

mediator secretion by ELISA (OptEIA Kit; BD Biosciences); (vi) evaluation of the fungicidal effect by CFU assay. **Results:** Thus, we generated GXMR-CAR variants containing CD28, CD137, or iCOS as costimulatory domains, and CD19-CAR. So far, preliminary data demonstrated the cytotoxic activity of CD19-CAR modified T cells against Raji-Luc cell line, after incubation for 24 hours RLU determination. CD19-CAR T cells in the presence of Raji cell line showed a significant increase in the production of IFN- γ or IL-2, compared to the unmodified T cells. The expression of cellular exhaustion markers was also investigated, and both PD-1 and TIM-3 had increased expression in CD19-CAR T cells. In addition, T cells modified with GXMR-CAR variants were co-cultivated with *C. gattii* or *C. neoformans* yeasts for 24-hours. *Cryptococcus* burden was determined through the CFU assay, and GXMR-CD137-CAR T cells promoted a significant reduction in the *C. neoformans* burden, compared to unmodified T cells. **Discussion and conclusion:** Notably, additional experiments are required to validate these findings. The next steps, GXMR-CAR variants and CD19-CAR will be co-expressed by human T cells verifying the effect on *in vitro* control of *C. neoformans* and *C. gattii* infection, as well as the ability to reduce the expansion of neoplastic B cells. Finally, modified T cells co-expressing GXMR-CAR and CD19-CAR will be used in the therapy of NSG mice previously infected with *Cryptococcus* spp. or infused with neoplastic B cell line. **Financial support:** CAPES - PROEX; CNPQ (process 167848/2023-2); FAPESP (process number: 2024/00300-9).

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.105489>

ID - 3020

CINÉTICA DA VIABILIDADE E INTEGRIDADE DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOIÉTICAS HUMANAS APÓS 10 ANOS DE CRIOPRESERVAÇÃO: IMPLICAÇÕES CLÍNICAS E OTIMIZAÇÃO DO PREPARO PRÉ-INFUSIONAL

TS Melo, BV Ramos, CA Ayoub

Centro de Criogenia Brasil, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A criopreservação de células-tronco hematopoéticas (CTH) viáveis é fundamental para o sucesso de terapias celulares e transplantes. O dimetilsulfóxido (DMSO) é o agente crioprotetor mais utilizado, porém sua toxicidade residual após o descongelamento pode comprometer tanto a viabilidade quanto a integridade fenotípica das células, incluindo a expressão do marcador CD34+. Embora as preocupações geralmente se limitem aos aspectos clínicos, pouco se discute o impacto direto do DMSO a nível celular, assim como a cinética da morte celular ao longo do tempo pós-descongelamento. **Objetivos:** Diante disto, o presente projeto teve como objetivo avaliar as condições de lavagem de CTH humanas criopreservadas por 10 anos, testando protocolos que mimetizam práticas clínicas, a fim de avaliar a cinética da viabilidade e integridade celular, além de estabelecer recomendações para o limite temporal seguro de infusão, contribuindo para a padronização dos procedimentos nos centros de transplante. **Material e métodos:** Foram utilizadas amostras de CTH criopreservadas por 10 anos, descongeladas em banho-maria a

37°C e distribuídas em três grupos: lavagem com solução salina 0,9% + 5% albumina humana (Grupo A); lavagem com Voluven 6% (Grupo B); e controle sem lavagem, com DMSO residual (Grupo C). As células dos grupos A e B foram centrifugadas a 300g por 10 minutos e ressuspensas na solução de lavagem. A viabilidade foi avaliada aos 0, 2 e 4 horas após descongelamento por contagem em azul de tripano (Countess II). A integridade celular foi analisada qualitativamente por coloração fluorescente com calceína AM e iodeto de propídio. Após 4 horas, realizou-se citometria de fluxo para avaliar viabilidade via 7-AAD e expressão percentual do marcador CD34+. **Resultados:** No tempo zero, a viabilidade foi similar entre os grupos: DMSO 85,8% ($\pm$ 2,6), Voluven 87,3% ($\pm$ 2,5) e NaCl + albumina 90% ($\pm$ 2,9). Após 2 horas, o grupo sem lavagem sofreu queda significativa de 32,8%, com viabilidade de 53,0%, enquanto os grupos lavados apresentaram perdas menores: 6,1% para Voluven (81,2%) e 9,25% para NaCl + albumina (80,75%). Aos 4 horas, o grupo DMSO apresentou perda total de 71,6%, com viabilidade reduzida a 14,2% ($\pm$ 3,0), e os grupos lavados mantiveram viabilidades superiores a 75% (Voluven 75,5% $\pm$ 2,8 e NaCl + albumina 77,8% $\pm$ 3,0). Apesar de ambas as soluções terem mantido a viabilidade, observou-se melhor preservação no grupo lavado com NaCl + 5% albumina. As imagens por imunofluorescência corroboram os resultados quantitativos, mostrando maior proporção de células vivas nos grupos lavados e predomínio de células mortas no grupo controle. A citometria de fluxo confirmou baixa viabilidade (12,9%) e redução acentuada da expressão de CD34 (2,79%) no grupo sem lavagem, indicando comprometimento fenotípico severo, enquanto os grupos lavados mantiveram maior integridade celular e expressão de CD34+. **Discussão e conclusão:** A toxicidade do DMSO residual após o descongelamento compromete progressivamente a viabilidade e a integridade fenotípica das CTH, especialmente na ausência de lavagem. A remoção do DMSO com soluções como NaCl + albumina ou Voluven preserva as células por até 4 horas, ampliando a janela segura para infusão. Com a adoção dessas práticas, espera-se otimizar os resultados clínicos e ampliar o sucesso das terapias com células-tronco hematopoéticas. Este estudo reforça a importância da padronização dos protocolos pré-infusionais para garantir eficácia e segurança nos transplantes, promovendo abordagens terapêuticas mais seguras e eficazes.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.105490>

ID - 3293

CISTITE HEMORRÁGICA POR ADENOVÍRUS DE DIFÍCIL MANEJO NO PÓS-TRANSPLANTE DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOIÉTICAS HAPLOIDÊNTICO

CM Melo ^a, ML Puls ^b, CB Prato ^a, TAS Pereira ^a,
IM De Melo ^a, MCM De Almeida Macedo ^c,
RL Da Silva ^c

^a Hospital São Camilo Pompeia, São Paulo, SP, Brasil

^b Hospital São Camilo Pompeia, Hospital Sírio-Libanês, Hospital 9 de Julho, São Paulo, SP, Brasil

^c Hospital São Camilo Pompeia, Instituto Brasileiro de Controle do Câncer, Bio'Sanas, São Paulo, SP, Brasil

Introdução: A cistite hemorrágica viral é uma complicação conhecida após transplante de células-tronco hematopoéticas (TCTH) devido a imunossupressão inerente a esta modalidade terapêutica. O adenovírus é uma causa importante, podendo cursar com hematúria persistente, disúria intensa, aumento de demanda transfusional e insuficiência renal, sendo seu manejo complexo. Descrevemos caso de cistite hemorrágica de difícil, porém bem-sucedido, controle no pós-TCTH alogênico. **Relato de caso:** Masculino, 52 anos, com diagnóstico de policitemia vera JAK2 V617F mutada em 2008, evoluindo para mielofibrose em 2022, com DIPSS plus e MIPSS70 de risco intermediário e citopenias persistentes, com alta necessidade transfusional de hemácias e plaquetas, sintomas B e esplenomegalia sintomática de cerca de 15 cm. Ruxolitinib e TCTH alogênico foram indicados. Infusão de 6×10^6 CD34+/kg células progenitoras providas de doador haploidentico (filho, 32 anos), fonte sangue periférico, condicionamento FluBu4Cy, profilaxia de doença do enxerto contra o hospedeiro (DECH ou GvHD) com Ciclofosfamida pós-transplante, micofenolato e ciclosporina (CsA). Ruxolitinib suspenso na aplasia. Enxertia neutrofilica no D+22. Evoluiu no D+60 com hematúria macroscópica, sendo iniciado hidratação e investigação. Seus exames demonstraram carga viral urinária $> 2 \times 10^9$ cópias/mL para adenovírus. Tentado redução da imunossupressão vigente (CsA) e posteriormente troca de CsA por sirolimo (até a suspensão no D+75) junto de sessões diárias de sessões de câmara hiperbárica, conforme sugestão da equipe de Infectologia. Paciente persistiu com hematúria e redução parcial da carga viral de adenovírus, sendo indicado terapia sistêmica com cidofovir (5 mg/kg)+probenecida e ciprofloxacino empírico. Não houve resposta clínica, havendo persistência da hematúria, culminando com queda de hemoglobina e necessidade de suporte transfusional intenso. Uma avaliação da equipe de Urologia foi solicitada, sendo realizado cistoscopia endoscópica via uretral que revelou interior do globo vesical universalmente friável com intensa cistite hemorrágica, sem possibilidade de qualquer cauterização ou remoção de coágulo. Optou-se em infusão de cidofovir intravesical (375 mg com soro fisiológico 0.9% 100 mL) no D+90 e no D+105, sob sedação. Houve clareamento progressivo da urina e franca melhora sintomática e das citopenias. No D+106, paciente realizou reavaliação da doença oncohematológica de base, obtendo resultado de quimerismo em 97% do doador e JAK2 V617F indetectável. Nessa data, documentou-se negatização da carga viral sérica e urinária do adenovírus. O paciente recebeu alta hospitalar com seguimento ambulatorial e se encontra clinicamente bem até o momento da descrição deste relato. **Conclusão:** Há poucos relatos da administração de cidofovir intravesical. Conforme descrito em séries de casos, nosso paciente teve resposta excelente com esta modalidade terapêutica, sem complicações renais e já tendo sido previamente exaurido as demais opções de antiviral endovenoso, redução da imunossupressão e abordagem urológica. O cidofovir intravesical é uma opção terapêutica para cistite hemorrágica por adenovírus em pacientes já sem imunossupressão e refratários a cidofovir endovenoso.

ID - 1251

COLETA DE LINFÓCITOS DE DOADOR SEM AFÉRESE: ALTERNATIVA DE BAIXO CUSTO PARA EXTRAÇÃO DE LINFÓCITOS T CD3+ A PARTIR DE SANGUE TOTAL

FB Bher, AF Silva, PTR Almeida

Instituto Pasquini de Hemoterapia e Hematologia, Curitiba, PR, Brasil

Introdução: A infusão de linfócitos doador (DLI) é uma estratégia terapêutica no manejo de neoplasias hematológicas recidivadas após o transplante alogênico de células-tronco hematopoéticas. Com a crescente adoção de transplantes haploidenticos, há renovado interesse na utilização de DLI para tratamento e prevenção de recaídas no período pós-transplante. **Objetivos:** Padronizar um método simples, eficiente e reproduzível para obtenção de alíquotas de linfócitos a partir de sangue total, utilizando centrifugação em gradiente de densidade e extração manual das camadas celulares. **Material e métodos:** Foram utilizadas 20 unidades de sangue total, coletadas em bolsas com anticoagulante CPDA-1, refrigeradas (4–8°C) e processadas em até 24h após a coleta. As amostras foram submetidas a cinco protocolos distintos de centrifugação para identificar aquele com melhor recuperação de linfócitos CD3⁺. Avaliaram-se viabilidade celular e dosagem de CD3⁺ por citometria de fluxo antes e após o processamento. A separação das camadas celulares (plasma rico em plaquetas, camada leucocitária e hemácias) foi realizada com extrator manual. Uma segunda centrifugação da fração leucocitária foi aplicada para reduzir o volume de plasma residual e concentrar a população celular. **Resultados:** Entre as cinco variações de centrifugação testadas na primeira etapa, sendo essa a mais importante, maiores forças centrífugas proporcionaram melhor separação das camadas celulares e maior recuperação de linfócitos CD3⁺, sem resíduos significativos de linfócitos no concentrado de hemácias. As centrifugações foram realizadas por 5 minutos com freio nível 3. Foram testadas 11 amostras, com velocidades entre 2400 e 3000 rpm. Destas, 55% apresentaram recuperação de CD3⁺ $> 75\%$, 36% entre 50-75% e 9% abaixo de 50%. Nas amostras aprovadas ($\geq 75\%$ de recuperação), obteve-se média de $6,36 \times 10^8$ células CD3⁺/mL no produto final. **Discussão e conclusão:** O procedimento permite a infusão de pequenas alíquotas de DLI a fresco ou criopreservadas, representando alternativa eficaz à coleta por aférese, que pode exigir internação, cateter central e longa duração. Já a coleta de sangue total requer apenas flebotomia simples, podendo ser realizada com segurança mesmo em ambientes com infraestrutura limitada. Essa abordagem é vantajosa em doadores pediátricos, pois o protocolo é gradual, demanda pequenos volumes e reduz riscos e desconfortos. A infusão de DLI é relevante em transplantes pediátricos, auxiliando na prevenção da rejeição do enxerto em doenças hematológicas benignas e no controle da recidiva leucêmica em pacientes de alto risco. Concluímos que, o método avaliado é promissor como alternativa menos invasiva para o doador e eficaz para a produção de alíquotas celulares. É simples, econômico, de fácil execução, e pode atender, de forma segura, à necessidade de