

690

**AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DE
CARACTERÍSTICAS LABORATORIAIS NA
VIABILIDADE CELULAR
PÓS-DESCONGELAMENTO DE UNIDADES DE
CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOÉTICAS
PROVENIENTES DO SANGUE PERIFÉRICO
MOBILIZADO DE PACIENTES ATENDIDOS
PELO CENTRO DE PROCESSAMENTO
CELULAR DO CENTRO DE TECIDOS
BIOLÓGICOS DE MINAS GERAIS**

A.R. Belisário, A.P.C. Funes, J.R. Luz, L.A. Costa, M.D.S.B.S. Furtado, M.C. Martins, N.G. Cruz, P.R.M.P. Pederzoli, R.K. Andrade, M.R.I.S. Libânio, K.L. Prata

Centro de Tecidos Biológicos de Minas Gerais,
Fundação Hemominas, Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: O objetivo deste trabalho foi avaliar a influência de características laboratoriais na viabilidade pós-descongelamento de unidades de CPH criopreservadas de pacientes atendidos pelo Centro de Tecidos Biológicos de Minas Gerais. **Materiais e métodos:** Analisou-se retrospectivamente dados dos pacientes com unidades de CPH criopreservadas no período de 02/2014 até 12/2019. Os prontuários arquivados no Cetebio foram revistos para obtenção das informações: contagem de células CD34+ no sangue periférico, tempo entre a coleta e o processamento, duração da adição da solução de criopreservação, tempo entre o fim da adição da solução e o congelamento, composição da solução de criopreservação (solução 1: DMSO 5%, HES 6%, Albumina 3%, ACD 5%; ou solução 2: DMSO 10%, Albumina 4%, ACD 5%), tempo de armazenamento e concentração de células nucleadas por bolsa de criopreservação. As variáveis contínuas foram expressas em mediana±intervalo interquartil. A regressão linear múltipla foi usada para determinar o efeito independente de cada covariável na viabilidade celular pós-descongelamento. A regressão logística binária foi utilizada para analisar as covariáveis associadas a viabilidade abaixo do percentil 25 (> 64%). **Resultados:** A população do estudo consistiu em 619 pacientes (55.7% do sexo masculino) com idade entre 2 e 74 anos (53±19 anos). O diagnóstico mais comum foi o mieloma múltiplo (n=388; 62,7%), seguindo de linfoma (n=193; 31,2%). A viabilidade pós-descongelamento do segmento foi 71,4%±13,7. A viabilidade pós-descongelamento das unidades criopreservadas utilizando a solução 1 e 2 foi 73,3%±11,7 e 61,8%±14,9, respectivamente (p<0,001). A viabilidade pós-descongelamento das unidades criopreservadas com concentração de células nucleadas < 300×10⁸ por bolsa de criopreservação, 300–500×10⁸ e > 500×10⁸ foi 73%±14, 71,5%±13,4 e 64,9%±14,4, respectivamente (p<0,001). O modelo final de regressão linear manteve a contagem de células CD34+ no sangue periférico (coef.= -0.019, 95% IC: -0.032 a -0.006; p=0,004), concentração de células nucleadas por bolsa de criopreservação (coef.= -0.017, 95% IC: -0.024 a -0.009; p<0,001) e a composição da solução de criopreservação (coef.= -9.75, 95% IC: -11.74 a -7.76; p<0.001). As unidades de CPH criopreservadas usando a solução 2 apresentaram risco



6 vezes maior (OR=6,5; 95% IC: 4,37–9,58; p<0,001) de apresentarem viabilidade abaixo do percentil 25. **Discussão:** a relação inversa entre a contagem de células CD34+ no sangue periférico e a a viabilidade celular pós-descongelamento sugere que o congelamento de CPH de pacientes que não mobilizam bem deve ser evitada. Além disso, a relação inversa entre a concentração de células nucleadas por bolsa de criopreservação e a viabilidade celular pós-descongelamento sugere que o congelamento de CPH em concentração superior a 500×10⁸ deve ser evitado. Além disso, o uso da solução 2 de criopreservação foi o único preditor de viabilidade abaixo do percentil 25, sugerindo que a solução 1 deve ser priorizada. **Conclusão:** A mobilização, a concentração de células nucleadas por bolsa e a composição da solução de criopreservação impactam significativamente a viabilidade celular pós-descongelamento de unidades de CPH criopreservadas para o transplante autólogo.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.692>

691

**AVALIAÇÃO DO IMPACTO DO TEMPO ENTRE
O TÉRMINO DA COLETA E O INÍCIO DO
PROCESSAMENTO DOS CONCENTRADOS DE
CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOÉTICAS
DO SANGUE PERIFÉRICO NA MANUTENÇÃO
VIABILIDADE CELULAR**



K.L. Prata, A.P.C. Funes, J.R. Luz, L.A. Costa, M.D.S.B.S. Furtado, M.C. Martins, N.G. Cruz, P.R.M.P. Pederzoli, R.K. Andrade, M.R.I.S. Libânio, A.R. Belisário

Centro de Tecidos Biológicos de Minas Gerais,
Fundação Hemominas, Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: Idealmente, os concentrados de células progenitoras hematopoéticas do sangue periférico (CPH-SP) devem ser criopreservados o mais próximo possível do horário do término da coleta. As técnicas de coleta atuais consideram o processamento de até 8 volemias em procedimentos de até 8 horas o que pode inviabilizar o processamento dos produtos no mesmo dia da coleta. **Objetivo:** O desse trabalho foi validar o armazenamento refrigerado temporário de CPH-SP visando a posterior criopreservação. **Material e métodos:** Foi realizada avaliação prospectiva de 19 produtos recebidos para processamento. No momento do recebimento foi coletada amostra para realização de hemograma, quantificação de células CD34+ por citometria de fluxo (Método ISHAGE; Plataforma Única), avaliação da viabilidade das células CD34+ e das CD45+ (7AAD) e da relação entre as CD34+/CD45+ viáveis. A seguir, o produto foi armazenado em refrigerador (2°–8°C) até o momento da criopreservação. Imediatamente antes dessa, nova alíquota do produto foi coletada para execução dos mesmos testes acima descritos. Foi feita uma análise à parte dos dados referentes aos 8 produtos que apresentaram WBC > 400 e < 550×10⁶ e 6/mL a fim de se verificar a necessidade de conduta adicional antes do armazenamento temporário. Os dados foram avaliados com o programa estatístico *GraphPad InStat* (versão 3). Aplicou-se o teste *Wilcoxon matched-pairs signed-ranks*. Os dados descritivos foram apresentados

com mediana (mínimo-máximo). **Resultados:** A global de leucócitos ($WBC \times 10^6$ e $6/mL$) foi 388,2(145-565,4). A contagem de células CD34+ viáveis/ μL pré-armazenamento e pré-criopreservação foi 1058,7 (319,9-2946,4) e 1180 (313,6-2764,4), respectivamente ($p=0,86$). A porcentagem (%) de CD34+ viáveis pré-armazenamento e pré-criopreservação foi 98,5 (96-99,8) e 98 (70,5-99,3), respectivamente ($p=0,02$). A % de CD45+ viáveis pré-armazenamento e pré-criopreservação foi 99,4 (96,1-99,8) e 98,7 (63,1-99,7), respectivamente ($p=0,001$). A relação CD34+/CD45+ viáveis pré-armazenamento e pré-criopreservação foi 0,32 (0,1-1,06) e 0,33 (0,09-1,04) respectivamente ($p=0,62$). O tempo de armazenamento foi 20h:51min (18:35-28:09). No sub-grupo com maior celularidade encontrou-se WBC ($\times 10^6$ e $6/mL$) de 459,6 (402-565,4). A contagem de CD34+ viáveis/ μL pré-armazenamento e pré-criopreservação foi 1345,2 (637,5-2946,4) e 1582,3 (650,4-2764,4), respectivamente ($p=0,83$). A % de CD34+ viáveis pré-armazenamento e pré-criopreservação foi 98,6 (96-99,8) e 98,6 (88,5-99,2), respectivamente ($p=0,25$). A % de CD45+ viáveis pré-armazenamento e pré-criopreservação foi 98,9 (96,1-99,6) e 97,5 (91,8-98,9), respectivamente ($p=0,09$). A relação CD34+/CD45+ viáveis pré-armazenamento e pré-criopreservação foi 0,26 (0,1-0,64) e 0,34 (0,12-0,69), respectivamente ($p=0,72$). O tempo de armazenamento foi 22h (18:35-22:38). **Discussão:** Os dados da nossa validação corroboram com os dados da literatura e indicam que, apesar da diminuição na porcentagem de células CD34+ e CD45+ viáveis, essa não foi suficiente para impactar significativamente no total de células CD34+ viáveis de produtos processados em até 24 horas com WBC até 500×10^6 e 6 células/ mL . **Conclusão:** É possível armazenar temporariamente os concentrados de CPH-SP antes da criopreservação, o que permite melhor organização logística da equipe que pode trabalhar no seu horário usual, descansada (o que reduz risco de erros) e com maior segurança.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.693>

692

AValiação do Perfil de Contaminação Microbiológica de Concentrados de Células Progenitoras Hematopoéticas do Sangue Periférico Criopreservados para Transplante de Medula Óssea Autólogo

K.L. Prata, A.P.C. Funes, J.R. Luz, L.A. Costa, M.D.S.B.S. Furtado, M.C. Martins, N.G. Cruz, P.R.M.P. Pederzoli, R.K. Andrade, M.R.I.S. Libânio, A.R. Belisário

Centro de Tecidos Biológicos de Minas Gerais, Fundação Hemominas, Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: A maioria dos transplantes autólogos utiliza células progenitoras hematopoéticas do sangue periférico (CPH-SP) criopreservadas. Apesar de rara, a contaminação microbiológica dos CPH-SP ocorre e todas as equipes envolvidas devem se esforçar para minimizá-la. Somos um Centro de Processamento Celular (CPC) que recebe produtos cole-

tados por diferentes centros. Temos como rotina a coleta e inoculação de amostra para teste microbiológico pré e pós processamento, ou seja, antes da manipulação do produto (1 mL) e após a adição da solução crioprotetora (0,5 mL do CPH-SP + 1,5mL de plasma remanescente do processamento), imediatamente antes da criopreservação. Além disso, realizamos conexão estéril entre as bolsas o que nos permite trabalhar em sistema fechado minimizando o risco de contaminação do produto. **Objetivo:** Foi avaliar a prevalência de testes microbiológicos positivos no nosso serviço, os microrganismos isolados e seus perfis de sensibilidade antimicrobiana. **Material e métodos:** Foi realizada análise retrospectiva dos dados dos produtos criopreservados e armazenados pelo CPC entre 04/14 e 12/19. **Resultados:** Foram recebidas para processamento 944 bolsas. Dessas, 312 foram processadas em pool e 632 isoladamente o que resultou em 788 processamentos visando a criopreservação de CPH-SP. Desses em 21 (2,7%) amostras, o teste microbiológico foi positivo, sendo em 19 (2,4%) em amostra pré-processamento e em 18 (2,3%) pós-processamento. Das 21 amostras que apresentaram microbiológico positivo, em 15 (72%) foram isolados *Staphylococcus coagulase negativa*, em 3 (14%) foi isolado *Bacillus sp.* (contaminante de ambiente), em 2 (9%) *Staphylococcus aureus* e em 1 (5%) *Enterococcus faecalis*. Das amostras em que foi identificado o *Bacillus sp.* o teste foi positivo em apenas uma etapa do processamento, sendo dois na amostra pré e um na pós-processamento. Em outras duas situações, apenas uma amostra apresentou resultado positivo, sendo uma pós-processamento (isolado *S. epidermidis* sensível à oxacilina) e outra pré-processamento (isolado *S. lugdunensis* sensível à oxacilina). As demais amostras ($n=16$), apresentaram microbiológico positivo para o mesmo microrganismo na amostra pré e na pós processamento, sendo 12 (75%) *S. epidermidis* [7 (58%) sensível à oxacilina; 5 (42%) resistente à oxacilina]; 2 (12,5%) *S. aureus* (sensível à oxacilina) e 1 (6,25%) *S. lugdunensis* (sensível à oxacilina) e 1 (6,25%) *E. faecalis* (sensível à vancomicina). **Discussão:** A prevalência de teste microbiológico positivo de CPH-SP varia na literatura de 0,23% a 5,7%, sendo que os microrganismos predominantes são os *Staphylococcus coagulase negativa*. Os dados encontrados no nosso centro estão em acordo com os descritos e indicam que a grande maioria teve como origem a contaminação do cateter venoso central utilizado na coleta do produto. **Conclusão:** O controle microbiológico do CPH-SP permite a detecção dos produtos contaminados, a identificação do microrganismo e o seu perfil de sensibilidade. A realização dos testes pré e pós-procedimento permite rastrear em qual etapa o produto foi contaminado. Esses dados são importantes para a equipe médica decidir pela utilização terapêutica do produto, associada ou não a antibiótico profilaxia ou o seu descarte. Dessa forma, o CPC deve monitorar e minimizar as etapas do processo com potencial de contaminação microbiológica do produto.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.694>

