CD10-, CD11c, CD19+, CD20+, CD22+, CD23+débil, CD27-, CD31-, CD38-, CD39+, CD43-, CD49+d, CD62L+débil, CD79b+, CD81+, CD95-, CD103-, CD185+, CD200+, CD305-/+, HLADR+, sIgM-, com restrição das cadeias leves Kappa. No mielograma, 95% das células B apresentaram características imunofenotípicas de anormalidade. Foi detetada a t(11;14)(q13;q32) CCND1/IGH em 13% das células observadas, através de técnica FISH. Na biópsia óssea foi identificado um infiltrado linfoide de carácter patológico CD19+, CD20+ e CiclinaD1-, não sendo detetadas outras alterações clínicas significativas.

A expressão de CD200 identifica uma forma indolente do LCM, designada por non-nodal leukemic disease, frequentemente associada à ausência de expressão de SOX-11 e à presença de hipermutação dos genes IgV(H), ausência de complexidade genómica, CD23+ e morfologia e clínica similares à LLC. Salienta-se, desta forma, a importância em reconhecer a variabilidade imunofenotípica por CF na caracterização de linfomas.

Palavras-Chave: Linfoma de Células do Manto, Citometria de Fluxo

Liquid Biopsies in Pancreatic Cancer: a reality or a myth in early detection? - Review

Ana Laura Ramos^{1,2}, Maria Vieira^{1,3},
Fernando Mendes^{1,4,5,6,7,8} & Diana
Martins*^{1,4,5,6,7}

1. Politécnico de Coimbra, ESTeSC, UCPCBL, Rua 5 de Outubro–SM Bispo, Apartado 7006, 3046- 854 Coimbra, Portugal 2. Instituto Português do Sangue e da Transplantação, Coimbra, Portugal; 3. Centro Hospitalar de Leiria, Leiria, Portugal; 4. Laboratório de Investigação em Ciências Aplicadas à Saúde (LabinSaúde), Politécnico de Coimbra, ESTeSC, Rua 5 de Outubro–SM Bispo, Apartado 7006, 3046-854 Coimbra, Portugal 5. Coimbra Institute for Clinical and Biomedical Research (iCBR) Area of Environment Genetics and Oncobiology (CIMAGO), Biophysics Institute of Faculty of Medicine, University of Coimbra, 3000-548 Coimbra, Portugal 6. Center for Innovative Biomedicine and Biotechnology (CIBB), University of Coimbra, 3004-504 Coimbra, Portugal 7. Clinical Academic Center of Coimbra (CACC), 3004-561 Coimbra, Portugal 8. European Association for Professions in Biomedical Sciences, B-1000 Brussels, Belgium

Pancreatic cancer is one of the most lethal malignancies and one of the most aggressive cancers with a 5-year survival rate around 5%. Pancreatic cancer is usually detected at an advanced stage of disease and most treatment regimens are ineffective, contributing to the poor overall prognosis.

Early detection and diagnosis are the key to successful clinical management of pancreatic cancer and to improve patients outcome. Compared to tissue samples, that remain the gold standard for diagnosis, liquid biopsies are of particular interest in clinical because they are nontraumatic, easy to obtain, reflect the overall state of the tumor, and allow for real-time monitoring. The potential of liquid biopsies in pancreatic cancer has been demonstrated in residual disease and recurrence. However, new opportunities for early diagnosis are emerging. Liquid biopsies can capture tumor-associated components, such as circulating tumor DNA (ctDNA), extracellular vesicles (EVs), and circulating tumor cells (CTCs), each of which provides genomic and molecular information for early diagnosis, prognosis, and clinical decisions. This review aims to summarize the research progress and clinical application of liquid biopsy in early screening and diagnostic strategies for early pancreatic cancer.

Keywords: Pancreatic Cancer, Liquid Biopsy, Circulating Tumor DNA, Circulating Tumor Cells, Exosomes

Má Perfusão Vascular Materna: achados patológicos observados no estudo da placenta

Eduarda Fragoso*¹, Catarina Cerdeira², Rui Caetano Oliveira², Cláudia Córdova¹ & Raquel Pina²

1. Escola Superior de Saúde Dr. Lopes Dias, Instituto Politécnico de Castelo Branco (ESALD-IPCB), Castelo Branco, Portugal; 2. Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC) Serviço de Anatomia Patológica, Coimbra, Portugal.

As lesões de má perfusão vascular materna, também denominadas de lesões do tipo hipóxico-isquémicas, são lesões que indicam uma baixa taxa de oxigénio na placenta e no feto. A má perfusão vascular materna é uma entidade clinicamente importante, e que nem sempre é diagnosticada previamente. A pré-eclâmpsia e a diabetes

estão muitas vezes associadas a esta patologia. Os achados morfológicos incluem enfartes placentários, a deposição de fibrina, trombos, hematomas e a arteriopatia decidual. O principal objetivo deste trabalho é identificar os principais achados patológicos, na presença de lesões de má perfusão vascular materna, em casos de morte fetal. Nesta investigação, de um total de 203 casos de mortes fetais, decorrentes entre 2015 e 2018 do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, foram incluídos 12 casos desta entidade patológica. Dos resultados obtidos, o hematoma retroplacentário é o achado mais prevalente, resultante do descolamento placentar. Desta forma, podemos verificar que este achado deve ser considerado um fator de alto risco para a morte fetal.

Keywords: Fetal Death, Placenta, Thrombosis, Fibrin e Pre-Eclampsia.

Metabolomics: a promising translational tool for the diagnosis of obesity and overweight

Ana Lopes ^{*1}; Naïs Auger²& Sónia Pinho ^{1,3,4}

1. Coimbra Polytechnic – Escola Superior Agrária de Coimbra, Coimbra, Portugal; 2. Escola Universitária Vasco da Gama, Coimbra, Portugal; 3. CNC - Center for Neurosciences and Cell Biology, University of Coimbra, Coimbra, Portugal; 4. CIVG - Vasco da Gama Research Center, Vasco da Gama University School, Av. José R. Sousa Fernandes 197 Lordemão, 3020-210 Coimbra, Portugal.

Veterinary clinics have struggled with the increasing prevalence and incidence of obesity and do not distinguish well between healthy weight, overweight and obese dogs. Moreover, the diagnosis of obesity scoring has subjectivity and variability, and precise techniques are still not available for common practice.

Metabolomics is the study of metabolic changes and provides the fingerprints of small molecules related to the disease. It allows the characterization and quantification of metabolites from biological fluids such as urine, plasma, and saliva.

It can describe the biochemical phenotype of a biological system and provides a basis

for the prevention or treatment of obesity. With potential advantages in sensitivity and specificity, compared to classical diagnostic approaches and conventional clinical biomarkers.

In human medicine, obesity has been dangerously increasing and has successfully applied metabolomics for the accurate assessment of this disease and for the discovery of new useful biomarkers for the diagnosis and follow-up of patients.

Dogs and humans share many predisposing factors for overweight problems, such as sedentary lifestyle, poor nutritional habits, and genetic predisposition. A parallelism between canine and human obesity research was carried out to highlight the value of translational studies to better understand, prevent and find potential targets for the diagnosis and treatment of this pathology, as well as to consider future experimental studies in obese dogs, as a valuable spontaneous model of this disease.

Veterinary medical studies can contribute to the development of early diagnostic markers related to obesity with high impact in animal and human health.

Keywords: obesity, metabolomics, animal model

Metodologia mais adequada para monitorização de um componente monoclonal atípico - Descrição de um caso

Carla Azevedo¹, Bruno Fernandes¹, Ana Marta Pires¹, Ana Catarina Fonseca¹, João Barreto¹, Cláudia Moreira², Carina Faria¹, Carlos Palmeira¹, Maria Emília Sousa¹, Inês Godinho¹, José Mariz², Gabriela Martins¹

1-Serviço de Patologia Clínica do Instituto Português de Oncologia do Porto, F.G. E.P.E., Portugal; 2- Serviço de Onco-Hematologia do Instituto Português de Oncologia do Porto, F.G. E.P.E., Portugal;

A proteína monoclonal produzida pelas displasias plasmocitárias (DP), como o mieloma múltiplo (MM), pode ser quantificada pelo pico monoclonal (picoM) na eletroforese de proteínas (EPS), podendo, em alguns casos, ser de difícil doseamento.

O Ensaio HevyLite® (HLC), que doseia os pares cadeias pesadas/cadeias leves, tem-se mostrado útil na monitorização de doentes com DP, principalmente no caso de imunoglobulinas monoclonais de migração ampla que são difíceis de quantificar por métodos eletroforéticos.

Pretendemos avaliar qual a metodologia mais adequada para monitorização de um picoM atípico.

Doente do sexo masculino seguido por carcinoma da mama, em consulta apresentou uma baixa de hemoglobina. Solicitaram EPS verificando-se um pico de morfologia atípica de base larga na fração gama. A imunofixação revelou um componente monoclonal IgAK e cadeias leves livres kappa. O doseamento do picoM foi de 20,2g/L, IgA total 29,93g/L, cadeias leves livres (CLL) kappa (KL) 1,09g/L e rácio KF/LF 159,78, HLC IgAK 51,59g/L, IgAL 0,079g/L e rácio IgAK/IgAL 652,97.

Três meses após início de tratamento não era evidente um picoM na EPS, verificandose HLC IgAK 20,64g/L, IgAL 0,03g/L, rI-gAK/IgAL 688, rácio KF/LF 50,59 e IgA 10,78g/L.

Durante a monitorização, os valores de todos os parâmetros foram diminuindo permanecendo, no entanto, elevados. A EPS deixou de ser informativa para quantificação do PicoM.

Este caso mostra como o componente monoclonal na EPS pode ser de difícil doseamento. A quantificação de HLC é um método mais sensível para monitorização da doença, contornando assim algumas limitações das técnicas tradicionais incluindo os aspetos dependentes do operador.

Keywords: Mieloma múltiplo, Hevylite®, Eletroforese

Novas Metodologias para Prevenção e controlo de Legionella

Ana Dionísio*¹, Paula Lourenço ¹ & Liliana Costa¹

1. Unidade Local de Saúde da Guarda, E.P.E, Guarda, Portugal.

*A Doença dos Legionários foi identificada pela primeira vez em Portugal em 1979 e pertence à lista de Doenças de Declaração Obrigatória desde 1999. A *L. pneumophila* é a espécie mais patogénica, sendo que o serogrupo 1 é identificado em mais de 80% dos casos. A Organização Mundial da Saúde assume-a como uma emergência de Saúde Pública. A taxa de mortalidade Europeia é de cerca de 10% e não existe vacina. Têm ocorrido em Portugal surtos e casos graves de infeção de carácter cada vez mais frequente, pelo que, recentemente foram publicados diplomas legais, com o objetivo de prevenir surtos. Os reservatórios de *Legionella* encontram-se em ambientes aquáticos naturais e artificiais.*

O Método Cultural (MC) que é o Gold Standard, só permite obter resultados negativos após 10 dias de incubação. Se houver crescimento, os resultados definitivos poderão demorar mais 5 dias e, se a bactéria se encontrar num estado não cultivável (em concentrações muito baixas ou integrada em biofilmes) não permite a sua deteção.

*Desde 2018 realizaram-se 1165 análises em águas para pesquisa de *Legionella* por RTPCR. Quando a presença de ADN é detetada, o Legiolert® permite verificar se a bactéria está viável e determinar o serogrupo. Os resultados obtidos são sobreponíveis aos do MC. Vários estudos confirmam que um resultado negativo por RT-PCR será muito provavelmente negativo no MC.*

Torna-se indispensável a utilização de métodos mais rápidos, que permitam tomadas de decisão em tempo útil e que consigam detetar bactérias viáveis, mas não cultiváveis, que são potencialmente patogénicas.

Keywords: Legionella, Água, Prevenção, Controlo.

Novos Marcadores Imunofenotípicos de Prognóstico no Mieloma Múltiplo.

Cláudio Reis*^{1,2}, Conceição Magalhães¹, Cristina Marques¹, João Tiago Guimarães^{1,3,4}, Margarida Pereira² & Sónia Silva¹.

1. Serviço de Patologia Clínica, Centro Hospital Universitário São João, Porto, Portugal; 2. Escola Superior de Saúde, Instituto Politécnico do Porto, Portugal; 3. Departamento de Bioquímica, Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Portugal; 4. Instituto de Saúde Pública, Universidade do Porto, Portugal.

Introdução: O mieloma múltiplo (MM) é uma discrasia plasmocitária, caracterizada pela proliferação de um clone de plasmócitos neoplásicos. A Euroflow definiu um painel de anticorpos direcionado para o diagnóstico e prognóstico do MM, por citometria de fluxo (CF). Vários parâmetros clínicos-laboratoriais são utilizados na determinação do prognóstico desta doença, tendo sido recentemente implementados novos marcadores imunofenotípicos com valor prognóstico (CD27, CD28, CD81 e CD117). **Objetivo:** Este estudo pretende comparar os novos marcadores imunofenotípicos com o

sistema de estadiamento International Staging System (ISS), utilizado no prognóstico do MM.

Materiais e Métodos: Foram recolhidos vários dados clínico-laboratoriais, de 33 novos casos de MM diagnosticados no Centro Hospitalar e Universitário de São João, entre janeiro e dezembro de 2018. Avaliou-se a expressão dos marcadores imunofenotípicos (CD27, CD28, CD81 e CD117) nos plasmócitos mielomatosos, por CF.

Resultados: Não foi encontrada nenhuma relação entre os novos marcadores celulares de prognóstico e o sistema de estadiamento de ISS ($p > 0,005$).

Conclusão: A não associação dos marcadores imunofenotípicos com o prognóstico de doentes com MM poderá ter sido condicionada pelo reduzido tamanho amostral, sendo necessário estudos futuros, focando-se na sobrevivência destes doentes e comparando com outros fatores de prognóstico.

Keywords: mieloma múltiplo, citometria de fluxo, prognóstico, novos marcadores celulares.

O impacto de diferentes métodos de montagem na digitalização de lâminas histológicas

Diana Ferreira¹, João Vale¹, Mónica Curado¹, António Polónia^{1,2}, Catarina Eloy^{*1,2,3}

1. Laboratório de Anatomia Patológica, Instituto de Patologia Molecular e Imunologia da Universidade do Porto (Ipatimup), Porto, Portugal; 2. Instituto de Investigação e Inovação Em Saúde (i3S), Porto, Portugal; 3. Faculdade de Medicina, Universidade do Porto (FMUP), Porto, Portugal

A patologia digital visa a digitalização de lâminas histológicas com vista à produção de imagens digitais. A qualidade das imagens digitais depende da qualidade das lâminas físicas produzidas pelo laboratório de histopatologia – este processo inclui a montagem das lâminas. Neste estudo, foram comparados os métodos de montagem por lamela de vidro, film e lamela líquida, de forma a identificar o melhor para patologia digital e, ainda, avaliar se todos são adequados para contexto diagnóstico. Para isso, foram usadas dezoito amostras de tecidos fixados em formol, processados e embebidos em parafina. De cada bloco foram

feitos três cortes consecutivos e cada lâmina foi montada de acordo com um dos três métodos. As lâminas foram digitalizadas e avaliadas segundo diferentes critérios por dois patologistas experientes em patologia digital. Todos os métodos foram considerados adequados para diagnóstico. O método de lamela de vidro apresentou maior presença de bolhas de ar. O método de film e lamela líquida apresentaram resultados semelhantes no que diz respeito à presença de bolhas de ar, artefactos de secagem, exposição do tecido e alterações na coloração. O método de lamela líquida apresentou mais alterações nas imagens digitais em relação ao film, mas foi o método que produziu imagens de menor tamanho. O laboratório onde este estudo foi conduzido está otimizado para o uso de film. A calibração do digitalizador para o método utilizado pode interferir na qualidade da imagem gerada. O aperfeiçoamento dos meios de montagem contribuirá para uma maior e melhor utilização da patologia digital na prática clínica.

Palavras-Chave: Patologia Digital; Montagem;

Ocorrência de crioaglutininas em contexto de COVID-19.

Ângela Rodrigues¹, Miguel Miranda^{1,2}, Anabela Correia¹, Viviana Gonçalves*¹ & Sandra Pinto¹.

1. ULSNE, Bragança, Portugal; 2. Instituto Politécnico de Bragança – Escola Superior de Saúde, Bragança, Portugal.

As aglutininas frias são anticorpos da classe IgM que reagem aos antígenos presentes nos eritrócitos quando há exposição a temperaturas mais baixas (inferior a 30°C), podendo causar aglutinação dos glóbulos rubros e hemólise intra e extravascular. Os autoanticorpos podem ser de causa primária (idiopática) IgM monoclonal ou secundária IgM monoclonal ou policlonal. As aglutininas induzidas por infeção tem como

agentes mais comuns o Mycoplasma pneumoniae, EpsteinBarr vírus, Citomegalovírus, Influenza vírus, Vírus da Imunodeficiência Humana e o SARSCov2.

O caso clínico remete a paciente jovem, sexo feminino, 19 anos, apresenta quadro infeccioso com febre, mialgias e tosse seca. No espaço de três meses, teve infeção por Adenovírus e Vírus Sincicial Respiratório. No presente quadro, desenvolve anemia aparente. No esfregaço de sangue periférico observou-se rouleaux, que possibilitou o identificar a ocorrência de crioaglutininas induzidas por SARSCov2 (confirmado em PCR RT).

Keywords: SARSCov2, Aglutininas frias, Autoanticorpos, Covid-19

Oil Red O counterstaining with Hematoxylin-Eosin in early kidney disease using a mice model

Francisco Morais¹, Fernando Mendes^{1,2,3,4,5,6}, Sofia Viana^{2,3,4,7,8} & Diana Martins^{1,2,3,4,5*}

1-Politécnico de Coimbra, ESTeSC, UCPCBL, Coimbra, Portugal; 2- Laboratório de Investiga o em Ciências Aplicadas   Saúde (LabinSaúde), Politécnico de Coimbra, ESTeSC, Coimbra, Portugal; 3- Coimbra Institute for Clinical and Biomedical Research (iCBR) Area of Environment Genetics and Oncobiology (CIMAGO), Biophysics Institute of Faculty of Medicine, University of Coimbra, Portugal; 4- Center for Innovative Biomedicine and Biotechnology (CIBB), University of Coimbra, Portugal; 5- Clinical Academic Center of Coimbra (CACC), Coimbra, Portugal; 6- European Association for Professions in Biomedical Sciences, Brussels, Belgium; 7- Politécnico de Coimbra, ESTeSC, UCPFARM, Coimbra, Portugal; 8-Institute of Pharmacology & Experimental Therapeutics & Coimbra Institute for Clinical and Biomedical Research (iCBR), Faculty of Medicine, University of Coimbra, 3000-548 Coimbra, Portugal.

Obesity has become an increasing public health problem worldwide. Renal lipidosi is well described in obesity and diabetic kidney disease. However, the phenotype and the pathophysiological features associated with nephrotic disease and renal lipidosi are not fully understood. Our aim was to perform a Red Oil Counterstaining with hematoxylin-eosin (HE) to explore the location of lipid accumulation and to achieve a better definition of specific renal structures. We used an obese rat model induced by

high-fat diet to characterize the phenotype of renal lipidosi. We performed the Red Oil staining on renal frozen sections in the control samples (CTL) (n=6) and the high fat diet samples (HFD) (n=6) and compared with Red Oil counterstaining with HE in the same groups. Briefly, the samples were rinse with 60% isopropanol, stained with oil red o working solution, rinse in isopropanol and nuclei staining with hematoxylin. The slides with Red Oil counterstaining with HE, have the same protocol, and after the staining with hematoxylin, the slides were stained with eosin. The results demonstrated that CTRL animals demonstrated low lipid accumulation, whereas HFD group showed enhanced lipid accumulation, suggesting that it is possible to perform the Oil Red O counterstaining with HE on the same slide. The counterstaining with HE suggested that the lipid deposition occurs predominantly in the glomeruli and not in the tubules, however we encountered some drawbacks due to the usage of the frozen sections, resulting in tissue distortion and a less satisfactory staining. Further studies are needed to improve Red Oil counterstaining with HE.

Keywords: oil red o, hematoxylin-eosin, kidney disease, obesity

Otimização da Técnica de *Corrosion Casting* em Placentas Humanas

Mariana Ribeiro*¹, Raquel Pina¹ & Catarina Cerdeira¹

1. Serviço de Anatomia Patológica do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC), Coimbra, Portugal.

Cerca de 20% das gestações gemelares são monocoriónicas (MC). Este tipo de gestação está associado a maiores taxas de morbili-dade e mortalidade do que as bicoriónicas. Sendo que, aproximadamente 50% das ges-tações gemelares MC, desenvolvem compli-cações decorrentes da partilha da placenta e consequente presença de anastomoses. As anastomoses vasculares placentares são características das placentas monocorióni-cas, tendo um papel preponderante na gé-nese de múltiplas complicações, nomeada-mente na Síndrome de Transfusão Feto-Fetal (STFF), na Sequência de Perfusão Arte-rial Reversa (TRAP) e na Sequência de Ane-mia-Policitemia em Gémeos (TAPS). Estudos anatomopatológicos alusivos ao tipo, número e dimensão das anastomoses placentares; ao local de inserção e grau de espiralização do cordão; dimensões da pla-centa e padrões de distribuição vascular,

desempenham um papel fundamental na descoberta da etiologia destas complica-ções.

*O objetivo deste trabalho foi a otimização do protocolo de *corrosion casting* em pla-centas humanas, visando a sua posterior implementação na avaliação de anastomo-ses e sua associação com complicações transversais às gestações gemelares, em particular monocoriónicas.*

*A *corrosion casting* é uma técnica que per-mite a fácil identificação das anastomoses através da perfusão vascular de um polí-mero de baixa viscosidade, corado. Posteri-ormente, o molde é sujeito a polimerização. O tecido adjacente às estruturas anatómi-cas preenchidas pelo polímero é macerado, resultando numa réplica tridimensional das estruturas de interesse.*

*A realização de *corrosion casting* em pla-centas provou ser uma técnica eficiente e viável na aquisição de conhecimentos sobre a fisiopatologia das complicações fetais e suas sequelas. O polímero demonstrou ele-vada capacidade de penetração, alcan-çando estruturas de calibre reduzido.*

Keywords: placenta, *corrosion casting*, poly-mers, perfusion, Fetofetal Transfusion

Perfil da Resposta Imunológica à COVID-19 na Comunidade Académica da Universidade do Algarve

Ana Parreira ¹; David Baptista ¹; Rodrigo Vogado ¹; João Furtado ^{1,2}; Fábio Mendez ^{1,2}; Sandra Coelho ^{1,2}; Rui Plácido ^{1,2}

1-Escola Superior de Saúde da Universidade do Algarve, Portugal. 2- Centro de Estudos em Saúde da Escola Superior de Saúde da Universidade do Algarve, Portugal

A pandemia por doença do coronavírus (COVID-19), causada pelo vírus SARSCoV-2, causou a urgência à escala mundial para o rápido e eficaz diagnóstico, tratamento e controlo da sua propagação. A vacinação, fator crítico para obtenção de imunidade de grupo, foi fundamental como medida para a sua contenção.

O projeto teve como objetivo o estudo da comunidade académica da Universidade do Algarve relativamente à seroprevalência e seropreservância de anticorpos (IgG; IgM) em indivíduos expostos, natural e/ou artificialmente ao vírus.

Foi efetuada a análise transversal de 337 voluntários, quanto à presença/ausência de anticorpos anti-SARS-CoV-2, através da testagem serológica, bem como à

exposição ao vírus (infecção e/ou vacinação), recorrendo a um questionário respondido pelos próprios. Foi ainda possível analisar os comportamentos da população face à vacinação, bem como estudar a resposta serológica face à exposição vírus.

Nos resultados obtidos, observou-se uma seroprevalência de 85%. Indivíduos recentemente vacinados apresentam ter, maioritariamente, o esquema de vacinação completo (88%), e indivíduos com infecção recente, 95% dos quais vacinados, mostram sintomas maioritariamente ligeiros.

Relativamente à seropreservância, confirmou-se a relação entre o tempo após o último estímulo imunológico e a presença de anticorpos, em períodos iguais/superiores a 6 meses. Ainda se observou, no intervalo de 3-6 meses após imunização (natural ou artificial), uma maior taxa de seronegatividade em indivíduos recentemente vacinados (19,2%), face aos recentemente diagnosticados com COVID-19 (6,8%).

Foi possível confirmar o cumprimento da percentagem de seropositividade requerida para conferir o efeito de imunidade de grupo a uma população (85%).

Keywords: COVID19; Vacinação; AC-anti-SARS-CoV-2; Seroprevalência; Seropreservância

Produção de Pools de Plaquetas no Laboratório Regional de Saúde Pública Dr.^a Laura Ayres (LRSP - LLA)/IPST : Comparação de Métodos

Vera Maria^{1,2}, Fábria Encarnação^{*1,2}, Isa Oliveira^{1,2} & Eugénia Vasconcelos¹

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

O “Guide to the preparation, use and quality assurance of BLOOD COMPONENTS” da EDQM determina que os Pools de Plaquetas (CPP) com redução patogénica (RP), são plaquetas desleucocitadas obtidas de 4 a 6 dádivas de sangue total, sujeitas a um tratamento de RP, antes do armazenamento. Os critérios mínimos dos CPP desleucocitados são 2×10^9 plt/U e leucócitos residuais (LR) inferior a 1×10^6 WBC/U. Comparou-se o processamento manual (centifugação: Cryofuge 6000i / separação: Compo-Mat[®]G5) com o automatizado (TACSI) e com a RP com amatosaleno (Cerus). Entre outubro de 2016 e dezembro de 2022

efetuou-se a contagem de plaquetas em 1471 CPP e LR em 1198, analisando-se os motivos de inutilização. A análise comparativa demonstrou que a automatização do processamento dos CPP aumentou a contagem média do número de plaquetas ($301,4 \pm 54,5 \times 10^9$ plt/U vs $284,3 \pm 46,0 \times 10^9$ plt/U), diminuiu a percentagem de CPP não conformes (1,56 vs 0,59), de inutilizações no processamento (1,8 vs 0,9) e de LR não conformes (0 vs 0,16). A adição da RP ao processamento automatizado dos CPP levou à diminuição da contagem média do número de plaquetas ($268,3 \pm 44,1 \times 10^9$ plt/U), ao aumento dos CPP não conformes (2,08) e de inutilizações no processamento (1,28). A automatização do processamento dos CPP permitiu a sua produção com 4 CB, um acréscimo na qualidade (aumento da contagem de plaquetas) e um decréscimo na percentagem de inutilizações. Estas tendências inverteram-se nos CPP com RP, sendo compensadas pelo aumento da segurança transfusional.

Keywords: platelets, amotosalen

Rastreo do Cancro do Colón e do Reto - Balanço do Primeiro Ano

Ana Dionísio*¹ & Paula Lourenço¹

1. Unidade Local de Saúde da Guarda, E.P.E, Guarda, Portugal.

O Cancro Colon Retal (CCR) é um problema de Saúde Pública a nível mundial, que mata cerca de 700 000 pessoas por ano, estimando-se que o número absoluto de casos continuará a crescer nas próximas décadas como resultado do envelhecimento e expansão das populações. No entanto, é o cancro mais suscetível de ser prevenido através da realização de rastreios base populacional, mais eficazes e económicos do que os oportunistas, observando-se uma redução das taxas de mortalidade de cerca de 20%, permitindo a deteção e tratamento precoce das lesões precursoras, com redução da taxa morbilidade e diminuição da incidência de CCR invasivos.

O rastreio é realizado através da pesquisa de sangue oculto nas fezes por teste imunológico quantitativo, que deteta pequenas quantidades de hemoglobina humana, utilizando anticorpos específicos. No primeiro ano a taxa de cobertura rondou os 20%, abaixo da média nacional de 41% em 2020. Obtiveram-se 7,1% de resultados positivos, taxa superior à média nacional, mas não é possível retirar conclusões uma vez que nem todos correspondem a lesões malignas. A taxa de incidência foi maior no sexo masculino. Será necessário um investimento sistemático e relevante para se alcançar o objetivo de cobertura. A evidência científica mostra que este rastreio é o mais custo efetivo e seguro, pelo que é imperativo implementar medidas para aumentar a adesão dos utentes e das unidades de saúde e também aumentar a sua literacia uma vez que a medida mais eficaz para prevenir o CCR é a adoção de comportamentos saudáveis.

Keywords: Cancro, Rastreio, Prevenção

Rastreo Organizado do Cancro do Colo do Útero Açores – Perspetiva de um Novo Paradigma

Débora Maciel*^{1,2}, Sílvia Fernandes^{3,4} & Regina A. Silva^{3,5}

1-Hospital do Divino Espírito Santo de Ponta Delgada EPER, Ponta Delgada, São Miguel, Açores; 2- Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto (ESS|P.PORTO), Porto, Portugal; 3- Área Técnico-Científica de Anatomia Patológica, Citológica e Tanatológica, ESS|P.PORTO, Porto, Portugal; 4-Centro de Investigação em Saúde Translacional e Biotecnologia Médica, ESS|P.PORTO, Porto, Portugal; 5- Centro de Investigação em Saúde e Ambiente, ESS|P.PORTO, Porto, Portugal.

O cancro do colo do útero é um dos cancros mais frequentes na mulher a nível global. Em 2010, foi implementado o programa de Rastreo Organizado do Cancro do Colo do Útero dos Açores (ROCCA) usando como teste primário o método de citologia líquida para a identificação precoce de lesões precursoras. Em 2020 foi implementada uma nova metodologia de rastreo, o teste de HPV mRNA - Aptima™ HPV Assay (Hologic), seguido de genotipagem. Este trabalho tem como objetivo avaliar a eficácia da implementação do ROCCA, bem como a adequabilidade do método molecular enquanto ferramenta de rastreo.

No estudo foram considerados os resultados apurados do 4º ciclo de rastreo (2021 e 2022), com um total de 16 647 mulheres. Foi analisada a participação populacional, a qualidade da amostra, o valor preditivo positivo e negativo do teste molecular, assim como a correlação cito-histológica e a

taxa de referenciação para consulta de patologia cervical.

Os resultados já analisados mostram que, a taxa média de resultados negativos é 90%, com uma taxa de aferição superior e uma taxa de resultados inconclusivos inferior em relação ao método anteriormente utilizado. Além disso, verificou-se o aumento da qualidade da amostra, assim como da taxa de adesão e de abrangência populacional.

Assim, o teste Aptima™ HPV Assay usado no ROCCA revela ser uma ferramenta de triagem adequada, sendo expectável a deteção de mais casos positivos com necessidade de intervenção/acompanhamento específico, otimizando o rastreo do cancro cervical na população dos Açores.

Palavras-chave: Cancro do colo do útero, HPV, Rastreo, Teste HPV, ROCCA

Segurança laboratorial em Anatomia Patológica: é viável a utilização de Formalina a 2,5% na fixação de rotina de amostras histopatológicas?

Raquel Graça-Lopes¹, Mariana Almeida¹, João Palma^{1,2}, Mário Maia-Matos¹, Carina Ladeira¹, Amadeu Borges-Ferro*¹

1. Escola Superior de Tecnologia da Saúde de Lisboa - Instituto Politécnico de Lisboa, Lisboa, Portugal; 2. Hospital Vila Franca de Xira, Vila Franca de Xira, Portugal.

O formaldeído (em solução aquosa denominada formalina) é o agente fixador mais utilizado em histopatologia. No entanto, este é altamente tóxico, pondo em perigo os profissionais, assim como o meio ambiente. Apesar de ser habitual utilizar a formalina a 10%, esta concentração não é sustentada por evidência consistente.

Procurando a melhoria das condições de segurança no laboratório, este estudo verifica a possibilidade de utilização de formalina numa concentração inferior, mantendo a qualidade dos resultados. Esta pesquisa tem como objetivo a comparação da qualidade dos resultados Imunohistoquímicos em amostras histológicas fixadas em concentrações de formalina inferiores a 10%.

Utilizou-se formalina a 10%, 7,5% e 2,5% para fixar, durante 48 horas, fragmentos de placenta humana. Para cada concentração obtiveram-se 30 blocos de parafina que foram seccionados em cortes de 3 micra de espessura e sujeitos à técnica imunohistoquímica (Ventana Benchmark GX - Opti-View DAB) para deteção de vimentina (NCL-L-VIM-V9). Os resultados foram avaliados por dois especialistas, com recurso ao Global Immunohistochemistry Score (GIS). Os dados obtidos foram sujeitos ao teste de Kruskal-Wallis com pairwise comparison ($\alpha=0,05$).

Os resultados foram (média - desvio-padrão): formalina: 2,5% (90,10-0,89); 7,5% (86,77-0,93); 10% (82,94-1,24). O teste Kruskal-Wallis revelou diferenças entre formalina a 2,5% e todos os outros fixadores ($p<0,05$).

Os resultados sustentam que a formalina a 2,5% apresentou os melhores resultados imunohistoquímicos. Mesmo considerando esta investigação como exploratória, é possível começar a considerar a diminuição da concentração de formalina utilizada na fixação de amostras histológicas, aumentando de forma expressiva a segurança dos profissionais.

Keywords: Formaldehyde, Formalin, Safety, Tissue Fixation, Immunohistochemistry

Sequência de perfusão arterial reversa (sequência TRAP) - relato de caso

Catarina Cerdeira*¹, Mariana Ribeiro¹, Vânia Almeida¹, Eduarda Fragoso², Ana Lai¹ & Raquel Pina¹

1. Serviço de Anatomia Patológica do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra (CHUC), Coimbra, Portugal; 2. Escola Superior de Saúde Dr. Lopes Dias (ESALD), Castelo Branco, Portugal.

A sequência de perfusão arterial reversa de gémeos/Twin reversed arterial perfusion (TRAP) é uma complicação grave que ocorre em 0,1% das gestações gemelares monocoriónicas. Caracteriza-se pela dependência hemodinâmica de um gémeo sem sistema cardiovascular funcionando "acárdico" de um gémeo "bomba", devido à presença de anastomoses vasculares placentárias.

Apresentamos um caso de sequência TRAP com estudo anatomopatológico no Serviço de Anatomia Patológica do Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra.

A grávida não apresentava fatores de risco obstétricos ou outros; às 12 semanas de gestação a ecografia obstétrica revelou uma gravidez gemelar monocoriónica bi-amniótica, sendo um feto morfologicamente normal e o outro descrito como uma

massa amorfa com biometria de 6 semanas, sem vitalidade. O parto ocorreu às 41 semanas, tendo nascido uma criança com 3925 g, com boa adaptação à vida extrauterina (Índice de apgar 9/10/10), com expulsão simultânea do feto não viável.

A placenta seguiu para estudo anatomopatológico e o feto acárdico para autópsia. Macroscopicamente observaram-se dois cordões umbilicais, um deles muito curto e duas anastomoses vasculares importantes, sem trombose.

O feto amorfo apresentava superfície externa lobulada, com uma área contendo pelos, não apresentava membros nem definição de polos cefálico e caudal. Ao corte, reconheceram-se os seguintes tecidos: pele, tecido adiposo, corpos vertebrais contendo medula espinhal, constituindo coluna vertebral e tecido muscular esquelético.

O caso ilustra uma entidade que, apesar de rara, deve ser reconhecida ecograficamente e no estudo anatomopatológico. O estudo conjunto da placenta e do feto acárdico permitiram a confirmação do diagnóstico, com detalhe nas anomalias morfológicas.

Keywords: Placenta, Pathology, Autopsy, Pregnancy, Twins

Serodiagnóstico da *Yersinia enterocolitica* numa População Adulta do Centro de Portugal

Carla Rio*¹ & Sofia Moura¹

1. Instituto Nacional de Saúde Doutor Ricardo Jorge (INSA), Porto, Portugal.

A infeção por Yersinia enterocolitica é considerada uma zoonose, sendo que o principal reservatório desta bactéria é o porco. A nível europeu, os serotipos de Y. enterocolitica mais frequentemente isolados de amostras humanas são o O:3 seguido do O:9.

O presente estudo teve como objetivo determinar a frequência de anticorpos IgG contra quatro serotipos da Y. enterocolitica em indivíduos adultos residentes numa área da região Centro de Portugal, entre 2017 a 2022.

Foi realizado um estudo retrospectivo de 60 indivíduos adultos com resultado positivo para pesquisa de anticorpos IgG contra Y. enterocolitica (serotipos O:3, O:4, O:6 e O:9), em amostras de soro.

Ao longo dos seis anos do período de estudo, o serotipo que foi detetado com maior frequência foi o O:3 (37/60; 61,7%), seguido do O:6 (9/60; 15,0%), do O:4 (4/60; 6,6%) e finalmente do O:9 (3/60; 5,0%). Sete indivíduos (11,7%) apresentaram múltipla reatividade para diferentes serotipos.

Neste estudo, o serotipo mais frequentemente detetado foi o O:3, o que está de acordo com a distribuição dos serotipos da Y. enterocolitica, tanto a nível europeu como a nível mundial. É de salientar que a presença de anticorpos contra os serotipos O:4 e O:6 não significa obrigatoriamente patologia causada por Y. enterocolitica, no entanto, em indivíduos imunocomprometidos a sua presença pode ter relevância para o diagnóstico. Em conclusão, este estudo revelou a existência de contacto com Y. enterocolitica numa população adulta, demonstrando assim a necessidade do diagnóstico nesta faixa etária.

Palavras-chave: *Yersinia enterocolitica*, anticorpos, Portugal

Spinal cord embedding using a cryoembedder – a comparative study

Raquel Quitéria¹, Mariana Rebocho da Costa¹, Ana Filipa Isidro¹ & Leonor Saúde^{1,2}

1. Instituto de Medicina Molecular – João Lobo Antunes, Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa, 1649-028 Lisboa, Portugal; 2. Instituto de Histologia e Biologia do Desenvolvimento, Faculdade de Medicina da Universidade de Lisboa, 1649-028 Lisboa, Portugal.

Histological sections of both injured and uninjured spinal cords are essential to study the biological events that occur at tissue level upon an injury. Correct orientation of samples during embedding is crucial to obtain quality cryosections and controlled fast freezing technics are essential to guaranty that this orientation is not lost during freezing. In this study, we compared different embedding approaches using a cryoembedder, PrestoCHILL (Milestone Medical), that allows for the elimination of contact with the hazardous reagents used in conventional fast freezing technics (i.e. liquid nitrogen and isopentane). Spinal cord segments of both mice and zebrafish were embedded for cryosectioning in the following conditions: in MCC compound using the PrestoCHILL cryoembedding apparatus; in

gelatin using the PrestoCHILL cryoembedding apparatus and in conventional gelatine block using the PrestoCHILL fast freezing apparatus. Longitudinal and transversal spinal cord sections of different thicknesses were stained with hematoxylin eosin to evaluate overall section quality. Tissue morphology was well preserved in all embedding conditions. However, correct spinal cord orientation for longitudinal sections of samples embedded using the PrestoCHILL cryoembedding apparatus was harder to achieve during cryosectioning when compared to samples embedded using the conventional gelatine block method. Regarding embedding mediums, gelatine allowed for easier cryosectioning of the samples when compared to MCC compound, whose sections had a greater tendency to curl. In conclusion, the PrestoCHILL cryoembedder presents as possible viable option for safe spinal cord embedding in a research context, but various optimizations are required to obtain the best results particularly considering the histology workflow.

Keywords: histology, spinal cord, histological techniques, cryosectioning, safety

Tendências na circulação de SARS-CoV-2, Influenza e RSV - outubro de 2019 a dezembro de 2022

Raquel P Costa^{1*}, Rodolfo R Serra^{2*}, João Pereira-Vaz¹, Alexandra Mendes, Ana Vaz¹, Lurdes Correira¹, Fernando Rodrigues³

1. Serviço de Patologia Clínica - Laboratório de Virologia, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, Portugal; 2. Serviço de Patologia Clínica - Laboratório de Citogenética, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, Portugal; 3. Serviço de Patologia Clínica, Centro Hospitalar e Universitário de Coimbra, Portugal

Os vírus Influenza A e B, e RSV encontram-se entre os principais agentes etiológicos de infeções respiratórias. No decurso da pandemia de SARS-CoV-2, foram implementadas intervenções não farmacológicas que podem ter alterado os padrões de circulação destes vírus sazonais. O objetivo deste estudo foi avaliar a prevalência dos vírus Influenza A, Influenza B, RSV e SARS-CoV-2, na população hospitalar e de ambulatório de um hospital de referência da região centro de Portugal, no período compreendido entre outubro de 2019 e dezembro de 2022. Os dados foram obtidos através de uma pesquisa parametrizada no sistema de

gestão laboratorial. Um total de 349 284 amostras foram testadas para estes vírus respiratórios, das quais 95% representaram o rastreio de SARS-CoV-2.

No primeiro ano de pandemia registaram-se dois picos de SARS-CoV-2, no primeiro e último trimestre, prolongando-se ao primeiro trimestre de 2021. No terceiro trimestre de 2021 verificou-se uma circulação atípica de RSV, voltando a atingir valores residuais no primeiro trimestre de 2022. Neste período registou-se um aumento da prevalência de Influenza A e de SARS-CoV-2, embora este último com um valor menos significativo relativamente ao Influenza A. No último trimestre avaliado registaram-se as maiores prevalências de Influenza A e RSV. Não foi observada uma circulação significativa de Influenza B, desde 2020.

Os dados evidenciaram uma predominância do rastreio SARS-CoV-2, negligenciando outros vírus respiratórios. Observou-se uma alteração nos padrões de circulação dos vírus sazonais analisados, durante o período selecionado para este estudo sugerindo uma forte associação com as intervenções não farmacológicas implementadas.

Keywords: Vírus Influenza A, Vírus Influenza B, RSV, SARS-CoV-2

Teste Fragilidade Osmótica por Citometria de Fluxo, o teste de referência do futuro: Estudo comparativo entre três soluções salinas

Marlene Santos*¹, Jasmijn Schelfhout², Ana Helena Santos¹, Sílvia Fernandes³, Vânia Ventura¹, Lurdes Oliveira¹, Marta Gonçalves¹, Raquel Moreira¹, Sónia Fonseca¹, Filipa Martins Pereira¹, Filipa Santos¹, Catarina Lau¹, Maria Anjos Teixeira¹

1-Laboratório de Citometria, Unidade Diagnóstico Hematológico Margarida Lima, Serviço Hematologia Clínica, Hospital Santo António, Centro Hospitalar Universitário do Porto, Porto, Portugal ; 2- Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto (ESS|P.PORTO), Rua Dr. António Bernardino de Almeida, 400, 4200-072 Porto, Portugal; 3-Odisee de Co-Hogeschool, Ghent, Bélgica, Programa de Mobilidade Erasmus +

A avaliação da fragilidade osmótica por citometria de fluxo tem sido introduzida na prática clínica nos últimos anos, utilizando um método descrito por Won et al, em 2009. Esta metodologia afere, em tempo real, o quociente entre os eventos registados antes e após exposição dos eritrócitos a uma solução indutora de hemólise, num determinado período de tempo.

O método clássico de determinação da fragilidade osmótica avalia indiretamente, por leitura da absorvância, a proporção de eritrócitos lisados, quando submetidos a stress osmótico em soluções hipotónicas seriadas de cloreto de sódio (NaCl).

Com o objetivo de otimizar o teste de fragilidade osmótica por citometria de fluxo, pretende-se comparar três soluções salinas para a preparação da suspensão dos eritrócitos - solução tampão com fosfato (PBS), solução tampão com fosfato e azida 0,1% (PBS-AZ) e NaCl a 0,9%. Esta comparação foi realizada em amostras de sangue periférico colhidas em EDTA-K3 em 22 indivíduos saudáveis e 3 doentes com esferocitose hereditária (EH) previamente diagnosticada.

Com os resultados obtidos neste trabalho verificou-se que a solução que apresentava maior sensibilidade e especificidade para EH e que permitia maior diferenciação entre os resultados dos indivíduos saudáveis e dos doentes era o PBS.

Concluiu-se que o PBS é a melhor solução para o TFO por CF, permitindo assim, descrever um novo método modificado por citometria e estabelecendo novos valores de referência.

Keywords: fragilidade osmótica, citometria de fluxo, teste comparativo, soluções salinas

The usefulness of immunohistochemistry as a diagnostic tool in cardiac tumours in pets

Ana Amado*¹, Sandra Carvalho^{2,3}, M. Conceição Peleteiro⁴, Inês Fonseca⁵, Joaquim Henriques⁵, Hugo Vilhena^{3,6,7,8}, Margarida Marques⁹ & 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; 4. VetPatLab, Lisboa, Portugal; 5. Anicura Atlântico – Hospital Veterinário, Mafra, Portugal; 6. Centro de Investigação Vasco da Gama (CIVG), Escola Universitária Vasco da Gama (EUVG), Coimbra, Portugal; 7. Centro de Ciência Animal e Veterinária (CECAV), Universidade de Trás-os-Montes e Alto Douro (UTAD), Vila Real, Portugal; 8. Onevetgroup Hospital Veterinário Universitário de Coimbra (HVUC), Coimbra, Portugal; 9. Hospital Escolar Veterinário, Faculdade de Medicina Veterinária – Universidade de Lisboa, Lisboa, Portugal.

Immunohistochemistry (IHC) provides additional information in cases where histopathological analysis is insufficient to assign a detailed diagnosis.

The aim of this study was to assess the usefulness of IHC in confirmation or refinement of the histopathological diagnosis in five cases of canine (n=4) and feline (n=1) cardiac tumours. The antibodies were selected based on the histopathological diagnosis

and the IHC protocol was similar for all antibodies, differing only in the dilution used and antigen retrieval.

In three cases, IHC did not confirm a cytomorphological diagnosis of lymphoma; in one case, it confirmed the diagnosis of plasmacytoma; and, in the remaining case, diagnosed as an undifferentiated sarcoma, IHC did not rule out such diagnosis, but also did not help in refining identification of the neoplastic cell of origin.

These results suggest that, despite being useful in cancer diagnosis, there are cases where IHC can lead to false negatives or fail to provide additional information, due to factors such as loss of antigenicity, altered fixation conditions and autolysis. Herein, fixation was the least controlled factor in samples processing, being a possible cause of absence of tumour cells marking. Despite that, marking of some cells around the tumour cells in some cases does not support this justification.

The findings of this study highlight that IHC results should always be interpreted in conjunction with clinical history, morphology of the tumour cells and tissue pattern, and not used as a diagnostic tool on their own, since there are many factors that can influence them.

Keywords: heart neoplasms, dogs, cats, immunohistochemistry

Tissue Clearing techniques and 3D volume imaging: from bench to bedside

Sérgio Casimiro¹, Maria Inês Romano¹, Joana Carvalho¹, Susana Dias¹ & Tânia Carvalho¹

1. Fundação Champalimaud, Lisboa, Portugal

The last decade has seen a significant advance of tissue clearing methods. These techniques make an organ transparent, allowing visualization of cells deep in the tissue, without the need for serial sectioning. It enables the acquisition of volumetric images with unprecedented three-dimensional views of large volumes of tissue and high-resolution, at the cellular level. Application of optical clearing methods to diagnostic samples, in the clinical setting, could add sensitivity to the histopathological assessment and help simplify or improve specific procedures. One possibility would be to use three-dimensional imaging of sentinel lymph node as a more sensitive method to detect micrometastasis and isolated tumor cells. To test this hypothesis, the first step is

to guarantee that the application of clearing techniques to human samples is compatible with subsequent traditional histopathological evaluation. Our aim is therefore to test three-dimensional volume clearing in a human sample, followed by reversion of the procedure and processing for routine histopathology. To this purpose, we used a human tonsil, that has identical compartmentalization and similar cellular phenotype as lymph nodes. Formalin-fixed tonsil was split in fragments and cleared using two different 3DISCO protocols. After clearing, the process was reversed and samples were processed for paraffin-embedding, sectioned, stained with H&E and immunohistochemistry. Control sample consists on a non-cleared tonsil fragment. The results show that it is possible to perform routine histopathology techniques on a previously cleared sample, however future work must be performed to overcome the limitations of this study.

Keywords: clearing, 3DISCO, iDISCO, immunofluorescence, sentinel lymph node

Unveiling common molecular pathways linked to ILDs with progressive fibrosing phenotype: the role of MUC5B promoter variant

Rita F. Santos^{1,2}, Melany Gonçalves^{1,2}, Patrícia Caetano Mota^{3,4}, Catarina Gouveia Cardoso^{3,4}, Andreia L. Coelho^{1,5,6}, Oksana Sokhatska^{3,7}, Marília Beltrão^{3,7}, Susana Guimarães⁴, Luís Delgado^{3,4,7}, Miguel Soares⁸, António Morais^{3,4}, Margarida Saraiva¹ & Helder Novais-Bastos^{*1,3,4}

1. Instituto de Investigação e Inovação em Saúde (i3S), Universidade do Porto, Porto, Portugal; 2. Escola Superior de Saúde, Instituto Politécnico do Porto, Porto, Portugal; 3. Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Porto, Portugal; 4. Centro Hospitalar Universitário de São João, EPE, Porto, Portugal; 5. Faculdade de Ciências da Universidade do Porto (FCUP), Porto, Portugal; 6. Instituto Ciências Biomédicas Abel Salazar (ICBAS), Universidade do Porto, Porto, Portugal; 7. Basic&Clinical Immunology Unit, Department of Pathology, Faculty of Medicine, University of Porto, Porto, Portugal; 8. Laboratório de Apoio à Investigação em Medicina Molecular (LAIMM), Departamento de Biomedicina, Faculdade de Medicina da Universidade do Porto, Porto, Portugal.

Progressive fibrosing ILDs (PF-ILDs) comprise a heterogeneous group of lung disorders associated with high morbidity and mortality, that exhibit a continuous worsening phenotype despite standard treatment. Among PF-ILDs are pulmonary fibrosis (IPF) and fibrotic hypersensitivity pneumonitis (HP), involving complex interactions between host genetics and different environmental triggers, shaping the immune milieu that ultimately drives the fibrotic cascade in a susceptible patient. The MUC5B promoter

variant rs35705950 is the common genetic variant associated with the greatest risk of developing IPF. As IPF and fibrotic HP present phenotypic resemblances, we aim to analyze the role of rs35705950 MUC5B single nucleotide polymorphism (SNP) in common molecular pathways linked to PF-ILDs. Herein, taking advantage of our extensive ILD patients' cohort, we found that MUC5B rs35705950 GT and TT genotypes frequency was dramatically increased in IPF and fibrotic HP compared to healthy controls.

Additionally, the cellular distribution in bronchoalveolar lavage (BAL) are comparable between IPF and fibrotic HP patients once again highlighting the hypothesis that PF-ILDs may share fibroproliferative common pathways. Interestingly, stratifying the fibrotic HP patients according to the MUC5B rs35705950 genotype we observed an increased proportion of macrophages in BAL fluid in individuals carrying the minor allele together with a slight decrease in neutrophils, eosinophils, and lymphocytes in the same patients.

Further studies related to Mucin 5B protein expression, localization and function are ongoing. With this methodology, we expect to shed light into pathways shared between IPF and HP, with potential use in early stratification of disease risk and survival.

Keywords: Interstitial lung disease, hypersensitivity pneumonitis, MUC5B, single nucleotide polymorphism, bronchoalveolar lavage

Valor diagnóstico do estudo citológico do lavado broncoalveolar na Doença Pulmonar Intersticial – Caso clínico

Catarina Lopes*¹, Ana Cristina Oliveira¹, Ana Menezes¹, Ana Guerra¹, Cristiana Oliveira¹, Martinha Anastácio¹, Lina Santos¹, Rita Cunha¹, Rui Vieira¹, Sandrine Mendes¹ e Ricardo Castro^{1,2}

1. Laboratório de Hematologia do Serviço de Patologia Clínica do Centro Hospitalar de Leiria; 2. Diretor do Serviço de Patologia Clínica do Centro Hospitalar de Leiria

As doenças pulmonares intersticiais difusas (DPID) englobam um grande grupo de patologias pulmonares. Alguns estudos referem que os dois tipos mais prevalentes são fibrose pulmonar idiopática e sarcoidose representando 50% dos casos.

Dada a sua diversidade surgiu a necessidade de recorrer a testes invasivos e não invasivos como a broncofibroscopia. Realizada com a técnica padronizada permite obter um lavado broncoalveolar (LBA), cujo estudo completo fornece informações importantes para o diagnóstico e tratamento de algumas DPID como neste caso clínico, a sarcoidose.

A sarcoidose trata-se de uma doença granulomatosa multissistémica e de causa desconhecida que afeta primariamente os

pulmões e o sistema linfático podendo virtualmente atingir qualquer órgão. Na sarcoidose o estudo citológico do LBA é de grande relevância diagnóstica pois a sarcoidose pulmonar geralmente envolve alveolite linfocítica (>10%) e uma elevada relação CD4/CD8 nos linfócitos com uma sensibilidade de diagnóstico de 94%.

O nosso caso clínico descreve uma mulher de 73 anos referenciada para a consulta de pneumologia. Na realização de uma broncofibroscopia foi obtido o LBA. Foi feita a análise macroscópica da amostra e, depois de filtrado foi realizada a contagem das células totais, um citospin e uma imunofenotipagem do LBA para avaliar a relação CD4/CD8 dos linfócitos T.

Este LBA apresentou-se turvo, com 265 células/mm³ e um predomínio de linfócitos T CD4+ correspondendo a uma relação CD4/CD8 = 11.25, o que é sugestivo de uma sarcoidose (>3.5%) Com este trabalho mostrou-se que o estudo citológico e imunofenotípico do LBA apresenta um elevado potencial de diagnóstico no contexto das DPID.

Palavras-Chave: lavado broncoalveolar; sarcoidose; doença pulmonar intersticial; citologia; imunofenotipagem