

REAÇÕES ADVERSAS DURANTE COLETA DE CÉLULAS MONONUCLEARES EM SERVIÇO DE HEMOTERAPIA DO RIO DE JANEIRO

DR Vidal ^{a,b}, MAP Cardoso ^{a,b}, MM Gramatico ^{a,b}, JPR Azevedo ^{a,b}, TL Ogassawara ^{a,b}, DO Mussi ^{a,b}, LM Silva ^{a,b}

^a Procélula – Terapia Celular, Niterói, RJ, Brasil

^b Grupo Vita – Vita Rio, Niterói, RJ, Brasil

Objetivos: Descrever as reações adversas associadas a coletas de células mononucleares encontradas, a fim de monitorar o perfil de intercorrências no serviço de hemoterapia e planejar intervenções precoces, mitigando riscos. **Material e métodos:** Os dados foram obtidos através da planilha de registro dos procedimentos de aférese. A descrição das intercorrências foi extraída do sistema de gerenciamento da qualidade utilizado neste serviço. **Critérios de exclusão:** Reações adversas leves esperadas a infusão citrato e a mobilização em que não houve necessidade de administração de medicação não planejada e/ou avaliação médica. **Resultados:** No período entre janeiro de 2020 a dezembro de 2023 foram realizadas 609 coletas de células mononucleares: 457 coletas autólogas, 128 coletas alogênicas, 14 coletas para CAR-T e 10 coletas para DLI (*Donor Lymphocyte Infusion*). Foram utilizados dois equipamentos, sendo 585 procedimentos na Spectra Optia® e 24 na Cobe Spectra®. A solução anticoagulante utilizada foi o citrato de sódio e os métodos de mobilização utilizados incluíam fator estimulador de granulócitos (G-CSF), plerixafor ou quimioterapia. As coletas foram realizadas via acesso venoso periférico ou central. Foram observadas 28 intercorrências em 26 procedimentos. Das intercorrências, 15 (53,5%) foram relacionadas ao acesso venoso, 6 (21,4%) à mobilização, 03 (10,7%) episódios de hipotensão arterial, 02 (7,2%) à toxicidade pelo citrato, 01 (3,6%) episódio de hipertensão arterial e 01 (3,6%) coagulação do circuito. As intercorrências associadas ao acesso venoso foram: fluxo insuficiente do cateter (06), hematoma/sangramento (07) e acidente de punção (02). As reações adversas foram listadas e classificadas quanto à gravidade, sendo 16 (57,2%) leves, 10 (35,7%) moderadas e 02 (7,1%) graves. **Discussão:** Foi observada uma incidência de 4,59% de intercorrências no levantamento dos dados das coletas de células mononucleares ocorridas entre 2020 e 2023. Em sua maioria, foram consideradas reações leves e associadas a punção venosa profunda. Das 28 intercorrências, 04 resultaram em interrupção de procedimento: 01 tetania secundária a toxicidade ao citrato, 01 coagulação do circuito e 02 fluxos insuficientes no cateter. Apesar da interrupção da aférese, apenas em 01 caso foi necessário um segundo dia de coleta. A análise dos eventos adversos não evidenciou necessidade de ajustes nos processos internos que os mitigassem. **Conclusão:** Este trabalho teve como objetivo, levantar dados dos últimos 4 anos do serviço de hemoterapia a fim de analisar o perfil de reações adversas nas coletas periféricas de células mononucleares. Eventos adversos graves são raros e a interrupção da coleta em decorrência dos mesmos é incomum. Portanto, a coleta de células mononucleares periférica é um procedimento relativamente seguro e é uma etapa essencial no transplante de células tronco hematopoéticas.

VIABILIDADE CELULAR POR CITOMETRIA, 7-AAD, DE PRODUTO DE TERAPIA CELULAR DESCONGELADO

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

Hospital da Beneficência Portuguesa de Santos, Santos, SP, Brasil

Objetivo: Avaliar a viabilidade celular de produtos descongelados por citometria de fluxo, utilizando corante 7-AAD, por comparação interlaboratorial. **Material e método:** Metodologia por citometria de fluxo, com equipamento DxFLEx, reagentes 7-AAD e CD45-FITC/ CD34-PE, da Beckman Coulter. Validação por comparação interlaboratorial (Laboratório de Terapia Celular da BP vs. laboratório de apoio) utilizando a mesma técnica, “lise das hemácias e lavagem das células” entre 11/2023 e 05/2024. Foram avaliadas 12 amostras descongeladas de células progenitoras hematopoéticas coletadas por aférese (CPH), previamente criopreservadas com DMSO 5%/HES 6%, armazenadas em freezer a -80°C. A criopreservação dos produtos coletados foi realizada pelo laboratório de apoio, e a viabilidade de uma alíquota descongelada foi realizada por citometria, pelo laboratório de apoio, e pelo Laboratório de Terapia Celular da BP. A alíquota foi descongelada em temperatura ambiente. Em um tubo foram colocados 10 µL de CD34+CD45 e 10 µL de corante 7-AAD, na sequência, adicionado 100 µL da amostra diluída em PBS. Após 20 minutos de incubação em câmara escura, foi adicionado solução de lise, com nova incubação em câmara escura, adição de PBS seguindo centrifugação por 5 minutos a 3000 rpm. O sobrenadante foi retirado e ressuspensionado com 1 mL de BPS. A amostra foi homogeneizada e filtrada com tela de poliamida, agitada em vórtex e adquirida no citômetro de fluxo, em painel previamente estruturado. **Resultado:** Os testes foram satisfatórios, com um coeficiente de variação inferior a 20%, em acordo com o *guideline* de validação – CLSI H62. Viabilidade para CD34+ no laboratório BP (%): Mediana 95,77 (92,59–98,04), desvio padrão (dp) 2,13; e para laboratório Apoio: Mediana 96,80 (85,40–99,60), dp = 4,89. O Coeficiente de Variação (CV) para viabilidade CD34+ entre os resultados interlaboratorial foi de 3,03% e para a viabilidade total, foi de 3,63%. Destas 12 amostras, os resultados de 8 delas foram analisadas pela consultoria FlowMentor, que identificou reprodutibilidade da técnica empregada. A sua análise apresentou um coeficiente de variação para viabilidade CD34+ de 2,2% e 2,7% respectivamente para laboratório BP e de apoio, e um coeficiente de variação para viabilidade total de 4,1% e 4,6% respectivamente para laboratório BP e de apoio. **Discussão:** Uma das metodologias para investigação da viabilidade celular após o descongelamento de células criopreservadas é por citometria, pelo corante 7-AAD. Células não viáveis são coradas pelo 7-AAD, enquanto as células de membrana íntegra, são impermeáveis ao 7-AAD. É uma técnica pouco utilizada devido à dificuldade na sua padronização, levando muitos centros a utilizar método por microscopia, com uso de azul de trypan. A viabilidade é uma variável clinicamente importante para o sucesso do enxerto, a criopreservação por si implica riscos na viabilidade, e nem todas as células respondem igualmente aos protocolos de criopreservação, levando a

diferenças na viabilidade. A técnica por citometria é mais indicada para produtos descongelados, pois quantifica especificamente células de interesse, enquanto a microscopia dá uma visão global da viabilidade leucocitária. **Conclusão:** Os resultados foram satisfatórios, com um CV muito inferior a 20%, o que torna a técnica “com lise e lavagem das células” segura, na rotina para células descongeladas.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.1651>

INCIDÊNCIA E ÊXITO DA TERAPIA COM INFUSÃO DE LINFÓCITOS DO DOADOR APÓS TRANSPLANTE DE MEDULA ÓSSEA ALOGÊNICO

AB Castelhana, BCC Oliveira, M Valvasori, AM Souza, LFF Dalmazzo

GSH – Grupo Gestor em Hemoterapia, Ribeirão Preto, SP, Brasil

Introdução: A terapia com infusão de linfócitos do doador (DLI – Donor Lymphocyte Infusion) é uma alternativa como tratamento ou profilaxia nos casos de recaídas de doenças hematológicas malignas, após o transplante de Células Progenitoras Hematopoéticas (CPH) alogênicas. A proposta desta terapia é produzir um efeito conhecido como GVL (Graft vs. Leukemia) ou EVL (Enxerto vs. Leucemia), mas também está sujeita a complicações como a Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro (DECH) ou a aplasia medular. **Objetivo:** Realizar a análise dos pacientes que receberam transplante de CPH alogênicas, com ênfase na solicitação da coleta, criopreservação, armazenamento e infusão de alíquotas de DLI, nas unidades de Transplante de Medula Óssea atendidas pelo Grupo GSH. **Material e métodos:** Estudo descritivo, observacional e retrospectivo. Foram analisados os pacientes que realizaram TMO Alogênico, aos quais foram solicitados a criopreservação de alíquotas de DLI, no período compreendido entre março de 2021 a julho de 2024. **Resultados e discussão:** Do total de 48 pacientes submetidos ao Transplante de CPH Alogênicas atendidos pelo Grupo GSH, em São Paulo e Brasília, fizeram parte do estudo 30 (62,5%) pacientes adultos. No total foram 18 indivíduos do sexo masculino e 12 do sexo feminino, com idade mínima de 16 anos e máxima de 67 anos e mediana de 43,5 anos. 21 pacientes (70%) tiveram diagnóstico de LMA, seguidos de 2 (7%) LLA, 2 (7%) Síndrome Mielodisplásica, 2 (7%) Linfoma Plasmablastico, 1 (3%) Síndrome de Sezary, 1 (3%) LMC agudizada e 1 (3%) Leucemia Mielomonocítica. O número de alíquotas criopreservadas variou, dependendo da quantificação de células CD3+ e do volume de material coletado, com mediana de 4 (2–6) alíquotas. Dentre os 30 pacientes que possuíam alíquotas de DLI armazenadas, somente 9 (30%) efetivamente realizaram a infusão. Em relação ao número de alíquotas infundidas, a variável foi de 1 a 4, com doses de 5×10^6 a 5×10^7 células CD3+/Kg de peso do receptor. Desses 9 pacientes, 5 (56%) foram a óbito, três deles após 20 a 90 dias e dois de 1 a 2 anos após o procedimento. A sobrevida para este grupo foi de 44%. O prazo para a infusão de DLI, após o transplante alogênico, variou de 2 a 50 meses. Dos 21 pacientes que não receberam infusões de DLI, 10 (33% do total) evoluíram a óbito sem utilizar o material

armazenado e 11 (37%) permanecem vivos sem solicitação para infusão de DLI. **Conclusão:** A experiência do nosso serviço relacionando a coleta, criopreservação e armazenamento de alíquotas de DLI e a efetivação da infusão desse material, bem como a sobrevida dos pacientes, revela que são necessários mais esforços para se identificar a melhor estratégia a ser adotada frente à recaída da malignidade após o transplante alogênico, visto que somente 9 (30%) efetivamente procederam à terapia e desses, apenas 4 (13% do total) permanecem vivos.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.1652>

CLINICAL REMISSION OF CROHN'S DISEASE AND RECTOVAGINAL FISTULA CLOSURE FOLLOWING AUTOLOGOUS NON-MYELOABLATIVE HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION: A CASE REPORT

RL Kaiser-Junior, L Piron-Ruiz, RZ Tomiatti, MLS Castro, LG Quadros, MA Ruiz

Associação Portuguesa de Beneficência de São José do Rio Preto, São José do Rio Preto, SP, Brazil

Background: Crohn's Disease is a persistent, diverse, and recurring inflammatory bowel condition that can impact any segment of the digestive tract. Currently, there is no known cure for this illness. Clinical management focuses on restoring equilibrium and preventing the frequent flare-ups typical of this immune-mediated disorder that disrupts intestinal function. Treatment strategies include anti-inflammatory drugs, corticosteroids, immunosuppressants, and immunobiologics. However, management is frequently accompanied by relapses two years later independent of the type of procedure and many patients experience complications such as obstructions, strictures, and intestinal fistulas, often necessitating repeated surgical interventions. Anal or perianal fistulas are common, while rectovaginal fistulas present particularly challenging and complex management issues. **Case presentation:** A 31-year-old patient with a decade-long history of active Crohn's Disease had several unsuccessful perianal surgeries to treat a complex rectovaginal fistula. Due to rectal stenosis, most stools and gases passed through her vagina. Although rectal amputation and a permanent colostomy were advised, the patient declined and opted for a non-myeoablative autologous hematopoietic stem cell transplantation. Two and a half years later, she remains disease-free, with normal bowel movements and no gas or stools passing through her vagina. No previous cases of rectovaginal fistula closure using hematopoietic stem cell transplantation have been recorded. **Conclusion:** Hematopoietic stem cell transplantation is an alternative procedure for some patients, especially those with severe disease that is refractory to conventional treatments who decline radical surgery. Having a fistula does not preclude transplantation. In the present case, the procedure led to gradual improvement of the rectovaginal fistula, culminating in complete resolution two and a half years post-transplant. The patient remains in remission.

<https://doi.org/10.1016/j.htct.2024.09.1653>