

<sup>a</sup> Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP, Brasil

<sup>b</sup> Departamento de Infectologia e Medicina Tropical, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), São Paulo, SP, Brasil

<sup>c</sup> Instituto de Medicina Tropical, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), São Paulo, SP, Brasil

<sup>d</sup> Departamento de Patologia, Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (FMUSP), São Paulo, SP, Brasil

<sup>e</sup> LIM 03 Laboratório de Medicina Laboratorial, Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina da Universidade de São Paulo (HCFMUSP), São Paulo, SP, Brasil

**Introdução:** A infecção por citomegalovírus (CMV) é uma das principais complicações infecciosas em pacientes submetidos a transplantes de órgãos sólidos e de células-tronco hematopoiéticas. Sua capacidade de latência e reativação associada à imunossupressão, facilita a propagação viral após o transplante. O CMV pode causar desde infecções assintomáticas até doenças invasivas graves, como pneumonite, colite, retinite, úlceras e perda do enxerto, comprometendo a sobrevida do paciente e a função do órgão. A detecção de mutações associadas à resistência antiviral é essencial, pois essas alterações podem tornar a infecção refratária ao tratamento, agravando o quadro clínico e impactando negativamente a qualidade de vida dos pacientes. Diante disso, conhecer mutações do vírus circulante em nossa realidade não é apenas uma necessidade, é uma corrida contra o tempo para evitar falhas terapêuticas em pacientes que já enfrentam o limite entre risco e recuperação. **Objetivos:** O objetivo é analisar e identificar possíveis mutações das regiões UL56 e UL54 que possam conferir resistência aos antivirais utilizados no tratamento do CMV. **Material e métodos:** Serão avaliadas 47 amostras de pacientes com carga viral para o citomegalovírus (CMV), com idades entre 19 e 70 anos, submetidos a transplante de fígado ou de medula óssea no Hospital das Clínicas da FMUSP. A técnica de reação em cadeia da polimerase (PCR), foi utilizada para amplificar regiões alvo dos genes UL54 e UL56 do genoma viral. Foram utilizados primers específicos e validados, sob condições otimizadas de amplificação, assegurando a especificidade e reprodutibilidade dos resultados. Os produtos amplificados foram analisados por eletroforese e posteriormente submetidos ao sequenciamento pelo método de Sanger para a identificação de mutações associadas à resistência antiviral do CMV. **Resultados:** Das 47 amostras provenientes de pacientes transplantados, foi possível obter amplificação positiva da região UL56 em 16 amostras (34%) e da região UL54 em 7 amostras (14,9%), por meio de reação em cadeia da polimerase (PCR). As amostras amplificadas serão posteriormente submetidas ao sequenciamento de Sanger, com o objetivo de verificar possíveis mutações. Esses dados preliminares demonstram a viabilidade da amplificação de regiões-alvo do CMV em amostras clínicas de receptores de transplante, representando um passo essencial para análises genotípicas subsequentes. Até o momento, algumas dessas amostras já foram sequenciadas, e não foram identificadas mutações associadas à resistência aos

antivirais. **Discussão e conclusão:** A detecção e monitoramento do citomegalovírus (CMV) em pacientes transplantados representam um desafio clínico importante, especialmente diante do risco de resistência antiviral. A identificação de mutações em regiões específicas do genoma viral, como UL54 e UL56, está diretamente associada à falha terapêutica e à necessidade de ajustes no tratamento. A escolha dessas regiões foi baseada em sua relevância descrita na literatura, por estarem associadas aos principais mecanismos de resistência aos antivirais atualmente utilizados, como o ganciclovir, foscarnet e o letermovir. Os dados obtidos, embora preliminares, reforçam a importância da triagem molecular em tempo oportuno, especialmente em contextos de carga viral persistente ou falha terapêutica. A possibilidade de identificar mutações com relevância clínica permanece em aberto, alimentando a expectativa por achados que possam influenciar diretamente o paciente.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.105542>

ID - 2381

#### PROCESSAMENTO E CRIOPRESERVAÇÃO DE LEUCÓCITOS DO DOADOR PARA UTILIZAÇÃO APÓS TRANSPLANTE DE CÉLULAS-TRONCO HEMATOPOIÉTICAS

ACL Alves, AS Ramos, MRA Gomes, EH Goto, DVB Cruz, KCA Sasaki, E Delbuono, AVL Sousa, ACR Correa, ACRD Bronzoni, EA Viana, LL Quintino, LS Domingues, MGMA Dias, RM Amaral, RV Gouveia, VC Ginani, ASS Ibanez, CMM Parrode, CM Lustosa, OMWO Félix, A Seber

Grupo de Apoio ao Adolescente e a Criança com Câncer, São Paulo, SP, Brasil

**Introdução:** A infusão de leucócitos do doador (DLI) pode ser utilizada na profilaxia e terapia de recidiva de doença maligna após o transplante de células-tronco hematopoiéticas (TCTH) ou ainda na prevenção de rejeição das células do doador nos TCTH realizados para doenças não malignas. Doses crescentes de DLI são habitualmente iniciadas quando é documentado quimerismo misto, com escalonamento das próximas doses nas doenças malignas. Há protocolos que utilizam DLI proveniente do sangue periférico, leucoaférese ou medula óssea e a infusão pode ser do produto a fresco ou previamente criopreservado. A utilização da DLI é limitada pelo risco de doença do enxerto contra o hospedeiro (GVHD). **Objetivos:** Relatar a experiência de um centro de processamento celular de um hospital pediátrico no processamento e criopreservação dos linfócitos provenientes do sangue periférico, leucoaférese ou medula óssea de doadores aparentados e não aparentados. **Material e métodos:** A escolha da fonte de DLI foi avaliada conforme a idade, disponibilidade do doador ou fonte disponível. Para os doadores aparentados utilizamos o sangue periférico como primeira escolha, porém para doadores pequenos, com dificuldades para comparecimento ao serviço ou doadores não aparentados, utilizamos

uma fração do produto de leucoaférese ou da medula óssea. Para todos os produtos foi realizada a enumeração do CD3 por citometria de fluxo. A coleta de sangue periférico é realizada com anticoagulante ACD – A. O Centro de Processamento celular (CPC) realiza os cálculos do produto para o transplante de medula óssea e a celularidade excedente é criopreservada para doses de DLI conforme o protocolo clínico. As células-tronco coletadas por leucoaféreses foram centrifugadas 3.000 rpm, 20 min, temperatura ambiente e a porção celular foi criopreservada. A medula óssea teve ajuste do hematocrito para < 25%, adicionado HAES 6% Voluven® na proporção 1:8. As bolsas foram centrifugadas na posição invertida a 1700 rpm ou 840 g, 5 minutos, temperatura ambiente, sem freio. A criopreservação dos produtos foi com solução final de HAES 6%, Albumina 4% e DMSO 5% e armazenadas em ultra-freezeres. No dia da infusão, foi realizado o degelo em banho maria à 37°C. A contagem das células nucleadas ocorreu antes do processamento e após degelo para cálculo estimado da dose de CD3 a ser infundido. **Resultados:** No período de 1999 a 2025 processamos linfócitos para 51 pacientes: 36 pacientes realizaram TMO aparentados e 15 não aparentados; 18 coletados do sangue periférico, 22 de leucoaférese e 11 da medula óssea. Os diagnósticos foram 43 Leucemias, 2 Anemia de Fanconi, 2 Imunodeficiência, 2 Linfoma de Hodgkin, 2 Síndrome mielodisplásica. A mediana de idade dos pacientes foi 11 anos (1-18) e peso 31 kg (7-80). A mediana de idade dos doadores foi 24 anos (11 meses -55 anos) e peso 68 kg (10-114 kg). As doses de DLI do sangue periférico foram 1 a 6, leucoaférese 1 a 4 doses e apenas uma dose quando medula óssea. **Discussão e conclusão:** O planejamento de uma coleta de células-tronco hematopoéticas alogênicas com celularidade maior que o alvo para o transplante de medula óssea é factível, para processar e criopreservar doses de linfócitos de doadores pequenos ou com dificuldades de comparecimento ao serviço, para o planejamento da profilaxia ou tratamento da recidiva da doença dos pacientes com doenças oncohematológicas.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.105543>

ID - 1095

**PRODUÇÃO ESCALONÁVEL DE VETOR LENTIVIRAL CLÍNICO CAR ANTI-CD19 DE QUARTA GERAÇÃO COEXPRESSANDO IL-15/IL-15RA PARA TERAPIAS CELULARES COM NK**

MS Abreu-Neto, R Rossetti, PNM Costa, TC Heluy, H Brand, VP Castro

Hemocentro Ribeirão Preto, Ribeirão Preto, SP, Brasil

**Introdução:** Vetores lentivirais constituem ferramentas essenciais em terapias avançadas, como células CAR-T/NK e terapias gênicas, por possibilitarem modificação genética estável de células-alvo. O desenvolvimento de plataformas nacionais para sua produção é estratégico, pois reduz a dependência de importações, diminui custos e fortalece a capacidade do país em terapias avançadas. A transdução com lentivírus é amplamente empregada em estudos clínicos com

células CAR devido à sua alta eficiência em células quiescentes ou em divisão e à integração genômica que garante expressão sustentada. A produção de vetores lentivirais envolve etapas upstream, com transfecção de células empacotadoras e coleta do sobrenadante viral, e downstream, para purificação e concentração das partículas. A filtração tangencial (TFF) aplicada no downstream permite concentração, troca de tampão e preservação da integridade viral em processo escalonável e compatível com uso clínico. **Objetivos:** Este estudo teve como objetivo estabelecer uma plataforma nacional para produção de vetor lentiviral clínico de quarta geração, projetado para expressão de CAR anti-CD19 com coexpressão de IL-15/IL-15Ra em células NK. **Material e métodos:** No upstream, células HEK293-T/17 em sistema multicamadas Cell Factory foram transfectadas com 0,34 µg/cm<sup>2</sup> de plasmídeo (3:1:1:1; CAR e acessórios 1-3) e agente de transfecção (1:1 DNA:PEI). Após 48 h, o sobrenadante viral foi coletado (n=3 lotes) e clarificado em filtro de 0,5 µm. No downstream, utilizou-se o sistema KrosFlo® KR2i TFF (Repligen) em duas etapas: concentração inicial (10-11x)/diafiltração (7 DV) com membrana 500 kD MiniKros e concentração final (10-25x) com membrana 500 kD MidiKros. **Resultados:** Os rendimentos médios nas diferentes etapas foram: clarificação 108,6% (± 26,2%), concentração inicial 56,7% (± 20,1%), diafiltração 84,5% (± 47,3%) e concentração final 126,4% (± 78,6%). O vetor final apresentou título médio de 1,05×10<sup>7</sup> TU/mL e pureza adequada para uso clínico, com remoção de 97% do DNA residual e 98% da proteína de célula hospedeira. Ensaios funcionais demonstraram transdução eficiente de células NK primárias (MOI 10), com frequências de 42,3% (± 0,57%) e 14,3% (± 1,13%) de células NK-CAR anti-CD19 nos dois lotes testados. **Discussão e conclusão:** A plataforma desenvolvida gera vetores lentivirais escalonáveis e de alta qualidade compatíveis com Boas Práticas de Fabricação (BPF), constituindo um passo estratégico para produção nacional de células CAR-NK de quarta geração, com impacto direto no avanço de terapias celulares para leucemias e linfomas no Brasil. **Apoio financeiro:** PRONON 25000.021774/2019-13; FINEP 01.24.0656.00 Ref: 0238/24; FAPESP 2020/07055-9.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.105544>

ID - 601

**PROGNOSTIC SIGNIFICANCE OF INTESTINAL PERMEABILITY IN BRAZILIAN PATIENTS UNDERGOING ALLOGENEIC STEM CELL TRANSPLANTATION**

NL Silva <sup>a</sup>, ASF Júnior <sup>a</sup>, LS Souza <sup>a</sup>,  
DAN Alvarez <sup>a</sup>, BF Silva <sup>a</sup>, I Colturato <sup>b</sup>,  
JVP Feliciano <sup>c</sup>, GN Barros <sup>d</sup>, P Scheinberg <sup>e</sup>,  
GLV Oliveira <sup>a</sup>

<sup>a</sup> Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Botucatu, SP, Brazil

<sup>b</sup> Hospital Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brazil

<sup>c</sup> Fundação Faculdade Regional de Medicina (FUNFARME), São José do Rio Preto, SP, Brazil