

FAPESP (2013/08135-2, 2019/18672-1, 2019/18702-8 and 2020/02043-2) and CNPq (442484/2020-8).

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.438>

ESTRUTURAÇÃO DE UMA PLATAFORMA BRASILEIRA DE MANUFATURA DE PRODUTO CELULAR AVANÇADO PARA USO EM CENÁRIO CLÍNICO

SR Caruso^a, TR Fernandes^a, RMF Bolzoni^a, A Mizukami^a, MSA Neto^a, PVB Palma^a, CCO Bonaldo^a, MD Orellana^a, DT Covas^{a,b}, RLG Cunha^{a,b}, GC Santis^a

^a Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto (FUNDHERP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^b Departamento de Imagens Médicas, Hematologia e Oncologia Clínica, Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

O Hemocentro de Ribeirão Preto possui longa experiência na manufatura de células em Terapia Celular, através de uma infraestrutura com padrão de boas práticas que segue os critérios exigidos pela regulamentação brasileira. Recentemente, o Hemocentro expandiu seu foco para a produção de células T geneticamente modificadas (células CAR-T), através da validação do processo de manufatura de células CAR-T anti-CD19. **Objetivo:** Demonstrar a estruturação e validação de uma plataforma brasileira para a manufatura de células CAR-T anti-CD19 no cenário brasileiro. **Material e métodos:** Para a estruturação da plataforma, uma linha de cuidados foi estabelecida em 04 etapas de acordo com o processo de manufatura. A etapa um, consistiu na coleta de leucócitos totais em sangue periférico por procedimento de aférese seguida de isolamento das células mononucleares (CMN) por meio de Ficoll Hypaque e, posteriormente, congeladas para permanência em estoque até o momento do processamento. Na etapa dois, as CMN foram descongeladas para a depleção de monócitos após o qual, as células-T foram ativadas por meio de Dynabeads CD3/CD28. Na etapa três (24 horas após a etapa dois), as células-T foram transduzidas com vetor lentiviral e expandidas em meio AIMV (com 5% de soro humano AB e IL-2) por aproximadamente 8 a 11 dias. A última etapa, consistiu na execução dos seguintes testes de liberação e controle de qualidade: identidade/pureza, teste funcional/potência, análise microbiológica, análise do nível de endotoxinas bacterianas, teste para detecção de Mycoplasma, análise citogenética, viabilidade e contagem de beads residuais. **Resultados:** Até o momento, foram produzidos 11 lotes de células CAR-T que foram expandidas até atingir a dose mínima de 1,0 x 10⁶ CAR-T/kg de peso do paciente e, após criopreservadas em bolsas. A mediana do perfil imunofenotípico dos 11 lotes de células CAR-T produzidos foi CD3 94,25%, CD4 38,1%, CD8 56,82%, CD16/56 2%, CD45/14 0,2%, CD19 0,2% e a % de CAR-CD19+ 35,8%. Em todos os lotes de células CAR-T produzidas houve lise das células alvos CD19+ evidenciado através de teste de potência. Os ensaios de liberação e do controle de qualidade da etapa 04 mostraram-se todos



adequados para qualificar o produto final como apto para o uso clínico. Os lotes de células CAR-T apresentaram uma mediana de viabilidade de 91,81%. A contagem de beads residuais em todos os lotes foi inferior a 100 beads para cada 3x10⁶ células. **Discussão:** Todos os lotes de células CAR-T CD19+ apresentaram-se com perfil imunofenotípico, atividade funcional, ensaios de controle de qualidade e com critérios de aceitação adequados dentro dos padrões GMP e da RDC ANVISA 508 de 2021. Dentre os 11 lotes produzidos, três foram utilizados em cenário clínico em tratamento compassivo de pacientes portadores de linfoma não-hodgkin de células B com níveis aceitáveis de toxicidade pós-infusão. **Conclusão:** A plataforma de manufatura de células CAR-T desenvolvida em Ribeirão Preto mostrou-se viável, segura e adequada para uso clínico em cenário brasileiro. O desenvolvimento de uma estrutura nacional tem o potencial de impactar o avanço científico da terapia celular avançada brasileira e, além disso, permitir maior acesso dos pacientes a esta terapia que é reconhecidamente de altíssimo custo.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.439>

EXPERIÊNCIA COM REGIMES DE CONDICIONAMENTO SUGERIDOS PELO GRUPO DE ESTUDOS DE LEUCEMIA MIELOÍDE AGUDA INFANTIL (GELMAI)

CNM Breviglieri, RV Gouveia, VC Ginani, CMCZ Oliveira, LDS Domingues, MGM Alves, G Zamperlini, PAM Soriano, JF Marques, A Seber

Equipe Onco-TMO em Pediatria, Hospital Samaritano de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A sobrevida das crianças com LMA submetidas a TCTH no Brasil entre 2008 e 2012 foi de 47%. O GELMAI está iniciando protocolo prospectivo com indução com baixas doses de quimioterapia para reduzir a mortalidade precoce. TCTH será indicado segundo características citogenéticas/moleculares e resposta da doença aos dois primeiros ciclos indutórios. **Objetivo:** Descrever a experiência do nosso grupo com as estratégias de TCTH adotadas pelo protocolo GELMAI. **Método:** Os regimes de condicionamento e a profilaxia de doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH) seguiram orientações do protocolo. A sobrevida foi calculada pelo método de Kaplan-Meier. **Resultados:** Entre 2016 e 2021, 11 crianças com LMA foram transplantadas com os regimes de condicionamento recomendados no GELMAI, 4 meninas e mediana de idade de 3 anos. A mediana do tempo do diagnóstico da LMA para o TCTH foi de 162 dias, e da indicação do TCTH até sua realização foi de 60 dias. Ao TCTH, 5 tinham doença refratária, 4 estavam em 2ª remissão e 2 em 1ª remissão. A maior parte dos TCTH foram haploidênticos (82%). Cinco foram condicionados com FLAMSA (45%) e 5 com busulfano, fludarabina e melfalano (45%) e um com busulfano, ciclofosfamida e melfalano (9%). Seis pacientes receberam células hematopoiéticas de medula óssea (54%). Todos receberam a profilaxia de DECH prevista pelo protocolo. Todos tiveram enxertia. Cinco crianças (46%) receberam infusão de linfócitos do doador (DLI)



profilática e todas apresentaram DECH. Duas das seis crianças sem DLI profilática apresentaram DECH aguda. A mediana de acompanhamento foi de 194 dias. Três das 11 crianças faleceram (27%): uma por progressão de doença, uma por quadro infeccioso e uma por doença venoclusiva grave; apenas uma criança apresentou recaída (D+102). A SG de toda a coorte foi de 70%. A SG das crianças condicionadas com FLAMSA por doença em atividade foi 67%. **Conclusão:** Os TCTH realizados conforme o GELMAI foram bem tolerados, com baixa mortalidade relacionada ao transplante e sobrevida global de 70%. Apenas uma criança transplantada com doença em atividade teve recidiva da doença. Como DECH aguda, doença venoclusiva e reativações virais são complicações esperadas, as equipes devem estar muito atentas para tratamento precoce e agressivo das complicações.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.440>

EXPERIÊNCIA DA COLSAN – ASSOCIAÇÃO BENEFICENTE DE COLETA DE SANGUE NA VALIDAÇÃO DO EQUIPAMENTO DE CITOMETRIA DE FLUXO BD FACSCANTOII NA ROTINA DE VIABILIDADE CELULAR E CONTAGEM DE CÉLULAS CD34+

LAS Nani, TG Sacramento, CP Melo, CB Costa, AJP Cortez, CP Armoni, F Latini

Colsan - Associação Beneficente de Coleta de Sangue, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O uso da medula óssea como fonte de células-tronco para o tratamento de doenças hematológicas, oncológicas, hereditárias e imunológicas já é amplamente utilizado há mais de um século. As células tronco hematopoiéticas (CTH) podem ser obtidas a partir da medula óssea (BM), sangue periférico (PB) ou sangue do cordão umbilical (SCU). As células periféricas são coletadas usando uma máquina de aférese após ser mobilizado da medula óssea para o sangue periférico. As células progenitoras hematopoiéticas normalmente expressam o antígeno CD34+ na membrana celular, apresentando alta correlação com a presença de unidades formadoras de colônias em culturas de células (padrão ouro para quantificação de células-tronco). Além da técnica de cultivo celular, a quantificação de células CD34+ por Citometria de fluxo é também amplamente utilizada na prática clínica, funcionando como um alvo indireto da quantidade de células progenitoras hematopoiéticas, essa é uma técnica rápida quando comparada à cultura celular e pode ser amplamente utilizada em laboratórios. **Objetivos:** Verificar o desempenho técnico do equipamento de citometria de fluxo BD Facscanto™ II na rotina de contagem e viabilidade de células CD34+ nas amostras de CTH realizadas na COLSAN – Associação Beneficente de Coleta de Sangue. **Metodologia:** Realização de contagem e viabilidade de células CD34+ em 11 amostras de CTH coletadas por Leucoaférese, sendo utilizado protocolo ISHAGE em plataforma dupla com auxílio de analisador hematológico Sysmex XS800-i (Roche). Os resultados também foram avaliados em laboratório externo com a metodologia de Citometria de fluxo, protocolo ISHAGE, porém em plataforma única de

análise. **Resultados:** Com relação aos testes de contagem (%) de células CD34+ presentes na amostra, a variação dos resultados entre os laboratórios e metodologias ficou entre 2,66%-9,02% com valor médio de variação em 6,52%. Já com relação a viabilidade celular, os resultados tiveram variação de 0,10-1,02% com valor médio de 0,52%. **Conclusão:** De acordo com a estatística descritiva observada na análise de resultados pode-se observar resultados de confiança na validação do equipamento quando comparado com laboratório externo já validade e de rotina em andamento, a variação encontrada não superou 10% nos casos de contagem e 1,02% com relação a viabilidade, o que corrobora o desempenho e total possibilidade de utilização do equipamento na rotina de testes da COLSAN.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.441>

EXPERIÊNCIA DO RUXOLITINIB NO TRATAMENTO DE DOENÇA DO ENXERTO CONTRA O HOSPEDEIRO CRÔNICA EM CRIANÇAS SUBMETIDAS A TRANSPLANTE DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOIÉTICAS (TCTH)

RV Gouveia^{a,b}, VC Ginani^{a,b}, G Zamperlini^{a,b}, CMCZ Oliveira^{a,b}, CNM Breviglieri^{a,b}, MGAD Matos^{a,b}, LDS Domingues^{a,b}, MV Pupim^{a,b}, JF Marques^b, PM Paiva^b, PA Soriano^{a,b}, FVB Santos^b, CF Andrade^b, A Seber^{a,b}

^a Equipe Onco-TMO em Pediatria, São Paulo, SP, Brasil

^b Hospital Samaritano de São Paulo, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A DECH crônica é uma das maiores causas de morbimortalidade tardia relacionada ao TCTH. Uso prolongado de corticoide sistêmico provoca inúmeros efeitos deletérios, principalmente em crianças. Não existe um tratamento de segunda linha de escolha para a doença corticorefratária. A experiência do centro e a disponibilidade das medicações muitas vezes guiam o tratamento, além dos órgãos envolvidos e toxicidade de cada estratégia. O manejo da DECH crônica é difícil e a imunossupressão sistêmica deve ser a mínima possível para controlar a doença até que exista tolerância imunológica entre receptor e doador. Ruxolitinib vem sendo usado como segunda linha em tratamento de DECH aguda, mas a experiência na DECH crônica ainda é limitada. **Objetivo:** Avaliar o uso do ruxolitinib em crianças com DECH crônica refratária, como segunda linha de tratamento. **Método:** Avaliação prontuários de três crianças com DECH crônica refratária ao tratamento de 1ª linha que utilizaram ruxolitinib como tratamento 2ª linha. **Resultados:** 1º paciente: Apresentou DECH crônica moderada de pele e trato gastrointestinal um mês após suspensão da CsA, para tratamento DECH aguda. Foram reiniciados corticoide-ciclosporina, mas manteve diarreia e melena. Foi associado ruxolitinib 2,5 mg VO 12/12h com boa resposta, sendo possível iniciar redução do corticoide. Não houve toxicidade associada ao ruxolitinib. Cinco meses depois, ainda usando ruxolitinib, apresentou

