

pal agente crioprotetor. Entretanto, o DMSO é tóxico para o paciente, sendo que doses superiores a 1g (aproximadamente 1 mL) por Kg podem causar efeitos adversos graves. Em 2014, o grupo de transplantadores de sangue e medula da Europa (EBMT – *European Blood and Marrow Transplant Group*) orientou padronização de protocolos de criopreservação com doses reduzidas de DMSO a fim de reduzir a toxicidade e a morbidade relacionada ao procedimento. Nesse sentido, no nosso serviço, padronizamos como solução crioprotetora (concentração final) o DMSO 5% + Hidroxiethylamido (HES) a 5% + ACD 5% em solução albumina humana a 3% e, na indisponibilidade do HES, utilizamos DMSO 10% + ACD 5% em solução albumina a 3%. Além disso, em todos os casos em que a dose final de DMSO a ser infundida for superior a 0,5 g/kg de peso corporal, solicitamos ciência formal de um dos médicos da equipe de transplante, a fim de alertá-los sobre o maior risco de efeitos adversos e permitir a definição, com antecedência, da melhor estratégia para o transplante (lavagem ou infusão fracionada das bolsas). **Objetivo:** Foi avaliar os efeitos adversos potencialmente relacionados com a infusão dos CPH-SP processadas pelo Centro de Processamento Celular (CPC) do Cetebio entre 05/14 e 12/19. **Material e métodos:** Realizou-se uma análise retrospectiva dos efeitos adversos relacionados com a infusão das CPH-SP. Os dados foram informados pelos Centros Transplantadores por meio de preenchimento de formulários padronizados. **Resultados:** Foram processados CPH-SP para tratamento de 660 pacientes sendo que, 589 (89%) foram transplantados. Recebemos retorno com os dados da infusão de 453 (77%) pacientes. A dose mediana de DMSO infundida foi 0,18 (0,05–0,95) g/kg de peso corporal. Os efeitos adversos relatados pelos Centros Transplantadores foram: náusea 54 (12%), vômito 44 (10%), hipertensão 7 (1,6%), rubor 6 (1,3%), dessaturação 5 (1,1%); hemoglobínúria 4 (<1%); calafrios 3 (<1%), dispnéia 3 (<1%), febre 3 (<1%), sensação de prurido em orofaringe 3 (<1%), diarreia 2 (<1%), cólica abdominal 2 (<1%), cefaleia 1 (<1%), “paralisia de língua” 1 (<1%), hipotensão 1 (<1%), taquicardia 1 (<1%), tosse 1 (<1%), tremores 1 (<1%). A mediana de enxertia de granulócitos (n=468) foi 11 (8–33) dias sendo que apenas 8 (1,7%) pacientes apresentaram enxertia entre o D+16 e o +20 e apenas 3 (0,6%) após o D+20. **Discussão:** Os dados obtidos demonstram que o método de processamento e as soluções de criopreservação utilizadas pelo nosso CPC são seguras, visto que os efeitos adversos apresentados em sua maioria não apresentam sinais de gravidade e os pacientes apresentaram enxertia adequada. Devido à baixa incidência de efeitos adversos, não julgamos necessário avaliá-los conforme o tipo de solução de criopreservação utilizada. **Conclusão:** É possível utilizar protocolos com doses reduzidas de DMSO na solução de criopreservação aumentando a segurança e reduzindo a morbidade relacionada ao DMSO.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.698>

697

CRITÉRIOS DE LIBERAÇÃO DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOÉTICAS DO SANGUE PERIFÉRICO CRIOPRESERVADAS PARA TRANSPLANTE 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 RDC 214/2018 dispõe que o Centro de Processamento Celular (CPC) pode estabelecer requisitos adicionais para liberação de produtos para Uso Terapêutico. Nossa rotina prevê o armazenamento de pelo menos 2 segmentos contendo alíquotas representativas do produto (100 uL) em cada bolsa contendo células progenitoras hematopoéticas (CPH-SP) criopreservadas. Antes do início do condicionamento, os produtos são avaliados quanto à inspeção visual e viabilidade celular (azul de tripan). O valor de referência (VR) inicialmente utilizado foi 40% (dado de outro serviço compartilhado em congresso). Em 2017, fizemos uma análise preliminar dos dados e determinamos o nosso VR (média – 2 desvios padrões [SD]). A partir de então realizamos testes adicionais nos produtos que apresentam viabilidade celular inferior ao nosso VR. Os dados encontrados são avaliados pelo Responsável Técnico (RT) do CPC que, quando necessário, contata o RT do Centro Transplantador que, a seu critério, pode solicitar a liberação do produto em caráter excepcional ou optar pelo seu descarte e nova coleta. Atualmente, realizamos essa análise preferencialmente em até 10 dias da criopreservação a fim de agilizar o processo. Caso o produto não seja solicitado em até 180 dias, os testes são repetidos no momento da solicitação. **Objetivo:** Foi avaliar os dados relativos aos critérios adicionais estabelecidos pelo nosso serviço para a liberação da CPH-SP criopreservadas. **Material e métodos:** Avaliação retrospectiva dos dados obtidos entre 04/14 e 12/19. **Resultados:** (média ±SD) Foram recebidas 944 bolsas coletadas de 666 pacientes. Dessas, 156 foram processadas em pool de duas coletas consecutivas, o que totalizou 788 lotes de bolsas passíveis de análise e 1744 bolsas criopreservadas. A viabilidade celular foi avaliada em 721 (91,5%) segmentos representativos dos lotes com 70,3%±10,9%, o que nos gerou um VR de 50%. Dos lotes avaliados 20 (2,8%) apresentaram viabilidade celular < 50%. Dessas, em 18 (90%), outro segmento foi descongelado para avaliação da viabilidade celular por citometria de fluxo (7AAD) das células CD34+ (53,3%±26,7%) e das CD45+ (55,1%±13,6%) sendo que em 12 casos foi realizado ensaio clonogênico com crescimento de unidades formadoras de colônias (CFU) em 11 casos. Pacientes com unidades de CPH-SP com viabilidade menor que 50% apresentaram risco 12 vezes maior (OR=12,3; 95% IC: 3,4–43,6; p=0,001) de apresentarem enxertia de granulócitos após o D+14. Da mesma forma, o risco foi 7 (OR=6,9; 95% IC: 2,4–20,2; p=0,002) e 9 (OR=9,6; 95% IC: 2,4–38,9; p=0,009) vezes maior de apresentar enxertia de plaquetas e leucócitos após o D+14, respectivamente. Foi realizada avaliação macroscópica de 1593 bolsas



criopreservadas sendo que dessas, 5 (0,31%) apresentaram abertura do sistema, sendo 3 (0,19%) por quebra do segmento e 2 (0,13%) por fratura da bolsa. Outras 2 bolsas apresentaram estruturas sugestivas de pequenos coágulos. **Discussão:** A avaliação crítica dos produtos após a criopreservação permite a identificação de produtos com risco adicional de falha de enxertia ou que precisam ser descongelados e preparados para uso no laboratório. **Conclusão:** O procedimento de análise crítica e o valor de referência adotado no nosso serviço (viabilidade por azul de tripan < 50%) são efetivos para identificar unidades de CPH-SP com necessidade de conduta adicional antes da liberação para transplante.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.699>

698

DADOS DE PRODUÇÃO E ANÁLISE DESCRITIVA DAS UNIDADES DE SANGUE DE CORDÃO UMBILICAL E PLACENTÁRIO COLETADAS PARA O USO CLÍNICO PELO CETEBIO – FUNDAÇÃO HEMOMINAS



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

Fundação Hemominas, Belo Horizonte, MG, Brasil

Introdução: A utilização das células progenitoras hematopoéticas (CPH) obtidas do sangue de cordão umbilical e placentário (SCUP) apresenta vários benefícios para o transplante de medula óssea (TMO). Neste sentido, o Centro de Processamento Celular (CPC) do Cetebio, integrante da RedeBrasilCord, coleta, processa, criopreserva e disponibiliza CPH-SCUP com qualidade e segurança, seguindo os critérios estabelecidos na legislação brasileira e pela Associação Americana de Bancos de Sangue (AABB). **Objetivo:** Foi analisar descritivamente as características das unidades de CPH-SCUP destinadas ao uso clínico, bem como os dados de produção do CPC. **Material e métodos:** Avaliou-se, retrospectivamente, os dados de unidades de CPH-SCUP obtidos entre maio 2017 e julho de 2020. **Resultados:** Neste período foram realizadas 5.450 pré-triagens. Destas gestantes, 1.316 (24%) foram abordadas, sendo realizadas 389 (30%) coletas. Os principais motivos para a não realização da coleta foram: parto na água 154 (17%); negativa materna 140 (15%); parto fora do horário de trabalho da equipe 123 (13%); inaptidão em etapas da doação ou trabalho de parto 116 (12%) e encaminhamento para cesárea 96 (10%). Os principais motivos para descarte pós-coleta foram: volume processado inferior a 70 mL (64%) e celularidade (TCN) inferior a 10×10^8 e 8 (11%). Das 71 unidades processadas, 61 (86%) foram através da plataforma AXP II System e 10 (14%) pela Sepax Cell Separation System. O volume médio inicial das unidades foi de 96,5 mL (71,7–165,3) e a celularidade média de $15,1 \times 10^8$ e 8 (6,1–28,9). O volume médio criopreservado foi de 20,8 mL (20,1–21,3). A recuperação média final de TCN foi 81,5% (54,9–96,7) e a média de células CD34+ viáveis foi $4,0 \times 10^6$ (0,2–12,2). Após o processamento, 41 unidades estão armazenadas e disponíveis para uso

clínico, sendo 4 destinadas ao uso aparentado. Os motivos de descarte durante ou após o processamento foram: 10 com quantificação de CD34+ inferior a $1,25 \times 10^6$; 5 (7%) com intercorrência no processamento ou na criopreservação; 3 (4%) com microbiológico positivo (1 *Bacillus sp.*, 1 *Micrococcus luteus* e 1 *Staphylococcus epidermidis*); 3 (4%) com inaptidão clínica e 2 (3%) com sorologia reagente (1 Sífilis e 1 Anti-HBc). Sete (23%) aguardam testes de controle de qualidade. O crescimento de colônias no ensaio clonogênico pré-criopreservação foi observado em 68 (96%) unidades. A presença de hemoglobina S em heterozigose foi identificada em 5 (7%) das unidades SCUP processadas e em 8 (11%) amostras maternas. Uma bolsa foi liberada para a realização de TMO alogênico aparentado em criança com Anemia Falciforme. **Discussão:** Nossos resultados corroboram com o descrito na literatura em relação à baixa taxa de utilização e a dificuldade de se estabelecer um inventário com qualidade, em que pese o grande número de unidades descartadas pré-processamento. Além disso, o baixo número de bolsas coletadas se comparado ao o número de gestantes pré-triagens nos sinaliza que uma avaliação detalhada do perfil de atendimento da maternidade seja importante para o direcionamento das atividades do CPC. **Conclusão:** É possível avaliar que apesar do número elevado de gestantes com potencial de doação, isso não garante um inventário numeroso e de qualidade. Estes resultados podem subsidiar a tomada de decisão ao avaliar a necessidade de buscar novos serviços para captação de doação.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2020.10.700>

699

DEVELOPMENT OF A PLATFORM FOR TRACKING CAR-T CELL PERSISTENCE USING QPCR AND MULTIPARAMETRIC FLOW CYTOMETRY FOR PRECLINICAL AND CLINICAL STUDIES



L.C. Batista, H. Brand, D.M.C. Fantacini, D.T. Covas, L.E.B. Souza

Centro de Terapia Celular (CTC), Fundação Hemocentro de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo (USP), Ribeirão Preto, SP, Brazil

Adoptive transfer of T-cells expressing anti-CD19 chimeric antigen receptors (CAR) has shown > 80% complete remission rates in acute B cell leukemias. However, therapeutic efficacy is low or absent for some other hematological malignancies and solid tumors, mostly due to limited CAR-T cell persistence and functional exhaustion post transplantation. It has been reported that anti-CD19 CAR-T cells sustain complete remission of leukemia and normal B cell aplasia even when their numbers in circulation are below the limit of detection by flow cytometry (FC) and detectable only by quantitative PCR (qPCR). Thus, developing a monitoring strategy that combines high sensitivity and multiparametric immunophenotypic evaluation is essential to predict, understand and improve the clinical response to CAR-T cell therapies. In this work, we aimed at developing a platform for monitoring the persistence of CAR-T cells using multiparametric FC and qPCR. To facilitate CAR-T cell tracking by FC in preclinical models, we developed