

APLICAÇÃO DE UM PROTOCOLO ALTERNATIVO PARA DESERITROCITAÇÃO DE MEDULA OSSEA COM O USO DE HIDROXIETILAMIDO 130/0,4 A 6%

FB Bher^{a,b}, ADC Souza^{a,b}, G Bodanese^{a,b}, PTR Almeida^{a,b}

^a Instituto Pasquini de Hemoterapia e Hematologia, Curitiba, PR, Brasil

^b Grupo Vita, Belo Horizonte, MG, Brasil

Objetivos: Utilizar o Hidroxietilamido (HES) 130/0,4–6% como metodologia alternativa para deseritrocitação de medula óssea (CPH-MO) na ausência comercial do HES 450/0,7–6% para obtenção de altas taxas de recuperação celular. **Material e métodos:** Realizou-se a deseritrocitação em CPH-MO com incompatibilidade ABO maior, utilizando protocolo validado com HES 130/0,4–6%. O processamento ocorreu em três etapas em cabine de segurança biológica. Na primeira, o reagente foi adicionado na proporção de 1:8 e o produto fracionado em seis bolsas, que permaneceram em decantação por 180 minutos. Sem resultado visualmente satisfatório, as bolsas foram centrifugadas por 15 minutos, 1500 rpm e 10°C. As hemácias foram lentamente retiradas em sistema fechado com conexão estéril, e o produto contendo *buffy coat* foi acondicionado em outras duas bolsas. Em seguida, foi executado o procedimento de desplasmatação, visando a redução do sobrenadante. Por fim, as bolsas de *backup* de hemácias também foram retratadas para garantir a melhor recuperação das células. Ao início e final de cada etapa foi realizada a dosagem laboratorial em metodologia de contagem automatizada. **Resultados:** O produto inicial apresentou volume de 1.901 mL, 553 mL de hemácias e 5×10^8 de Células Nucleadas Totais por quilograma do paciente (CNT/Kg). Após todas as etapas realizadas com a CPH-MO e com o *back up* de hemácias retratado, o produto final totalizou 1.676 mL de volume, $3,8 \times 10^8$ CNT/Kg e 87 mL de hemácias, dividido em quatro bolsas a serem infundidas separadamente. A taxa de recuperação de CNT total foi de 76%. **Discussão:** Nos transplantes com incompatibilidade ABO maior é necessária a realização da deseritrocitação, para remoção dos eritrócitos do produto coletado (chegando ao limite de 0,5 mL/kg de peso do receptor), principalmente nos casos em que se sabe que o receptor possui níveis elevados de anticorpos contra antígenos eritrocitários e que, por isso, apresenta grande risco de reações hemolíticas no momento da infusão ou pós transplante. O procedimento relatado neste trabalho ocorreu em dois dias consecutivos o que não se mostrou uma vantagem, uma vez que o tempo pode afetar a viabilidade celular, expondo o paciente ao risco de um transplante malsucedido. O protocolo utilizado foi previamente validado com o uso de bolsas de sangria terapêutica, e havia se mostrado efetivo neste tipo de material biológico. Sendo a Medula Óssea um produto crítico e de uso único, não seria possível seu emprego indiscriminado para quaisquer outras finalidades que não fossem para fins de infusão. Também foi possível observar que o volume total e de eritrócitos ficou relativamente alto. Ademais, não houve uma variação significativa em relação a perda de células durante o processamento, de forma que apesar do tempo do procedimento, houve recuperação celular satisfatória. **Conclusão:** O HES 130/

0,4–6% mostrou-se inviável para deseritrocitação de CPH-MO com alto volume, devido ao longo tempo de processamento. Para aperfeiçoar a técnica, sugerimos realizar estudos com produtos de menor volume.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.966>

USE OF INTERMEDIATE-DOSE CYTARABINE PLUS G-CSF AS PERIPHERAL BLOOD STEM CELL MOBILIZATION PROTOCOL IN 311 PATIENTS WITH ONCO-HEMATOLOGICAL DISEASES: RESULTS FROM A SINGLE INSTITUTION

AF Callera, ES Rosa, F Callera

Centro de Hematologia do Vale, São José dos Campos, SP, Brazil

Objective: We have recently demonstrated the feasibility of collecting CD34+ cells in heavily pre-treated lymphomas and Multiple Myeloma (MM) patients mobilized with intermediate-dose cytarabine (Ara-C) plus G-CSF for hematopoietic rescue in autologous Hematopoietic Stem Cell Transplantation (auto-HSCT). We now report back data of Peripheral Blood Stem Cells (PBSC) harvest from a larger sample of patients who underwent auto-HSCT. **Materials and Methods:** From January 2016 to July 2023, 311 patients (204 MM, 64 non-Hodgkin's lymphoma, 35 Hodgkin's lymphoma, 5 germ cell tumor and 3 acute non-promyelocytic leukemia, median age of 56 years, range 17–74) were mobilized with Ara-C plus G-CSF. On days 1 and 2 Ara-C was administered as 2h i.v. infusion at a dose of 0.4 g/m² twice daily. From day 6 to day 14, G-CSF (12 µg/Kg) was daily administered on an outpatient basis. On day 14, patients who met the circulating CD34+ cells criteria (> 10 µL) started leukapheresis in a limited number of two sessions. PBSC were collected with the intermittent-flow blood cell separator Haemonetics MCS+ 9000E (Haemonetics Corporation, Massachusetts, USA). **Results:** Overall, with the aim of collecting > 2.0×10^6 cells/kg an optimal CD34+ cell yield was achieved in 94% of patients with a single apheresis > first harvest parameters and results were expressed as median (min-max) – pre-leukapheresis: hemoglobin 10.1 g/dL (6.1–13.7), neutrophils $7.6 \times 10^9/L$ (1.3–39.4), platelets $43 \times 10^9/L$ (2–234), CD34+cells/µL 84.2 (3–1123); leukapheresis: volume processed 7256 mL (4338–10,180), ACD-A 743 mL (498–1026), time 231 minutes (185–345); leukapheresis product: volume 151 mL (106–195), WBC $341.2 \times 10^9/L$ (112.7–793.1), cell viability 98% (82–99), CD34+ cells $8.1 \times 10^6/Kg$ (0.8–46.9). Moreover, patients exhibited few adverse events, approximately a quarter required platelet transfusion; the median time to neutrophil and platelet recovery after PBSC infusion was 11 days (range 9–12) and 13 days (range 9–15), respectively. **Discussion:** Although obtained from a single institution, the results were comparable with those previously reported. The outpatient administration of G-CSF, the reliable prediction of the day to begin harvesting, the optimal CD34+ cell yield obtained with a single apheresis even in heavily pre-treated patients and the fewer occurrences of adverse events denoted the benefits of this regimen. **Conclusion:** Our findings confirmed the

effectiveness of CD34+ cell collection through the mobilization with intermediate-dose cytarabine plus G-CSF.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.967>

VALIDAÇÃO DA QUANTIFICAÇÃO DE CÉLULAS CD34+ UTILIZANDO O CITÔMETRO DE FLUXO MODELO DXFLEX

RGS Marcotulio, DC Benini, GMB Leal, JPBB Silva, RP Battaglini, A Larrubia

Hospital Beneficência Portuguesa de São Paulo, São Paulo, SP, Brazil

Objetivo: O objetivo do trabalho foi validar a técnica para quantificação de células CD34+ no citômetro de fluxo da marca Beckman Coulter, modelo DxFLX. A citometria de fluxo é uma técnica versátil usada para analisar as propriedades físico-químicas das células e partículas em suspensão. É possível quantificar e caracterizar células individuais com base em várias propriedades, como tamanho, forma e marcadores de superfície ou intracelulares. A principal função da citometria de fluxo é permitir a análise simultânea de milhares de células em alta velocidade. **Material e método:** O protocolo utilizado foi de plataforma única, estabelecido pelo ISHAGE (International Society of Hematotherapy and Graft Engineering) com beads magnéticas para identificação da população alvo, no período de 02/05 à 21/06/2023, feito por comparação interlaboratorial (DxFLEX versus laboratório apoio). Foram utilizadas 20 amostras de sangue periférico de doador de sangue total (doador normal), 15 amostras de sangue periférico de doador mobilizado para coleta de CPH, 5 amostras de produtos de Células Progenitoras Hematopoiéticas (CPH) coletadas por aférese e 5 coletadas da medula óssea, 10 amostras de plasma de sangue total e 2 amostras comerciais, para controle, com contagem de células CD34+ conhecidas. **Resultado:** Precisão com R2 próximo de 1, variando até 10%, sendo em amostra de sangue periférico de doador normal um R2 = 0,90, amostra de sangue periférico de doador mobilizado um R2 = 0,94, e amostra de produto CPH coletado por aférese e de medula óssea com R2 = 0,99; repetibilidade das amostras variando até 2 desvios padrões; um valor de carryover definido em 1,52%; todos os testes branco foram realizados com plasma de doador normal e apresentaram resultados iguais a zero; sensibilidade analítica com coeficiente de variação médio de 14,6%, sendo o preconizado de até 20%; intervalo de referência do equipamento de acordo com o estabelecido pelo fabricante com valor de 0,06; e estabilidade das amostras por período de 24 horas quando mantidas em temperatura de 2° a 8°C. **Discussão:** As células CD34+ são células progenitoras hematopoiéticas encontradas na medula óssea e em outras fontes, como sangue periférico e cordão umbilical, e têm a capacidade de se diferenciarem em vários tipos de componentes sanguíneos, como hemácias, leucócitos e plaquetas. A quantificação das células CD34+ é de extrema importância para os transplantes de medula óssea desde a identificação do momento ideal para o início da coleta dos produtos por aférese, até a mensuração da quantidade de células CD34+ nos produtos provenientes de coletas por aférese ou da

medula óssea para um transplante eficaz. A validação demonstrou precisão próxima de 100%, sem carregamento dos resultados entre a aquisição de amostras de valores altos e baixos, repetibilidade adequada com valores até 2 desvios padrões, sensibilidade analítica com coeficiente de variação dentro do preconizado (20%) e boa estabilidade das amostras quando armazenadas em temperatura de 2° a 8°C. **Conclusão:** Os resultados foram bastante satisfatórios o que torna segura a técnica da quantificação de CD34+ pelo equipamento DxFlex no serviço.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2023.09.968>

ANEMIA FALCIFORME – INDICADO REALIZAR TRANSPLANTE DE MEDULA OSSEA?

VG Moreira, CCO Miranda, AWA Almeida, MLM Cortez, FB Carvalho, WM Azevedo, AF Silva, TACB Silva, S Magalhaes

Hospital Oncobio, Nova Lima, MG, Brasil

A Doença Falciforme (DF) é uma das mais frequentes doenças genéticas no Brasil e caracteriza-se pela presença predominante de hemoglobina S que tem a propriedade de formar polímeros quando desoxigenada. Uma característica marcante que se sobressai nas doenças falciformes é a heterogeneidade de apresentações clínicas. Mesmo entre os pacientes homozigotos, os fenótipos são os mais diversos, indo desde os indivíduos oligossintomáticos até aqueles que desenvolvem quadros agressivos e fatais ainda na primeira infância. As síndromes eritrofalcêmicas levam à injúria tecidual sistêmica por isquemia e necrose tissular, ocorrendo lesão progressiva de múltiplos órgãos, como cérebro, coração, fígado, rins, pele, olhos, esqueleto e pulmões. As crises falcêmicas podem ser controladas com tratamento preconizado, mas algumas complicações como AVC e crises graves de venoclusão podem vitimizar os doentes de maneira irreversível, sendo indicado o Transplante de Células-Tronco Hematopoiéticas – TCTH – como única opção curativa em pacientes. **Caso clínico:** Homem, 31 anos, portador de anemia falciforme forma grave, apresentando infecções recorrentes de pneumonia secundárias a síndrome torácica aguda (mais de 10 episódios durante a vida), evoluindo com colestase intra-hepática, sendo encaminhado ao TCTH. Realizado TCTH aparentado, com condicionamento Alemtuzumab e Irradiação de corpo todo. Em acompanhamento após 1 ano do transplante, apresenta-se muito bem clinicamente, sem complicações clínicas e melhora anemia falciforme. O uso desta modalidade terapêutica, com esquema quimioterápico mielo ablativos com doador HLA idêntico proporcionam uma sobrevida livre de doença em 80%-85% em pacientes com doença avançada e grave. Porém, existem critérios definidos pela European School of Hematology (ESH) para indicação de casos que irão se beneficiar do TCTH, como AVC ou evento neurológico com mais de 24 horas de duração; presença de vasculopatia cerebral demonstrada por Ressonância Nuclear Magnética (RNM) ou angiografia requerendo um programa de transfusão crônica; velocidade > 200 cm/seg nas artérias cerebrais pelo ultrassom Doppler transcraniano, entre outros, já