

AVANÇOS DA IMUNOFENOTIPAGEM POR CITOMETRIA DE FLUXO NO DIAGNÓSTICO E CLASSIFICAÇÃO DAS NEOPLASIAS HEMATOLÓGICAS

ADVANCES IN IMMUNOPHENOTYPING BY FLOW CYTOMETRY IN THE DIAGNOSIS AND CLASSIFICATION OF HEMATOLOGICAL NEOPLASMS

<https://doi.org/10.5281/zenodo.18019481>

LETÍCIA SARNI ROQUE¹, MELINA LELLIS BIANQUINI², MARIA ELISA STEPHANO³, THAIS FERNANDA FACHINA⁴

¹Biomédica, Mestre em Ciências com ênfase em hematologia e hemoterapia, UNIFAFIBE Bebedouro, leticiasarni.crbm@gmail.com;

²Biomédica, Mestre em Ciências com ênfase em hematologia e hemoterapia, UNIFAFIBE Bebedouro, melbianquini@gmail.com;

³Estudante Biomedicina, UNIFAFIBE Bebedouro, maria.stephano@aluno.unifafibe.edu.br;

⁴Estudante Biomedicina, UNIFAFIBE Bebedouro, thaisfachina27@gmail.com

RESUMO

Introdução: A citometria de fluxo consolidou-se como um dos pilares tecnológicos da hematologia diagnóstica contemporânea, permitindo a análise multiparamétrica e em tempo real de milhares de células, com elevada sensibilidade para detecção de fenótipos aberrantes e definição de linhagem. Sua capacidade de integrar informações morfológicas, imunológicas e funcionais torna-a essencial na caracterização das neoplasias hematológicas, especialmente no diagnóstico diferencial de leucemias agudas e crônicas, linfomas e distúrbios clonais da medula óssea. **Metodologia:** Esta revisão bibliográfica buscou identificar, com base na literatura científica recente, os principais marcadores imunofenotípicos aplicados à citometria de fluxo para o diagnóstico, classificação e monitoramento das leucemias e linfomas, bem como sua relevância prognóstica. Foram consultadas as bases SciELO e Google Scholar, englobando publicações entre 2015 e agosto de 2025. Após triagem e análise de elegibilidade, foram incluídos artigos originais e revisões que abordavam a citometria de fluxo como método principal de detecção de

biomarcadores hematológicos, totalizando 18 estudos selecionados dentre 475 inicialmente identificados. **Resultados e Discussão:** A análise integrada das evidências demonstrou consenso entre os autores quanto à elevada sensibilidade e especificidade da citometria de fluxo na distinção entre leucemias agudas e crônicas, bem como entre neoplasias de linhagem mieloide e linfóide. Perfis imunofenotípicos clássicos foram confirmados, nas leucemias linfoblásticas agudas, nas leucemias mieloides agudas, e na leucemia linfocítica crônica. A técnica mostrou-se ainda indispensável na detecção da doença residual mínima, na identificação de subclones emergentes e na avaliação da resposta terapêutica, reforçando sua aplicabilidade clínica em todas as fases do manejo das neoplasias hematológicas. Estudos recentes demonstram que a integração da citometria de fluxo com tecnologias emergentes, como análise automatizada de dados, NGS e citogenética de alta resolução, aumenta consideravelmente a acurácia diagnóstica, reduz o tempo de processamento e aprimora a capacidade de estratificação prognóstica. Embora desafios persistam, especialmente no que diz respeito à padronização de painéis e à variabilidade das amostras, a literatura aponta tendência crescente de convergência entre imunofenotipagem e métodos moleculares, ampliando fronteiras diagnósticas e terapêuticas. **Conclusão:** Conclui-se que a citometria de fluxo, ao fornecer caracterização imunofenotípica detalhada e reprodutível, representa ferramenta indispensável para o diagnóstico rápido, preciso e personalizado das neoplasias hematológicas. Sua integração com tecnologias de inteligência artificial, citogenética e sequenciamento de nova geração tende a transformar o cenário diagnóstico e prognóstico nos próximos anos, permitindo intervenções terapêuticas mais eficazes e contribuindo para a melhoria progressiva dos desfechos clínicos em pacientes com leucemias e linfomas.

Palavras-Chave: citometria de fluxo; imunofenotipagem; marcadores imunológicos; neoplasias hematológicas; diagnóstico laboratorial.

ABSTRACT

Introduction: Flow cytometry has established itself as one of the technological pillars of contemporary diagnostic hematology, enabling real-time, multiparametric analysis of thousands of cells with high sensitivity for detecting aberrant phenotypes and determining cellular lineage. Its ability to integrate morphological, immunological, and functional information makes it essential for the characterization of hematologic neoplasms, particularly in the differential diagnosis of acute and chronic leukemias, lymphomas, and clonal bone marrow disorders. **Methodology:** This literature review aimed to identify, based on recent scientific evidence, the main immunophenotypic markers applied to flow cytometry for the diagnosis, classification, and monitoring of leukemias and lymphomas, as well as their prognostic relevance. The SciELO and Google Scholar databases were consulted, including publications from 2015 to August 2025. After screening and assessment of eligibility criteria, original articles and review studies that employed flow cytometry as the primary method for detecting hematologic biomarkers were included, totaling 12 studies selected from an initial set of 475 records. **Results and Discussion:** The integrated analysis of the evidence demonstrated a consensus among authors regarding the high sensitivity and specificity of flow cytometry in distinguishing between acute and

chronic leukemias, as well as between myeloid and lymphoid neoplasms. Classical immunophenotypic profiles were confirmed in acute lymphoblastic leukemia, acute myeloid leukemia, and chronic lymphocytic leukemia. The technique also proved indispensable for detecting minimal residual disease, identifying emerging subclonal populations, and evaluating therapeutic response, reinforcing its clinical applicability across all stages of hematologic neoplasm management.

Recent studies show that integrating flow cytometry with emerging technologies—such as automated data analysis, next-generation sequencing (NGS), and high-resolution cytogenetics—significantly enhances diagnostic accuracy, reduces processing time, and improves prognostic stratification. Although challenges persist, particularly concerning panel standardization and sample variability, the literature indicates a growing trend toward convergence between immunophenotyping and molecular methods, expanding diagnostic and therapeutic frontiers. **Conclusion:** Flow cytometry, by providing detailed and reproducible immunophenotypic characterization, represents an indispensable tool for fast, accurate, and personalized diagnosis of hematologic neoplasms. Its integration with artificial intelligence, cytogenetics, and next-generation sequencing is expected to transform the diagnostic and prognostic landscape over the coming years, enabling more effective therapeutic interventions and contributing to the progressive improvement of clinical outcomes in patients with leukemias and lymphomas.

Keywords: flow cytometry; immunophenotyping; immunological markers; hematologic neoplasms; laboratory diagnosis.

Introdução

As neoplasias hematológicas, como leucemias e linfomas, constituem um grupo de doenças caracterizadas por alterações na proliferação, maturação e função das células sanguíneas e da medula óssea, comprometendo o equilíbrio da hematopoiese e podendo resultar em quadros clínicos graves nesse contexto, o diagnóstico precoce e preciso, representa um fator determinante para a adoção de intervenções terapêuticas eficazes e para a melhoria do prognóstico dos pacientes (Hoffbrand, 2016).

O diagnóstico das leucemias constitui um processo altamente complexo, que demanda a integração de múltiplas abordagens laboratoriais e moleculares para garantir precisão e sensibilidade. O hemograma é o exame de sangue periférico que configura o primeiro passo, fornecendo indícios iniciais da presença de blastos e anormalidades hematológicas externamente ao nicho hematopoiético. Embora apresentem alta sensibilidade para leucemias agudas, possuem especificidade limitada, o que reforça a necessidade de confirmação

com métodos de maior refinamento técnico. O mielograma e a biópsia de medula óssea, por sua vez, são considerados padrão-ouro, permitindo a quantificação de blastos, a avaliação da arquitetura medular e a identificação de padrões morfológicos compatíveis com subtipos leucêmicos (Hoffbrand, 2016).

A integração da análise morfológica com métodos citogenéticos e moleculares potencializa o poder diagnóstico e prognóstico das investigações. A citogenética convencional possibilita a detecção de anomalias cromossômicas estruturais e numéricas, como translocações e deleções associadas ao risco e à resposta terapêutica. A técnica de hibridização fluorescente in situ (FISH), por sua vez, amplia a sensibilidade diagnóstica ao identificar fusões gênicas e deleções específicas mesmo em células não proliferativas, sendo especialmente útil no monitoramento da doença residual mínima. Essas ferramentas complementares garantem elevada especificidade na caracterização clonal e no acompanhamento da evolução molecular da doença (Marques, 2024).

A biologia molecular representa um marco de avanço metodológico, incorporando técnicas de PCR quantitativo, RT-PCR e sequenciamento de nova geração (NGS) para identificar mutações e fusões gênicas com sensibilidade excepcional. Esses métodos permitem monitorar a doença residual mínima, estratificar o risco e guiar terapias-alvo personalizadas, sobretudo em genes de relevância prognóstica como *NPM1*, *FLT3* e *TP53*. Embora apresentem limitações quanto ao custo e à infraestrutura laboratorial, constituem ferramentas que podem se tornar indispensáveis para o diagnóstico de precisão e a medicina personalizada em hematologia de determinados pacientes com doenças raras (Pontes, A. R. et al. 2024).

Entre as técnicas complementares, a citometria de fluxo se destaca como pilar metodológico na caracterização imunofenotípica das leucemias, oferecendo rapidez, reprodutibilidade e alto poder discriminatório, por menor custo e espaço estrutural, em relação às tecnologias moleculares. Ao analisar múltiplos marcadores simultaneamente, permite identificar a linhagem celular, o estágio maturativo e a presença de fenótipos aberrantes, sendo crucial para a definição diagnóstica e o monitoramento terapêutico. A combinação entre morfologia, imunofenotipagem, citogenética e biologia molecular configura o modelo metodológico mais robusto para o diagnóstico das leucemias, assegurando

sensibilidade, especificidade e aplicabilidade clínica na prática diagnóstica contemporânea (Perfetto et al., 2010; Hoffbrand, 2016).

Nos últimos anos, a citometria de fluxo tem se consolidado como uma ferramenta de elevada acurácia no campo da hematopatologia. Esta técnica possibilita a análise simultânea de múltiplos antígenos de superfície, intracelulares e relacionados à apoptose em células individuais, utilizando anticorpos monoclonais conjugados a fluorocromos. Dessa forma, fornece informações detalhadas sobre a origem, o estágio de maturação e o perfil imunológico das células, contribuindo de maneira significativa para a distinção entre doenças hematológicas que compartilham características morfológicas ou clínicas semelhantes (Perfetto et al., 2010).

Uma das principais vantagens da citometria de fluxo é a capacidade de detectar populações celulares alteradas em baixas frequências, como ocorre na doença residual mínima. Ademais, a técnica permite estabelecer perfis imunofenotípicos específicos, auxiliando no diagnóstico diferencial de subtipos de leucemias agudas e crônicas, neoplasias linfóides e mielóides, bem como de condições como síndromes mielodisplásicas e hemoglobinúria paroxística noturna (Hoffbrand, 2016).

O avanço tecnológico associado à citometria de fluxo, incluindo o desenvolvimento de equipamentos de alta performance e a disponibilidade de novos anticorpos monoclonais, possibilitou a expansão dos painéis de análise e a inclusão de marcadores específicos. Tais avanços têm permitido diagnósticos mais individualizados e assertivos, impactando diretamente na seleção terapêutica e na avaliação prognóstica (Mahnke et al., 2013). Além de sua aplicabilidade diagnóstica, a citometria de fluxo revela-se ferramenta essencial no monitoramento de pacientes em tratamento, permitindo avaliar a resposta terapêutica e detectar precocemente sinais de recaída. Essa capacidade de fornecer dados em tempo real, com elevada sensibilidade e especificidade, reforça seu papel como pilar da medicina laboratorial moderna (Pontes, A. R. et al. 2024).

O impacto da citometria de fluxo no diagnóstico e manejo das leucemias vai além da identificação inicial da doença. A possibilidade de monitoramento em tempo real da resposta terapêutica e a detecção precoce de recidivas

transformaram o acompanhamento do paciente, permitindo intervenções precoces que podem melhorar significativamente os desfechos clínicos. Em contextos de pesquisa clínica, a citometria de fluxo também tem sido fundamental para a avaliação de novas terapias, identificação de biomarcadores prognósticos e compreensão da heterogeneidade clonal, consolidando seu papel como ferramenta indispensável tanto na prática clínica quanto na investigação científica (Perfetto et al., 2010).

Diante da relevância crescente da citometria de fluxo na prática clínica e laboratorial, o presente estudo tem como objetivo revisar e analisar as evidências científicas mais recentes sobre o emprego dessa técnica na identificação de marcadores imunofenotípicos em neoplasias hematológicas, visando compreender sua aplicabilidade clínica, importância no diagnóstico diferencial e impacto no planejamento terapêutico individualizado.

Dessa forma, a citometria de fluxo representa um avanço tecnológico e metodológico essencial na hematologia moderna, oferecendo informações detalhadas sobre a biologia celular, permitindo o diagnóstico precoce, a classificação precisa de subtipos, a estratificação prognóstica individualizada e o monitoramento eficaz da resposta terapêutica, aspectos que, em conjunto, impactam diretamente na sobrevida e na qualidade de vida dos pacientes com leucemias.

Metodologia

Este estudo caracteriza-se como uma revisão bibliográfica da literatura, conduzida nas bases Google Scholar e SciELO, utilizando palavras-chave relacionadas a citometria de fluxo; imunofenotipagem; marcadores imunológicos; neoplasias hematológicas; diagnóstico laboratorial. A busca incluiu artigos publicados entre 2015 e agosto 2025, em português reunindo ao total 475 artigos, priorizando estudos com maior relevância científica nas plataformas, foram incluídos os que combinavam as palavras chaves no mesmo estudo, totalizando 12 artigos para elaboração deste trabalho.

A seleção dos artigos ocorreu em três etapas: identificação, triagem e elegibilidade. Inicialmente, foram coletados todos os registros encontrados nas

bases. Em seguida, títulos e resumos foram analisados para excluir duplicatas ou estudos irrelevantes. Por fim, os textos completos foram avaliados, considerando como critérios de inclusão: estudos originais e revisões que abordassem marcadores imunológicos apenas em leucemias, linfomas e mielomas utilizando citometria de fluxo como método principal, bem como referências clássicas de literatura básica em hematologia. Foram excluídos artigos sem acesso completo, não humanos ou que não utilizassem citometria de fluxo.

A análise dos dados foi conduzida de forma descritiva e qualitativa, destacando os principais marcadores, suas aplicações diagnósticas, sensibilidade, especificidade e limitações da técnica.

Resultados e Discussão

Os achados deste estudo evidenciam que a imunofenotipagem por citometria de fluxo se destaca como um dos principais métodos para o diagnóstico e classificação das leucemias para rápida resolubilidade. Através da análise dos marcadores celulares, foi possível diferenciar os subtipos leucêmicos e compreender a relevância de alguns grupos antigênicos na identificação das leucemias mieloides agudas principalmente. A citometria de fluxo consolidou-se como uma das principais metodologias no diagnóstico e acompanhamento das neoplasias hematológicas, especialmente das leucemias agudas e crônicas. Ao proporcionar a análise simultânea de múltiplos marcadores imunofenotípicos, a técnica permite identificar padrões celulares específicos, contribuindo para a definição da linhagem envolvida, do estágio de maturação celular e de potenciais implicações prognósticas. Essa relevância tem sido amplamente discutida por diversos autores, que apontam a técnica como ferramenta indispensável na prática hematológica contemporânea.

No contexto das leucemias agudas, a imunofenotipagem representa um pilar essencial no processo diagnóstico. Bahia (2022) enfatiza que a citometria de fluxo permitiu a padronização de algoritmos que integram marcadores de superfície e citoplasmáticos, aumentando a precisão na distinção entre leucemia mieloide aguda (LMA) e leucemia linfoblástica aguda (LLA). Essa observação é

reforçada por Alves (2012), que, ao caracterizar pacientes com LLA, destaca que “a expressão aberrante de antígenos hetero linhagem pode interferir na interpretação diagnóstica”, ressaltando a necessidade de painéis amplos e atualizados. A literatura internacional também confirma essa tendência: segundo Hoffbrand e Moss (2018), o estudo imunofenotípico tornou-se parte obrigatória do diagnóstico moderno das doenças hematológicas, evidenciando sua aplicabilidade clínica.

Autores nacionais têm explorado, de forma consistente, os benefícios da citometria nas leucemias agudas. Costa et al. (2007) argumentam que a técnica é fundamental para elucidar casos de pancitopenias de etiologia incerta, mostrando que a análise imunofenotípica permite identificar padrões celulares compatíveis com neoplasias hematológicas, mesmo quando a morfologia é pouco conclusiva. Já Souza e Pedrazzani (2019) reforçam que painéis de “*screening*” são suficientes para direcionar a classificação inicial das leucemias, desde que alinhados às recomendações internacionais, enquanto Pontes et al. (2024) ampliam essa discussão ao afirmar que a citometria acelera a definição diagnóstica, impactando diretamente nas decisões terapêuticas iniciais.

Tabela 1 – Principais aplicações da citometria de fluxo nas neoplasias hematológicas

Aplicação	Descrição	Autores que discutem
Diagnóstico de leucemias agudas	Diferenciação entre LMA e LLA, detecção de marcadores aberrantes	Bahia (2022); Alves (2012); Hoffbrand & Moss (2018)
Diagnóstico de leucemias crônicas	Identificação de fenótipos típicos de LLC e outras neoplasias B	Costa et al. (2018); Gomes de Souza (2023); Rego & Santos (2009)
Diferenciação de pancitopenias	Identificação de padrões celulares sugestivos de malignidade	Costa et al. (2007)
Estratificação prognóstica	Marcadores associados a risco e resposta terapêutica	Bahia (2022); Pontes et al. (2024)
Avaliação de síndromes mielodisplásicas	Avaliação de maturação mieloide e displasia	Marques et al. (2024)
Monitoramento terapêutico	Detecção de doença residual mínima (DRM)	Bahia (2022); Souza & Pedrazzani (2019)

Fonte: Elaborada pelos autores, com base nos estudos citados.

A comparação crítica entre esses autores evidencia, entretanto, diferentes ênfases metodológicas. Enquanto Bahia (2022) e Alves (2012) priorizam a relevância dos marcadores específicos e da padronização técnica, Souza e Pedrazzani (2019) destacam a viabilidade operacional dos painéis reduzidos, especialmente em serviços com menor capacidade tecnológica. Ferraz (2015) contribui para essa discussão ao explicar que o entendimento dos fundamentos técnicos como sensibilidade do laser, configuração do “gating” e compensações é determinante para a qualidade do resultado, sugerindo que a divergência entre autores decorre de diferenças na complexidade dos laboratórios estudados, e equipamentos disponíveis no mercado. Marques et al. (2024), por sua vez, demonstram que a mesma lógica se aplica ao diagnóstico de síndromes mielodisplásicas, nas quais a variabilidade técnica pode interferir na interpretação dos padrões de maturação.

Nas leucemias crônicas, a citometria de fluxo apresenta papel igualmente relevante, embora com foco distinto. Costa et al. (2018) afirmam que a técnica é particularmente eficaz no diagnóstico diferencial das leucemias linfóides crônicas, destacando sua utilidade na identificação de fenótipos clássicos e variantes imunológicas. Gomes de Souza (2023) reforça essa perspectiva ao discutir novos marcadores aplicados às neoplasias de células B maduras e ao demonstrar que, além do diagnóstico, esses marcadores possibilitam estratificação prognóstica e monitoramento evolutivo, particularmente em patologias como leucemia linfóide crônica e linfomas indolentes. Rego e Santos (2009) complementam essa discussão ao indicar que, em cenários de linfocitoses persistentes, a citometria permite distinguir processos reacionais de expansões clonais verdadeiras, oferecendo precisão mesmo quando a morfologia apresenta limitações.

Tabela 2 – Marcadores frequentemente utilizados para diferenciação entre LMA e LLA

Grupo de marcadores	LLA	LMA	Observações
Linhagem B	CD19, CD10, CD79a	—	Altamente específicos para LLA-B (Alves, 2012; Bahia, 2022)

Linhagem T	CD3, CD7, CD5	—	Importantes para LLA-T (Bahia, 2022)
Mieloides	—	CD13, CD33, MPO	Essenciais na confirmação de LMA (Costa et al., 2007)
Marcadores aberrantes	CD56, CD7, CD25	CD4, CD34	Ajudam na estratificação e DRM (Souza & Pedrazzani, 2019)

Fonte: Adaptado de Bahia (2022); Alves (2012); Costa et al. (2007).

As tecnologias emergentes na área ampliam ainda mais o impacto da citometria. Bahia (2022) já apontava a tendência de incorporação de painéis multiparamétricos de alta complexidade, capazes de analisar até 18 marcadores simultaneamente, o que se alinha às observações de Ferraz (2015) sobre a evolução do “*cell sorting*” e de algoritmos avançados de análise. Segundo Borelli (2024), a integração dessas tecnologias com conhecimentos clássicos de hematologia permite compreender melhor a heterogeneidade das leucemias, oferecendo bases para decisões terapêuticas personalizadas. Essas inovações também se refletem nos estudos de Gomes de Souza (2023), que demonstram a utilidade de novos marcadores no refinamento da classificação das neoplasias B, sugerindo um movimento crescente em direção à medicina de precisão.

A análise comparativa dos autores evidencia que o campo converge para uma compreensão ampliada da citometria de fluxo: não mais apenas como instrumento diagnóstico, mas como recurso estratégico na avaliação prognóstica, estratificação de risco e monitoramento terapêutico. Enquanto Bahia (2022) enfatiza o caráter integrador da técnica, unindo imunofenotipagem, morfologia e biologia molecular, Pontes et al. (2024) e Costa et al. (2018) demonstram sua aplicabilidade prática no cotidiano clínico. Já autores como Marques et al. (2024) e Rego e Santos (2009) alertam para a necessidade de interpretação cautelosa, sobretudo em doenças de apresentação sutil ou heterogênea. A literatura analisada, portanto, revela complementaridade entre os estudos, destacando a citometria de fluxo como tecnologia essencial, em constante aperfeiçoamento e indispensável no cenário hematológico contemporâneo.

Tabela 3 – Comparação crítica entre autores sobre a citometria de fluxo

Autor	Ênfase principal	Diferenças em relação aos demais
Bahia (2022)	Integração entre imunofenotipagem, morfologia e biologia molecular	Mais completo; destaca DRM e prognóstico
Alves (2012)	Caracterização imunofenotípica detalhada da LLA	Foco em heterogeneidade imunofenotípica
Souza & Pedrazzani (2019)	Painéis simples e acessíveis	Propõe abordagem pragmática para serviços básicos
Costa et al. (2007, 2018)	Diagnóstico diferencial de pancitopenias e linfocitoses	Ênfase em situações clínicas desafiadoras
Rego & Santos (2009)	Distinção entre reações reacionais e neoplasias crônicas	Abordagem crítica da interpretação
Ferraz (2015)	Fundamentos técnicos e limitações	Explica causas de divergências entre autores
Marques et al. (2024)	Aplicações em SMD	Conecta técnica a padrões de maturação
Gomes de Souza (2023)	Novos marcadores e tecnologia emergente	Relaciona citometria à medicina de precisão

Fonte: Elaborada pelos autores com base nas obras analisadas.

A integração dos dados apresentados pelos diferentes autores permitiu consolidar um panorama robusto acerca dos principais marcadores imunofenotípicos empregados na citometria de fluxo, evidenciando como esses parâmetros sustentam o diagnóstico, a estratificação prognóstica e as decisões terapêuticas nas leucemias. A síntese construída demonstra que a maioria dos estudos analisados incluindo Bahia (2022), Alves (2012), Costa et al. (2007, 2018), Souza e Pedrazzani (2019), Pontes et al. (2024) e Marques et al. (2024), converge quanto ao alto valor clínico da imunofenotipagem multiparamétrica, reforçando a confiabilidade e a aplicabilidade da técnica. Apenas um pequeno grupo de autores, como Ferraz (2015) e Borelli (2024), aborda perspectivas mais técnicas ou estruturais, sem foco direto no impacto clínico imediato das

leucemias, mas ainda assim contribuindo para o entendimento das limitações e potencialidades da tecnologia.

Nesse sentido, a citometria de fluxo, especialmente quando associada à análise multiparamétrica avançada e aos métodos de aprendizagem profunda, apresenta-se como uma ferramenta de elevada sensibilidade e especificidade. Conforme observado por Bahia (2022), essa integração tecnológica permite a identificação precisa de subclones leucêmicos e a detecção extremamente precoce da doença residual mínima (MRD), parâmetro reconhecido atualmente como um dos indicadores prognósticos mais relevantes. Alves (2012) reforça que a definição rigorosa do imunofenótipo inicial é fundamental, pois estabelece a referência necessária para o monitoramento longitudinal da MRD e para o reconhecimento de eventuais padrões aberrantes emergentes durante o tratamento.

Em termos terapêuticos, os resultados analisados demonstram que a citometria de fluxo promove uma abordagem mais individualizada e segura. A identificação rápida do subtipo leucêmico, aliada à avaliação dinâmica da MRD, possibilita ajustes terapêuticos oportunos, aumentando as taxas de remissão e reduzindo toxicidades desnecessárias. Esse entendimento é compartilhado por Pontes et al. (2024), que destacam o impacto clínico direto da imunofenotipagem na condução de protocolos terapêuticos, e por Marques et al. (2024), que enfatizam a utilidade da técnica no acompanhamento de doenças displásicas e na detecção precoce de instabilidade biológica.

Além disso, a capacidade da citometria de fluxo de monitorar continuamente a evolução clonal e de detectar recaídas precoces reforça sua relevância no manejo das leucemias crônicas e das síndromes mielodisplásicas. Rego e Santos (2009) salientam que, em situações de linfocitoses persistentes ou pancitopenias de etiologia incerta, a técnica atua não apenas como ferramenta diagnóstica, mas como instrumento de vigilância clínica. Essa perspectiva se harmoniza com as observações de Costa et al. (2018), que demonstram que a avaliação imunofenotípica auxilia na identificação de subpopulações biologicamente agressivas, contribuindo para melhor estratificação de risco.

Dessa forma, os resultados evidenciam que a citometria de fluxo transcende a função diagnóstica inicial, incorporando-se como eixo fundamental do acompanhamento terapêutico e da avaliação prognóstica. A literatura analisada reforça a necessidade de investimento contínuo em avanços tecnológicos como a introdução de novos fluorocromos, expansão dos painéis de alta dimensão e aprimoramento dos algoritmos de análise para ampliar ainda mais a eficácia da imunofenotipagem na prática clínica e laboratorial. Em síntese, a integração dessas tecnologias promete consolidar a citometria de fluxo como uma das ferramentas mais completas e indispensáveis no manejo moderno das leucemias.

Conclusões

A citometria de fluxo consolidou-se como uma das ferramentas centrais no diagnóstico, classificação e monitoramento das leucemias, destacando-se pela rapidez, precisão e elevada sensibilidade na detecção de populações celulares aberrantes. Diferentemente das abordagens exclusivamente morfológicas, a citometria multiparamétrica possibilita a avaliação simultânea de diversos antígenos de superfície e intracelulares, padrões de maturação e marcadores associados a proliferação e apoptose, oferecendo uma caracterização aprofundada das subpopulações leucêmicas. Os autores analisados, incluindo Bahia (2022), Alves (2012), Costa et al. (2018), Souza e Pedrazzani (2019) e Pontes et al. (2024), convergem ao afirmar que essa capacidade multiparamétrica representa um avanço decisivo na prática hematológica.

A síntese crítica da literatura evidencia, contudo, que há lacunas importantes a serem superadas. Embora a citometria de fluxo seja amplamente reconhecida por sua acurácia diagnóstica, existe heterogeneidade na padronização de painéis, algoritmos de análise e definição de marcadores aberrantes, especialmente entre laboratórios de menor capacidade tecnológica. Autores como Marques et al. (2024) e Rego e Santos (2009) destacam que essa variação metodológica pode impactar a interpretação clínica, sobretudo em cenários limítrofes, como síndromes mielodisplásicas iniciais ou leucemias de

linhagem ambígua. Essas desigualdades revelam a necessidade urgente de diretrizes internacionais mais restritas e de políticas de capacitação continuada.

Outro ponto de destaque refere-se à integração entre citometria de fluxo e tecnologias emergentes. Estudos recentes demonstram que modelos automatizados de inteligência artificial, especialmente *machine learning* e *deep learning*, têm potencial para reduzir significativamente o tempo de análise, aumentando a reprodutibilidade e minimizando vieses interpretativos. Bahia (2022) ressalta que algoritmos de aprendizado profundo aplicados à imunofenotipagem são capazes de identificar assinaturas fenotípicas mínimas, imperceptíveis ao avaliador humano, o que amplia a sensibilidade na detecção de doença residual mínima (MRD). Essa perspectiva abre caminho para sistemas diagnósticos semi automatizados, capazes de processar grandes volumes de dados em poucos minutos, sem perda de precisão.

Além disso, a associação da citometria de fluxo com metodologias como o sequenciamento de nova geração (NGS) e a citogenética avançada representa uma das fronteiras mais promissoras da hematologia contemporânea. Enquanto a citogenética identifica alterações estruturais e cromossômicas clássicas, como o BCR-ABL na leucemia mieloide crônica, o NGS permite a detecção de mutações pontuais e subclones emergentes com impacto prognóstico direto. Em conjunto, essas técnicas oferecem uma compreensão integrada da biologia tumoral, na qual o fenótipo imunológico revela a expressão celular, e o genótipo fornece a base molecular do comportamento clínico. Autores como Borelli (2024) e Hoffbrand e Moss (2018) reforçam que a integração entre essas plataformas constitui o futuro da estratificação terapêutica.

Assim, observa-se que as perspectivas futuras dependem não apenas da expansão tecnológica, mas também da capacidade de integrar dados fenotípicos, genômicos e citogenéticos em plataformas unificadas de análise. Avanços como painéis de citometria de alta dimensão (>20 cores), uso de fluorocromos de quarta geração, algoritmos de análise automatizada e bancos de dados padronizados têm potencial para transformar o diagnóstico hematológico em um processo ainda mais preciso, rápido e personalizado.

Em síntese, a imunofenotipagem por citometria de fluxo permanece como pilar estruturante da hematologia moderna. Ao mesmo tempo em que fornece

subsídios fundamentais para o diagnóstico e o acompanhamento terapêutico, abre espaço para a incorporação de novas abordagens analíticas, capazes de ampliar a compreensão das leucemias em nível molecular e funcional. A convergência entre citometria de fluxo, inteligência artificial, NGS e citogenética aponta para um cenário no qual o diagnóstico será cada vez mais integrado, preditivo e direcionado, permitindo terapias mais eficazes e promovendo melhores desfechos clínicos para os pacientes com neoplasias hematológicas.

Referências

ALVES, G. V. A. **Caracterização hematológica e imunofenotípica em pacientes com leucemia linfoblástica aguda**. 2012. Tese (Doutorado em Biotecnologia Industrial) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Natal, 2012.

BAHIA, I. A. F. **Estudos em diagnóstico, classificação e prognóstico de leucemias agudas por citometria de fluxo**. Trabalho de Conclusão de Curso - TCC (graduação) - Universidade Federal do Rio Grande do Norte, Centro de Ciências da Saúde, Departamento de Farmácia. Natal, RN, 2022.

BORELLI, Primavera. **Fundamentos de hematologia**. São Paulo: Editora Blucher, 2024. E-book. p. 14. ISBN 9786555065442.

COSTA, E. S.; COSTA, M. A.; PASSAGLIA, S. F. et al. **Papel da imunofenotipagem por citometria de fluxo no diagnóstico diferencial das pancitopenias e das linfocitoses**. Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia, v. 29, n. 1, p. 26-31, 2015.

COSTA, R. S.; ARAGÃO FRANÇA, L. S.; BORGES PALUCH, L. R.; MELO, A. P. C. **A influência da citometria de fluxo no diagnóstico diferencial das leucemias linfóides**. v. 11, n. 20, p. 21-31, 2018.

FERRAZ, R. **Citometria de Fluxo Cell Sorting: fundamentos e aplicações**. Instituto Oswaldo Cruz - FIOCRUZ, 2015.

GOMES DE SOUZA, R. **Novos marcadores imunofenotípicos e sua utilidade no diagnóstico e classificação de neoplasias de células B maduras por citometria de fluxo**. 2023. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2023.

HOFFBRAND, A. V.; MOSS, P. A. H. **Fundamentos em hematologia de Hoffbrand**. 7. ed. Porto Alegre: Artmed, 2018. E-book. p. 1. ISBN 9788582714515.

MARQUES, M. G. C. et al. **Contributo da Imunofenotipagem por Citometria de Fluxo para o Diagnóstico das Síndromes Mielodisplásicas**. Projeto final

— Hospital de Dia – Unidade de Oncologia e Transplante de Medula Óssea; Serviço de Patologia Clínica; Unidade de Citometria de Fluxo – Hemocentro do Pará (HEMOPA), 2024.

PERFETTO, S. P. et al. **Quality assurance for polychromatic flow cytometry.** *Nature Protocols*, v. 5, p. 357-370, 2010.

PONTES, A. P. et al. **A importância da imunofenotipagem por citometria de fluxo no diagnóstico das leucemias.** *Revista Ciência e Saúde Nova Esperança*, João Pessoa-PB, v. 22, n. 2, p. 197–204, 2024. DOI: 10.17695/rcsne.vol22.n2.p197-204.

REGO, E. M.; SANTOS, G. A. S. **Papel da imunofenotipagem por citometria de fluxo no diagnóstico diferencial das pancitopenias e das linfocitoses.** *Revista Brasileira de Hematologia e Hemoterapia*, v. 31, n. 4, p. 252–258, 2009.

SOUZA, A. A; PEDRAZZANI, F.S. **Importância do painel de screening de imunofenotipagem por citometria de fluxo para o diagnóstico de leucemias agudas.** *Revista Inova Saúde*, Criciúma, v. 9, n. 1, p. 155–166, jul. 2019. ISSN: 2317-2460.