

**eP2440****Evaluation of filter paper to transport bacteria for carbapenemase genes detection using pcr by high melting resolution**

Maiara dos Santos Carneiro; Marina Niada Crispim; Priscila Lamb Wink; Afonso Luís Barth  
HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

Infections caused by resistant microorganisms are a complex global public health challenge. One important way to combat the increase of resistance is the use of multiple strategies, as the development of more modern and fast techniques in the detection of resistance. The use of filter paper has already been applied for the transport of biological samples, but not bacteria, and has proved to be efficient. This study aimed to evaluate the transport of inactivated bacteria impregnated in filter paper under normal environmental conditions for further analysis of carbapenemase genes using a High Melting Resolution (HRM) PCR with specific primers. Isolates of Enterobacteriales with characterized carbapenemase genes (*blaKPC*, *blaNDM*, *blaOXA48*-like, *blaKPC+NDM* coproducers) were evaluated. The isolates were subcultured onto Mueller Hinton (MH) agar and incubated at 36°C +/- 1°C for 18 to 24 hours. Bacterial growth on MH (full loop of 10 µL) was impregnated in a filter paper. The filter paper was left at room temperature for 2 days in order to simulate the transport time. The filter paper disks were placed in sterile eppendorfs and the DNA was extracted by thermal lysis, followed by quantification on NanoDrop Nucleic Acid Quantification (Thermo Fisher Scientific). We evaluated a total of 48 carbapenemase positive clinical isolates impregnated in the filter paper disks and the carbapenemase genes were correctly identified in 47 isolates (97.9%). Only one isolate *blaNDM* presented negative results for carbapenemase genes. Noteworthy, the three isolates carbapenemase negative presented negative results after being impregnated in the filter paper. Our preliminary results indicated that it is possible to detect carbapenemase genes from bacteria impregnated in filter paper. Thus, the filter paper can be considered as an alternative to transport bacterial biomass in order to evaluate the presence of carbapenemase genes by PCR.

**eP2451****Estudos sobre o isolamento e expansão de Células Natural Killer (NK) do sangue de cordão umbilical e placentário**

Juliana Monteiro Furlan; Anelise Bergmann Araújo; Fabiane Spagnol; Vanessa de Souza Valim; Gabrielle Dias Salton; Melissa Helena Angeli; Tissiana Schmalfluss; Maria Aparecida Lima da Silva; Liane Marise Röhsig; Lúcia Silla  
HCPA - Hospital de Clínicas de Porto Alegre

**Introdução:** A célula NK possui uma importante função no sistema imune inato de defesa primária contra vírus e patógenos e também realiza a imunovigilância tumoral. Muitos estudos clínicos têm avaliado o uso dessas células na imunoterapia adotiva. A expansão e a ativação da célula NK requer sinais e estímulos para manter a sua sobrevivência. Atualmente existem muitos protocolos para a expansão e ativação da célula NK, porém não existe uma definição do melhor método para uso clínico. **Objetivo:** O estudo tem como objetivo avaliar a melhor forma para expansão das células NK isoladas de células mononucleares do sangue de cordão umbilical e placentário (SCUP). **Método:** Projeto aprovado GPPG Nº 2015-0312. Foram avaliadas cinco diferentes condições para expansão de células NK de mononucleares isoladas do sangue do cordão umbilical e placentário. Foram testados protocolos utilizando as interleucinas (IL), IL-2, IL-3, IL-15; com ou sem a presença do co-cultivo com células-tronco mesenquimais do cordão umbilical (CTM-CU) e, também o co-cultivo com células apresentadoras de antígeno artificiais com IL-21 à membrana (APC mbIL21). **Resultados:** Os protocolos utilizando co-cultivo com APC mbIL21 foram superiores aos demais quanto à capacidade de expansão de células NK (CD3-, CD56+, CD16+) de SCUP. **Conclusão** O protocolo de co-cultivo de células mononucleares de SCUP com APC mbIL21 apresentam alta eficiência de expansão de células NK, assim como ocorre no protocolo já bem estabelecido no Centro de Terapia e Tecnologia Celular (CTTC) do Hospital de Clínicas de Porto Alegre (HCPA) de co-cultivo de células APC mbIL21 com mononucleares de sangue periférico. A utilização do SCUP para essa finalidade mostra-se também promissora para uso clínico de células NK, tendo essas células NK potencial para utilização na imunoterapia adotiva.

**eP2458****Cardiomiopatia induzida por antraciclinas e câncer de mama: estudo transcriptômico e *in vitro* dos receptores do sistema renina-angiotensina**

Laura Jesuino Nogueira; Temenouga Nikolova Guecheva; Patrícia Bencke Grudzinski; Natalia Leguisamo Meirelles  
IC - Instituto de Cardiologia

**Introdução:** O tratamento da neoplasia da mama frequentemente inclui o emprego da doxorubicina (DOX), cujo potencial antineoplásico é limitado pelo risco de cardiotoxicidade. O manejo clínico deste evento inclui a modulação farmacológica do Sistema Renina-Angiotensina (SRA). As ações pleiotrópicas do SRA, mediadas pelos seus receptores (AT1R, AT2R, MasR e Mrgd) estendem-se para além do sistema cardiovascular e podem interferir sobre os desfechos oncológicos. **Objetivos:** Avaliar a influência dos receptores do SRA sobre a citotoxicidade da DOX *in vitro* e o seu valor prognóstico em pacientes com carcinoma invasivo da mama. **Metodologia:** Células de câncer de mama (MCF-7) e cardiomioblastos murinos (H9c2) foram tratadas com DOX e um agonista e ou antagonista do receptor Mas (Ang-(1-7) e A779, respectivamente) 24h ou por 48h e avaliadas quanto à viabilidade (MTT e SRB) e indução de danos ao DNA (Ensaio cometa). Adicionalmente, avaliou-se a associação da expressão dos genes dos receptores do SRA, AGTR1, AGTR2, MAS1 e MRGPRD, com desfechos clinicopatológicos de pacientes com carcinoma invasivo da mama. Dados clínicos foram extraídos da plataforma The Cancer Genome Atlas (TCGA) e analisados através de regressão linear bivariada e de Cox. **Resultados:** A estimulação seletiva do MasR aumentou a toxicidade da DOX sobre as células tumorais, mas não protegeu os cardiomioblastos. Entretanto, tanto o agonismo como antagonismo do MasR, na ausência de DOX, induziram quebras ao DNA das células tumorais, mesmo após período de recuperação (24h). Em relação aos dados clínicos (n=1217), após ajuste por idade e estadiamento da doença, demonstrou-se valor prognóstico independente da superexpressão de MAS1 (HR:1,492 IC95%:1,096-2,031 p=0,011) e MRGPDR em relação à taxa de sobrevivência global (HR:1,373 IC95%:1,026-1,839 p=0,033). Pacientes cujos tumores apresentavam superexpressão de todos os genes avaliados concomitantemente, apresentaram menor taxa de sobrevivência global em relação àqueles que tinham todos os genes com baixa expressão (HR: 2,963 IC95%:1,549-5,666 p=0,001). **Conclusões:** A superexpressão de MAS1 e MRGPD foi identificada como fator independente de pior prognóstico no carcinoma invasivo da mama. Estes achados sugerem que a modulação do SRA, através dos receptores MasR e Mrgd, pode atuar