



**SimTec 25**  
anos  
SIMPÓSIO DOS  
PROFISSIONAIS DA  
UNICAMP  
2022 - 8ª Edição

## VALIDAÇÃO DO PROLONGAMENTO DO TEMPO DE ARMAZENAMENTO A FRESCO PARA CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOIÉTICAS DO SANGUE PERIFÉRICO DESTINADAS A USO CLÍNICO

ANDREA FRIZZO, ALEXANDRA GRECO AGUIARI, FABRÍCIO BISCARO PEREIRA, BRUNO DELTREGGIA BENITES, SANDRA SOUSA DE ANDRADE, SUIELLEN CARVALHO REIS ALVES.



HEMO - CENTRO DE HEMATOLOGIA E HEMOTERAPIA - HEMOCENTRO; HEMOT - DIVISÃO DE HEMOTERAPIA; CRIOPR - CRIOPRESERVAÇÃO

**Palavras-chave:** Células progenitoras hematopoiéticas. Células progenitoras do sangue periférico. Transplante de medula óssea. Armazenamento fresco

### Introdução/Objetivo:

As condições de armazenamento das células progenitoras hematopoiéticas do sangue periférico (CPH-SP) podem influenciar a qualidade e/ou funcionalidade das mesmas, o que pode afetar diretamente os resultados clínicos dos receptores nos transplantes de medula óssea. Assim, a Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) determina que tempos de armazenamento a fresco superiores a 48 (quarenta e oito) horas devem ser validados, a fim de se obter comprovação técnica científica sobre a qualidade e segurança no uso do produto. O objetivo deste estudo foi verificar os efeitos do armazenamento por tempo superior a 48 horas a fresco na viabilidade e funcionalidade das CPH-SP destinadas a uso clínico.

### Metodologia:

Neste estudo prospectivo foram analisadas dez bolsas de CPH-SP imediatamente após a coleta por aférese e após o armazenamento em temperatura de 2°C a 8°C por 72 horas. A análise incluiu contagem de leucócitos (WBC), concentração de células CD34+ e viabilidade de células CD45+ e CD34+ por citometria de fluxo em plataforma dupla, além do ensaio clonogênico em metilcelulose, em duplicata, para determinação de unidades formadoras de colônias (CFU).

### Resultados:

O intervalo mediano de armazenamento temporário foi de 72 horas, sendo o tempo máximo de 91 horas e 48 minutos e o mínimo de 69 horas e 25 minutos. A viabilidade mediana das células CD34+ imediatamente após a coleta foi de 100%, com mínima de 98,8%, estando todos os casos em conformidade com a meta do indicador de qualidade do laboratório. A viabilidade mediana das células CD34+ após o armazenamento foi de 99,75%. Houve dois casos com viabilidade abaixo de 98%, e a viabilidade mínima foi de 97,1%. Apesar da diminuição significativa da viabilidade das células CD45+ após o armazenamento (I: 98,3%; 72h: 90,4%;  $p < 0,0001$ ), não foram observadas alterações significativas na viabilidade das células CD34+ (I: 100%; 72h: 99,75%), bem como nas concentrações de leucócitos (I: 248350/ $\mu$ l; 72h: 242705/ $\mu$ l) e células CD34+ (I: 5,24 x10<sup>6</sup>/kg; 72h: 4,67 x10<sup>6</sup>/kg). Esses resultados são reforçados pelos ensaios funcionais, nos quais não foi observada diminuição significativa no número de unidades formadoras de colônias (I: 34,5; 72h: 21,5) demonstrando que as células mantêm seu potencial de proliferação e diferenciação.

### Conclusão:

Os resultados obtidos indicam que não houve impacto significativo nas células CD34+ e nos ensaios clonogênicos, que são as variáveis de relevância para garantir a qualidade do produto. Desta forma, apesar da forte recomendação de infundir enxerto fresco o mais rápido possível no receptor, os dados sugerem que quando necessário é segura a utilização para transplante de CPH-SP armazenadas nas condições de temperatura descritas em até 72h após a coleta.

Tabela 1: Resultados da análise das variáveis imediatamente após a coleta e após o armazenamento a fresco 72 horas

Variável analisada	Imediatamente pós-coleta	Após 72h	P value
Viabilidade CD45+ (%)	98.3	90.4	<0.0001
Viabilidade CD34+ (%)	100	99,75	0.073
WBC/ $\mu$ l	248,350	242,705	0.737
CD34x10 <sup>6</sup> /kg	5.24	4.67	0.157
CFU (1x10 <sup>4</sup> /mL)	34.5	21.5	0.584

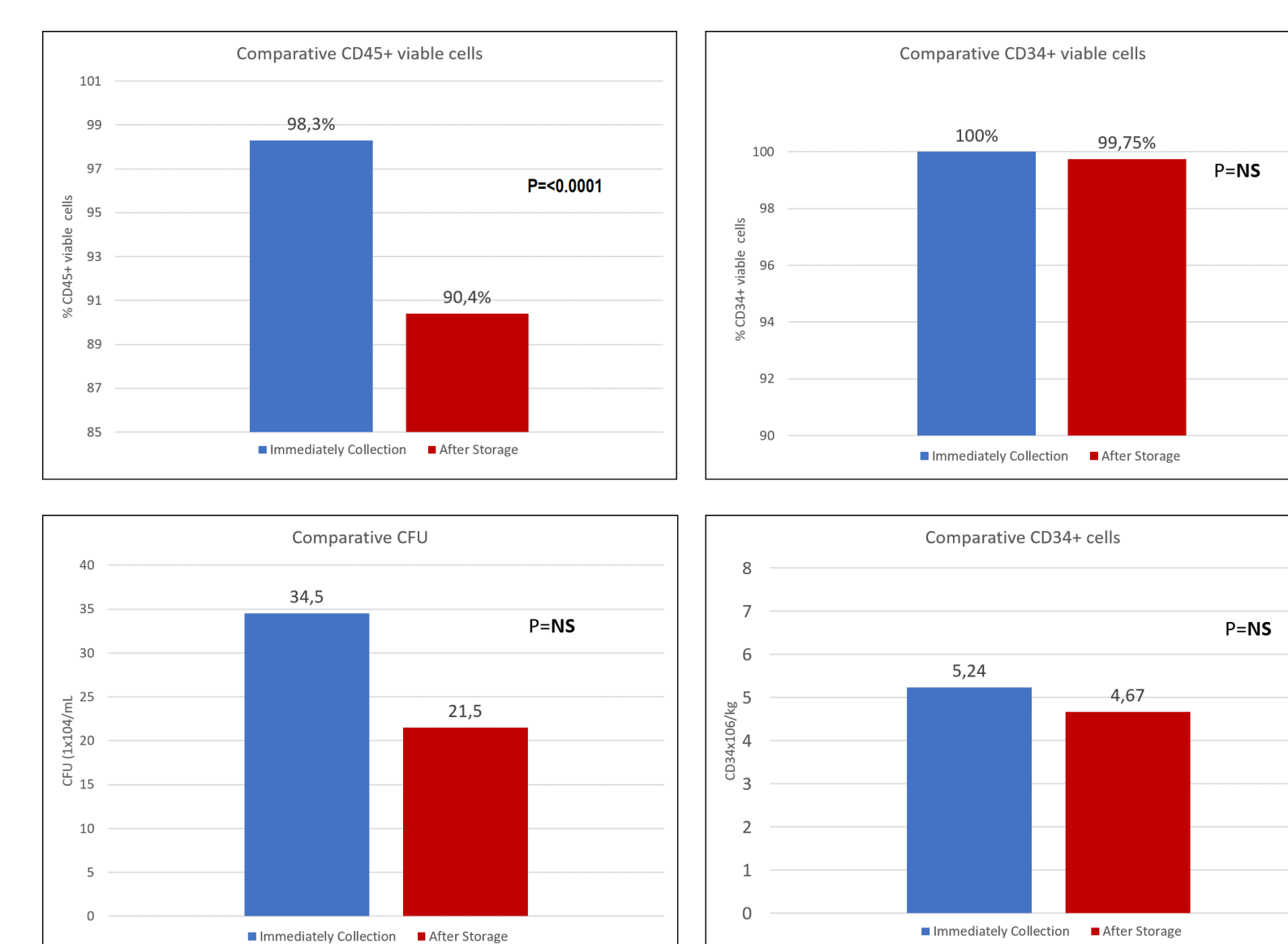


Gráfico 1: Comparativo das variáveis imediatamente após a coleta e após o armazenamento a fresco 72 horas

**Referências:** Fernanda G. Pereira-Cunha, Adriana S.S. Duarte, Fernando F. Costa, Sara T.O. Saad, Irene Lorand-Metze, and Angela C.M. Luzo. Viability of umbilical cord blood mononuclear cell subsets until 96 hours after collection. TRANSFUSION 2013;53:2034-2042. doi: 10.1111/trf.12078 Anelise B. Araújo, Gabrielle D. Salton, Melissa H. Angeli, Juliana M. Furlan, Tissiana Schmalfluss, Liane M. R'ohsig. Effects of cell concentration, time of fresh storage, and cryopreservation on peripheral blood stem cells PBSC fresh storage and cryopreservation. TRANSFUSION AND APHERESIS SCIENCE 61 (2022) 103298. <https://doi.org/10.1016/j.transci.2021.103298>

**Agradecimentos:** Agradecemos a Escola de Educação Corporativa da UNICAMP – EDUCORP