

identificação inicial da população dos pacientes transplantados, a observação e a compreensão do impacto das ações em saúde implantadas no SSM na área onco-hematológica. Desta forma, vislumbra-se que este estudo poderá contribuir para futuras pesquisas científicas na área de transplante de medula óssea autólogo.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.451>

POLARIZAÇÃO DE LINFÓCITOS T AO FENÓTIPO T HELPER/CITOTÓXICO 17 PARA USO EM TERAPIAS CELULARES AVANÇADAS

H Brand^a, LC Batista^a, DMC Fantacini^{a,b}, SCG Lima^a, DT Covas^a, LEB Souza^a

^a Centro de Terapia Celular (CTC), Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto (FUNDHERP), Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brasil

^b Núcleo de Biotecnologia, Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto (FUNDHERP), Instituto Butantan, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: O tratamento com linfócitos T expressando receptores quiméricos de antígeno (CAR) ou receptores de células T (TCR) artificiais tem resultado em taxas de remissão impressionantes para algumas neoplasias hematológicas. Porém, a eficácia clínica ainda é limitada ou inexistente para a vasta maioria das neoplasias. Portanto, é imperativo desenvolver estratégias para maximizar o potencial anti-neoplásico de células T geneticamente modificadas. Para isso, uma estratégia promissora é produzir células T com fenótipo T helper 17 ou T citotóxico 17 (T_H17/T_C17). Dentre os fenótipos inflamatórios, células T_H17/T_C17 possuem maior capacidade antitumoral, perfil de memória efetora e secretam IL-17, uma interleucina altamente inflamatória e pleiotrópica. Haja vista que a diferenciação em células T_H17/T_C17 é orquestrada pelo fator de transcrição ROR γ t, nossa hipótese foi a de que o uso de um agonista deste fator de transcrição poderia maximizar a diferenciação em células T_H17/T_C17. **Objetivo:** Estabelecer um protocolo de polarização de linfócitos T para o fenótipo T_H17/T_C17. **Métodos:** Células mononucleares do sangue periférico (PBMC) foram isoladas através do uso do gradiente de densidade Ficoll-Paque PLUS e ativadas com anticorpos anti-CD3/anti-CD28 na presença de um coquetel de interleucinas composto por interleucina-2 recombinante humana (rhIL-2), rhIL-6, rhIL-1 β , rhIL-23, para indução em T_H17/T_C17. Além de anticorpos anti-hIL-4 e anti-hIFN- γ para bloquear a diferenciação em T_H2 e em T_H1, respectivamente. Para um grupo específico, adicionamos ao coquetel um agonista de ROR γ t já usado em ensaios clínicos. Após cultivo nestas condições, avaliamos a polarização em T_H17/T_C17 pela quantificação da transcrição dos genes RORC2 (codifica ROR γ t) e IL17A por PCR quantitativo em tempo real. **Resultados:** O cultivo apenas com o coquetel de interleucinas/anticorpos induziu um aumento de 2,6 vezes na expressão de IL17A e de 1,44 vezes de ROR γ t em relação às células não polarizadas. Isto demonstra que o coquetel utilizado induz a expressão

dos genes-chave para diferenciação em células T_H17/T_C17. Notadamente, o uso do agonista de ROR γ t potencializou a diferenciação em T_H17/T_C17, aumentando em 15,78% a expressão de RORC2 e em 55,11% a expressão de IL17A ($p < 0,05$) em relação ao grupo tratado apenas com interleucinas/anticorpos. **Conclusão:** Nossos resultados demonstram que a adição do agonista de ROR γ t ao coquetel de interleucinas/anticorpos potencializa a polarização de linfócitos T humanos para o fenótipo T_H17/T_C17. Este protocolo permitirá gerar células T-CAR ou T-TCR com fenótipo T_H17/T_C17, conhecidas por seu elevado potencial antitumoral e persistência *in vivo*. Com isso, esperamos aumentar a eficácia terapêutica de células T geneticamente modificadas e beneficiar pacientes até então refratários a esta terapia. **Financiamento:** FAPESP (2013/08135-2, 2019/18702-8, 2019/18672-1, 2020/02043-2).

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.452>

PREVALÊNCIA DE CONTAMINAÇÃO MICROBIOLÓGICA DE CONCENTRADOS DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOIÉTICAS PERIFÉRICAS AUTÓLOGAS POR AFÉRESE

MC Moraes, FC Vieira, TF Almeida, SD Matéria, LRPS Santana, NCN Lima, JCS Reis, RCB Soares

Grupo Gestor de Serviços de Hemoterapia (Grupo GSH), São Paulo, SP, Brasil

Introdução: As infecções são a principal causa de morbimortalidade após transplante de células progenitoras hematopoéticas de sangue periférico (CPHSP), coletadas por aférese. Apesar da utilização de técnicas estéreis durante a coleta e o processamento desses produtos, a contaminação bacteriana pode ocorrer. Segundo a *Food and Drug Administration*, eliminar a contaminação bacteriana de CPHSP, evitaria 7 mortes anuais devido a infecção. **Objetivo:** Nesse trabalho iremos demonstrar a prevalência de hemoculturas positivas dos concentrados de CPHSP coletados em nosso serviço, o perfil microbiológico encontrado, as condutas adotadas e impacto para os pacientes. **Materiais e métodos:** Realizado estudo retrospectivo a partir de dados de prontuário, das coletas de CPHSP realizadas de janeiro de 2015 até junho de 2021. As coletas foram realizadas por médicos e enfermeiros treinados, em equipamento próprio para coleta e seguindo as orientações do fabricante. Foram realizadas as análises microbiológicas dos produtos para fungos, bactérias aeróbicas e anaeróbicas: pré e pós processamento, da solução crioprotetora e pós descongelamento. Os resultados alterados foram informados a equipe do transplante de medula óssea (TMO) do Hospital para definição conjunta da conduta. Para análise comparativa foram utilizados os dados da literatura. **Resultados:** No total 104 pacientes participaram do estudo, somando 162 procedimentos. Desses 5 apresentaram resultados de hemoculturas positivos, com uma prevalência de 3,1% de contaminação. As amostras positivas foram pré manipulação em 3 casos, pós manipulação em 1 e pré e pós manipulação em 1. A análise microbiológica identificou *Cutibacterium acnes* em 4 amostras e *Staphylococcus warneri* em 1. Dentre os pacientes 3 receberam infusão no mesmo hospital, 1 em outro hospital e



1 não recebeu a bolsa positiva. Todos os 4 pacientes receberam antibiótico profilático pós infusão, conforme o teste de sensibilidade aos antimicrobianos e não apresentaram intercorrências infecciosas associadas aos microrganismos presentes nas bolsas, durante ou após os procedimentos. **Discussão:** A prevalência de contaminação bacteriana em nosso serviço foi baixa, de 3,1% e está dentro dos valores descritos na literatura, entre 0,23% e 5,7%. Os microorganismos identificados foram as bactérias gram positivas anaeróbicas *Cutibacterium acnes* e aeróbica *Staphylococcus warneri*, ambas largamente encontradas na microbiota normal da pele, indo novamente de acordo com o que está descrito na literatura. A decisão de administrar profilaticamente os antimicrobianos difere dentre os serviços, sendo inclusive considerada desnecessária por alguns autores, baseados em estudos que demonstram a baixa incidência de bacteremia ou septicemia pós infusão de produtos contaminados. **Conclusão:** Os achados desse trabalho confirmam o descrito na literatura, que a contaminação microbiana dos produtos de CPHSP é baixa, causada principalmente por microbiota normal da pele e, na maioria dos casos, não compromete o sucesso do transplante.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.453>

PROCÉLULA – CENTRO DE PROCESSAMENTO DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOIÉTICAS: EXPERIÊNCIA DE NOVE ANOS E SETE MESES NA CLÍNICA DE HEMOTERAPIA LTDA, NITERÓI RJ, BRASIL

GCMTD Prado, CHC Ribeiro, JJ Saldanha, GAC Veranio-Silva, CMB Finkel, MM Lisboa, JPR Azevedo

Procélula - Terapia Celular, Niterói, RJ, Brasil

Desde a sua implantação, o Procélula colabora para o crescente número de transplantes autólogos realizados no setor privado do Estado do RJ. Demonstraremos, a seguir, nossa experiência. Para a coleta das CPH, os pacientes foram mobilizados com diferentes protocolos. As aféreses foram iniciadas no primeiro dia em que estes pacientes apresentaram mais de 10 células CD34+/mm³ no sangue periférico. Foram colhidas, em média, 4 volemiás por aférese para células mononucleares em Cobe Spectra ou Óptia. A quantificação de leucócitos foi realizada em contador automático ABX Micros ES60. Os produtos foram criopreservados usando solução composta de hidroxietilamido em concentração a 5,83%, albumina humana a 4% e Dimetilsulfóxido (DMSO) a 5% do volume final, divididos em frações de 60 a 115 mL, com concentração celular alvo de 2-3x10⁸ leucócitos totais/mL. Estas frações foram acondicionadas em freezer - 80°C e mantidas à temperatura constante até a data do transplante. A viabilidade celular foi definida por microscopia óptica e exclusão por azul de trypan. Para quantificação de CPH utilizamos citometria de fluxo para células CD34+/CD45low, segundo metodologia definida pela ISHAGE, em citômetro FACScalibur (B&D). Realizamos ensaio clonogênico com sistema MACSMedia (MiltenyiBiotech) de cultura em



metilcelulose com fatores recombinantes para crescimento de unidades formadoras de colônias de granulócitos e monócitos (UFC-GM) que foram observadas em microscopia óptica invertida 14 a 16 dias após a incubação a 37°C. De dezembro de 2011 a junho de 2021, foram atendidos 967 pacientes (542 mielomas, 389 linfomas e 36 outras doenças) com mediana de idade de 55 anos (17 pediátricos entre 0,6 a 14 anos; 950 adultos entre 15 a 74 anos), que realizaram 1055 mobilizações com G-CSF (53 associadas à quimioterapia, 314 ao Plerixafor e 13 à quimioterapia e Plerixafor; 994 com coleta e 61 falhas de mobilização sem coleta) e um total de 1.486 aféreses. A média de CPH circulantes antes da primeira aférese foi de 23 CD34+/mm³ (0-410), com média de 4,01 x 10⁶ CD34+/Kg (0,11-50,5) colhidas por aférese. Os produtos congelados apresentaram concentração celular média de 2,60 x 10⁸/mL (0,35-6,61) com recuperação de 116,41% no descongelamento (36,4-283,3). Apresentaram viabilidade celular >99% antes da criopreservação, e recuperaram em média 92,9% (68-99,8) da viabilidade e 80,4% (5,5-830,5) das UFC-GM no descongelamento. Foram realizados 2.972 ensaios funcionais, e a relação entre elas (CD34/UFC-GM) foi de 2,5 (0,7-88,9) na amostra fresca e 3,3 (0,7-91,1) na amostra descongelada. Foram realizados transplantes em 915 destes pacientes, com médias de 3,63 x 10⁶ CD34+/kg (1,20-19,79) e 1,68 x 10⁶ UFC-GM/kg (0,04-10,60) infundidas em cada paciente. O tempo para pega de granulócitos teve média de 10 (8-17) dias. Estes dados demonstram, com ampla amostragem, que a criopreservação mecânica em freezer - 80°C com baixa concentração de DMSO resulta em excelentes desfechos clínicos para o transplante autólogo de CPH. **Palavras-chave:** Células progenitoras hematopoéticas (CPH); Criopreservação e Transplante Autólogo.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2021.10.454>

PROMOTER CHOICE: THE IDEAL PROMOTER TO DRIVE CHIMERIC ANTIGEN RECEPTOR (CAR) EXPRESSION IN NK CELLS

RN Silvestre^a, J Eitler^b, JTC Azevedo^a, KCR Malmegrim^c, K Swiech^c, DT Covas^a, T Tonn^b, V Picanço-Castro^a

^a Centro de Terapia Celular (CTC), Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto (FUNDHERP), Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (FMRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

^b Experimental Transfusion Medicine, Medical Faculty 'Carl Gustav Carus', Technical University Dresden, Dresden, Germany

^c Department of Pharmaceutical Sciences, Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto (FCFRP), Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

Aims: Natural Killer (NK) cells have gained much recent attention as a promising alternative platform for CAR engineering owing to their unique biological attributes, their specialized cytotoxicity against tumors, their safety profile, and their potential use as an off-the-shelf cellular therapy.

