

realizadas no período de janeiro de 2019 a julho de 2025 no HCPA. As coletas de aférese foram realizadas utilizando os equipamentos Spectra Optia® (Terumo BCT) e COBE® Spectra (Terumo BCT - até julho 2019). Os exames microbiológicos foram realizados utilizando frascos de hemocultura em aerobiose (pediátricos) e anaerobiose, de acordo com as especificações do fabricante, utilizando os sistemas BacT/Alert (bioMérieux, Durham, NC - até dezembro 2023) e BD Bactec (Becton, Dickinson, Sparks, MD - janeiro 2024 em diante). **Resultados:** Durante o período foram coletados 562 produtos de terapia celular, incluindo células progenitoras hematopoéticas e linfócitos de doador. O índice geral de contaminação do período foi de 3,6%. Os valores anuais, considerando os anos de 2019 até 2025, sucessivamente, foram: 0,8; 1,5; 4,0; 9,0; 6,6; 1,3 e 0,0%. Dos 20 produtos com resultado microbiológico positivo, 18 foram de coletas autólogas e dois de coletas alogênicas. Os microrganismos identificados no período foram: *Staphylococcus epidermidis* (12), *Staphylococcus aureus* (2) e *Burkholderia gladioli* (2). Em quatro amostras, o microrganismo não foi identificado. Foram infundidos 18 produtos com contaminação microbiológica (dois alogênicos e 16 autólogos; quatro a fresco e 14 criopreservados), sendo que 17 pacientes apresentaram pega neutrofílica média em 12 dias (16,5 dias para transplantes alogênicos e 11,7 dias para transplantes autólogos) e pega plaquetária média em 15,7 dias (23,0 dias para transplantes alogênicos e 14,7 dias para transplantes autólogos). Um dos pacientes, com outras complicações infecciosas e clínicas prévias, recebeu produto com *S. epidermidis* e foi à óbito após três dias da infusão. **Discussão e conclusão:** O índice médio de contaminação observado no período está de acordo com a ocorrência descrita na literatura. Os microrganismos identificados são comumente encontrados no ambiente e na flora epitelial. O controle de contaminação dos produtos oportuniza um acompanhamento dos padrões de qualidade de coleta e processamento de produtos de terapia celular, bem como possibilita a avaliação da necessidade de condutas adicionais ao paciente que receberá o produto.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.105494>

ID - 2776

DETECÇÃO DE CÉLULAS CAR T ANTI-CD19 POR CITOMETRIA DE FLUXO

EB Mendes, FCM Santos, JAZ Rosa, MEP Reder, GR Lopes, JSH Farias, MP Beltrame

Hospital Erasto Gaertner, Curitiba, PR, Brasil

Introdução: A terapia com células CAR-T (receptor quimérico de antígeno) transformou o manejo de neoplasias hematológicas refratárias ou recidivadas, oferecendo uma alternativa eficaz para pacientes com poucas opções terapêuticas. O monitoramento dessas células no sangue periférico após a infusão permite avaliar a resposta clínica e antecipar eventos adversos, já que sua persistência está relacionada à eficácia

do tratamento. **Objetivos:** Realizar a validação de dois reagentes comerciais destinados à quantificação de células CAR-T, avaliando seu desempenho técnico e sua aplicabilidade prática na rotina do Laboratório de Citometria de Fluxo. **Material e métodos:** 18 amostras divididas em três grupos; 5 alíquotas da indústria (tisagenlecleucel, Novartis, Suíça, CAR-T cells), 13 amostras de sangue periférico após a infusão; 5 com diagnóstico prévio de LLA-B, 7 LDGCB e 1 linfoma folicular. Foram adquiridos de 500.000 a 1 milhão de células. A caracterização e quantificação das populações celulares foram realizadas com os anticorpos monoclonais conjugados a fluorocromos: CD45 FITC, CD19 CAR PE, 7AAD PerCP, CD8 APC-Cy7, CD3 APC, CD4 APC-H7 (todos da BDBiosciences) e aquisição em citômetro de fluxo BD FACSLytic (BD FACSuite™ software). Foram avaliados dois anticorpos específicos para detecção do CD19 CAR: Immunostep (Espanha), utilizado em 10 amostras e CD19 CAR conjugado à biotina da Miltenyi Biotec (Alemanha) em 8 amostras. **Resultados:** Nenhuma normalização foi implementada na análise. Todos os dados foram dados brutos, processados e posterior análise com o software Infinicyt (Salamanca-Espanha), utilizando sequência de estratégias de gate e posterior identificação das células CAR-T, CD3+CD4+, CD3+CD8+, CD3+CD4+CD8+, CD3+CD4-CD8- e exclusão das células mortas pelo corante 7AAD. A análise dos dados foi realizada no programa Microsoft Excel. A mediana de intensidade de fluorescência nas alíquotas da indústria a mediana do canal de fluorescência ficou entre 15.661 a 53.007. Ambos os anticorpos avaliados foram eficazes para detecção e quantificação de células CAR-T, com marcação nítida nas amostras positivas e sem diferenças relevantes quanto à intensidade de fluorescência e sensibilidade. **Discussão:** Apesar do potencial curativo das células T do receptor de antígeno quimérico (CAR), um número significativo de pacientes não responde, ressaltando a necessidade de monitoramento preciso do paciente. Atualmente, a avaliação das respostas em cenários do mundo real é baseada nos exames laboratoriais (doença residual mensurável nas LLA-B), exames laboratoriais de rotina e de imagem. No entanto, como a progressão da doença é rápida em pacientes fortemente tratados, a detecção precoce da perda da persistência das células CAR-T é necessária para que o tratamento de resgate possa ser iniciado mais cedo. **Conclusão:** A citometria de fluxo é um método eficiente e acessível para detecção de células CAR-T circulantes no monitoramento terapêutico de pacientes pós infusão. A disponibilidade de diferentes reagentes comerciais no mercado torna-se necessária a validação da técnica considerando desempenho, custo e aplicabilidade. Neste resumo avaliamos dois reagentes, os quais ofereceram detecção confiável de células CAR-T, com distinção clara entre expressão positiva de CAR e células negativas. Importante avaliar os custos e tempo de processamento das amostras para aplicabilidade em laboratórios de rotina.

Referências: Cells 2021, 10; Blood Advances. Research Letter. 2023, 7, (22): 6844–6849; Frontiers in Immunology. 2021, 12, 1-17.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2025.105495>