

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 leucoaférese foram centrifugadas 3.000 rpm, 20 min, temperatura ambiente e a porção celular foi criopreservada. A medula óssea teve ajuste do hematócrito 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-freezers. 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 empacadoras 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-15R α em células NK. **Material e métodos:** No upstream, células HEK293-T/17 em sistema multicamadas Cell Factory foram transfectadas com 0,34 μ g/cm² 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 μ m. 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% ($\pm$ 26,2%), concentração inicial 56,7% ($\pm$ 20,1%), diafiltração 84,5% ($\pm$ 47,3%) e concentração final 126,4% ($\pm$ 78,6%). O vetor final apresentou título médio de 1,05 $\times$ 10⁷ TU/mL e pureza adequada para uso clínico, com remoção de 97% do DNA residual e 98% da proteína de célula hospedeira. Ensaio funcionais demonstraram transdução eficiente de células NK primárias (MOI 10), com frequências de 42,3% ($\pm$ 0,57%) e 14,3% ($\pm$ 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^a, ASF Júnior^a, LS Souza^a, DAN Alvarez^a, BF Silva^a, I Colturato^b, JVP Feliciano^c, GN Barros^d, P Scheinberg^e, GLV Oliveira^a

^a Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho (UNESP), Botucatu, SP, Brazil

^b Hospital Amaral Carvalho, Jaú, SP, Brazil

^c Fundação Faculdade Regional de Medicina (FUNFARME), São José do Rio Preto, SP, Brazil