

laudo da dosagem de células CD34+ em até 2 horas. Caso a celularidade seja suficiente para a realização do transplante, é planejado o início da quimioterapia para o dia seguinte (D-1). Caso seja necessária uma 2ª coleta de CPH, esta é realizada na manhã do D-1 e, após o término da aférese, é realizada a infusão da quimioterapia de condicionamento. Caso não se obtenha a celularidade desejada após 2 coletas, realiza-se a criopreservação das CPH coletadas no 1º dia e realiza-se o 3º dia de coleta. As células coletadas no 2º e 3º dias são utilizadas para a infusão a fresco e o material criopreservado é mantido armazenado. A infusão das células a fresco, ocorre no D0 após 24h do término da quimioterapia de condicionamento. As CPH coletadas são mantidas em temperatura de 2 a 8°C até o momento da infusão. **Resultados:** No período de 16 meses, de abril de 2021 a julho de 2022, foram realizados, nos hospitais atendidos pelo Grupo GSH, 29 transplantes para pacientes com MM, sendo 17 homens e 12 mulheres, com mediana de idade de 59 anos. 17 (59%) pacientes receberam apenas células a fresco, 7 (24%) receberam apenas células criopreservadas e 5 (17%) receberam células a fresco juntamente com células criopreservadas. Nenhum paciente apresentou evento adverso grave. O grupo que recebeu células a fresco teve pega neutrofílica com média de 11 dias e plaquetária com 14 dias, o que recebeu apenas células criopreservadas teve pega neutrofílica com média de 12 dias e plaquetária com 15 dias e o grupo que recebeu células a fresco juntamente com as criopreservadas teve pega neutrofílica com média de 11 dias e plaquetária com 13 dias. **Conclusão:** A realização do TCPH autólogo para pacientes com MM com células a fresco é um procedimento de menor custo e complexidade e expõe o paciente a menores riscos de eventos adversos relacionados à infusão de células criopreservadas. Os tempos de pega de neutrófilos e plaquetas foram satisfatórios no 3 grupos analisados. O serviço deve realizar todo o processo de forma adequada para a infusão ocorra dentro do período de validade das células progenitoras hematopoéticas, obedecendo a legislação vigente.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.514>

IMPACTO DA COLONIZAÇÃO POR BACTÉRIAS MULTIRRESISTENTES NO DESENVOLVIMENTO DE INFECÇÕES DE CORRENTE SANGÜÍNEA E NO DESFECHO PÓS-TRANSPLANTE DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOIÉTICAS

ESSD Santos, GL Breda, KS Nogueira

Complexo Hospital de Clínicas (CHC), Universidade Federal do Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brasil

Objetivos: As infecções de corrente sanguínea constituem uma das principais causas de mortalidade em pacientes submetidos ao transplante de células-tronco hematopoéticas (TCTH), e são consideradas mais graves quando ocasionadas por bactérias multirresistentes a drogas (MDRs). Os pacientes onco-hematológicos possuem maior suscetibilidade devido a fatores como: a debilidade do sistema imune pela doença de base e pelo tratamento, o dano às barreiras anatômicas, e a translocação de bactérias colonizadoras a partir do epitélio intestinal lesionado. Tendo em vista que são escassos os estudos em centros brasileiros que avaliam o impacto da colonização por bactérias MDRs

na evolução clínica de pacientes de TCTH, este trabalho teve como finalidade investigar a influência desta colonização prévia no desenvolvimento de infecções de corrente sanguínea e no desfecho clínico pós-transplante. **Material e métodos:** Foi realizado um estudo de coorte retrospectivo, avaliando 405 pacientes com doenças hematológicas e onco-hematológicas submetidos a um único TCTH entre 2015 a 2021. Os dados clínicos foram registrados até o D+100 ou o momento da alta hospitalar, e de acordo a triagem realizada com swabs retais para a pesquisa de bactérias colonizadoras nos períodos pré e pós-transplante, os pacientes foram divididos em dois grupos: (i) não colonizados, e (ii) colonizados por bactérias MDRs, este último ainda sendo subdividido conforme o momento de evidência da colonização. Para ambos os grupos, foram documentadas as infecções de corrente sanguínea causadas por micro-organismos multirresistentes, bem como o tempo de internação e a mortalidade. **Resultados:** 258 pacientes (63,7%) foram classificados como não colonizados, e 147 (36,3%) como colonizados. Dentre os pacientes colonizados pré-transplante ou até o D+30, 7 de 83 tiveram hemoculturas positivas para *Escherichia coli* produtora de beta-lactamase de espectro estendido (ESBL), 4 de 30 para *Klebsiella pneumoniae* produtora de ESBL, 13 de 40 para *K. pneumoniae* resistente a carbapenêmicos, e 1 de 1 para *Serratia marcescens* e *Pseudomonas aeruginosa* multirresistentes. Somente 2 pacientes não colonizados apresentaram infecções de corrente sanguínea por bactérias MDRs. Dos 13 indivíduos com infecção por *K. pneumoniae* resistente a carbapenêmicos, 8 (61,5%) foram a óbito. Em relação ao tempo de internação, no transplante autólogo a média do número de dias não internados (em que o óbito representa zero) em 100 dias foi de 80,6 dias para os pacientes não colonizados e de 58,8 dias para os colonizados, enquanto na modalidade alogênico foi de 41,8 e 40 dias, respectivamente. A taxa de mortalidade dos pacientes não colonizados foi de 5,8%, enquanto 10,9% dos pacientes colonizados foram a óbito, representando um aumento de 88%. **Discussão:** Os dados reforçam a importância das medidas de triagens para pesquisa de organismos multirresistentes colonizadores, de precaução de contato de pacientes colonizados e de tratamento empírico com antimicrobianos apropriados. Estudos mais aprofundados são necessários para caracterizar possíveis fatores de risco que identifiquem indivíduos mais propensos a desenvolver infecção de corrente sanguínea pelo mesmo agente previamente colonizador. **Conclusão:** A colonização pré-transplante ou até o D+30, com destaque para aquela por *K. pneumoniae* resistente a carbapenêmicos, está associada a um aumento da incidência de infecções de corrente sanguínea por bactérias MDRs e da mortalidade pós-TCTH.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.515>

T CELLS ENGINEERED TO EXPRESS A CAR ANTI-GD2 AND THE COSTIMULATORY MOLECULE GITRL ERADICATE GLIOBLASTOMA CELLS AND ARE IFNY PRODUCERS

IP Furtado^a, RM Silveira^a, H Brand^{a,b},
R Rossetti^a, DMC Fantacini^{a,b}, LEB Souza^a,
DT Covas^{a,b}

^a Centro de Terapia Celular (CTC), Hemocentro de
Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP),
Ribeirão Preto, SP, Brazil

^b Instituto Butantan, São Paulo, SP, Brazil

The adoptive transfer of T lymphocytes expressing chimeric antigen receptors (CAR) has resulted in impressive complete remission rates in B-cell malignancies. However, the therapeutic efficacy of CAR-T cells is still low or non-existent against solid tumors, which make up the vast majority of neoplasms. One of the main reasons for this failure is the presence of ligands and immunosuppressive cells in the tumor microenvironment. The complete activation of T cells requires the engagement of costimulatory molecules whose expression is temporally segregated and whose nature of biochemical signals are complementary. This is the case of CD28, expressed constitutively, and GITR, expressed right after the initial activation of T cells. Therefore, our hypothesis is that the combined expression of a CAR containing the costimulatory domain CD28 and the GITR ligand (GITRL) will potentiate the antineoplastic action of CAR-T cells. In addition to providing complementary costimulatory signals for effector CAR-T cells, GITRL can suppress the action of regulatory T cells in the tumor microenvironment, thus possibly reducing local immunosuppression. Then, the aim of this study is to evaluate the therapeutic efficiency of anti-GD2 CAR-T cells coexpressing GITRL in a preclinical model of glioblastoma multiforme. In this project, we used as a model a CAR against the ganglioside GD2, which is highly immunogenic and expressed in tumors of neuroectodermal origin, such as glioblastoma. To test our hypothesis, we generated two lentiviral vectors to express CAR anti-GD2 and another one coexpressing GITRL as a costimulatory domain. After that, we produced lentiviral particles to transduced human T lymphocytes and we detected CAR expression in the T cells transduced with both vectors. To verify the functional activity of these CAR-T cells, we performed a coculture assay against T98G cell line, which express high levels of GD2, and HCT-166 cell, that don't express. These cell lines were previously modified to express luciferase to enable the analysis through bioluminescence imaging. We tested two ratios of effector:target cells (E:T) and we observed that both CAR.GD2 and CAR.GD2-GITRL T cells demonstrated powerful capacity of lysis only against cells that express GD2. Then, we interrogated whether these CAR-T cells could keep their lysis capacity after additional rechallenges. So, another two rounds of coculture were performed and the cells showed persistence of cytotoxicity. In addition, tumor cell killing was associated with secretion of IFN γ as evaluated by ELISA quantification of coculture supernatants. These data encouraged us to compare the antineoplastic activity and persistence of CAR-T cells anti-GD2 in an orthotopic pre-clinical model of glioblastoma multiforme, which is under way. We expect that the potential results of this project will foster the development of a new advanced cellular immunotherapy strategy for the treatment of solid GD2+ neoplasms and will pave the way to increase the antineoplastic efficiency of CAR-T cells against other malignancies.

UM171 EXPANDS IMMATURE BONE MARROW CD34+ CELLS FROM PATIENTS WITH TELOMEROPATHIES

VS Carvalho, MF Tellechea, BAA Santana,
RT Calado

Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP,
Brazil

Objectives: Telomeropathies, also referred to as telomere biology disorders (TBD), correspond to a spectrum of diseases characterized by genetic defects in the maintenance mechanisms of telomeres and telomerase. Individuals carrying variants in the genes involved in telomeres machinery may have critically short or dysfunctional telomeres, which leads to poor cell regeneration and predisposition to cancer. The commonly affected tissues are those that renew rapidly, such as the bone marrow, lungs, and skin. The most effective therapeutic approach to treat bone marrow failure in patients with TBD is allogeneic bone marrow transplantation, restricted by the low availability of compatible donors and complications of the conditioning regimen. Fares et al. (2013) demonstrated that the small molecule UM171 expands the CD34⁺ cell subpopulations from cord blood with superior engraftment potential. We demonstrated that UM171 expands primitive CD34⁺ cells from patients with immune aplastic anemia. The expanded hematopoietic progenitors showed no observable chromosomal, genetic, or telomeric changes. Here we assessed the potential of the HSC agonist UM171 to expand the HSPC compartment of patients with telomeropathies. **Methods:** Bone marrow aspirate samples were collected from five patients, and CD34⁺ cells were enriched using immunomagnetic labeling with human CD34 MicroBeads and a magnetic separator. Cells were cultured for 7 days in ACF medium supplemented with cytokines that support expansion of HSPC and UM171 or DMSO (negative control). To assess the capacity of the cells cultured either with DMSO or UM171 to generate hematopoietic progenitors, 1,000 cells/mL were resuspended in Methocult and seeded onto 35 mm dishes in triplicate. After 14 days, the colonies were counted and classified according to their morphology. **Results:** After a 7-day expansion, the percentage of CD34⁺ cells was higher with UM171 in comparison to control (UM171, 48 $\pm$ 5.1% vs. DMSO, 25.3% $\pm$ 6.2% [mean $\pm$ standard error] n=5; p=0.003). The cell surface EPCR is a reliable marker for the purification of the HSPC compartment. Therefore, we evaluated the CD34⁺EPCR⁺ subpopulation, which was increased after the UM171 treatment (UM171, 14.4 $\pm$ 4.1% vs. DMSO, 1.8% $\pm$ 0.6%; n=5; p=0.03). Additionally, cells expanded with UM171 gave rise to more progenitor cells, as observed by the CFU assay (UM171, 142 $\pm$ 18 vs. DMSO, 94 $\pm$ 9; n=4; p=0.01). No significant telomere attrition was observed with the expansion. **Discussion:** Bone marrow failure is a common manifestation in patients with telomere disorders since the telomerase complex is essential for maintaining the self-renewal capacity of the HSPC pool. Our data suggest the possible future use of UM171 to enhance *ex vivo* production of HSPC from TBD patients, making it feasible to use these cells in autologous transplants. These findings should improve our understanding of the effect of UM171 on