

IMPROVING OUTCOMES AFTER HEMATOPOIETIC CELL TRANSPLANTATION IN FA IN LOW-RESOURCES COUNTRIES: THE EXPERIENCE FROM CURITIBA

C Bonfim ^{a,b,c}, ra Mutori ^a, ACM Lima ^a,
S Nichele ^{a,c}, D Pilonetto ^a, G Loth ^{a,b},
J Trennepohl ^a, AM Rodrigues ^{a,b}, P Pelegrina ^b,
R Pasquini ^a

^a Hospital de Clínicas da Universidade Federal do
Paraná (UFPR), Curitiba, PR, Brazil

^b Hospital Pequeno Príncipe/Instituto de Pesquisa
Pelé Pequeno Príncipe, Curitiba, PR, Brazil

^c Hospital Nossa Senhora das Graças, Curitiba, PR,
Brazil

Introduction: Fanconi Anemia (FA) is a rare and challenging disease to manage, and there is a substantial gap between treatments available in high- versus low- and middle-income countries. Although hematopoietic cell transplantation (HCT) is the only curative treatment for the hematological complications related to this disease, this procedure is highly complex, requiring sophisticated infrastructures and trained personnel. **Objective:** Describe the outcomes after matched related, unrelated and haploidentical HCT for 216 FA patients in aplastic phase in Curitiba, Brazil. **Results:** The median age was 9-years (range: 3-32); all patients were in aplastic phase and received bone marrow as the stem cell source. 1st group: Matched Related Donors (MRD): 101 pts were transplanted between 1999-2021. Median follow-up: 9.6 years; 83 received HCT from matched siblings while 18 had other MRD. All patients received a simple preparatory regimen with Cyclophosphamide (CY) 60 mg/kg with (n=12) or without rabbit-ATG (n=89) and GVHD-prophylaxis with cyclosporine and methotrexate (csa+MTX;96%) or mycophenolate (csa+MMF;4%). Six patients had primary or secondary graft failure (GF), all received a 2nd transplant, and 5 are alive and engrafted. Eight patients died at a median of 545 days after transplant (range: 3- 6271). Two-year transplant-related-mortality (TRM):4%. 10-year overall survival (OS) was 94%, and all patients transplanted in the past ten years are alive (n=42). This regimen was well tolerated with a low TRM and acute and chronic GVHD incidence. 2nd group: Unrelated donors:75pts were transplanted between 2003-2021; median follow-up:6-years. HLA-compatibility: 10/10 (n=68) and 9/10 (n=7). 73% of donors were found in the Brazilian donor registry. All patients received a non-irradiation regimen including CY 60 mg/kg+ Fludarabine + ATG, and the majority received csa + MTX as GVHD prophylaxis. GF was observed in two patients, and one is alive and well after a 2nd transplant.15pts died at a median of 117 days post-HCT (range: 3-4379), and infections were the major cause of death in 60% of patients. The day-100 CI of acute GVHD and 2-year CI of chronic GVHD was 17% and 25%, respectively. 5-year OS was 79%. 3rd group: Haploidentical donors:40pts were transplanted between 07/2013 to 01/2022, 31 patients received a preparatory regimen with Fludarabine + TBI (200) + rabbit-ATG, and 9 received Fludarabine + TBI(200) + Campath. GVHD prophylaxis with post-transplantation cyclophosphamide (PTCy) 50-60 mg/kg (total dose)+ csa + MMF. Three patients in the ATG group had

primary or secondary GF, received a 2nd haplo-PTCy transplant, and died. The CI of day-100 acute GVHD was 27%. The 2-year CI of chronic GVHD was 51% for the ATG group and 25% for the Campath group (p=0.15). Six patients died at a median of 209 days due to rejection (n=3) or GVHD (n=3). 3-year OS was 85%. All patients in the Campath group are alive. **Conclusions:** These results show the feasibility of performing HCT for patients with FA in aplastic phase in Brazil. This experience also reflects more than 40 years of dedication to the treatment of FA and is based on strong national and international collaborations. These simple but effective preparatory regimens can lead to excellent outcomes, serve as a guideline, and be reproducible in other countries with similar resources.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.538>

EFEITO INSTRUCIONAL DE TOPOGRAFIAS MICROMOLDADAS PARA EXPANSÃO IN VITRO DE CÉLULAS TRONCO ESQUELÉTICAS E PROGENITORES DA MEDULA ÓSSEA HUMANA

TPEG Lopes ^{a,b,c,d}, RB Dias ^{a,b,c}, S Pernini ^{a,b},
C Fontenelle ^e, P Mannarino ^e, A Maiolino ^{b,c},
ASCP Campos ^{d,e}, TL Pereira ^{d,e}, M Farina ^{d,e},
DC Bonfim ^{a,b,c}

^a Programa de Pós-graduação em Ciências
Morfológicas, Instituto de Ciências Biomédicas,
Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de
Janeiro, RJ, Brasil

^b Laboratório de Biomineralização, Instituto de
Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de
Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^c Laboratório de Biologia Celular Aplicada a
Medicina, Instituto de Ciências Biomédicas,
Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de
Janeiro, RJ, Brasil

^d Laboratório de Cultura e Criopreservação de
Medula Óssea (LCCMO), Universidade Federal do
Rio de Janeiro (UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

^e Hospital Universitário Clementino Fraga Filho
(HUCFF), Universidade Federal do Rio de Janeiro
(UFRJ), Rio de Janeiro, RJ, Brasil

Objetivo: Em face a descoberta de marcadores para a identificação das Células tronco esquelética (SSC) e de seus progenitores da medula óssea humana, iniciamos um estudo para avaliar se o uso dessas populações possui algum benefício em termos de potencial regenerativo (osteocondrogênico). Inicialmente, separamos e cultivamos duas frações de células da medula óssea: PDPN- CD146+ (osteoprogenitores) e as células PDPN+ CD146-, que incluem as SSCs e os condroprogenitores. No entanto, observamos uma mudança no fenótipo dessas células após seu cultivo em um sistema in vitro tradicional (2D). No que tange ao sistema de cultivo, estudos demonstram que o cultivo de células-tronco/progenitoras sobre topografias específicas, moldadas para mimetizar o ambiente in vivo, podem regular seu fenótipo e potencial biológico. Dessa forma, o presente estudo visa avaliar a manutenção das

propriedades de células tronco/progenitoras esqueléticas após o processo de expansão celular em topografias micromoldadas. **Material e métodos:** Amostras de medula óssea foram obtidas de descartes de osso provenientes de cirurgias de quadril ou de descartes de medula óssea halogênicas provenientes do Laboratório de Cultura e Criopreservação de Medula Óssea do Hospital Universitário Clementino Fraga Filho. As células foram fracionadas de acordo com a expressão e PDPN/CD146 e cultivadas nas topografias ou em superfícies 2D. As topografias micromoldadas foram fabricadas a partir de moldes de metal e PDMS (Polydimethylsiloxane). Em seguida, a adesão das células as topografias foram avaliadas por microscopia eletrônica de varredura (MEV), a viabilidade pelo ensaio de *live and dead* e proliferação por azul de tripan. Por fim, as análises estatísticas com teste t de student ou Wilcoxon foram realizadas. **Resultados:** Através da MEV demonstramos que as células aderem as topografias micromoldadas e assumem diferenças morfológicas. Em comparação com um sistema 2D, em que as células assumem uma morfológica fibroblastoide, nas topografias as células demonstram alterações morfológicas de acordo com o relevo: citoplasma e núcleo mais alongados nos vales e citoplasma e núcleo mais achatado e volumoso nas áreas convexas da topografia. No que tange a proliferação e a viabilidade, não observamos diferenças significativas em comparação com o sistema 2D. **Discussão:** Apesar de preliminares, os resultados indicam que não há alteração da viabilidade ou proliferação das células quando submetidas ao cultivo nas topografias micromoldadas, no entanto, alterações morfológicas foram observadas. De fato, as topografias foram utilizadas a fim de preservar as características das células uma vez que se encontrem em um ambiente *ex vivo*, no entanto, análises complementares precisam ser realizadas a fim de avaliar se o cultivo das células tronco/progenitores sobre as topografias pode instruir mudanças no potencial biológico ou imunofenotípico. **Conclusão:** As topografias micromoldadas são capazes de instruir alterações morfológica nas células tronco/progenitores da medula óssea humana.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.539>

CERTIFICAÇÃO DE SALA LIMPA EM BANCOS DE CÉLULAS E TECIDOS E CENTROS DE PROCESSAMENTO CELULAR: ASPECTOS REGULATÓRIOS RELEVANTES

CE Oliveira, VP Blanco, MBL Junior, TO Silva, CMM Silva, QMR Monteiro, CL Rockenbach

Coordenadoria de Vigilância em Saúde (COVISA), São Paulo, SP, Brasil

Objetivo: Elencar as principais condições e os aspectos regulatórios para certificação de sala limpa em Bancos de Células, Tecidos e Centros de Processamento Celular. **Método:** Estudo descritivo, conduzido pelo levantamento da legislação e normas vigentes no âmbito nacional. **Resultados:** O ambiente limpo é alcançado a partir de projetos, adequações estruturais e testes de controles ambientais que estão elencados nas

legislações e normas específicas, através do ordenamento jurídico de ordem sanitária, com o objetivo de garantir a qualidade e segurança das células e tecidos. A legislação Brasileira determinada pela ANVISA define alguns requisitos obrigatórios quanto ao local (estrutura) de obtenção destes produtos (área limpa) assim como a obrigatoriedade de controle ambiental durante as etapas de manipulação e processamento. Estes contribuem para obtenção de processos assépticos e produtos com qualidade e segurança comprovadas pelo controle de qualidade, por meio dos testes microbiológicos. O planejamento do sistema de tratamento de ar, que inclui desde a concepção de unidades de tratamento de ar, sequência de filtração até o insuflamento e exaustão, é uma etapa essencial para a obtenção de ambientes devidamente limpos e classificados de acordo com suas condições ambientais. Há diferentes normas técnicas que tratam da classificação de áreas limpas, sendo a ISO 14644 a mais empregada em território nacional. Esta define diferentes níveis de limpeza das áreas, de acordo com a quantidade de partículas de diferentes tamanhos suspensas em um metro cúbico de ar de uma determinada área limpa. Essas classes não são específicas para a condição de realização do teste (“em repouso” ou “em operação”) e também não guardam relação com os limites de partículas viáveis (contaminação microbiana). Para a certificação de área limpa, a presença de materiais que gerem partículas nos ambientes limpos deve ser reduzida ao mínimo e evitada completamente quando estiver sendo realizado o processamento do tecido. O monitoramento de microrganismos para fins de classificação microbiana da área limpa deve ser realizado em conjunto com o monitoramento de partículas não viáveis, em intervalos de 6 a 12 meses, a depender da classificação da área e detecção de microrganismos. O Centro de Processamento Celular que realizar Manipulação Mínima em Sistema Aberto ou Manipulação Extensa deve possuir vestiário e Antecâmara contígua à Sala onde as células e os Produtos de Terapias Avançadas (PTA) serão processados. A antecâmara deve ser projetada para atender a classificação ISO 8 (em repouso). O vestiário pode servir de antecâmara desde que projetado para tal fim. A condição ISO 5 “em operação” deve ser mantida nos arredores imediatos das células e PTA, bem como de materiais e reagentes que entrarão em contato direto com as células e os PTA, sempre que estiverem expostos ao meio ambiente ou quando da retirada de alíquotas ou amostras para controle de qualidade ou diagnóstico, devendo esse ambiente ser circundado pela classificação ISO 8 “em operação”. **Conclusão:** A análise das normas e da legislação infere que para garantir a qualidade e segurança do processamento de Células e Tecidos é necessário que a estrutura física e o controle ambiental estejam condizentes com o grau de complexidade de cada etapa de produção, devendo o estabelecimento comprovar através de estudos de qualificação de instalação, operação e desempenho, aprovados pelo responsável pela qualidade do estabelecimento, que o sistema de ar e as áreas limpas são monitorados continuamente e estão adequados para as atividades executadas.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2022.09.540>