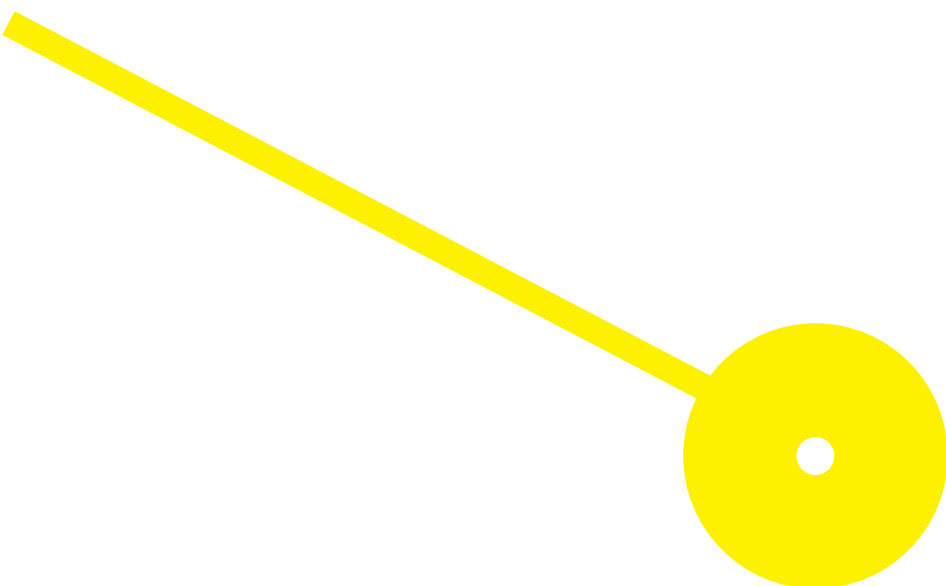




Relatório de Estágio: Qualificação do Banco de Células do Serviço de Terapia Celular do IPOPG, EPE

Ana Maria Branco Guimarães

06/2023





**ESCOLA
SUPERIOR
DE SAÚDE**



Qualificação do Banco de Células do Serviço de Terapia Celular do IPOPF, EPE

Autor

Ana Maria Branco Guimarães

Orientadores

Maria Manuela Amorim da Silva e Sousa, Centro de Investigação em Saúde e Ambiente (CISA),
Professora Coordenadora Especialista em Análises Clínicas e Saúde Pública Escola Superior do
Instituto Politécnico do Porto

Mestre Maria de Fátima Moreira Fernandes Amado, Serviço de Terapia Celular do IPOPF, EPE
Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto

Relatório de Estágio apresentado para cumprimento dos requisitos necessários à obtenção do grau de Mestre em Análises Clínicas e Saúde Pública – Ramo de Especialização em Imunohemoterapia e Transplantação pela Escola Superior de Saúde do Instituto Politécnico do Porto.

Agradecimentos

Quero agradecer a todos que me acompanharam e me apoiaram durante estes dois anos.

Em primeiro lugar, agradecer ao Serviço de Terapia Celular do IPOFG,EPE por me ter recebido, em especial, à Doutora Susana Roncon por me ter dado a oportunidade de ingressar nesta aventura. Aos restantes colegas do Serviço de Terapia Celular agradeço o companheirismo e ajuda durante estes seis meses. Fizeram-me sentir sempre integrada.

Um agradecimento especial à Professora Fátima Amado por me ter orientado, acompanhado e pela paciência e ajuda em tudo aquilo que precisei. Concluo mais uma etapa na minha vida, maioritariamente, graças a si. Agradeço, de igual forma, à Professora Manuela Amorim pela orientação e ajuda no decorrer deste processo.

A nível mais pessoal, agradeço aos meus pais, Adelaide e José por todo o esforço que fizeram e fazem todos os dias para que eu possa seguir os meus sonhos. Aos meu irmãos, cunhadas e sobrinhos por estarem sempre do meu lado.

Ao meu namorado, Miguel, que me acompanhou durante este processo aturando todas as minhas mudanças de humor e que me nunca me deixou desistir. És também uma grande parte por concluir mais uma etapa da minha vida.

Aos meus amigos por estarem sempre lá. Sem amigos não somos nada.

Obrigado a todos!

Resumo

O presente Relatório de Estágio, é constituído por duas partes em que se descreve: Estágio no Serviço de Terapia Celular (STC) e o Estudo de Caso.

O estágio no STC do IPOFG, EPE, foi realizado por 6 meses, teve como objetivos desenvolver competências no âmbito de processamento e criopreservação de Produtos de Terapia Celular, tendo sido efetuadas metodologias de avaliação da qualidade e a integração na rotina laboratorial.

O estudo de caso foi desenvolvido sobre a Avaliação da Qualificação do Banco de Células, no STC do IPOFG, EPE, tendo como objetivo verificar se a Qualificação do Banco de Células do STC se mantém atualizada face ao referencial regulamentar e da literatura. O suporte conceptual baseou-se na revisão da literatura, utilizada para a construção de uma *checklist*, instrumento de suporte para a realização do trabalho. Apesar da literatura existente sobre este tema ser limitada, os resultados obtidos permitiram verificar que a Qualificação do Banco de Células do STC do IPOFG, EPE, está de acordo com a mesma.

Quer a realização deste estágio bem como realização de trabalhos sobre temas relevantes para o STC foi enriquecedora, permitiu ter um contacto direto com a realidade do mercado de trabalho, assim como a aquisição e desenvolvimento de novas competências, quer a nível profissional quer a nível pessoal.

Palavras-chave: Terapia Celular; Banco de Células; Qualificação; *Standards*; *Checklist*

Abstract

This Internship Report, consists of two parts in which it is described: Internship in the Cellular Therapy Service and the Case Study.

The internship in the STC of IPOPGF, EPE, was carried out for 6 months and aimed to develop skills in the processing and cryopreservation of Cell Therapy Products, having been carried out methodologies of quality assessment and integration into the laboratory routine.

The case study was developed on the Evaluation of the Qualification of the Cell Bank, in the JTS of IPOPGF, EPE, aiming to verify if the Qualification of the Cell Bank of the JTS is up-to-date in relation to the regulatory reference and the literature. The conceptual support was based on the literature review, which was used to build a checklist, which was a support instrument for this study. Although the existing literature on this topic is limited, the results obtained allowed us to verify that the Qualification of the Cell Bank of the STC of IPOPGF, EPE is in accordance with the same.

Both the completion of this internship and the work on topics relevant to the JTS were enriching, allowing for direct contact with the reality of the labour market, as well as the acquisition and development of new skills, both professionally and personally.

Keywords: Cell Therapy; Biological Specimen Banks; Qualification; Standards; Checklist

Organização do Relatório de Estágio

Este relatório descreve o Estágio realizado no Serviço de Terapia Celular (STC), do Instituto Português de Oncologia do Porto Francisco Gentil (IPOPFG, EPE), bem como o projeto desenvolvido sob proposta da instituição sobre o tema “Qualificação do Banco de Células, no STC do IPOPFG, EPE”. De modo a organizar estas duas componentes de estágio este relatório está organizado em dois capítulos:

- Capítulo I – contextualiza o estágio, objetivos, metodologias e procedimentos realizados no STC e competências adquiridas e desenvolvidas neste serviço. Neste capítulo, explora um elemento fundamental do STC que é o Sistema de Gestão da Qualidade, o qual tem um papel relevante na realização do projeto desenvolvido no capítulo II.
- Capítulo II – desenvolve o projeto, com as subdivisões da introdução, objetivos, metodologia, resultados, discussão e conclusão.

Índice	
Agradecimentos.....	II
Resumo.....	III
Abstract.....	IV
Organização do Relatório de Estágio.....	V
Lista de Siglas e Abreviaturas.....	VIII
Índice de Tabelas.....	X
Índice de Figuras.....	X
CAPÍTULO I – Estágio.....	1
1. Instituição e contextualização do estágio.....	1
2. Objetivos do estágio.....	1
3. Contextualização do Serviço de Terapia Celular.....	2
3.1. Avaliação de doentes e dadores.....	2
3.1.1. Tipos de dádiva.....	3
3.2. Mobilização e colheita de produtos de terapia celular.....	3
3.2.1. Métodos de colheita.....	3
3.2.2. Tipos de produtos de terapia celular.....	4
3.2.3. Controlo de qualidade no sangue periférico.....	5
3.3. Receção de Produtos de Terapia Celular.....	6
3.3.1. Produtos colhidos no serviço de terapia celular.....	6
3.3.2. Produtos colhidos em outros centros.....	7
3.4. Área de Controlo de Qualidade.....	7
3.4.1. Avaliação da qualidade dos produtos de terapia celular.....	7
3.5. Área do Processamento.....	10
3.5.1. Processamento de Produtos de Terapia Celular.....	10
3.6. Armazenamento.....	17
3.7. Distribuição.....	17
4. Sistema de Gestão da Qualidade do Serviço de Terapia Celular.....	18
5. Casuística do Serviço de Terapia Celular.....	21
6. Trabalhos desenvolvidos no estágio e formações.....	22
CAPÍTULO II – Estudo de caso: Qualificação do Banco de Células do Serviço de Terapia Celular do IPOPGF, EPE.....	23

1.	Introdução	23
1.1.	Objetivo e finalidade	23
1.2.	Sistema da Gestão da Qualidade	23
1.2.1.	Qualidade: conceitos e ferramentas	24
1.2.2.	Legislação aplicável ao serviço de terapia celular	25
1.3.	Validação vs Qualificação	25
1.3.1.	Validação	25
1.3.2.	Qualificação	26
1.3.3.	Onde e quando se aplica a qualificação?	26
1.3.4.	Fases da Qualificação e as suas definições	27
1.4.	Qualificação do Banco de Células	28
1.4.1.	Processos	28
1.4.2.	Pessoas	28
1.4.3.	Infraestruturas	29
1.4.4.	Equipamentos	29
1.4.5.	Materiais e Reagentes	30
1.4.6.	Sistemas	30
1.4.7.	Fornecedores	31
2.	Objetivos	31
3.	Metodologia	31
4.	Resultados	32
5.	Discussão	39
6.	Conclusão	42
	Referências Bibliográficas	43
	Anexos	47

Lista de Siglas e Abreviaturas

7-AAD	7-amino-actinomicina D, do inglês <i>7-amino-actinomycin D</i>
8-MOP	8-metoxipsoraleno, do inglês <i>8-methoxypsoralen</i>
AABB	<i>Association for the Advancement of Blood & Biotherapies</i>
AATB	<i>American Association of Tissue Banks</i>
AC	Antecâmara
ACD	<i>Anticoagulant Citrate Dextrose Solution</i>
ACP	Agente Crioprotetor
AFC	<i>Activity Flow Charts</i>
AO	Assistente Operacional
APCER	Associação Portuguesa de Certificação
ASST	Autoridade para os Serviços de Sangue e da Transplantação
AT	Assistente Técnico
ATMP	<i>Advanced Therapy Medicinal Products</i>
AVAC	Aquecimento, Ventilação e Ar Condicionado
BO	Bloco Operatório
CAR	<i>Chimeric Antigen Receptor</i>
CC	Componentes Celulares
CE	Comunidade Europeia
CEDACE	Centro Nacional de Dadores de Células de Medula Óssea, Estaminais ou de Sangue do Cordão
CF	Citometria de fluxo
CFL	Câmara de Fluxo Laminar
CFU-E	Unidades Formadoras de Colónias-Eritroide, do inglês <i>Colony Forming Unit-Erythroid</i>
CFU-GEMM	Unidades Formadoras de Colónias-Granulócito, Eritrocito, Monócito, Megacariócito, do inglês <i>Colony Forming Unit - Granulocyte, Erythrocyte, Monocyte, Megakaryocyte</i>
CFU-GM	Unidades Formadoras de Colónias- Granulócito Macrófago, do inglês <i>Colony Forming Unit-Granulocyte Macrophage</i>
CMN	Células Mononucleares
CPH	Células Progenitoras Hematopoiéticas
COVID-19	Doença por coronavírus 2019
CQ	Controlo de Qualidade
CSB	Câmara de Segurança Biológica
CVC	Cateter Venoso Central
DECH	Doença do Enxerto Contra Hospedeiro
DGS	Direção Geral da Saúde
DMSO	Dimetilsulfóxido
EBMT	<i>European Group for Blood and Marrow Transplantation</i>
EPI	Equipamento de Proteção Individual
EVA	Acetato Vinilo de Etileno, do inglês <i>Ethylene Vinyl Acetate</i>
FACT	<i>Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy</i>
FDA	<i>Food and Drug Administration</i>
FEC	Fotoferece extracorporal
FSC	<i>Forward Scatter</i>
G-CSF	<i>Granulocyte - Colony Stimulating Factor</i>
GMP	<i>Good Manufacturing Practice</i>

Lista de Siglas e Abreviaturas (cont.)

HEPA	<i>High Efficiency Particulate Air</i>
ILD	Infusão linfócitos do dador
IPST	Instituto Português do Sangue e da Transplantação
ISBT	<i>International Society of Blood Transfusion</i>
ISO	<i>International Organization for Standardization</i>
JACIE	<i>Joint Accreditation Committee ISCT & EBMT</i>
IPOPGF, EPE	Instituto Português de Oncologia do Porto Francisco Gentil, Entidade Pública Empresarial
LBC	Laboratório de Biologia Celular
LC	Laboratório de Criobiologia
LCF	Laboratório de Citometria de Fluxo
LTC	Laboratório de Terapia Celular
MM	Mieloma múltiplo
MO	Medula Óssea
MS	Manual de Segurança
MTA	Medicamentos de Terapia Avançada
NID	Número de Identificação da Dádiva
NP	Norma portuguesa
PDCA	<i>Plan-Do-Check-Act</i>
PTC	Produtos de Terapia Celular
QAP10	<i>Quality Assurance Partner 10</i>
QC	Qualificação de conceção/design
QD	Qualificação do desempenho
QI	Qualificação de instalação
QO	Qualificação operacional
RPMI	Roswell Park Memorial Institute
SARS-CoV-2	Síndrome Respiratória Aguda Grave - Coronavírus 2
SC	Sala de Criopreservação
SCU	Sangue do Cordão Umbilical
SIET	Serviço de Instalações, Equipamentos e Transportes
SGQ	Sistema de Gestão da Qualidade
SOP	<i>Standard Operational Procedures</i>
SSC	<i>Side Scatter</i>
STMO	Serviço de Transplantação de Medula Óssea
STC	Serviço de Terapia Celular
TAN	Teste de ácidos nucleicos
TSDT	Técnicos Superiores de Diagnóstico e Terapêutica
TSS	Técnicos Superiores de Saúde
µL	Microlitro
UFC	Unidades Formadoras de Colónias
VHB	Vírus da Hepatite B
VHC	Vírus da Hepatite C
VIH	Vírus da Imunodeficiência Humana
VLTH	Vírus linfotrópico da Célula T humana

Índice de Tabelas

Tabela 1: Exemplos de patologias hematológicas e não-hematológicas que no tratamento pode usar Terapias Celulares.....	1
Tabela 2: <i>Checklist</i> para a Qualificação do Banco de Células.....	33

Índice de Figuras

Figura 1: Procedimento laboratorial para a contagem de CD34 ⁺ no sangue periférico	6
Figura 2: Colheita de amostra para o controlo de qualidade do produto	6
Figura 3: Procedimento laboratorial para a imunofenotipagem das populações celulares	8
Figura 4: Procedimento laboratorial para a determinação da funcionalidade das CPH colhidas por aférese	9
Figura 5: Unidade Formadores de colónias. 5.A. Eritroide; 5.B Granulócito Macrófago; 5.C Granulócito, Eritrócito, Monócito, Megacariócito	10
Figura 6: Procedimento laboratorial para a determinação da funcionalidade das CPHs obtidas por colheita na MO	10
Figura 7: Procedimento laboratorial para a determinação da viabilidade celular pelo método de azul tripano.....	14
Figura 8: Procedimento laboratorial para a determinação da viabilidade celular pelo método 7-AAD.....	14
Figura 9: Células viáveis sem coloração e células não-viável corada de azul.....	15
Figura 10: Procedimento laboratorial para quantificar as CMN e os restantes CC.....	16

Índice de Anexos

Anexo 1: Comunicação oral e apresentação do trabalho "Correlação entre o número de células CD34 ⁺ CFU-GM em maus e bons mobilizadores: experiência de um centro" no XII Congresso da APIH, 2022.....	47
Anexo 2: Poster do trabalho "Estudo comparativo de duas técnicas de descongelação de células progenitoras hematopoiéticas", no XII Congresso da APIH, 2022	48
Anexo 1: Poster do trabalho "Avaliação da eficácia da colheita de células mononucleares por aférese e posterior produção de células CAR-T" no XII Congresso da APIH, 2022	49

Anexo 4: Template utilizado no STC para a qualificação do DMSO. Domínio: Instalação	50
Anexo 5: Template utilizado no STC para a qualificação do DMSO. Domínio: Operacionalidade ...	51
Anexo 6: Template utilizado no STC para a qualificação do DMSO. Domínio: Desempenho	52

CAPÍTULO I – Estágio

1. Instituição e contextualização do estágio

O Estágio foi realizado no Serviço de Terapia Celular (STC) no Instituto Português de Oncologia do Porto Francisco Gentil, Entidade Pública Empresarial (IPOPFG, EPE) e teve uma duração de 6 meses.

O STC utiliza diversas Terapias Celulares, integradas nas Imunoterapias e Transplantação, como tratamento de diversas patologias hematológicas e não-hematológicas. Na tabela 1 estão enumeradas algumas patologias em que as Terapias Celulares são utilizadas como tratamento (1, 2).

O STC tem uma grande e diversa atividade na colheita, processamento e armazenamento de Produtos de Terapia Celular (PTC) destinados a Transplantação e à produção de Medicamento de Terapia Avançada (MTA), e prima pela segurança do doente e pela elevada qualidade dos produtos que disponibiliza, no país e para o estrangeiro, o que lhe permite ter amplo reconhecimento a nível nacional e internacional.

Tabela 1: Exemplos de patologias hematológicas e não-hematológicas que no tratamento pode usar Terapias Celulares

Patologias hematológicas e não-hematológicas	
Amiloidose	Leucemias Crónicas
Anemia Aplásica	Linfoma Cutâneo das células T
Anemia de Fanconi	Linfoma de Hodgkin
Doenças autoimunes	Linfoma Não-Hodgkin
Doenças da pele	Mieloma Múltiplo (MM)
Doenças hereditárias	Neuroblastoma
Doenças Histocíticas	Retinoblastoma
Leucemias Agudas	Sarcoma de Ewing

2. Objetivos do estágio

O estágio realizado no STC teve como objetivo principal aplicar os conhecimentos teóricos e desenvolver competências práticas na área das Terapias Celulares, permitindo adquirir autonomia profissional e científica, para uma melhor integração no futuro profissional. Para atingir este objetivo, foi importante integrar equipa de trabalho na rotina laboratorial do serviço, o que permitiu compreender a logística e os procedimentos realizados no STC.

3. Contextualização do Serviço de Terapia Celular

O STC iniciou a sua atividade em 1989, e surge com esta sua denominação em 2006 pela junção da Aférese e da Criobiologia. O STC desenvolve atividade de consulta a dadores e doentes, colheita de PTCs por aférese e Medula Óssea (MO) no bloco operatório (BO), análise, processamento e armazenamento de PTCs destinados à transplantação, para o tratamento de diversas patologias. Atualmente, tem implementado múltiplas imunoterapias na sua atividade, e desenvolve trabalhos de investigação e colabora em ensaios clínicos na área.

O STC encontra-se distribuído pelos Pisos 1, 2 e 3 do Edifício E (laboratórios) do IPOFG, EPE. No piso 1 está instalada a Sala de Criopreservação (SC) interligada com a área de processamento. No piso 2 encontra-se a área administrativa partilhada com a Imunohemoterapia, e no piso 3 estão localizadas as áreas clínica e laboratorial. A área clínica é constituída por dois gabinetes médicos, onde se efetua a avaliação dos doentes e dadores, e por duas salas de aférese, onde se realiza a colheita de PTCs, sendo que uma destas está destinada e adaptada para doentes pediátricos. A área laboratorial é constituída pelos Laboratórios de Biologia Celular (LBC), de Citometria de Fluxo (LCF), de Criobiologia (LC) e pelo de Terapia Celular (LTC). O LBC e o LCF são destinados a atividades de controlo de qualidade (CQ) dos PTCs, enquanto os LC e LTC são utilizados para a realização do processamento de PTCs e descongelação destes e de MTAs.

O STC é constituído pela Diretora de Serviço a Dra. Susana Roncon e por uma equipa multidisciplinar, que integra Médicos especialistas na área de Imunohemoterapia, Técnicos Superiores de Diagnóstico e Terapêutica (TSDT), Técnicos Superiores de Saúde (TSS), Enfermeiros, Assistentes Técnicos (AT) e Assistentes Operacionais (AO). O STC tem um organograma estruturado de forma a garantir a interação entre os diversos grupos de profissionais e permitir a dinâmica e o bom funcionamento do serviço assim como a qualidade dos produtos.

Neste capítulo são abordados, mais pormenorizadamente, os diferentes processos e procedimentos realizados no STC, nomeadamente a avaliação de doentes e dadores, a colheita, receção, processamento, armazenamento e distribuição de PTCs e MTAs.

3.1. Avaliação de doentes e dadores

A avaliação clínica de doentes e dadores é a primeira etapa a ser realizada em todo o processo, a dadores/doentes enviados pelo Serviço de Transplantação e Medula Óssea (STMO), pelo Centro Nacional de Dadores de Células de Medula Óssea, Estaminais ou de Sangue do Cordão (CEDACE) e outros serviços, após receção do pedido de avaliação do dador/doente proposto para colheita de PTCs ou tratamento de fotoférese (só doente). Esta avaliação é feita pelo médico responsável, no gabinete médico do serviço. Nesta consulta o médico fica a conhecer a história clínica do doente/dador, realiza um exame físico e pede exames complementares de diagnóstico. Para os dadores é necessário fazer o rastreio a doenças crónicas, doenças genéticas, alterações da função cardíaca, hepática ou renal e doenças potencialmente transmissíveis.

Para a elegibilidade do dador é obrigatória a pesquisa de marcadores de doenças infecciosas, nomeadamente ao anticorpo contra o Vírus da Hepatite C (VHC), ao antigénio de superfície do Vírus da Hepatite

B (VHB) e ao anticorpo *core* da Hepatite B, aos anticorpos contra Vírus linfotrófico da Célula T humana (VLTH) 1 e 2, aos anticorpos contra o Vírus da Imunodeficiência Humana (VIH) 1 e 2, testes de ácidos nucleicos (TAN) para VHB, VHC e VIH, análise específica ou não para o *Treponema pallidum* e outros agentes infecciosos (3, 4). Devido à atual situação pandémica da Síndrome Respiratória Aguda Grave – Coronavírus 2 (SARS-CoV-2), é necessário um teste negativo à doença por Coronavírus 2019 (COVID-19) ou comprovativo de recuperação para a realização da colheita. Concomitantemente o médico prescreve os fatores de crescimento.

Posteriormente, o dador tem uma consulta de enfermagem onde são avaliados os acessos venosos, colhidas amostras, e entregues os fatores de crescimento, com a explicação sobre o que são e a sua função.

3.1.1. Tipos de dádiva

Existem dois tipos de dádiva: a autóloga e a alogénica, sendo que a última se subdivide em dádiva alogénica relacionada e não-relacionada (5, 6).

Na dádiva autóloga, o doente e o dador são o mesmo indivíduo, ou seja, o doente colhe as células pretendidas, estas são processadas e criopreservadas e, posteriormente, descongeladas e reinfundidas no doente (7). Na dádiva alogénica, o doente e dador são indivíduos diferentes (7). O dador colhe Células Progenitoras Hematopoiéticas (CPH) para o doente, estas são processadas e infundidas a fresco ao doente. A diferença entre os dois tipos de dádiva alogénica, é que na dádiva alogénica de dador relacionado, o dador tem grau de parentesco com o doente (*ex.* pai, irmão, primo...), já na dádiva alogénica de dador não-relacionado, o dador e o doente não têm qualquer tipo de grau de parentesco (8). Existe a obrigatoriedade de anonimato, quer para o doente quer para o dador.

3.2. Mobilização e colheita de produtos de terapia celular

A colheita de PTCs é realizada após a mobilização com fatores de crescimento. Estes fatores permitem a deslocação das CPHs presentes na MO para o sangue periférico (9). O fator de crescimento mais utilizado é o *Granulocyte – Colony Stimulating Factor* (G-CSF), devendo a dose ser de 10 µg/kg/dia (10). Após 4-6 dias de administração de fator de crescimento, o número de CPH é elevado no sangue periférico, realizando-se a colheita, normalmente no 5º dia de mobilização (11, 12). A utilização destes fatores permite que a colheita seja mais eficaz, evitando que o dador seja submetido a diversos procedimentos de colheita (13).

Na eventualidade de maus acessos venosos o dador é proposto para colocação de Cateter Venoso Central (CVC), para que a colheita não se torne um processo moroso para o dador.

3.2.1. Métodos de colheita

A colheita de PTC é realizada, fundamentalmente, por dois métodos, diretamente na MO ou aférese (14).

A colheita efetuada na MO é feita em BO, onde o dador se encontra sob o efeito de anestesia geral (15). O dador tem uma preparação prévia, que inclui: no dia anterior à colheita, é internado, são realizados dois banhos antissépticos, um no dia do internamento e outro no dia da colheita. No BO o dador anestesiado, na colheita são realizadas múltiplas punções nas cristas ilíacas posteriores com agulhas estéreis descartáveis, sendo que a

zona lombar é previamente lavada e desinfetada para evitar contaminação da MO e as zonas adjacentes são protegidas por campos estéreis (15, 16). O procedimento de colheita inicia com a preparação do meio de anticoagulante (ACD) no saco de colheita, heparinização das seringas de aspiração de MO que é introduzida num saco de colheita estéril pré-preparado. O volume de medula óssea a colher depende de múltiplos fatores, nomeadamente do peso do dador, sendo que o limite estabelecido é entre 15–20 ml/kg, do peso do recetor e do número de células pretendidas (17). Uma das desvantagens deste método é que, sendo um sistema aberto, existe maior risco de contaminação do produto.

Atualmente a colheita por aférese é o método mais utilizado. O tipo de aférese utilizado no STC é a citaférese. Esta colheita é feita em equipamentos, designados por separadores celulares, que fazem a seleção das células pretendidas, sendo os restantes componentes reinfundidos ao doente/dador (18, 19). É feita a anticoagulação do sistema de tubuladuras, com uma solução anticoagulante, contendo citrato e heparina (19). Trata-se de um processo moroso, que decorre entre 3 e 4 horas, apesar disso, permite uma recuperação mais fácil e rápida do que a colheita de MO (20). Este método permite um sistema de colheita fechado e, conseqüentemente, um menor risco de contaminação do produto.

3.2.2. Tipos de produtos de terapia celular

3.2.2.1 Células progenitoras hematopoiéticas

As CPH são células estaminais que têm a capacidade de se diferenciar em diferentes linhagens celulares e formar células adultas (*ex.* eritrócitos, leucócitos, plaquetas) (21, 22). Este tipo de células pode ser proveniente de diversas fontes, nomeadamente da MO, do sangue periférico e do Sangue do Cordão Umbilical (SCU) (23, 24). As CPH de maior interesse para a recuperação da hematopoiese, e para o tratamento de diversas patologias, são as células CD34⁺ (25). Numa dádiva de dador autólogo, dependendo da patologia, são necessárias de 2,5 a 5x10⁶ CD34⁺/kg de peso do recetor e numa dádiva alogénica entre 4 a 6x10⁶ CD34⁺/kg de peso do recetor (26, 27). A quantidade de células CD34⁺ necessária está diretamente relacionada com o tipo de patologia do recetor.

3.2.2.2 Células mononucleares

A colheita de Células Mononucleares (CMN) é realizada por aférese. Estas células são utilizadas para tratamentos de fotoferese extracorporal (FEC), pelos métodos *inline*, em que o processo de fotoativação se realiza durante o procedimento, no próprio equipamento de colheita, ou por métodos *offline*, em que a fotoativação das células autólogas é realizado em laboratório num equipamento, o MacoGenic, que irradia o produto com luz ultravioleta, após o tratamento com um agente fotossensibilizador, o Psoraleno (28, 29). Este tipo de células é utilizado para o tratamento da Doença do Enxerto Contra o Hospedeiro (DECH) e do Síndrome de Sezary (Linfoma Cutâneo das células T) (30, 31). As CMNs são usadas também quando o doente tem risco de recaída pós-transplante, procedendo-se à infusão de linfócitos T do dador (ILD) (32). Mais recentemente, em 2018, as CMN têm sido utilizadas em novas terapias celulares, especificamente, na produção de células *Chimeric Antigen Receptor* (CAR) T.

3.2.3. Controlo de qualidade no sangue periférico

Na colheita de CPH, para ter uma estimativa do número de células CD34⁺ do produto no final da colheita, é feita a contagem de células CD34⁺ em amostra colhida no sangue periférico, e enviado para o LCF, situado na área de CQ. Este será o melhor indicador para a previsão do número de volémias a fazer e número de células CD34⁺ colhidas no final da colheita (33, 34).

Quando a amostra chega ao LCF, esta é colocada num agitador automático para garantir a homogeneidade da amostra. De seguida, realiza-se um hemograma para obter as contagens hematológicas do dador no momento da colheita, sendo de principal interesse a contagem dos leucócitos.

Para a contagem de CD34⁺ são necessários dois tubos de citometria, um dos tubos é o controlo negativo, no qual não se coloca os anticorpos monoclonais CD34 e CD45, isto permite afirmar que as células do dador não têm fluorescência própria, o outro tubo coloca-se a amostra + anticorpos (35). A seguir, adiciona-se o FACSLyse, que é um reagente utilizado para lisar os eritrócitos, mantendo os leucócitos intactos (35). Ao realizar uma centrifugação permite que as células de interesse, se depositem no fundo do tubo de centrifugação, pois, estas são células maiores e mais densas. Após a rejeição do sobrenadante é necessário ressuspender o pellet, e para isso é utilizado o Facs Flow. Por fim, agitar no vortex e adquirir de imediato no citómetro.

Para calcular o número de células CD34⁺/µl no sangue periférico é utilizado a seguinte fórmula:

- Nº células CD34⁺/µl no SP = leucócitos x10⁹/L X % células CD34⁺, sendo que a % células CD34⁺ é obtida por Citometria de Fluxo (CF)

Está descrito em artigos que, apenas se avança com o procedimento de colheita quando o n.º de células CD34⁺ ≥ 10/µL, no sangue periférico (36). Isto, para que o dador não seja submetido a intervenções desnecessárias. Assim, o resultado é comunicado ao médico responsável e se o número de células CD34⁺/µL for baixo é tomada a decisão de continuar ou interromper a colheita. Se a decisão for interromper o procedimento de colheita, o enfermeiro termina o procedimento e o produto colhido é eliminado, após avaliação da qualidade. Sempre que isto acontece é necessário um registo de ocorrência, com a justificação do motivo da eliminação e os dados referentes à colheita e ao doente, em *template* próprio.

No caso de o procedimento de colheita continuar, no final da mesma o enfermeiro responsável por essa colheita regista na aplicação informática *Quality Assurance Partner 10* (QAP10) os dados do produto final (*ex.* volume total, de citrato e de heparina), sendo emitida uma etiqueta de colheita de acordo com o *International Society of Blood Transfusion* (ISBT) 128, que será colocada no saco de colheita para identificação da mesma e que substitui a etiqueta temporária. De seguida, o AO transporta o saco de colheita, numa mala térmica devidamente identificada, à temperatura ambiente, acompanhado do processo do doente, para a área do processamento. O procedimento para a contagem de células CD34⁺ no sangue periférico encontra-se descrito por nós na Figura 1.

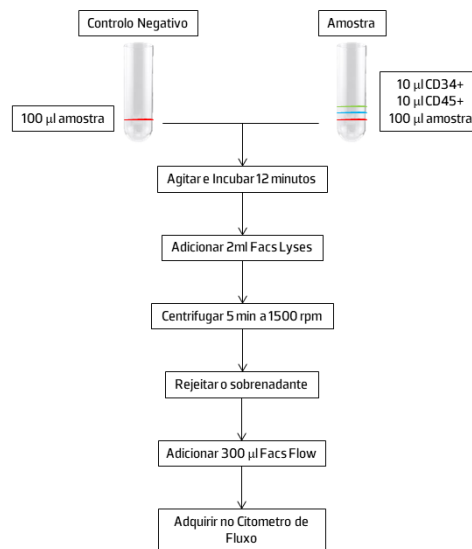


Figura 1: Procedimento laboratorial para a contagem de CD34⁺ no sangue periférico

3.3. Receção de Produtos de Terapia Celular

3.3.1. Produtos colhidos no serviço de terapia celular

A receção dos PTCs é feita pelos TSDT, na área do processamento, onde juntamente com o AO, responsável pelo seu transporte, confirmam a identificação do dador e, num *template* é registado os dados do produto, data e hora da receção, juntamente com uma assinatura de ambos.

Após a receção do mesmo, o técnico verifica a integridade do saco e o aspeto macroscópico do produto (37). No laboratório, o produto é agitado suavemente para garantir a homogeneidade do mesmo, isto para que a amostra retirada para o CQ seja representativa do produto total de colheita. Retira-se a amostra para um dos tubos anexos ao saco e identifica-se o mesmo com uma etiqueta com os dados do dador (Figura 2). Essa amostra vai para o LCF para a realização do hemograma e para a imunofenotipagem das populações celulares.

Por último, para determinar o volume do PTC, pesa-se o saco e retira-se a tara do mesmo. Se o PTC é para uso autólogo fica armazenado do frigorífico de 2–8°C durante a noite, enquanto no PTC para uso alogénico é calculado o volume para infusão a fresco, em função das células CD34⁺ pedidas.



Figura 2: Colheita de amostra para o controlo de qualidade do produto
Fonte: Foto do LC do STC.

3.3.2. Produtos colhidos em outros centros

Para a receção de PTCs de outros centros nacionais e internacionais, a data e hora prevista de chegada do mesmo, são enviadas previamente por correio eletrónico para o Diretor de Serviço e para o Gestor da Qualidade, juntamente com a identificação do transportador.

O transportador identifica-se e os dados são confirmados de acordo com os dados anteriormente recebidos por correio eletrónico. O transporte do PTC é feito numa mala térmica, com controlo de temperatura, entre $\geq 1^{\circ}\text{C} \leq 10^{\circ}\text{C}$ (37). O profissional responsável pela receção, verifica a temperatura na abertura do contentor de transporte (38). Juntamente com o saco de colheita, vêm amostras para a realização de testes laboratoriais, nomeadamente para o grupo ABO/Rh, serologia vírica, sífilis e testes de ácidos nucleicos.

Os restantes procedimentos seguem os descritos para os PTCs colhidos no STC.

3.4. Área de Controlo de Qualidade

A área de CQ é constituída pelos LCF e LBC, sendo que nesta são executados testes laboratoriais para o CQ dos PTCs.

3.4.1. Avaliação da qualidade dos produtos de terapia celular

A avaliação da qualidade dos PTCs é um parâmetro indispensável na preparação de CPH para transplante ou destinados a outras terapias. Esta avaliação assegura a conformidade do produto com os requisitos do serviço e das leis que regulam esta área. Todos os produtos colhidos no STC ou em outros centros passam por um processo de avaliação da qualidade capaz de assegurar e garantir a segurança e eficácia dos mesmos. Os parâmetros de qualidade dos PTCs avaliados após a colheita são:

- Contagem de leucócitos;
- Hematócrito;
- Imunofenotipagem;
- Viabilidade celular;
- Ensaio clonogénico;
- Esterilidade;
- Grupo ABO e Rh;
- Estudo citogenético/genético (se aplicável).

Estes parâmetros são determinados de acordo com os procedimentos descritos nos pontos 3.4.1.2 a 3.4.1.3.2 deste capítulo.

3.4.1.1 Citometria de Fluxo

A CF permite analisar múltiplos parâmetros físicos e químicos das células (39). As células estão suspensas numa corrente de fluxo e passam, uma a uma, por um feixe de luz, sendo detetados pela sua dispersão de luz ou a sua fluorescência (39, 40). O *Forward Scatter* (FSC) e o *Side Scatter* (SSC) são detetores

de dispersão da luz que permitem avaliar o tamanho e a complexidade das células, respetivamente (39). Para avaliar a fluorescência das células estas são conjugadas com fluorocromos (39).

No STC, a CF é utilizada para os testes laboratoriais de CQ, nomeadamente para a determinação da imunofenotipagem das populações celulares no sangue periférico e no PTC, determinar a viabilidade de produtos descongelados e para a contagem de linfócitos e outras células, no tratamento da DECH.

3.4.1.2 Imunofenotipagem das populações celulares

A amostra retirada após receção do PTC é usada para a realização do hemograma e para a imunofenotipagem das populações celulares. O procedimento laboratorial realizado para a imunofenotipagem das populações celular encontra-se descrito na Figura 3 (41).

Para as contagens celulares, a amostra é diluída 1:10 com uma solução salina, Facs Flow. Neste procedimento são necessários três tubos de citometria: um será o controlo negativo (apenas amostra), um para as contagens de CD34⁺/kg e outro para contagem de linfócitos (CD3⁺). A contagem de linfócitos é para conhecer a razão entre a percentagem de linfócitos T helper (CD3CD8⁺) e a percentagem de linfócitos T citotóxicas (CD3CD4⁺). Quanto maior esta razão for, mais benéfico é para o doente. Estas percentagens são obtidas por CF, tal como a % CD34⁺.

A contagem de CD34⁺/kg permite saber qual o número de células obtidas no final do procedimento de colheita. Para obter o número final de CD34⁺/kg é necessário fazer uma série de cálculos, tais como:

- Total de leucócitos x 10⁸ = [leucócitos x 10⁹/mL X volume final (mL)] x 100
- Leucócitos x10⁸/kg = Total de leucócitos x 10⁸ ÷ Peso do recetor
- Total de células CD34⁺ x10⁶ = Total de leucócitos x10⁸ X % células CD34⁺
- Células CD34⁺/kg = Total de células CD34⁺ x10⁶ ÷ Peso do recetor

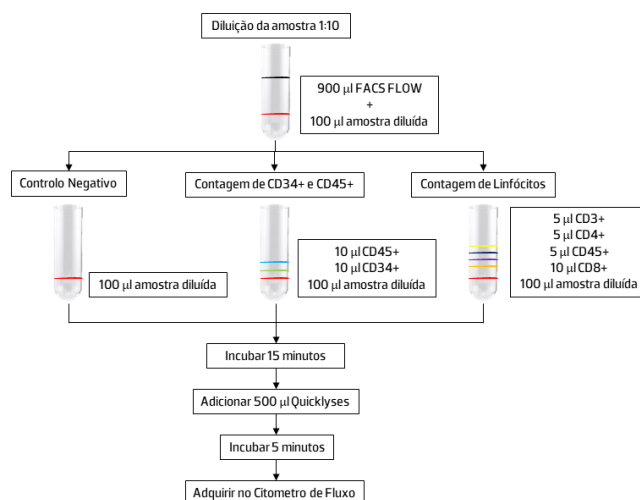


Figura 3: Procedimento laboratorial para a imunofenotipagem das populações celulares

Após a determinação do n.º CD34⁺/kg, o técnico comunica ao médico responsável o resultado. Se o dador não colher o valor estipulado, deverá fazer nova colheita no dia seguinte. Se o dador não apresentar condições para uma nova colheita, pelo que que esta não será realizada.

3.4.1.3 Funcionalidade das populações celulares

3.4.1.3.1 Células progenitoras hematopoiéticas colhidas por aférese

Para avaliar a funcionalidade das CPH colhidas por aférese é retirada uma amostra dos PTCs, apenas na 1ª colheita. A funcionalidade é avaliada através da capacidade de diferenciação e de proliferação das células, nomeadamente a sua capacidade clonogénica (42). Para isto, são quantificados três tipos de unidades formadoras de colónias (CFU), mais especificamente Unidades Formadoras de Colónias-Eritroide (CFU-E), Unidades Formadoras de Colónias- Granulócito Macrófago (CFU-GM) e Unidades Formadoras de Colónias- Granulócito, Eritrócito, Monócito, Megacariócito (CFU-GEMM). O objetivo é quantificar o número de CFU-GM x 10⁵/kg de peso do recetor. O valor ideal de CFU-GM x10⁵/kg depende do tipo de PTC, sendo que nas CPH deve ser ≥1,0x10⁵ CFU-GM/kg (25). O procedimento laboratorial para a determinação da funcionalidade encontra-se descrito na Figura 4.

A cultura de colónias é realizada em meio de metilcelulose, este meio tem fatores de crescimento recombinantes, o que permite o crescimento das unidades formadoras de colónias (42). Nos poços do meio é colocada a amostra e nos restantes poços é adicionada água destilada estéril, para que as células tenham a humidade suficiente para crescer. Incubam em estufa de CO₂ a 37°C, após 14 dias de incubação faz-se a contagem, no microscópio invertido, do n.º de CFU-E, CFU-GM e CFU-GEMM dos dois poços com o meio de metilcelulose (Figura 5). Para determinar o CFU-GM x10⁵/kg calcula-se:

- $CFU-GM \times 10^5 \text{ Total} = [\text{Total leucócitos} \times (\text{n.º CFU-GM} + \text{n.º CFU-GEMM})] \div 50$
- $CFU-GM \times 10^5 / \text{kg} = CFU-GM \times 10^5 \text{ Total} \div \text{Peso do doente ou dador}$

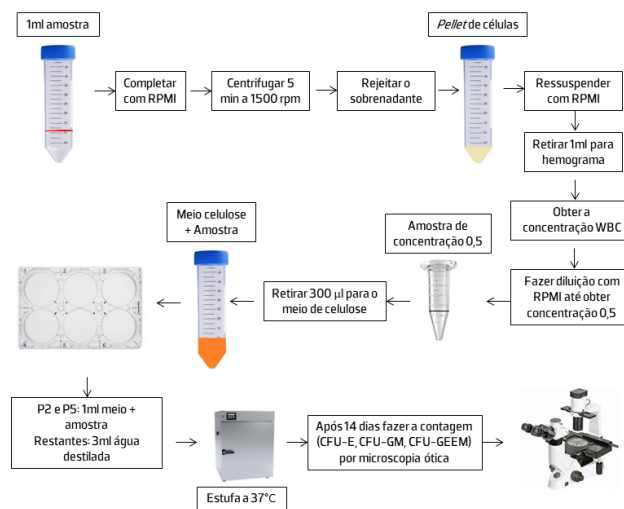


Figura 4: Procedimento laboratorial para a determinação da funcionalidade das CPH colhidas por aférese

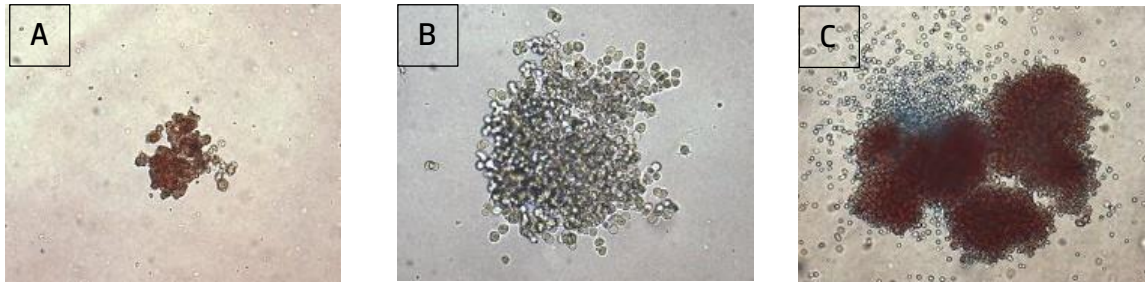


Figura 5: Unidade Formadores de colónias. 5.A. Eritroide; 5.B Granulócito Macrófago; 5.C Granulócito, Eritrócito, Monócito, Megacariócito (43).

3.4.1.3.2 Medula Óssea

No caso da MO, o número ideal de CFU-GM/kg é de $\geq 0,1 \times 10^5$ CFU-GM/kg (25). O procedimento laboratorial para a avaliação da funcionalidade das CPHs provenientes da MO difere do procedimento das CPHs colhidas por aférese, e estão desenhados na Figura 6.

Quando adicionar a amostra + *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI) ao Ficoll deve-se inclinar o tubo para que os produtos não se misturem, para que no final da centrifugação as diferentes camadas formadas estejam bem diferenciadas. A camada de interesse para este procedimento é a porção com as células nucleadas. Para o meio de metilcelulose, a amostra no caso da MO, a concentração deve ser ajustada de 1×10^5 células nucleadas /mL (42). Para determinar o CFU-GM $\times 10^5$ /kg calcula-se:

- $CFU-GM \times 10^5 \text{ Total} = [T \text{ Total de leucócitos} \times (n.^{\circ} CFU-GM + n.^{\circ} CFU-GEMM)] \div 10$ (MO tem um gradiente de densidade diferente das CPHs colhidas por aférese);
- $CFU-GM \times 10^5 / kg = CFU-GM \times 10^5 \text{ Total} \div \text{Peso do doente ou dador}$

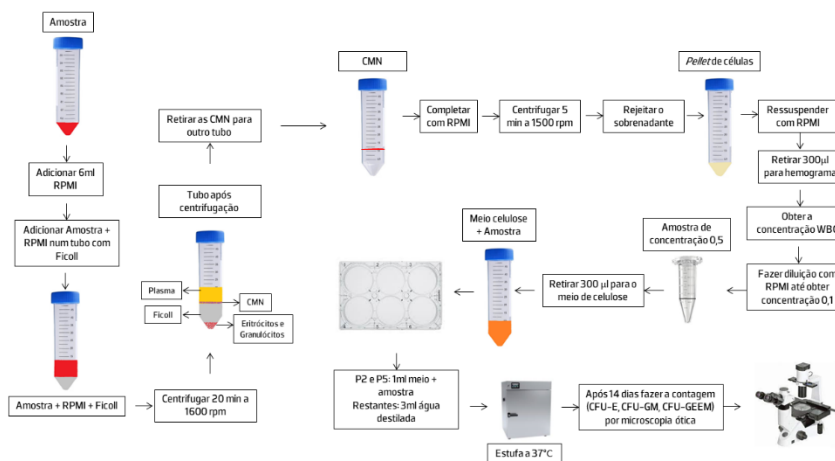


Figura 6: Procedimento laboratorial para a determinação da funcionalidade das CPHs obtidas por colheita na MO

3.5. Área do Processamento

A área do processamento é constituída pelo LC e o LTC, sendo que nestes laboratórios os TSdT realizam o processamento propriamente dito dos PTCs.

3.5.1. Processamento de Produtos de Terapia Celular

O processamento dos PTCs é feito em ambiente controlado, de forma a evitar qualquer tipo de contaminação. Os LTC e LC são salas limpas com o ambiente controlado, equipadas com um sistema de Aquecimento, Ventilação e Ar Condicionado (AVAC), que permite um controlo de temperatura e pressão e asseguram a eliminação de partículas muito pequenas. Para verificar se o sistema AVAC funciona corretamente, os LTC e LC tem uma avaliação semestral por duas empresas externas acreditadas. Para além disso, os TSDT fazem o controlo microbiológico do ar, em repouso e atividade, mensalmente. Este controlo é feito colocando placas de gelose de sangue, em pontos pré-definidos, de acordo com a área dos laboratórios. As placas são abertas e ficam 4 horas expostas ao ar, sendo que a colheita é feita por sedimentação. Após esse tempo, as placas são fechadas e identificadas de acordo com os pontos de colheita, e são levadas para o laboratório de Microbiologia, acompanhadas de uma requisição, onde incubam durante sete dias, após os quais são emitidos os resultados. Em caso de contaminação, e dependendo do número de colónias e do microorganismo contaminante, é aberta uma ocorrência para investigação da causa, acompanhamento e resolução da mesma.

A utilização destes laboratórios é restrita a profissionais autorizados, que têm obrigatoriamente de usar Equipamento de Proteção Individual (EPI), nomeadamente fato descartável, touca, máscara, luvas e protetores de calçado (44).

A entrada do LTC, tem adjacente uma antecâmara (AC) onde os profissionais fazem a lavagem e desinfecção das mãos e trocam o EPI, para que o ambiente do laboratório seja o mais estéril possível. Este laboratório é constituído por duas câmaras de segurança biológica (CSB) do tipo II equipadas com filtros *High Efficiency Particulate Air* (HEPA). Os procedimentos do processamento de PTCs, nomeadamente a colheita de amostras para o controlo microbiológico, a preparação da solução de criopreservação e a filtração de MO são realizados numa CFL para manter a esterilidade do produto (45).

3.5.1.1 Células progenitoras hematopoiéticas colhidas por aférese

As CPHs colhidas por aférese para uso autólogo são criopreservadas enquanto as CPH para uso alogénico são infundidas a fresco, com validade até ao máximo de 72 horas após a colheita (46, 47). Nas colheitas de CPHs para exportação, retiram-se amostras para o CQ das mesmas, de acordo com o ponto 3.4.1.

Quando rececionadas as CPHs provenientes de outros centros retiram-se, igualmente, amostras para os testes laboratoriais de CQ. Se o produto tiver uma concentração $\geq 400 \times 10^9/L$, este é diluído com albumina humana a 5%. Este procedimento é realizado em CFL, de maneira a evitar a contaminação do produto. Em certos casos, quando o número de células é superior ao necessário para o transplante, é calculado pelo médico responsável o volume a infundir. Na eventualidade da realização de um segundo transplante, ou a patologia justifique a criocongelação de linfócitos, as células remanescentes são criocongeladas, de acordo com o protocolo de criocongelação, descrito no ponto 3.5.1.1.1, e armazenadas em azoto a $\leq -150^\circ\text{C}$.

3.5.1.1.1 Criocongelação de Células Progenitoras Hematopoiéticas

As CPHs para uso autólogo são criopreservadas num período máximo de 24 horas após a colheita, assim como as células remanescentes de dadores alogénicos relacionados. No entanto, para as células rececionadas do exterior, colhidas em outros centros, está estipulado um período máximo de 72 horas. A criopreservação de CPHs permite manter as características físicas e químicas das células, enquanto o doente

faz a preparação pré-transplante, que pode incluir ciclos de quimioterapia ou radioterapia, para que, posteriormente, possa fazer o transplante (48).

O procedimento de criopreservação é feito após adição de uma solução de criopreservação, composta por Dimetilsulfóxido (DMSO) e albumina humana a 5% (49). O DMSO é um agente crioprotetor (ACP) que evita a formação de cristais de gelo que provocam lesão celular (50). A albumina humana, sendo uma solução rica em proteínas, é uma fonte de nutrientes para as células (47, 50). O volume de DMSO e de albumina humana a 5% necessários, dependem do volume e da concentração inicial do PTCs, sendo que o volume de albumina deve ser pelo menos o dobro do volume de DMSO para que este não seja prejudicial para as células. Os seguintes cálculos permitem chegar aos volumes necessários à constituição da solução de criopreservação:

- Consideramos a densidade =1, Volume inicial = volume (peso) – (tara do saco);
- N.º total células = concentração WBC X volume inicial;
- Encontrar uma concentração ideal entre 80–350 x10⁹/L, de forma que vol. Albumina = 2x vol. DMSO;
- Volume final = N.º total células ÷ Concentração ideal;
- Volume DMSO = 10% do volume final;
- Volume de albumina = volume final – (volume inicial + volume DMSO).

A solução de criopreservação é feita na CFL. Num saco de transferência é colocado, em primeiro lugar, a albumina humana a 5% e depois, lentamente, é adicionado o DMSO, sendo que à medida que adicionamos este deve-se homogeneizar a solução (51). A junção destes reagentes provoca uma reação exotérmica, sendo necessário colocar a solução num frigorífico, idealmente a 4°C, durante um período mínimo de 30 minutos (52). Enquanto a solução arrefece, o TSDT identifica os sacos de criopreservação com etiquetas de processamento e conecta-os ao sistema de distribuição, em conector estéril para evitar contaminações (51).

Quando a solução estiver arrefecida, liga-se o congelador programado de arrefecimento gradual, chamado de Planer. Só quando o congelador atingir a temperatura ideal (4°C), se inicia a adição da solução de criopreservação às CPHs, com homogeneização contínua (53). Terminado este processo, é retirada uma alíquota de produto para um criotubo, para eventuais estudos posteriores, sendo que este é, de igual modo, criopreservado, para manter as características do produto.

Posteriormente, o produto final é distribuído uniformemente para sacos de criopreservação em Acetato Vinilo de Etileno (EVA), sendo retirado o ar dos sacos para evitar danos durante o armazenamento. O número de sacos criopreservados por produto celular depende de vários fatores, nomeadamente do número de transplantes programados, a celularidade e volume do produto inicial.

Os sacos com o produto final são selados duas vezes e colocados em sacos secundários, para evitar a contaminação do produto e a lesão do saco primário durante o armazenamento. De seguida, estes são postos numa placa metálica arrefecida e, posteriormente, colocados no Planer. Para a congelação de CPHs, o arrefecimento é de -1°C por minuto até atingir -60°C e depois -5°C por minuto até atingir os -120°C (53). Esta criopreservação tem uma duração de 72 minutos. No final, o equipamento emite um gráfico com a curva da criopreservação que, posteriormente, é digitalizado e guardado no processo do dador na aplicação informática QAP10.

Por último, os sacos são colocados em caixas devidamente identificadas, de acordo com o sistema ISBT 128 e são transportados em contentor de azoto líquido para serem transferidos para a tina de armazenamento, descrito no ponto 3.6, até à realização do transplante.

3.5.1.1.2 Descongelação de células progenitoras hematopoiéticas

A descongelação de CPH é programada pelo médico responsável do STMO e transmitida ao Diretor de Serviço do STC. O STMO envia para o STC uma requisição devidamente preenchida com:

- Identificação do doente;
- Diagnóstico do doente;
- Tipo de infusão;
- Peso do doente;
- N.º de células CD34+/kg do doente pretendidas;
- Identificação do serviço requisitante;
- Identificação e assinatura do médico requisitante.

O processo é localizado na aplicação informática QAP10 e é retirado o processo físico, sendo este avaliado pelo diretor de serviço. No dia anterior ao transplante, dois TSDTs retiram as células do armazenamento e transferem as mesmas para o contentor de transporte. A descongelação é feita no LC.

O método utilizado pela maioria dos centros, e até há pouco tempo no STC, é a descongelação em banho-maria a 37°C (51). Apesar de este ser um método muito rápido, a água constitui uma fonte de contaminação para o produto e, por isso, atualmente a descongelação de CPHs no STC, é realizada no SAHARA TSC (54, 55). Este equipamento não utiliza água, a descongelação é feita com apoio de compressas de gel aquecidas, tem um sensor de infravermelho que permite um maior controlo da temperatura durante todo o processo (54, 55).

A descongelação começa, apenas, quando o AO responsável pelo transporte das células para o transplante, atribuído pelo STMO, chegar ao STC. Para este processo são necessários pelo menos 2 técnicos. O TSDT retira um saco do contentor de transporte e confirma os dados com o outro técnico, que tem o processo do doente (dupla confirmação). Após esta confirmação, o TSDT verifica a integridade do saco e aspeto macroscópico do produto e coloca-o no equipamento de descongelação, que durante a descongelação homogeneiza as células. Ao longo da descongelação, o TSDT deve verificar o aspeto do produto. Quando o produto não tiver cristais de gelo, retira-se o saco do SAHARA. É importante que a temperatura do produto não ultrapasse os 4°C, porque o DMSO torna-se tóxico para as células e destrói-as, a esta temperatura.

De seguida, retira-se, na CFL, uma amostra para CQ, nomeadamente, para determinar a viabilidade celular e para o controlo microbiológico, de forma a garantir que não existiu contaminação durante o processamento e armazenamento. Por último, substitui-se a etiqueta de armazenamento para uma etiqueta de distribuição, escreve-se a validade do produto e coloca-se o produto num saco estéril. Volta-se a confirmar a identificação com o AO, o qual coloca o saco numa mala térmica, previamente preparada, para a sua distribuição. Os procedimentos relativamente à distribuição de CPH estão descritos no ponto 3.7.

3.5.1.1.2.1 Viabilidade celular

A viabilidade celular permite avaliar a proporção de células no produto que apresentam integridade membranar (56). Esta é realizada por dois métodos: azul de tripano e por 7-amino-actinomicina D (7-AAD). O azul de tripano é um corante que penetra as células sempre que a membrana está danificada e cora de azul o citoplasma das mesmas, sendo estas células não viáveis (57, 58). O procedimento laboratorial para determinar a viabilidade celular pelo método de azul de tripano encontra-se descrito na Figura 7.

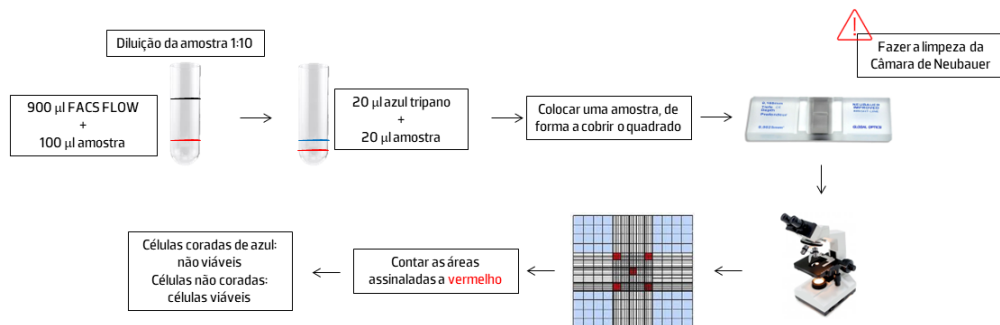


Figura 7: Procedimento laboratorial para a determinação da viabilidade celular pelo método de azul tripano

Para obter a percentagem de células viáveis, faz-se a soma do número de células coradas de azul e não coradas dos 5 quadrados assinalados a vermelho sendo a % células viáveis = $n.^{\circ}$ células não coradas ÷ ($n.^{\circ}$ células coradas + $n.^{\circ}$ células não coradas) (59).

No método por 7-AAD, a viabilidade é obtida por CF, em que se obtém a % células viáveis de CD34⁺ e CD45⁺. O 7-AAD é um composto fluorescente que possui elevada afinidade pelas cadeias de ADN, ligando-se a estas irreversivelmente (60). O procedimento laboratorial para determinar a viabilidade celular por 7-AAD descrevemos na Figura 8.

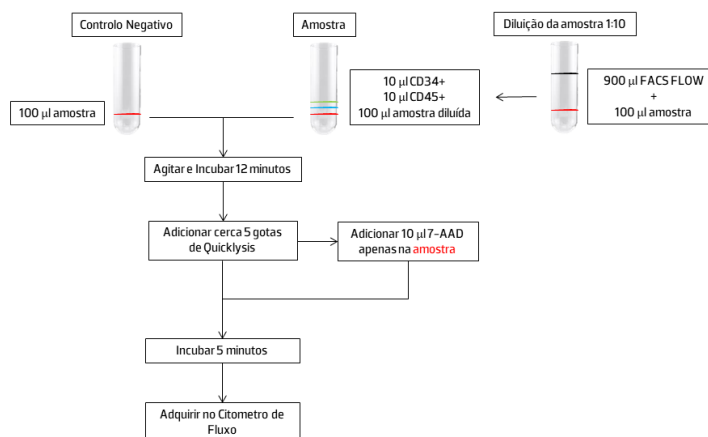


Figura 8: Procedimento laboratorial para a determinação da viabilidade celular pelo método 7-AAD

Após a obtenção da viabilidade celular por estes dois métodos, o TSS comunica o resultado em % ao médico responsável. Se a % for inferior a 40%, estes podem decidir a descongelação de mais sacos, com o objetivo de garantir que o doente é transplantado com o número suficiente de células viáveis.

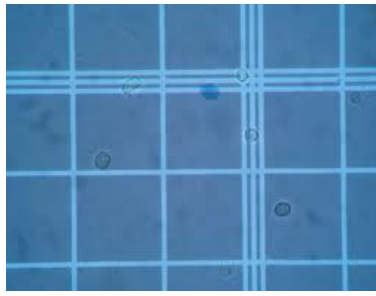


Figura 9: Células viáveis sem coloração e células não-viável corada de azul (61)

3.5.1.2 Medula óssea

A colheita de MO é um procedimento efetuado no BO, realizado em sistema aberto, pelo que existe maior probabilidade de contaminação (15). Após a colheita, a MO é enviada para o laboratório em mala térmica à temperatura ambiente, e rececionada pelo TSDT. Numa primeira fase, a MO passa por um procedimento de filtração, para retirar agregados celulares, espículas ósseas e pequenas partículas presentes no produto. Esta filtração realiza-se numa CLF. Após filtração, são retiradas amostras para os testes de CQ, nomeadamente para o controlo microbiológico, imunofenotipagem das populações celulares, funcionalidade e confirmação do grupo ABO/Rh. Determina-se o volume de MO, retirando a tara do saco ao peso do produto e divide-se pela densidade da MO (1,05).

O passo seguinte no processamento da MO depende da compatibilidade do grupo ABO dador/recetor. A MO compatível segue para infusão após processamento, distribuição no sistema informático QAP10 e identificação com a etiqueta de distribuição. Se a MO for ABO major incompatível, ou seja, o recetor tem anticorpos capazes de reagir com os antigénios do dador, faz-se uma centrifugação invertida para retirar os eritrócitos do dador (62, 63). Se a MO for ABO minor incompatível, em que o dador possui anticorpos que reagem com os antigénios do recetor, realiza-se uma centrifugação para retirar o plasma do produto (62, 63). No caso de a MO ser ABO com incompatibilidade bidirecional, realizam-se os dois procedimentos já descritos (63). Estes procedimentos previnem a hemólise aguda e grave no doente, durante ou após a infusão.

Determina-se o volume final de MO destinada a infusão e, de seguida, faz-se o procedimento de distribuição, descrito no ponto 3.7.

3.5.1.3 Células mononucleares

Em dadores autólogos as colheitas de CMN, no STC, são utilizadas para o tratamento da DECH e do Síndrome de Sezary, através da FEC, e para fornecimento a empresas farmacêuticas para a produção de células CART (30, 31).

3.5.1.3.1 Fotoferese extracorporal

A FEC *Off-line* é um tratamento de segunda linha na DECH, aguda ou crónica (28). Este procedimento utiliza 8-metoxipsoraleno (8-MOP), que exposto a irradiação ultravioleta, as células entram em apoptose e quando reinfundidas no doente, as células T induzem uma resposta reguladora (28, 64).

Tal como os outros PTCs, o processamento de CMN é realizado em CFL. Numa primeira fase, pesa-se o saco para determinar o volume de solução salina a adicionar e faz-se a conexão estéril com o saco de iluminação. Se o volume final for <300 ml deve-se perfazer o volume com uma solução salina até aos 300 ml e adicionar 3 ml de 8-MOP, para que o produto tenha a concentração final de 0,2 µg/mL (65). Para os doentes

pediátricos, dependendo do peso do doente, o volume deve ser 100 ml, perfazendo o volume com a solução salina e adiciona-se apenas 1 mL de 8-MOP. A seguir, é retirada uma amostra para o controlo microbiológico e retira-se o ar do saco, para que a irradiação seja mais eficaz.

O MacoGenic é o equipamento que permite fazer a irradiação das células, estando o produto em agitação contínua. Identifica-se e coloca-se o saco de iluminação no equipamento, entre 10 a 15 minutos. No final, o equipamento emite um relatório de confirmação de produto irradiado e onde consta os seguintes dados: temperatura, intensidade, energia e rotações e uma etiqueta com indicação que o procedimento foi realizado corretamente.

Por último, após a realização do processamento deste na aplicação informática QAP10, este emite uma etiqueta de distribuição para identificar o saco. De seguida, o produto é enviado para a sala de aférese para a reinfusão das células ao doente.

Para verificar se o tratamento está a ser eficaz ou não, no início de cada colheita é retirado uma amostra de sangue periférico do doente para avaliação da qualidade das CMN e os restantes componentes celulares (CC). A quantificação destes componentes é feita por CF, cujo procedimento está esquematizado na Figura 10. O rácio entre as % de CD8⁺, células T helper, e de CD4⁺, células T citotóxicas, permite avaliar a evolução do tratamento, sendo que o objetivo é que este rácio aumente ao longo das sessões de FEC *Off-line* (64).

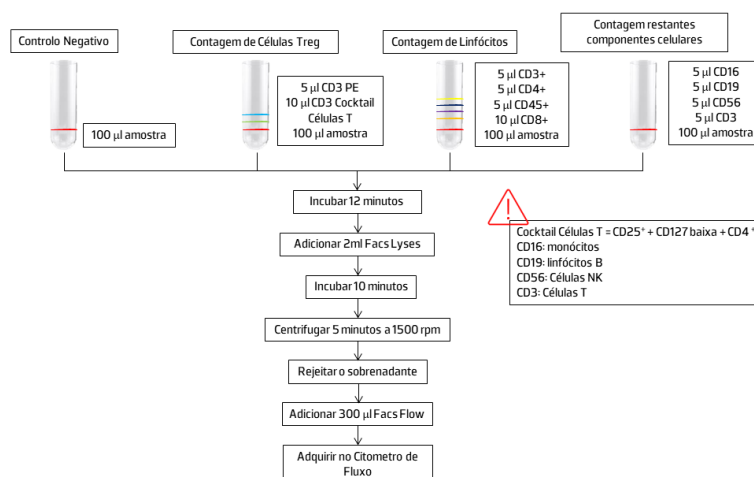


Figura 10: Procedimento laboratorial para quantificar as CMN e os restantes CC

3.5.1.3.2 Células CART

As células CART são uma Terapia Celular recentemente utilizada no tratamento de doenças hematológicas (67, 68). São células geneticamente modificadas, classificadas como MTA (67, 68). A produção destas células é um processo moroso e complexo, sendo que é exclusivamente realizada por empresas farmacêuticas autorizadas para a sua produção. O STC tem protocolos de parceria com a Novartis e a Gilead.

No protocolo com a Gilead, o STC, faz apenas a colheita de CMN e envia o produto a fresco, sem qualquer tipo de processamento. Enquanto, no protocolo com a Novartis, o STC faz a colheita de CMN e a sua criopreservação. O procedimento de criopreservação de CMN é idêntico ao de criopreservação de CPH, sendo que difere no rácio da solução de criocongelamento e no programa de criocongelamento do Planer. Neste programa o equipamento arrefece -1°C por minuto até atingir os -40°C, com compensação para o ponto eutético, e depois

arrefece -10°C por minuto até atingir os -80°C. Após a criocongelação, estas são armazenadas, em azoto em fase gasoso, até serem enviadas para a farmacêutica para a produção de células CART (69).

Quando concluída a sua produção, as células CART são reenviadas para o IPOFG, EPE e armazenadas até à infusão das mesmas. A descongelação destas células é realizada em banho-maria a 37°C, e para um maior controlo de qualidade das células, a temperatura, durante a descongelação, é controlada pela sonda do banho e por uma segunda sonda colocada, diretamente, no banho-maria (69). Nestas células não se faz qualquer tipo de CQ, sendo distribuídas para infusão sem qualquer modificação.

3.5.1.4 Sangue do Cordão Umbilical

Durante um longo período de tempo, o STC rececionava, processava e criopreservava SCU de dádivas familiares dirigidas. Atualmente, apesar de ainda ter criopreservados SCUs cuja validade ainda não foi atingida, o STC já não processa estas dádivas.

3.6. Armazenamento

Após a criocongelação dos PTCs, estes são transferidos para um contentor de transporte de azoto líquido e transportados até à sala de criopreservação. Esta é utilizada, apenas, para o armazenamento de PTCs. O acesso é restrito, a funcionários autorizados, com a utilização do cartão de identificação, autorizada pelo diretor de serviço e pelo Serviço de Instalações, Equipamentos e Transportes (SIET).

Os sacos que contém as CPH para uso autólogo e as células remanescentes para uso alogénico são armazenadas em caixas metálicas, no interior de uma tina de azoto líquido até -196°C (53). Os PTCs com marcadores de doença infecciosa positiva, são armazenados numa arca frigorífica a -150°C, para evitar contaminação cruzada. As CMN para produção de células CART e as células CART são armazenadas numa tina de azoto em fase gasosa com temperatura $\leq -156^\circ\text{C}$ (53).

As caixas onde os PTCs são colocados estão numericamente identificadas para que se possa saber o local exato onde os PTCs foram armazenados. A localização é colocada na aplicação informática QAP10 e num *template* em papel, onde estão registados todos os PTCs armazenados.

Os PTCs ficam armazenados até serem utilizados para transplante, sendo que neste período o doente é submetido a tratamentos de quimioterapia e/ou radioterapia. Em situação de falecimento do doente ou o período de criopreservação for ≥ 15 anos, estes são eliminados e utilizados para a realização de estudos, devidamente autorizado por consentimento informado.

3.7. Distribuição

A distribuição de PTCs é a última fase de todo o processo. Esta pode ser interna, feita para o próprio IPOFG, EPE, ou para exterior para centros nacionais ou internacionais.

No caso em que os PTCs são distribuídos para o STMO, no IPOFG, EPE, após o seu processamento, o técnico responsável retira a etiqueta de processamento e coloca uma etiqueta de distribuição. Antes de entregar os produtos, o técnico e o AO responsável pelo seu transporte confirmam os dados presentes na

etiqueta relativos ao doente (dupla confirmação). Após confirmação de todos os dados por ambos os profissionais, estes assinam um *template* de envio, onde se regista os PTCs distribuídos pelo serviço.

O contentor de transporte dos PTCs é uma mala térmica devidamente identificada, em que se coloca uma sonda para o controlo da temperatura, desde a saída do STC até à entrega para infusão no doente. Assim, consegue-se garantir que o PTC cumpre com os parâmetros de qualidade de temperatura, para ser realizado uma infusão segura (70). A temperatura de transporte realiza-se entre $\geq 1^{\circ}\text{C} \leq 10^{\circ}\text{C}$. Os CPHs para transplante são acompanhados do relatório de infusão, onde estão discriminados os dados:

- Identificação do dador;
- Identificação do recetor;
- Tipo de produto;
- Volume do produto;
- Conteúdo celular enviado;
- Conteúdo celular de reserva (se aplicável);
- Resultados dos testes microbiológicos;
- Marcadores de doenças discriminados e data de realização dos mesmos;
- Responsável.

Quanto aos PTCs distribuídos para outros centros, o procedimento tem algumas diferenças, em relação ao processo de distribuição interno. O STC é notificado com antecedência, por correio eletrónico, da data e hora de recolha, a identificação do *courier* responsável pelo transporte e os possíveis voos de partida do mesmo. A distribuição é realizada por 2 profissionais, o diretor de serviço e o técnico. Estes confirmam com o *courier* todos os dados relativos ao doente e ao produto. Os PTCs são, igualmente, transportados num contentor, mas em malas térmicas para longo percurso com controlo e o mesmo intervalo de temperatura, entre $\geq +1^{\circ}\text{C} \leq +10^{\circ}\text{C}$.

4. Sistema de Gestão da Qualidade do Serviço de Terapia Celular

O STC segue e aplica as leis e diretrizes nacionais e internacionais e, baseado nestas, disponibiliza serviços e produtos que cumprem com as normas de segurança e garantia de qualidade. As autorizações, certificações e acreditações são um reconhecimento do trabalho desenvolvido pelo serviço, aumentando assim, a confiança dos dadores/doentes e dos parceiros.

O STC é um serviço:

- Autorizado pela Direção Geral de Saúde (DGS), para exercício de atividade de colheita, processamento, análise, distribuição e exportação de células cumprindo os requisitos da Lei n.º 12/2009, e respetivas alterações a Lei n.º 1/2015 e Lei n.º 99/2017 (70-72);
- Autorizado pelo Instituto Português do Sangue e da Transplantação (IPST), para importação de células de origem humana;
- Referenciado pelo CEDACE como centro de colheita e exportação de progenitores hematopoiéticos periféricos, medula óssea e linfócitos;

- Autorizado pela *Food and Drug Administration* (FDA) para distribuição de CPHs colhidas por aférese e MO para os EUA, de acordo com os requisitos específicos;
- Acreditado pela *Joint Accreditation Committee – ISCT & European Group for Blood and Marrow Transplantation* (EBMT) (JACIE), para a colheita de células progenitoras hematopoiéticas de medula óssea e por aférese e processamento minimamente manipulado (37);
- Certificação do Sistema de Gestão da Qualidade pela Norma Portuguesa (NP) *International Organization for Standardization* (ISO) 9001 (73).

A garantia da qualidade e segurança dos produtos, é assegurada por critérios de qualificação e validação bem definidos, com aplicação nos processos, infraestruturas, equipamentos, materiais, reagentes, sistemas, fornecedores e pessoas (37).

Foram desenvolvidos pelo serviço vários documentos, capazes de satisfazer as exigências da lei nacional, e das normas internacionais, dos quais se destacam três manuais, o Manual da Qualidade, Manual de Segurança (MS) e Manual da Segurança do Azoto. Existem, também, vários planos, para planificação das atividades, são os Planos de: Gestão da Qualidade, Emergência, Auditorias, Gestão de Pessoas e Comunicação, Manutenção e o de Avaliação de Risco.

O Manual da Qualidade descreve e representa grande parte do Sistema da Gestão da Qualidade (SGQ) do STC, sendo que nele estão descritos:

- As plantas e as instalações de todo o serviço;
- As autorizações e certificações das atividades realizadas no serviço, pelas autoridades competentes;
- Os profissionais e quais as suas funções e responsabilidades;
- Processo de implementação de novas infraestruturas, equipamentos, materiais, reagentes e sistemas;
- A forma como todos os documentos utilizados no serviço são estruturados;
- O planeamento da qualificação de instalações, procedimentos, equipamentos e materiais;
- Todos os processos, designados de *Activity Flow Charts* (AFC) (*ex.* Consulta a dados de PTCs; Obtenção de PTCs; Processamento de PTCs).

Foram também elaborados os *standards operating procedures* (SOP), que são orientações escritas, com uma descrição detalhada de todos os procedimentos, desde a realização da colheita, processamento, manutenção de equipamentos, armazenamento, entre outros (74). Para o registo das atividades de colheita, CQ, processamento, armazenamento e distribuição foram criados documentos de registo designados por *templates*, e os documentos associados aos planos.

Todos os documentos foram elaborados e atualizados de 2 em 2 anos por profissionais do STC, de acordo com as exigências da JACIE, os documentos atualizados alteram a versão anterior que é identificada como obsoleta, e é mantida em arquivo por 10 anos, no entanto os registos são mantidos por um período de 30 anos (37, 70).

A implementação do SGQ permite uma melhoria contínua nas atividades e processos realizados e, conseqüentemente, aumenta a fiabilidade e segurança dos dados e doentes nos serviços prestados no STC (73). A utilização de boas práticas possibilita, também, um maior reconhecimento, a nível nacional e internacional, perante as autoridades responsáveis e competentes.

Para garantir esta melhoria contínua do serviço, são realizadas auditorias anuais aos diversos processos, por auditores qualificados, autoinspeções por profissionais do serviço, as não conformidades resultantes das auditorias são registadas e tratadas (74, 75). No início de cada ano é feita a revisão do SGQ, baseada no relatório anual das atividades do serviço, onde são emitidas conclusões, avaliados os indicadores de qualidade e a satisfação dos clientes, o que permite definir um plano de atividades para esse ano.

A rastreabilidade é um elemento importante na garantia da qualidade e segurança do produto (76). Em 2020, o STC implementou a aplicação informática, QAP10, de gestão laboratorial, destinada a serviços de Terapia Celular. Esta aplicação é capaz de assegurar a rastreabilidade dos doentes e dados, dos produtos colhidos, bem como a rastreabilidade do material e reagentes usados, e utilizadores afetados ao processo. É um elemento fundamental para garantir a segurança dos dados, e permite rastrear os PTCs ao longo de todo o processo.

A segurança de dados na aplicação informática QAP10 consegue-se através das seguintes funções:

- Registos associados aos profissionais envolvidos em cada etapa, por utilização de uma senha após introdução do número mecanográfico e datas associadas a cada episódio;
- Confidencialidade assegurada por utilização da aplicação apenas por profissionais autorizados e por perfis com definição de autorizações;
- Importação de dados do dador/doente do OASIS (aplicação do IPOFG, EFE);
- Registo único de dador/doente com pesquisa por número do IPOFG, EFE, nome ou apelido e número de colheita;
- Atribuição de um número único de colheita associado aos dados do dador/doente;
- O registo de material e reagentes por lote, data de validade e fornecedor, que, fica associado a cada colheita e processamento realizados;
- Associação dos produtos processados ao laboratório e à CFL;
- Gestão do armazenamento nas tinas de azoto líquido e em fase gasosa;
- Associação de documentos digitalizados ao processo do dador/doente;
- Gestão da manutenção das instalações, equipamentos e stocks, com alertas definidos pelo operador;
- Garantia de cópias de segurança com periodicidade regular;
- Avaliação periódica do funcionamento do *software* e *hardware*, por auditorias e autoinspeções.

A identificação do produto está sujeita à atribuição de um número único de colheita, designado de Número de Identificação da Dádiva (NID), este inclui o local que atribui o número, o ano e o número sequencial, está associado aos dados do dador/doente pela aplicação QAP10. As etiquetas geradas nas diferentes fases,

são emitidas pela aplicação QAP10, de acordo com o ISBT128. O ISBT 128 é um *standard* que regulamenta a terminologia para a identificação única de produtos de origem humana internacionalmente, o que permite uniformizar a identificação dos produtos através da sua codificação (77).

Para além do suporte informático, existe ainda o processo em suporte de papel, codificado por cores, em capas que compilam os dados da colheita, processamento e validação dos procedimentos, também associado aos profissionais por número mecanográfico e assinatura.

Pelo papel que a qualidade tem no desenvolvimento do caso realizado, os conceitos e definições sobre este tema serão abordados no Capítulo II – Estudo: Qualificação do Banco de Células do Serviço de Terapia Celular do IPOFG, EPE.

5. Casuística do Serviço de Terapia Celular

Durante o período de estágio, compreendido entre 6 de outubro de 2021 e 31 de março de 2022, realizaram-se no STC:

- 240 colheitas, das quais 101 foram CPHs colhidas por aférese, 132 CMNs, 6 MO e 1 células T;
- As CPHs, 16 foram infundidas a fresco, 75 criopreservadas e 10 foram exportadas;
- As CMNs, 5 foram destinadas à produção de células CART e 127 para fotoferese, incluindo método *inline* e *offline*;
- As 6 MO colhidos foram todas exportadas;
- Foram transplantados 94 doentes, sendo que foram realizadas 79 descongelações e rececionados, para infusão a fresco, 14 CPHs colhidas por aférese e 1 MO (ABO Major incompatível).

Neste período, foi possível a estagiária integrar nas atividades de rotina do serviço. Realizou a descongelação de 16 CPHs eliminados, criopreservados em azoto líquido, e o respetivo CQ, supervisionada por um TSDT. Esta atividade permitiu a obtenção de conhecimentos teóricos e práticos nos procedimentos realizados, principalmente na área do processamento e CQ. Realizou a Qualificação de uma tina de criopreservação em Azoto na fase Gasosa, denominada de Tina 8 no STC, é. Esta foi realizada a partir do preenchimento de uma *checklist*, já formulada no serviço, para a qualificação de equipamentos, onde foram verificados os parâmetros para a qualificação da tina, a nível de instalação, operacionalidade e desempenho.

A última atividade realizada foi a validação do Contador Hematológico XN-450, recentemente adquirido pelo STC. Para a validação, foram realizados hemogramas de 10 amostras do sangue periférico e 10 amostras de produto de citaférese no Contador Hematológico XN-450 e no Contador Hematológico XN-10 do serviço de Hematologia. Os parâmetros comparados foram a contagem leucocitária, a contagem dos eritrócitos, hemoglobina, hematócrito, plaquetas, volume corpuscular média, hemoglobina corpuscular média, concentração de hemoglobina corpuscular média, amplitude de distribuição das plaquetas, volume plaquetário médio, percentagem de plaquetas grandes, procalcitonina, concentração de neutrófilos, concentração de linfócitos, concentração de monócitos, concentração de eosinófilos, concentração de basófilos e os granulócitos imaturos. Após a obtenção dos resultados, foi feito um tratamento estatístico dos mesmos. Foi realizado um teste T para a comparação das médias dos parâmetros avaliados e verificou-se que não havia

diferenças estatisticamente significativas. Desta forma, foi possível concluir que, o Contador Hematológico XN-450, produz resultados consistentes e sobreponíveis aos do XN-10.

6. Trabalhos desenvolvidos no estágio e formações

Durante o período de estágio, houve a oportunidade de realizar trabalhos e realizar formações de temas relacionados com as Terapias Celulares. Realizou os seguintes trabalhos:

- √ O Poster "Correlação entre o número de células CD34⁺ CFU-GM em maus e bons mobilizadores: experiência de um centro", foi selecionado para apresentação oral no XII Congresso da Associação Portuguesa de Imuno-hemoterapia, 2022 (Anexo 1). Este trabalho teve como objetivo comparar a colheita de 30 bons e 26 maus mobilizadores, realizadas entre janeiro de 2020 e dezembro de 2021, e perceber se existe correlação entre o número de células CD34⁺ e a sua funcionalidade (unidades formadoras de colónias). Também foi-se verificar se a idade, patologia, peso, a dosagem de fator de crescimento, o número de células CD34⁺ obtido no sangue periférico estavam diretamente relacionadas com o número de células CD34⁺ no produto final.
- √ O Poster "Estudo comparativo de duas técnicas de descongelamento de células progenitoras hematopoiéticas", apresentado no XII Congresso da Associação Portuguesa de Imuno-hemoterapia, 2022 (Anexo 2). Neste trabalho a estagiária participou na descongelamento de PTCs, utilizando o método banho-maria.
- √ O Poster "Avaliação da eficácia da colheita de células mononucleares por aférese e posterior produção de células CAR-T", apresentado no XII Congresso da Associação Portuguesa de Imuno-hemoterapia, 2022 (Anexo 3). Neste trabalho a estagiária participou na recolha de dados.

Foram realizadas as seguintes formações:

- √ Na aplicação informática QAP10, destinada à gestão de PTC (3h, outubro 2021);
- √ Simulacro de incêndio no STC (50 minutos, dezembro 2021);
- √ CARTITUDE-5, sobre as novas terapias com a utilização de CART Cells (2:30h, dezembro 2021);
- √ Aplicação da Escala de Lansky (1h, janeiro 2022);
- √ Contador Hematológico XN-450, pela Sysmex Portugal (3h, janeiro 2022);
- √ Offline Extracorporeal Photopheresis (ECP) with MacoGenic G2 rev. 3 devices by MacoPharma – Product & Application (3h, fevereiro 2022).
- √ Manuseamento de Azoto e procedimentos de segurança, pela AIR LIQUIDE (3h, novembro 2021).

CAPÍTULO II – Estudo de caso: Qualificação do Banco de Células do Serviço de Terapia Celular do IPOFG, EPE

1. Introdução

O STC é um serviço que garante o fornecimento de PTCs e MTAs para os serviços de STMO e Hematologia, respetivamente. O STC está integrado no Departamento de Medicina do IPOFG, EPE. O STC é serviço autorizado para o exercício de atividade de colheita, processamento, armazenamento e distribuição, incluindo exportação de PTCs, nomeadamente, CPH do sangue periférico, MO, SCU, CMN e linfócitos. A infusão dos PTCs permite uma linha de tratamento eficaz de doenças hematológicas, como mielomas, leucemias, linfomas e outras doenças não-hematológicas (1, 24).

Para garantir que o doente é submetido a intervenções seguras, na obtenção e infusão de PTCs e MTAs, é fundamental certificar que existem boas práticas de fabrico em todas as etapas do processo, com início nos processos, infraestruturas, equipamentos, materiais, reagentes, sistemas, fornecedores e profissionais, devidamente qualificados e procedimentos validados (37, 38).

1.1. Objetivo e finalidade

Com este trabalho pretende-se avaliar a Qualificação do Banco de Células do STC do IPOFG, EPE. Para isto, no processo de verificação, são abrangidos todos os processos, infraestruturas, equipamentos, materiais, reagentes, sistemas, fornecedores e profissionais relacionados com a Avaliação do Dador/Doente, Colheita, Processamento, Armazenamento, Distribuição e o Sistema Informático (78). Considerando a obrigatoriedade do cumprimento das leis e regulamentos pelas quais as Terapias Celulares se regulam e as suas Políticas da Qualidade, estes são fatores a abranger na verificação.

A bibliográfica sobre a Qualificação de Banco de Células é relativamente escassa, motivo pelo qual este trabalho pretende abordar esta temática de forma crítica e verificar que o serviço cumpriu com as normas de qualidade. Com a realização da Qualificação do Banco de Células, espera-se demonstrar o cumprimento das leis e regulamentos que orientam para a segurança e confiabilidade dos serviços prestados, aos doentes e dadores e, conseqüentemente, fortalecer a credibilidade perante os parceiros do serviço e as autoridades competentes.

1.2. Sistema da Gestão da Qualidade

O SGQ, pela constante evolução tecnológica e científica, é considerado um sistema dinâmico e é definido como "*...uma filosofia e prática de gestão que se traduz no envolvimento de todos os que trabalham na organização num processo de cooperação que se concretize no fornecimento de produtos e serviços que satisfaçam as necessidades e as expectativas dos clientes*" (79). O foco principal das instituições deve ser a satisfação das necessidades dos clientes.

O desenvolvimento e a implementação de um SGQ permitem às instituições desenvolver estratégias e métodos para atingir o controlo, a garantia e a melhoria da qualidade dos processos e produtos que se propõem

disponibilizar. Desta forma, o SGQ proporciona às instituições "*melhorar o seu desempenho global e proporcionar uma base sólida para iniciativas de desenvolvimento sustentável*" (73).

As normas ISO, nomeadamente, NP EN ISO 9000, NP EN ISO 9001 e NP EN ISO 9004, são a referência para apoiar as instituições a desenvolver e implementar um correto e adequado SGQ e, conseqüente, que estas consigam obter o reconhecimento pelos serviços prestados e produtos fornecidos (73, 80, 81).

1.2.1. Qualidade: conceitos e ferramentas

A qualidade representa, segundo a norma ISO 9000, o "*Grau de satisfação de requisitos dado por um conjunto de características intrínsecas de um objeto*" (80). Para que as entidades consigam prestar serviços com qualidade, estas devem estabelecer objetivos de qualidade, que posteriormente, podem ser avaliados por indicadores da qualidade.

Para que os objetivos da qualidade sejam cumpridos, as entidades devem entender os conceitos de controlo da qualidade, garantia da qualidade e melhoria da qualidade. O controlo da qualidade foca-se "*na satisfação dos requisitos de qualidade*", a garantia da qualidade estabelece a "*confiança na satisfação dos requisitos da qualidade*" e a melhoria da qualidade foca-se "*na melhoria da aptidão para satisfazer os requisitos da qualidade*" (80). Estes processos fazem parte da gestão da qualidade, sendo importante percebê-los para a implementação correta de um SGQ e para a sua respetiva gestão (80).

O SGQ usa ferramentas que auxiliam as instituições a implementar e manter um SGQ mais eficaz, sendo duas das mais importantes, o ciclo *Plan-Do-Check-Act* (PDCA) e o pensamento baseado no risco (73).

O ciclo PDCA, também chamado de Ciclo da Qualidade, foi desenvolvido por Walter A. Shewhart (82). Esta é uma ferramenta utilizada para o auxílio no diagnóstico, análise e prognóstico de problemas e para a sua solução, permitindo a melhoria contínua dos processos e procedimentos (73). Está dividida em 4 fases (73, 82):

- 1ª fase: Planear (*plan*) – estabelecer um plano, onde se defina os objetivos pretendidos e quais as estratégias, ações e métodos para atingir esses objetivos;
- 2ª fase: Executar (*do*) – implementar o que foi planeado, na fase anterior, e ensinar e treinar os profissionais e a instituição para as tarefas determinadas;
- 3ª fase: Verificar (*check*) – comparar os resultados obtidos com os objetivos estabelecidos na 1ª fase e verificar se esses foram ou não atingidos;
- 4ª fase: Atuar (*act*) – fazer as correções necessárias para evitar que o problema se repita e para conseguir atingir os objetivos. Podem ser necessárias diversas correções até atingir os objetivos estabelecidos.

A melhoria contínua, a otimização do uso dos recursos, redução dos custos e a utilização em diversas áreas de atividade são algumas das vantagens na implementação desta ferramenta por parte das instituições/serviços (83).

O pensamento baseado no risco é, atualmente, uma preocupação e ao qual a NP EN ISO 9001 dá ênfase. Esta ferramenta permite às instituições identificar erros e/ou desvios que possam acontecer no decorrer das suas atividades e adotar estratégias para corrigir ou minimizar a ocorrência ou repetição desses

erros e/ou desvios (73). Consequentemente, possibilita às instituições diminuir as não-conformidades e ter um maior crescimento dos serviços prestados e produtos fornecidos, com qualidade (73).

1.2.2. Legislação aplicável ao serviço de terapia celular

A criação de leis e a existência de autoridades responsáveis pela avaliação do cumprimento das mesmas, é uma mais-valia para que sejam implementadas e cumpridas as boas práticas nos serviços, e assim obter autorização para o exercício das atividades e reconhecimento das mesmas.

A JACIE e a *Association for the Advancement of Blood & Biotherapies* (AABB) foram das primeiras entidades a desenvolver *standards* para as atividades de colheita, processamento, armazenamento e distribuição de PTCs (37, 47). Atualmente, a JACIE, juntamente com a *Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy* (FACT), publicou a 8ª edição de *standards* para "*colheita, processamento e administração de PTC hematopoiéticos*" e a AABB publicou, em 2021, a 10ª edição de *standards* para "*Serviços de Terapia Celular*" (37, 47). A aplicação das orientações dos *standards*, juntamente com o cumprimento das diretivas, permite a sua acreditação e autorização (84, 85). A acreditação consiste na "*avaliação e reconhecimento da competência técnica de entidades para efetuar atividades específicas de avaliação da conformidade*", o que obriga que os serviços demonstrem maior qualidade no exercício das suas atividades (85, 86).

Em termos jurídicos, a diretiva 2004/23/CE foi a primeira diretiva emitida pelo Parlamento Europeu, relativamente às "*normas de qualidade e segurança em relação à dádiva, colheita, análise, processamento, preservação, armazenamento e distribuição de tecidos e células de origem humana*" (87). Esta foi o ponto de partida para que centros, como o STC, aplicassem e cumprissem boas práticas nas suas atividades. O seguimento desta norma europeia permite aos diversos centros ter normas de desenvolvimento de procedimentos e atuação com o mesmo nível de qualidade e segurança.

O governo português adotou e transpôs a diretiva 2004/23/CE para a lei n.º 12/2009 (70), sendo que, mais tarde esta já teve duas alterações, a lei n.º 1/2015 e a lei n.º 99/2017 (71, 72). Os requisitos desta lei foram uma orientação e ponto de partida para o desenvolvimento da estrutura física e funcionamento do serviço.

1.3. Validação vs Qualificação

A qualificação e a validação são conceitos que, apesar de, estarem sempre interligados, têm definições diferentes. A qualificação pode ser considerada uma etapa inicial da validação (88). A realização destes processos é essencial para provar a segurança e bom desempenho de todas as atividades e processos realizados nos serviços (88).

1.3.1. Validação

Segundo a diretiva 2006/86/CE a Validação é "*o estabelecimento de dados documentados que proporcionem um elevado grau de segurança de que um processo, uma peça de equipamento ou um meio ambiente específicos produzem, de forma consistente, um produto que cumpre especificações e atributos de qualidade previamente determinados; valida-se um processo a fim de avaliar o desempenho de um sistema no*

que respeita à sua eficácia com base no uso pretendido" (89). Ou seja, a validação permite demonstrar que um determinado procedimento obtém, com consistência, os resultados esperados (89).

A validação comprova a qualificação do desempenho, no STC, é aplicada aos procedimentos (*ex.* Colheita de PTCs; Criopreservação de CPHs; Descongelamento de CPHs) (90). Quando o serviço adquire novos equipamentos ou instalações, faz-se a validação dos procedimentos realizados nos mesmos (91). Na manutenção corretiva de um equipamento, é necessário fazer a revalidação dos procedimentos (88, 91).

Para a realização da validação é importante estruturar um Plano de Validação (88). Este é planeado por um grupo de profissionais, que deve definir as respostas às perguntas: como, onde, quando e quem irá realizar a validação (90). No documento de validação deve constar o objetivo, a logística, as atividades, a amostra, os critérios de aceitação e exclusão, os resultados e a conclusão, que deve ser inequívoca relativamente à consistência dos dados e ao propósito a que se destina (92). Fica registada num documento próprio assinado pelos profissionais responsáveis e validado pelo diretor do serviço. Este é a evidência documentada que faz prova aos auditores.

1.3.2. Qualificação

As orientações das *Good Manufacturing Practice* (GMP) definem a qualificação como a "*Ação de comprovar e documentar que quaisquer instalações, sistemas e equipamentos estão devidamente instalados e/ou funcionam corretamente e levam aos resultados esperados*" (88).

1.3.3. Onde e quando se aplica a qualificação?

A qualificação é aplicada a processos, infraestruturas, equipamentos, materiais e reagentes, sistemas, fornecedores e pessoas (88, 91, 93). Para determinar se estas entidades necessitam ou não de qualificação e qual o tipo de qualificação é necessário fazer a avaliação do impacto e perceber a sua complexidade e criticidade (94).

O impacto pode ser direto ou indireto (94). O impacto direto abrange aqueles que têm influência direta na qualidade do produto enquanto no impacto indireto são categorizados aqueles que não tem influência direta na qualidade do produto, sendo esta categorização da responsabilidade do serviço (94). Os processos, infraestruturas, equipamentos, materiais e reagentes, sistemas e pessoas categorizadas com impacto direto necessitam de qualificação (94).

A *United States Pharmacopeia* defende categorizar equipamentos e sistemas em diferentes grupos de qualificação de acordo com a utilização e importância dos mesmos para as atividades das instituições, sendo estes divididos em 3 categorias (95):

- Grupo A: instrumentos/equipamentos que não medem grandezas e não necessitam de calibração (*ex.* vortex, centrifugas);
- Grupo B: instrumentos/equipamentos que medem grandezas e parâmetros como, temperatura e pressão, e que necessitam de calibração (*ex.* estufas, balanças);

- Grupo C: instrumentos/equipamentos analíticos que necessitam de testes de operacionalidade e performance para a sua utilização correta (ex. espectrómetros, CFL).

Nos instrumentos/equipamentos categorizados no grupo C, pelo serviço, é obrigatório a realização da respetiva qualificação. Aos atribuídos ao grupo B necessitam apenas de qualificação básica.

A qualificação destes elementos é realizada na criação de um novo serviço. Quando o serviço já está implementado, de acordo com *US Pharmacopeia*, realiza-se a qualificação dos elementos já existentes. A aquisição de novas infraestruturas, equipamentos, materiais e reagentes, sistemas, processos e pessoas, bem como a criação de novo processos e integração de pessoas obriga à requalificação (95).

1.3.4. Fases da Qualificação e as suas definições

A qualificação está dividida em quatro fases: a de conceção/design (QC), a de instalação (QI), a operacional (QO) e a de desempenho (QD) (38, 88, 95). O Manual de Boas Práticas da Autoridade para os Serviços de Sangue e da Transplantação (ASST) define (38):

- ➔ QC: "*verificação documentada que a conceção proposta das instalações, sistemas e materiais feitos à medida se adequam ao uso aos quais se destinam. Trata-se do primeiro elemento da validação de novos sistemas, instalações ou materiais*".
- ➔ QI: "*verificação documentada que as instalações, sistemas, materiais e equipamentos, tais como foram instalados ou modificados, estão em conformidade com as especificações regulamentares e com as dos cadernos de encargos e que as recomendações do fornecedor foram tidas em conta. Comporta, no mínimo, os seguintes elementos:*
 - *Localização, estado e ligações;*
 - *Aparelhos de medição e aferição;*
 - *Materiais e reagentes necessários;*
 - *Documentação relativa ao início de atividade, verificação e manutenção;*
 - *Planos de instalação*".
- ➔ QO: "*verificação documentada que as instalações, sistemas, materiais e equipamentos, tais como foram instalados ou modificados, funcionam como o previsto. Sucede a uma qualificação de instalação satisfatória. Comporta, no mínimo, os seguintes elementos:*
 - *Ensaio de funcionamento da instalação, do sistema ou do material correspondendo às necessidades do procedimento, especificamente são: testes funcionais (alarmes, operacionalidade do software) e verificação dos programas (plano de calibração, plano de manutenção, procedimentos de operação, limpeza, manutenção e calibração, treino dos operadores envolvidos);*
 - *Ensaio realizados nas condições limite de utilização*".
- ➔ QD: "*verificação documentada que as instalações, sistemas, materiais e equipamentos, tais como foram dispostos e em condições reais ou simuladas de utilização, funcionam*

corretamente e de forma reprodutível e permitem obter as especificações esperadas sobre o produto. Deve seguir a passagem bem-sucedida das etapas de qualificação de instalação e operacional. Comporta, no mínimo, os seguintes elementos:

- *Ensaios realizados com os produtos habitualmente processados, analisados ou preservados no equipamento;*
- *Ensaios realizados nas condições limite de utilização*".

Após a realização de todas as fases da qualificação, devem ser redigidas as conclusões e descritas em um documento estruturado para tal. O STC elaborou o Plano de Gestão da Qualidade e o documento associado P.STC.11.01 – Registo de Qualificação, próprio para a qualificação. Este documento é assinado pela pessoa responsável pela qualificação e aprovado pelo diretor de serviço.

1.4. Qualificação do Banco de Células

A qualificação de Banco de Células é um requisito para os serviços de Terapia Celular e, por isso, a sua realização constitui um grande desafio. Para a realização desta qualificação é fundamental que todas as entidades, já descritas e essenciais para o funcionamento correto do serviço, sejam englobados na mesma.

1.4.1. Processos

Os processos e procedimentos, normalmente, estão interligados, mas representam conceitos diferentes. Aos processos realiza-se a qualificação, enquanto nos procedimentos é realizado apenas a sua validação (90, 91).

Os processos do STC são adequados ao seu contexto e cumprem com os requisitos da legislação relevante, normas, *standards*; estão divididos em processos técnicos, processos organizacionais e de suporte. Estes estão descritos sob a forma de fluxogramas, e são designados de AFC. Estes descrevem os objetivos e atividades associados a cada processo, descreve as entradas e saídas, bem como toda a documentação associada. No STC, a atualização destes e dos restantes documentos do SGQ é bienal ou sempre que for necessário, de acordo com as leis e os *standards*.

Os procedimentos técnicos representam as atividades realizadas no produto (*ex.* criocongelação de PTCs no congelador programado) e, pelo que, devem ser devidamente validados, de forma a comprovar a consistência dos resultados por parte dos mesmos (96, 97).

1.4.2. Pessoas

Segundo as GMPs para *Advanced Therapy Medicinal Products* (ATMP), as instituições devem ter um quadro e manter pessoal em número suficiente para a realização das suas atividades (92). As funções e responsabilidades de cada grupo profissional devem ser estabelecidas e documentadas pelo serviço (98). Apesar de cada profissional ter o seu papel, é importante que todos comuniquem e interajam entre si para uma melhor prestação de serviços. A evidência disso no STC são as reuniões de serviço, validadas pelas atas de reunião, e a consulta de grupo para discussão de cada doente.

A entrada de novos profissionais, a instituição deve selecionar pessoas com experiência e qualificações para o cargo a que se destina (70, 75). Considera-se uma pessoa qualificada, aquela que recebeu treino e possui competência e experiência documentada para uma determinada tarefa (38). Numa 1ª fase, os profissionais devem ficar a conhecer todos os procedimentos e atividades realizadas, com orientação de um profissional experiente, no serviço, e receber o respetivo treino e formação (37, 70).

Este treino, com período e n.º de atos definidos, deve ser mantido até o profissional demonstrar autonomia na realização dos mesmos. Neste inclui formação nas boas práticas de fabrico e nas normas de segurança e higiene, sobretudo em áreas de ambiente controlado (93).

Atualmente, pela constante evolução técnica e científica, é obrigatória a formação e avaliação contínuas dos profissionais, ambas documentadas (38, 70). Um dos pontos da qualificação das pessoas é a formação em equipamentos, quase sempre realizada pelos fornecedores.

Os profissionais interferem diretamente com a qualidade do produto, pelo que a qualificação dos profissionais é um dos pilares do serviço para assegurar o seu bom e correto funcionamento.

1.4.3. Infraestruturas

As infraestruturas devem ser adequadas, localizadas e preservadas, de forma que a realização das atividades do serviço, possam estabelecer um circuito lógico dos dados e dos PTCs de modo a evitar contaminações cruzadas (47, 93). Estas devem ser estruturadas de forma a serem fáceis de higienizar e que não favoreçam a acumulação de poeiras e partículas, para evitar a contaminação cruzada (93, 98). A avaliação do ambiente dos laboratórios no STC é feita de acordo com o descrito no ponto 3.5.1 do Capítulo I desta tese.

As infraestruturas que tem impacto direto na qualidade dos produtos necessitam de qualificação (94). De acordo, com as boas práticas, a sua qualificação comprova que estas têm a capacidade para a realização das atividades atribuídas à mesma. Pela repercussão que estas podem ter na qualidade do produto, a sua utilização deve ser limitada a profissionais qualificados. No caso do STC, as infraestruturas de processamento, nomeadamente o LTC é um laboratório classificado obedece às ISO 14644, no que se refere à contagem de partículas e às GMPs relativamente às contagens de colónias; a antecâmara, o LC, e a sala de armazenamento são instalações com condições de ambiente e acesso controlados, razão pela qual é necessário a realização da sua qualificação.

1.4.4. Equipamentos

Sabendo que os equipamentos são elementos importantes para que o serviço possa realizar as suas atividades, realça-se a importância da sua aquisição, de acordo com a especificidade e finalidade que se pretende (37, 93, 98). O espaço e a sua instalação são requisitos necessários para a qualificação de equipamentos. Estes desempenham um papel fundamental na garantia da qualidade dos produtos. Necessitam de qualificação os equipamentos que entram em contato direto com o produto ou influenciam a qualidade deste (94). Para garantir o correto funcionamento ao longo do tempo é necessário cumprir com os planos de manutenção e calibração do equipamento (93, 96, 98). É de igual modo importante que os profissionais

recebam treino e formação sobre o equipamento, para evitar o uso indevido, avarias e contaminações na sua utilização.

Existem equipamentos na área de processamento e de CQ no STC que influenciam diretamente a qualidade do produto final. Nestes são incluídos, por exemplo, as CFLs, o congelador programado, o conector estéril, equipamentos nos quais se realiza o processamento dos PTCs.

1.4.5. Materiais e Reagentes

Os materiais e reagentes utilizados devem ser adquiridos de acordo com a finalidade que se pretende (93). Estes devem estar devidamente identificados e com o prazo de validade legível, para garantir a segurança do produto e dos profissionais (37). O acondicionamento deve ser num local limpo e seco, cumprindo com indicações do fornecedor, para evitar a sua deterioração e contaminação do produto (38).

Os materiais e reagentes que entram em contacto direto com o produto, tais como os elementos anteriores, necessitam de ser qualificados (94). É exemplo disso, e de qualificação obrigatória, o DMSO (37). Este é um reagente com marcação Comunidade Europeia (CE) destinado à criopreservação de tecidos e células de origem humana para transplante. Pela importância do seu desempenho, como crioprotetor dos PTCs, o DMSO, necessita de qualificação sempre que haja mudança de lote.

Os materiais utilizados para o processamento de PTCs devem ser estéreis, para evitar a contaminação cruzada (37). Destacam-se, os sacos criogénicos e respetivos sacos secundários, utilizados na criocongelação e armazenamento de PTCs.

1.4.6. Sistemas

No STC existem 3 sistemas: o AVAC, o de reposição automática de azoto e o sistema/aplicação informática (QAP10). O sistema AVAC está inserido nas salas brancas utilizadas para o processamento e o sistema de reposição automática de azoto está inserido na sala de armazenamento. Neste sentido, os sistemas AVAC e o de reposição automática de azoto estão incluídos na qualificação das mesmas.

O sistema/aplicação informática permite o registo e armazenamento dos dados do doente, dador, de material e reagentes, arquivo de documentos relativos aos procedimentos, localização do armazenamento de PTCs e MTAs e garante a rastreabilidade dos produtos e procedimentos, do dador ao doente, inclui também a extração de dados para realização da estatística mensal (38). O uso deste é exclusivo a profissionais autorizados com login e senha únicos, e que tenham recebido formação para a sua utilização (37, 38). Apenas estes profissionais podem inserir ou modificar dados no sistema, com perfis adequados à função de cada elemento.

Na obtenção de um sistema/aplicação informática, as instituições devem realizar a sua qualificação e validação (38). A qualificação permite demonstrar que a nível de instalação, operacionalidade e desempenho este funciona de acordo com o previsto (38). A validação dos procedimentos realizados na aplicação informática comprova que estes são obtidos de forma consistente (38).

1.4.7. Fornecedores

Os fornecedores são os elementos importantes e, por isso, a sua escolha deve ser ponderada pelos serviços. Nesta seleção é tido em conta, sobretudo o custo-benefício (99). É importante avaliar as capacidades e perceber a aptidão dos fornecedores para satisfazer as necessidades do serviço. Estes são relevantes porque no caso de o serviço necessitar de alguma intervenção nos equipamentos, materiais e reagentes, o serviço precisa dos mesmos. Sendo que a maioria dos equipamentos, materiais e reagentes provenientes dos fornecedores têm impacto na qualidade do produto final, os fornecedores devem ser incluídos na qualificação (94).

Nos *standards* da JACIE está descrito que os serviços de Terapia Celular devem conter no seu Plano de Gestão da Qualidade, a qualificação de fornecedores (37).

2. Objetivos

Este estudo tem por objetivo fazer *checklist* com os requisitos/parâmetros fundamentais para a Qualificação do Banco de Células com base na regulamentação e literatura de referência, e verificar a Qualificação do Banco de Células do STC do IPOFG, EPE.

Este estudo tem por finalidade evidenciar a garantia que o STC cumpre com os requisitos da lei n.º 12/2009 e das respetivas alterações, que está de acordo com os *standards* da JACIE e, principalmente, garantir a eficácia da criopreservação e armazenamento, traduzida pela estabilidade das células a infundir e a eficácia do enxerto, traduzida pela inexistência de falências do mesmo e, conseqüentemente aumentar o reconhecimento dos parceiros e a confiança dos doentes e dadores.

3. Metodologia

Numa primeira fase foi construída uma lista de verificação (*checklist*) com requisitos/parâmetros fundamentais para a Qualificação do Banco de Células. Para saber quais os requisitos/parâmetros necessários a abranger nesta *checklist* foi feita uma revisão bibliográfica com recurso à PubMed, *Google Scholar*, livros e manuais/guias que abordam este tema. Para a seleção de artigos na PubMed, os termos "*Cell Therapy*", "*Biological Specimen Banks*", "*Qualification*", "*Standards*" foram pesquisados no MeSH, sem limitação temporal.

Os requisitos/parâmetros presentes na *checklist* abordam os elementos fundamentais para a garantia da qualidade dos serviços e produtos prestados no STC. Após a seleção dos requisitos/parâmetros, estes foram aplicados num *template* implementado no STC para a realização da qualificação dos seus constituintes (ex. infraestruturas, equipamentos, profissionais), já validado pela JACIE.

Numa segunda fase, após a construção da *checklist*, foi averiguado se o STC cumpria com os requisitos/parâmetros presentes na *checklist*. Para isto, foi verificado a existência ou não de documentos, devidamente preenchidos, correspondentes a cada requisito/parâmetro na *checklist*.

Como já mencionado em cima, o STC tem um *template* próprio utilizado para o registo de qualificação. Neste documento está descrito o objeto que está a ser qualificado, a sua identificação no STC, qual o domínio de qualificação, quais os requisitos avaliados, as conclusões e as assinaturas dos profissionais responsáveis.

Para os requisitos/parâmetros que abordam a qualificação de algum constituinte do serviço (*ex.* profissional, equipamento) foi verificado que para ter uma qualificação completa, é necessário a existência de quatro documentos de registo de qualificação. Isto porque cada um destes corresponde a um domínio de qualificação diferente, ou seja, a qualificação nos domínios do design, instalação, operacionalidade e desempenho, correspondente às respetivas fases. Em anexo, está um exemplo de um documento, do STC, que foi verificado, correspondente à qualificação do DMSO (Anexo 4-6). Para os restantes requisitos/parâmetros passou apenas pela verificação da existência de documentos que comprovassem o cumprimento do mesmo, nomeadamente, manuais, certificados e autorizações.

A verificação do cumprimento dos requisitos/parâmetros presentes na *checklist* permite a validação da Qualificação do Banco de Células.

4. Resultados

Os requisitos/parâmetros a abranger na *checklist* foram retirados dos artigos selecionados. Pela pouca bibliografia existente sobre a Qualificação de Banco de Células, foram selecionados estudos e artigos que abordavam a Qualificação de diferentes tipos de Bancos, nomeadamente, Bancos de Sangue do Cordão Umbilical e Bancos de Sangue. Foram, também, selecionados *standards* internacionais existentes na área da Terapia Celular (*ex.* JACIE, AABB) e normas jurídicas aplicáveis ao STC (*ex.* lei n.º 12/2009 e as respetivas alterações).

A *checklist* está apresentada em forma de tabela (tabela 2). Para cada requisito/parâmetro foi verificado se o STC obedecia com os achados da literatura. Foi possível realizar a verificação entre 2 a 30 de maio de 2022.

Tabela 2: Checklist para a Qualificação do Banco de Células.

REQUISITOS/GUIDELINES	REVISÃO DA LITERATURA E DOCUMENTOS ASSOCIADOS AO SGQ DO STC DO IPOFG, EPE	SERVIÇO DE TERAPIA CELULAR IPO*
Regulamentações governamentais	Em Portugal, a lei n.º 12/2009 e as respetivas alterações, lei n.º 91/2015 e lei n.º 99/2017, estabelecem o regime jurídico da qualidade e segurança relativa à dádiva, colheita, análise, processamento, preservação, armazenamento, distribuição e aplicação de tecidos e células de origem humana (70). Rabe <i>et al.</i> , 2013, defende que o seguimento das regulamentações é fundamental para a garantia da qualidade (78).	As leis são aplicadas e seguidas pelo STC
Autorização para as atividades	A lei n.º 99/2017 define a Direção Geral da Saúde como autoridade competente e responsável pela verificação do cumprimento dos requisitos técnicos relativos à qualidade e segurança da dádiva, colheita, análise, processamento, preservação, armazenamento, distribuição e aplicação de tecidos e células de origem humana (70).	O STC possui um certificado válido de autorização para as suas atividades pela Direção Geral da Saúde
Acreditação JACIE-FACT	Rabe <i>et al.</i> , 2013, inclui a acreditação como elemento a integrar no programa de qualificação de banco de sangue de cordão umbilical não-relacionado (78).	O STC tem um certificado que comprova a acreditação pela JACIE, centro de excelência de Terapia Celular
Aprovação pela FDA	Rabe <i>et al.</i> , 2013, abrange o registo na <i>Food na Drug Administration</i> no programa de qualificação do banco de sangue do cordão umbilical não-relacionado (78).	Foi verificado que o STC tem a aprovação pela FDA para a exportação de CPH por aférese e MO
Plano de Gestão da Qualidade	A lei n.º 12/2009 diz que os bancos de células devem manter um Sistema de Gestão da Qualidade (70). Rabe <i>et al.</i> , 2013, e Callery <i>et al.</i> , 1994, afirmam ser importante implementar um SGQ para prestar serviços e produtos com qualidade (78, 100). Documentos associados: Manual da Qualidade, o Manual de Segurança; 13 Planos, dos quais se destacam o Plano de Avaliação de Avaliação de Risco e o Plano Mestre do Sistema Computorizado; 90 <i>Templates</i> ; 52 documentos de registo associados aos planos e AFC's	Foi verificado que STC tem implementado um Sistema da Gestão da Qualidade STC e que, obteve certificação do seu SGQ pela NP EN ISSO 9001, pela APCER

*Se valores aceitáveis, os resultados dos documentos P.STC.11.01 – Registo da Qualificação, são validados, assinados e datados.

REQUISITOS/GUIDELINES	REVISÃO DA LITERATURA E DOCUMENTOS ASSOCIADOS AO SGQ DO STC DO IPOPGF, EPE	SERVIÇO DE TERAPIA CELULAR IPO*
<p>Qualificação dos Processos</p>	<p>Os <i>standards</i> da JACIE para a colheita, processamento e administração de PTC, afirmam que qualificação de processos deve ser incluída no Plano de Gestão da Qualidade (37). Documentos associados: AFC.STC.01 – Consulta externa a dadores de Produtos de Terapia Celular; AFC.STC.02 – Obtenção de Produtos de Terapia Celular; AFC.STC.03 – Processamento de Produtos de Terapia Celular; AFC.STC.04 – Criopreservação e disponibilização de Produtos de Terapia Celular e Medicamentos de Terapia Avançada; AFC.STC.05 – Sistema de Etiquetagem; AFC.STC.06 – Gestão de Pessoas; AFC.STC.07 – Gestão de Infraestruturas e Aprovisionamento; AFC.STC.09 – Consulta externa a doentes; AFC.STC.11 – Gestão estratégica e operacional da qualidade</p>	<p>Foi verificado que o STC tem implementado um plano de qualificação para os processos realizados no serviço, havendo o registo dos mesmos</p>
<p>Standard Operation Procedure (SOP's)</p>	<p>Zuck <i>et al</i>, 1995, dizem que os <i>Standard Operation Procedure</i> (SOP's) são um elemento das boas práticas de fabrico (101). Callery <i>et al</i>, 2003, descrevem que os SOP's são essenciais para a consistência de resultados positivos do produto final (100). Documentos associados: SOP.STC.00 – SOP about SOP's; SOP.STC.25 – Etiquetas para colheita, processamento e transporte, de células e amostras; SOP.STC.38 – Plano de Controlo de Equipamentos; SOP.STC.45 – Utilização da Aplicação Informática QAP10</p>	<p>Foi verificado que o STC tem 48 SOP's dos procedimentos e atividades realizadas no serviço, que compreende entre a avaliação do doente/dador até à infusão ou eliminação das células</p>
<p>Sistema de Identificação de Produtos de Terapia Celular</p>	<p>Zuck <i>et al</i>, 1995, defendem ser necessário implementar um sistema de identificação para os produtos (101). Warwick <i>et al</i>, 2013, afirmam que a identificação dos produtos permite a sua traçabilidade, e, conseqüente, a melhoria da qualidade e segurança Transfusional (76). Documentos associados: Registo no ICCBBA; SOP.STC.25 – Etiquetas para colheita, processamento e transporte, de células e amostras; P.STC.04.01 – Sistema de etiquetas e etiquetagem de tubos, sacos e contentores; P.STC.04.01 – Avaliação do Sistema de Etiquetagem;</p>	<p>Foi verificado que o STC utiliza o ISBT 128 para a identificação dos produtos utilizados no serviço. Cumpre com a lei n.º99/2017 (Código único Europeu).</p>
<p>Validação dos procedimentos</p>	<p>Kallur <i>et al</i>, 2017, incluem a validação de procedimentos como elemento a abranger na garantia da qualidade (97). O'shea <i>et al</i>, 2020, diz que para que o banco de células consiga produzir com consistência produtos com qualidade, os procedimentos utilizados devem ser validados (102). A AATB inclui a validação dos procedimentos no <i>standard</i> de boas práticas nos bancos de tecidos (96). Documentos associados: P.STC.04 – Plano Validação; P.STC.04.01 – Protocolo de operacionalidade</p>	<p>Foi verificado que o STC tem implementado um plano de validação para os procedimentos realizados no serviço, havendo registo dessas validações, num total de 62 validações de procedimentos</p>

*Se valores aceitáveis, os resultados dos documentos P.STC.11.01 – Registo da Qualificação, são validados, assinados e datados.

REQUISITOS/GUIDELINES	REVISÃO DA LITERATURA E DOCUMENTOS ASSOCIADOS AO SGQ DO STC DO IPOPGF, EPE	SERVIÇO DE TERAPIA CELULAR IPO*
História Clínica do doente/dador	Rabe <i>et al</i> , 2013, e Dock <i>et al</i> , 2012, defendem que a história clínica do dador tem um papel fundamental na qualidade (78, 96). Documentos associados: SOP.STC.02 – Avaliação de dador adulto para colheita de Produtos de Terapia Celular; SOP.STC.06 – Avaliação de doente/dador pré e pós aférese; SOP.STC.46 – Avaliação de dador pediátrico para colheita de Produtos de Terapia Celular	Foi verificado que a história clínica do doente/dador é registada na aplicação Mural D e OASIS
Validação dos Produtos de Terapia Celular para transplante	Rabe <i>et al</i> , 2013, afirmam que para que o dador seja qualificado para a dádiva é necessário que o mesmo, realize testes para pesquisa de doenças infecciosas (78). Uma boas práticas de colheita, processamento e administração de PTC da JACIE é o <i>screening</i> de dadores a doenças infecciosas (37). Documentos associados: T.STC.19 – Validação dos PTCs	No STC para a validação dos PTCs verifica-se a conformidade dos testes de doenças infecciosas, a realização da esterilidade do produto, da funcionalidade e do conteúdo celular
Auditoria e Autoinspeções	Zuck <i>et al</i> , 1995, diz que a realização de auditorias, juntamente, com o tratamento de desvios, proporciona a melhoria da qualidade nos bancos de sangue (101). Mascotti, 2021, defende que a execução de auditorias internas são uma mais-valia para a identificação de erros (103). A JACIE descreve que deve ser integrado um cronograma de auditorias no Plano de Gestão da Qualidade do serviço para garantir que os procedimentos são realizados conforme as normas da qualidade (37). Documentos associados: P.STC.05.07 – Planificação anual de auditorias e autoinspeções; P.STC.05.02 – Programa anual de auditorias e autoinspeções	Foi verificado que o STC planifica anualmente auditorias (externas e internas) e autoinspeções, havendo registo das mesmas e dos seus resultados
Tratamento de ocorrências (não-conformidades, oportunidades de melhoria)	Zuck <i>et al</i> , 1995, afirma que o controlo de ocorrência de erros é importante para a melhoria da qualidade num banco de sangue (101). Rabe <i>et al</i> , 2013, no programa para a qualificação do banco de sangue do cordão umbilical não-relacionado, inclui a resolução de reações adversas e desvios como fatores importante na qualidade (78). Mascotti, 2021, diz que a existência de procedimentos para o tratamento de não-conformidades deve fazer parte do programa da qualidade (103). Documentos associados: T.STC.54 – Registo de Ocorrências; T.STC.38 – Biovigilância; T.STC.66 – Materiovigilância; T.STC.67 – Farmacovigilância; T.STC.85 – Controlo de mudanças	Foi verificado que o STC tem um sistema de registo e tratamento de ocorrência (não-conformidades, oportunidades de melhoria)

*Se valores aceitáveis, os resultados dos documentos P.STC.11.01 – Registo da Qualificação, são validados, assinados e datados.

REQUISITOS/GUIDELINES	REVISÃO DA LITERATURA E DOCUMENTOS ASSOCIADOS AO SGQ DO STC DO IPOFG,EPE	SERVIÇO DE TERAPIA CELULAR IPO*
<p>Direção – médico licenciado e especialista</p>	<p>Segundo, a lei n.º 12/2009 o "responsável pelas unidades de colheita, bancos de tecidos e células e pelos serviços responsáveis pela sua aplicação deve ser médico ou licenciado em Ciências Farmacêuticas ou Biológicas" (70). A AATB, define como <i>standard</i> que o diretor do serviço deve ser um médico especialista (96). Documentos associados: CV do diretor do serviço, Manual da Qualidade</p>	<p>A diretora do serviço do STC é uma médica licenciada e foi nomeada pela Direção do IPOFG, EPE. A sua nomeação e respetivas funções estão descritas no Manual da Qualidade e representadas nos organigramas estrutural e funcional</p>
<p>Gestor da Qualidade – responsável pelas atividades da qualidade</p>	<p>A diretiva 91/356/CEE estabelece diretrizes de boas práticas de fabrico de medicamentos para uso humano, diz que deve ser definida uma pessoa responsável pela gestão e fiscalização da aplicação das boas práticas e deve as suas funções estarem descritas num organigrama (75). Documentos associados: Manual da Qualidade; AFC.STC.11 – Gestão estratégica e operacional da qualidade</p>	<p>A Direção do IPOFG, EPE nomeou 2 gestores da qualidade. A sua nomeação e respetivas funções estão descritas no Manual da Qualidade e representadas nos organigramas estrutural e funcional</p>
<p>Pessoal qualificado – registo das competências, formação, atividades</p>	<p>O Manual de Boas Práticas para os Serviços de Sangue e da Transplantação descreve que o pessoal deve ter formação, experiência e qualificações para o respetivo cargo (38). De igual forma, a lei n.º 12/2009 afirma que o pessoal dos bancos de tecidos e células devem ter qualificações (70). No estudo de Kallur <i>et al</i>, 2017, defende que o ensinamento e qualificação do pessoal é importante para a garantia da qualidade (97). Documentos associados: P.STC.11.01 – Registo de Qualificação; P.STC.07.02 – Função dos profissionais; P.STC.01.01 – Certificado de integração; P.STC.02.10 – Registo de treino de competências; P.STC.07.04 – Registo de formação e treino; P.STC.07.07 – Ficha individual de colaborador</p>	<p>Foi verificado que o acesso a uma carreira de função pública cumpre com os requisitos de formação inicial e o STC tem implementado um plano de integração, formação e qualificação do pessoal, havendo registo dos mesmos</p>

*Se valores aceitáveis, os resultados dos documentos P.STC.11.01 – Registo da Qualificação, são validados, assinados e datados.

REQUISITOS/GUIDELINES	REVISÃO DA LITERATURA E DOCUMENTOS ASSOCIADOS AO SGQ DO STC DO IPOPGF, EPE	SERVIÇO DE TERAPIA CELULAR IPO*
<p>Qualificação das Infraestruturas</p>	<p>O Manual de Boas Práticas para os Serviços de Sangue e da Transplantação descreve que as instalações que tem impacto direto na qualidade do produto devem ser devidamente qualificadas (38). Kallur <i>et al.</i>, 2017, afirma que a manutenção e qualificação das infraestruturas é fundamental para a garantia da qualidade em bancos de células (97). Documentos associados: P.STC.11 – Anexo I – Mapa de qualificação de infraestruturas; P.STC.11.01 – Registo de Qualificação; P.STC.04.01.16 – Controlo de qualidade do ambiente interior das CFL; P.STC.04.01.17 – Controlo de qualidade do ambiente interior da antecâmara e dos LTC e LC; P.STC.04.01.45 – Monitorização do ambiente e higienização das salas de processamento; P.STC.04.01.46 – Monitorização do oxigénio e ambiente térmico da sala de criopreservação</p>	<p>Foi verificado que o STC tem implementado um plano de qualificação das infraestruturas do serviço, validado por 4 qualificações para as infraestruturas que o exigem, áreas limpas e ambientes controlados e sala de criopreservação</p>
<p>Qualificação dos Equipamentos</p>	<p>Os standards da JACIE afirmam que os equipamentos que tem impacto na qualidade do produto devem ser qualificados (37). Kallur <i>et al.</i>, 2017, inclui a qualificação dos equipamentos como fator importante na garantia da qualidade (97). Documentos associados: P.STC.11 – Anexo II – Mapa de qualificação de equipamentos; P.STC.11.01 – Registo de Qualificação; P.STC.04.01.01 – Colheita de CPH do sangue periférico nos separadores celulares cobe spectra; P.STC.04.01.06 – Monitorização da temperatura no interior do contentor de transporte da world Courier; P.STC.04.01.07 – Redução de volume de progenitores hematopoiéticos e componentes celulares na centrifuga damon/IEC division; P.STC.04.01.15 – Contagem de populações celulares por citometria de fluxo no equipamento FACSCANTO II; P.STC.04.01.19 – Avaliação da capacidade clonogénica dos progenitores hematopoiéticos; P.STC.04.01.20 – Avaliação da viabilidade celular; P.STC.04.01.22 – Controlo de qualidade da estufa Heracell 150I; P.STC.04.01.29 – Armazenamento de PH em azoto líquido a -196°C; P.STC.04.01.31 – Conetor estéril; P.STC.04.01.36 – Avaliação da viabilidade celular por microscopia com azul de tripano e por citometria de fluxo com 7-AAD; P.STC.04.01.38 – Avaliação da criopreservação de células CART a -150°C e do transporte; P.STC.04.01.40 – Criocongelamento de células para produção de células CART;; P.STC.04.01.43 – Deseritrocitação de MO por centrifugação invertida na centrífuga damon/IEC division; P.STC.04.01.56 – Estudo comparativo da descongelamento de PTC no sistema standard e SAHARA-TSC;</p>	<p>Foi verificado que o STC tem implementado um plano de qualificação dos equipamentos, havendo o registo dos mesmos, num total de 20 equipamentos qualificados. Para a qualificação do desempenho estão associados 57 validações de procedimentos</p>

*Se valores aceitáveis, os resultados dos documentos P.STC.11.01 – Registo da Qualificação, são validados, assinados e datados.

REQUISITOS/GUIDELINES	REVISÃO DA LITERATURA E DOCUMENTOS ASSOCIADOS AO SGQ DO STC DO IPOPGF, EPE	SERVIÇO DE TERAPIA CELULAR IPO*
Qualificação dos Materiais	<p>Kallur <i>et al.</i>, 2017, afirma que para obter a garantia de qualidade no banco de células estaminais pluripotentes é necessário a realização da qualificação dos materiais (97). Nos <i>standards</i> da JACIE, diz que, os materiais utilizados para o processamento de PTC devem ser qualificados, de forma a não interferir com a segurança do produto (37).</p> <p>Documentos associados: P.STC.11 – Anexo III – Mapa de qualificação dos materiais; P.STC.11.01 – Registo de Qualificação; STC.04.01.27 – Validação de sacos de criopreservação macopharma;</p>	<p>Foi verificado que o STC tem implementado um plano de qualificação para os materiais utilizados no serviço, havendo o registo dos mesmos, num total de 12 materiais qualificados</p>
Qualificação dos Reagentes	<p>Tal como, os materiais, nos <i>standards</i> da JACIE, descreve que os reagentes utilizados no processamento de PTC devem ser qualificados (37). Para Kallur <i>et al.</i>, 2017, a qualificação dos reagentes devem ser integrado no Sistema da Gestão da Qualidade (97).</p> <p>Documentos associados: P.STC.11 – Anexo IV – Mapa de qualificação de reagentes; P.STC.11.01 – Registo de Qualificação</p>	<p>Foi verificado que o STC tem implementado um plano de qualificação para os reagentes utilizados no serviço, havendo o registo dos mesmos, num total de 21 reagentes qualificados, sendo que o DMSO tem qualificação por lote</p>
Qualificação dos Fornecedores	<p>Para os serviços de colheita, processamento e administração de PTCs, a JACIE descreve a qualificação dos fornecedores como essencial (37).</p> <p>Documentos associados: P.STC.11 – Anexo VI – Mapa de qualificação de fornecedores; P.STC.11.01 – Registo de Qualificação; T.SCT.52 – Análise de fornecedores</p>	<p>Foi verificado que o STC tem implementado um plano de qualificação para os fornecedores do serviço, havendo o registo do mesmo, num total de 60 fornecedores qualificados</p>
Qualificação e Validação do Sistema Informático	<p>A <i>Rules and Guidance for Pharmaceutical Manufactures</i> descrevem que o sistema computadorizado é um elemento crítico na garantia da qualidade (104). A JACIE afirma que o <i>software</i> utilizado nos serviços de colheita, processamento e administração de PTCs deve ser qualificado (37).</p> <p>Documentos associados: P.STC.11 – Anexo V – Mapa de qualificação de sistemas; P.STC.11.01 – Registo de Qualificação; SOP.STC.45 – Utilização da aplicação informática QAP10; P.STC.04.01 – Protocolo de Operacionalidade: QAP10; P.STC.04.01 – QAP10</p>	<p>O STC utiliza o QAP10, aplicação informática para Serviços de Terapia Celular e foi verificado a existência do registo da qualificação e validação da mesma</p>

*Se valores aceitáveis, os resultados dos documentos P.STC.11.01 – Registo da Qualificação, são validados, assinados e datados.

5. Discussão

A construção da *checklist* para a realização da Qualificação do Banco de Células constituiu um grande desafio. Com base nos resultados obtidos, os fatores essenciais para o funcionamento do STC do IPOPGF, EPE, estão de acordo com os requisitos/parâmetros presentes na *checklist*, refletindo o cumprimento das leis e *standards*. Os estudos de Rabe *et al.*, 2013, e Kallur *et al.*, 2017, juntamente com os *standards* (eg. JACIE) e leis para os serviços de Terapia Celular (lei n.º12/2009 e respetivas alterações), foram os essenciais para a estruturação da mesma (37, 70–72, 78, 97).

De acordo com Moehring, 2021, Rabe *et al.*, 2013, e Kallur *et al.*, 2017, referente às normas internacionais para colheita, processamento e administração de PTCs, verifica-se que o STC cumpre com as normas de segurança e qualidade para laboratórios e produtos destinados a transplantação (37, 78, 97).

Estudos defendem que para garantir a qualidade dos PTCs é necessário incluir diferentes aspetos, nomeadamente, a seleção de dadores, a colheita, o processamento, o armazenamento e a infusão de células (105–107).

O STC, tal como descrito por Rabe *et al.*, 2013, estabeleceu um programa para qualificar o Banco de Células de dadores autólogos e alogénicos, utilizando, inicialmente, uma abordagem retrospectiva, e posteriormente, uma abordagem prospetiva (78). De acordo com este autor, o STC cumpre com os critérios para a garantia da qualidade, que inclui os diferentes aspetos, como as regulamentações, sistema da qualidade, o estado de acreditação, a elegibilidade do dador, os profissionais, os equipamentos e os procedimentos (78). Também, Kallur *et al.*, 2017, aborda os fatores necessários para obter a garantia de qualidade no banco de células estaminais pluripotentes (97). O STC, para demonstrar que age de acordo com as normas e *standards* da garantia da qualidade, tem um Plano de Gestão da Qualidade, onde planeia e inclui a qualificação do pessoal, infraestruturas, equipamentos, materiais, reagentes, fornecedores, sistema informático e a validação dos procedimento como elementos obrigatórios para a qualidade do banco de células, o que está em concordância com o descrito no estudo de Kallur *et al.*, 2017 (97).

As regulamentações governamentais permitem aos serviços terem uma orientação para um desempenho de acordo com as mesmas, e por isso, estas são essenciais para a qualificação, sendo estas o primeiro requisito/*guideline* abordado na tabela 2, na seção dos resultados.

Estas, em Portugal, para os serviços de Terapia Celular estão descritas na lei n.º12/2009 e respetivas alterações (70–72). Definem a autoridade competente que é a DGS, responsável pela verificação do cumprimento das normas de segurança e qualidade dos produtos de terapia celular da colheita à infusão (72); o STC tem a autorização pela DGS para o exercício da atividade, por isso, foi verificada a conformidade e validade do documento de colheita a doentes e dadores, análise, processamento, criopreservação e distribuição de CPHs do sangue periférico, MO, SCU e CMN, atribuída pela DGS. Internacionalmente, a entidade competente e acreditadora é a JACIE para esta área (37); o STC tem a acreditação pela JACIE, como centro de excelência de Terapia Celular e, também, está registado na FDA para envio de células para os Estados Unidos da América (EUA). Este reconhecimento comprova que os serviços têm aplicadas e cumprem as normas de qualidade e segurança estabelecidas, permitindo a confiança dos parceiros, dos dadores e doentes.

A lei 12/2009 diz, ainda, que as "...unidades de colheita, os bancos de tecidos e células e os serviços responsáveis pela sua aplicação devem desenvolver e manter operacional um sistema de qualidade e de gestão de qualidade baseado nas boas práticas..." (70). Sendo a implementação do SGQ um requisito descrito na lei, é importante abranger este elemento na qualificação do banco de células, tal como afirmam Rabe *et al.*, 2013 (78). Segundo Callery *et al.*, 1994, o SGQ permite criar uma estrutura que possibilita a prestação de serviços e produtos com qualidade e, ainda, a contenção de custos (100). O STC tem reconhecimento no seu SGQ, com certificação pela NP EN ISO 9001, pela Associação Portuguesa de Certificação (APCER) (73).

Os procedimentos são um elemento importante para o funcionamento do serviço, o STC tem 48 SOPs, associados a 91 *templates* (documentos de registo), o que corrobora com o descrito por Rabe *et al.*, 2013, que, descreve que os procedimentos realizados nos serviços devem estar escritos (78). Também, Zuck *et al.*, afirma que a implementação de SOP's faz parte das boas práticas de fabrico (101). Callery *et al.*, 1994, acrescenta que estes são cruciais para a consistência de bons resultados (100). Para que se consiga essa consistência, Kallur *et al.*, 2017, defende que a validação de procedimentos é fundamental para a obtenção da qualidade e segurança dos produtos, sendo que, em concordância, no STC, essa consistência é demonstrada pela existência de 62 validações (97).

A identificação dos produtos é um requisito fundamental para a qualificação. Zuck *et al.*, 1995, defendem ser necessário implementar um sistema de identificação para os produtos, isto permite diminuir a probabilidade de ocorrência de não-conformidades garantindo que o doente é infundido com o produto correto (101). Neste ponto, o STC corrobora com este autor, utilizando para a identificação de PTCs, contentores e tinas o ISBT 128, um sistema de identificação usado internacionalmente, para a codificação de produtos de origem humana para fins terapêuticos em cumprimento das leis aplicáveis, aos serviços de Terapia Celular (77). Atualmente, as etiquetas utilizadas na identificação dos produtos, no STC, são produzidas numa aplicação informática, o QAP10, desenvolvida para Serviços de Terapia Celular, este encontra-se devidamente qualificado e validado com autoinspeções e auditorias realizadas e programadas anualmente e, com *backup* mensal, descrito no plano de emergência. Assim, o STC está em conformidade com as *Rules and Guidance for Pharmaceutical Manufactures*, que defende que na implementação de um sistema informático este deve ser devidamente qualificado e validado (104).

Para Rabe *et al.*, 2013, um elemento importante para a garantia de qualidade é o dador de células, e afirmam que para a garantia da elegibilidade do dador é necessário perceber a história clínica do dador e a pesquisa de marcadores de doenças infecciosas (78). Em concordância com este está a *American Association of Tissue Banks* (AATB) e Cobo *et al.*, 2006, que defendem que é importante perceber o histórico de doenças do dador e respetivos familiares e que, por os produtos serem de origem humana, existe o risco de transmissão de doenças é obrigatório a realização de teste para despiste das mesmas (44, 96). O STC, evidencia o cumprimento destes requisitos com o preenchimento do documento de validação de PTCs, onde é obrigatório a pesquisa de marcadores de doenças infecciosas descritas no ponto 3.1 do capítulo I; este cumpre todos estes fatores, fundamental para garantir a segurança da infusão do PTCs e do recetor.

O STC, mantém, também, um plano de autoinspeções e auditorias, programado anualmente. Desta forma, está em concordância com Zuck *et al.*, 1995, que defendem ser necessário a integração de um sistema

para o tratamento de erros e a existência de um plano de autoinspeções para a melhoria da qualidade do serviço (101). Mascotti *et al.*, 2021, afirma que estes fatores são indicadores de qualidade (103). Nem sempre a aplicação das boas práticas de fabrico se traduz nos resultados esperados, havendo desvios e não-conformidades. Para isso, O STC tem integrado um sistema para o tratamento de ocorrências, subdividido em biovigilância, materiovigilância e farmacovigilância, originados por irregularidades nos PTCs, material e reagente e fármacos, respetivamente, o registo de não-conformidades e oportunidades de melhoria, com origem nas auditorias.

Os profissionais/pessoas que integram o serviço têm uma função essencial na garantia da qualidade dos produtos, sendo relevante e obrigatório, definir uma pessoa responsável pelo serviço e uma pessoa responsável para as atividades da qualidade. Na lei n.º12/2009, está descrito que o serviço deve ter uma pessoa responsável e ser médico licenciado (70). A AATB, acrescenta, ainda que, o diretor de serviço deve ser um médico especialista em Imunohemoterapia (96). Na lei diz ainda que, este é responsável por assegurar que os requisitos de qualidade e segurança são cumpridos e por construir um organograma do serviço, para definição e atribuição de responsabilidades e deve ser o elemento de ligação entre o serviço e as autoridades competentes (70). A JACIE acrescenta que, este deve ter no mínimo 2 anos de experiência na área e ter comprovada a sua formação contínua (37). Como comprovado na *checklist*, e descrito no ponto 3 do Capítulo I, o STC tem um diretor de serviço com experiência, e existe um organograma bem estruturado com hierarquias bem definidas, bem como a descrição das funções de cada profissional. Em continuidade na lei n.º 12/2009, esta descreve que deve ser definido uma pessoa responsável pelas atividades ligadas à qualidade, para cumprimento destes requisitos, no STC, foram nomeados pela direção do IPOFG, EPE, dois Gestores da Qualidade, de áreas diferentes, um para a área da colheita por aférese e outro para a área do processamento e colheita de MO, com formação específica (70).

Um dos requisitos mais abordados por normas, *standards* e artigos que focam a qualidade e segurança em serviços de Terapia Celular é a qualificação dos profissionais (37, 97, 102). No caso dos profissionais, do STC, e de acordo com a tabela, existem documentos que definem as funções dos profissionais, o certificado de integração, o registo de treino de competências, registo de formação e treino, e ainda uma ficha individual de colaboradores. Todos estes elementos estão evidenciados no registo da qualificação. Corrobora com o descrito a AATB, que enuncia que um profissional qualificado é um profissional adequado com experiência e treino para o cargo (96). A qualificação dos profissionais, juntamente, com a qualificação dos restantes elementos importantes para o bom e correto funcionamento do serviço, permite que fique demonstrada a garantia da qualidade e segurança dos produtos e serviços prestados.

Relativamente, aos requisitos da *checklist* no que se refere às infraestruturas, equipamentos, materiais e reagentes, estes referem-se à necessidade de qualificação dos mesmos pelo serviço.

Cobo *et al.*, 2006, dizem que as instalações de um banco de células podem apresentar condições particulares de trabalho (44). Por essa razão, para que as instalações sejam apropriadas e mantenham as suas características requisitadas, de forma a não interferir com a qualidade e segurança dos procedimentos e produtos realizados nas mesmas, Kallur *et al.*, 2017, argumenta que as instalações devem ser qualificadas (97). O'shea *et al.*, 2020, acrescenta que as instalações devem ser compatíveis com as boas práticas de fabrico (102). Neste sentido e de acordo com a literatura, o STC, avalia, valida e mantém as condições exigidas pela lei, com

registos que comprovam esta conformidade. Os equipamentos, materiais e reagentes representam uma grande proporção no sucesso da garantia da qualidade e segurança dos produtos e atividades realizadas no serviço. Relativamente a este parâmetro, Kallur *et al.*, 2017, defende que se deve qualificar estes elementos para que fique demonstrada a sua qualidade e segurança (97). Em concordância com estes, nos *standards* da JACIE a qualificação destes elementos é um requisito obrigatório (37).

Foi verificado que o STC tem um plano integrado para a qualificação de conceção, instalação, operacionalidade e desempenho destas entidades, complementado com a validação de 58 procedimentos. A qualificação é realizada na aquisição dos equipamentos pelo serviço. Desta forma, está em conformidade com os *standards* da JACIE e as normas da lei n.º12/2009 (37, 70).

O último requisito abordado na tabela 2, na seção dos resultados, é relativo aos fornecedores. Igualmente, como os equipamentos, materiais e reagentes, estes são uma entidade importante na garantia da qualidade. A JACIE defende que estes, devem ser qualificados, com a sua avaliação anual ou bienal, dando uma perspetiva do desempenho dos mesmos, sendo que foi verificado que o STC tem um plano integrado para a qualificação dos fornecedores (37).

A análise da literatura e a realidade do STC permitiu demonstrar que o conhecimento dos profissionais e o trabalho em equipa realizado no serviço, foram fatores importantes para evidenciar que a verificação fosse concluída com êxito. Verificou-se que o serviço tem e mantém ferramentas capazes de garantir a oferta de produtos e serviços com qualidade e segurança. A eficácia da congelação traduziu-se na estabilidade do produto, validada pelo estudo “Avaliação da estabilidade de Produtos de Terapia Celular criopreservados em azoto líquido” (108). A eficácia do enxerto traduziu-se na inexistência das falências de enxerto, em produtos de dadores autólogos, dos PTCs que seguiram o percurso todo, uma avaliação realizada semestralmente pelos médicos do STC.

6. Conclusão

Foram cumpridos os objetivos planeados para a realização do estágio curricular realizado no STC. Como descrito foi possível adquirir conhecimentos teóricos e desenvolver competências nas áreas de avaliação da qualidade das áreas classificadas, CQ de amostras de sangue periférico e dos produtos, processamento e cricongelação dos PTCs, descongelação e envio destes. A integração nas equipas de rotina foi sempre tutelada, tendo sido orientada para aproveitar formações na área das Terapias Celulares, assim como integrar equipas de divulgação dos trabalhos realizados, o que se tornou enriquecedor a nível técnico-científico.

No capítulo II descreve-se um estudo de caso sobre a verificação da Qualificação do Banco de Células do STC do IPOFG, EPE, com base na lista de verificação realizada neste estudo, de forma a contemplar todas as fases do STC, com início na referência dos dadores/doentes, consulta de dador/doente, seguiu-se a colheita, o processamento, a avaliação da qualidade, o armazenamento e a distribuição dos PTCs.

Conclui-se que a Qualificação do Banco de Células do Serviço de Terapia celular do IPOFG, EPE, e a criação e a implementação de estratégias/métodos para a realização da qualificação do serviço evidenciam um plano atualizado e demonstraram ser uma mais-valia para que este consiga obter reconhecimento dos seus parceiros e clientes.

Referências Bibliográficas

1. Golchin A, Farahany TZ. Biological Products: Cellular Therapy and FDA Approved Products. *Stem cell reviews and reports*. 2019;15(2):166–75.
2. Henig I, Zuckerman TJRMmj. Hematopoietic stem cell transplantation—50 years of evolution and future perspectives. 2014;5(4).
3. Malinis M, Boucher HW. Screening of donor and candidate prior to solid organ transplantation—Guidelines from the American Society of Transplantation Infectious Diseases Community of Practice. *Clinical transplantation*. 2019;33(9):e13548.
4. Li L, Li KY, Yan K, Ou G, Li W, Wang J, et al. The History and Challenges of Blood Donor Screening in China. *Transfusion medicine reviews*. 2017;31(2):89–93.
5. Barriga F, Ramírez P, Wietstruck A, Rojas N. Hematopoietic stem cell transplantation: clinical use and perspectives. *Biological research*. 2012;45(3):307–16.
6. Balassa K, Danby R, Rocha V. Haematopoietic stem cell transplants: principles and indications. *British journal of hospital medicine (London, England : 2005)*. 2019;80(1):33–9.
7. Bazinet A, Popradi G. A general practitioner's guide to hematopoietic stem-cell transplantation. *Current oncology (Toronto, Ont)*. 2019;26(3):187–91.
8. Eapen M, O'Donnell P, Brunstein CG, Wu J, Barowski K, Mendizabal A, et al. Mismatched related and unrelated donors for allogeneic hematopoietic cell transplantation for adults with hematologic malignancies. 2014;20(10):1485–92.
9. Anderlini P, Donato M, Chan KW, Huh YO, Gee AP, Lauppe MJ, et al. Allogeneic blood progenitor cell collection in normal donors after mobilization with filgrastim: the M.D. Anderson Cancer Center experience. *Transfusion*. 1999;39(6):555–60.
10. Greenbaum AM, Link DC. Mechanisms of G-CSF-mediated hematopoietic stem and progenitor mobilization. *Leukemia*. 2011;25(2):211–7.
11. Dreger P, Haferlach T, Eckstein V, Jacobs S, Suttrop M, Löffler H, et al. G-CSF-mobilized peripheral blood progenitor cells for allogeneic transplantation: safety, kinetics of mobilization, and composition of the graft. *British journal of haematology*. 1994;87(3):609–13.
12. Tjønnfjord GE, Steen R, Evensen SA, Thorsby E, Egeland T. Characterization of CD34+ peripheral blood cells from healthy adults mobilized by recombinant human granulocyte colony-stimulating factor. *Blood*. 1994;84(8):2795–801.
13. Welte K. G-CSF: filgrastim, lenograstim and biosimilars. *Expert opinion on biological therapy*. 2014;14(7):983–93.
14. Siddiq S, Pamphilon D, Brunskill S, Doree C, Hyde C, Stanworth S. Bone marrow harvest versus peripheral stem cell collection for haemopoietic stem cell donation in healthy donors. *The Cochrane database of systematic reviews*. 2009(1):Cd006406.
15. Favre G, Beksaç M, Bacigalupo A, Ruutu T, Nagler A, Gluckman E, et al. Differences between graft product and donor side effects following bone marrow or stem cell donation. 2003;32(9):873–80.
16. Buckner CD, Clift RA, Sanders JE, Stewart P, Bensinger WI, Doney KC, et al. Marrow harvesting from normal donors. *Blood*. 1984;64(3):630–4.
17. Pruszczyk K, Skwierawska K, Król M, Moskowicz A, Jabłoński D, Torosian T, et al. Bone marrow harvest from unrelated donors—up-to-date methodology. 2017;99(4):357–65.
18. Szczepiorkowski ZM. Indications for therapeutic apheresis in hematological disorders. *Seminars in hematology*. 2020;57(2):57–64.
19. Dierickx D, Macken E. The ABC of apheresis. *Acta clinica Belgica*. 2015;70(2):95–9.
20. Burgstaler EA. Blood component collection by apheresis. *Journal of clinical apheresis*. 2006;21(2):142–51.
21. Dzierzak E, Speck NA. Of lineage and legacy: the development of mammalian hematopoietic stem cells. *Nature immunology*. 2008;9(2):129–36.
22. Dzierzak E, Bigas A. Blood Development: Hematopoietic Stem Cell Dependence and Independence. *Cell stem cell*. 2018;22(5):639–51.
23. Panch SR, Szymanski J, Savani BN, Stroncek DF. Sources of Hematopoietic Stem and Progenitor Cells and Methods to Optimize Yields for Clinical Cell Therapy. *Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation*. 2017;23(8):1241–9.
24. Lim WF, Inoue-Yokoo T, Tan KS, Lai MI, Sugiyama D. Hematopoietic cell differentiation from embryonic and induced pluripotent stem cells. *Stem cell research & therapy*. 2013;4(3):71.

25. Sutherland DR, Stewart AK, Keating AJSC. CD34 antigen: molecular features and potential clinical applications. 1993;11(S3):50-7.
26. Roncon S, Barbosa IL, Campilho F, Lopes SM, Campos A, Carvalhais A. Mobilization and collection of peripheral blood stem cells in multiple myeloma patients older than 65 years. Transplantation proceedings. 2011;43(1):244-6.
27. Elmariah H, Naqvi SMH, Kim J, Nishihori T, Mishra A, Perez L, et al. Impact of infused CD34+ stem cell dosing for allogeneic peripheral blood stem cell transplantation with post-transplant cyclophosphamide. Bone marrow transplantation. 2021;56(7):1683-90.
28. Dani T, Knobler R. Extracorporeal photoimmunotherapy-photopheresis. Frontiers in bioscience (Landmark edition). 2009;14(12):4769-77.
29. Piccirillo N, Putzulu R, Massini G, Di Giovanni A, Giammarco S, Metafuni E, et al. Inline and offline extracorporeal photopheresis: Device performance, cell yields and clinical response. Journal of clinical apheresis. 2021;36(1):118-26.
30. Schwartz J, Padmanabhan A, Aqui N, Balogun RA, Connelly-Smith L, Delaney M, et al. Guidelines on the Use of Therapeutic Apheresis in Clinical Practice-Evidence-Based Approach from the Writing Committee of the American Society for Apheresis: The Seventh Special Issue. Journal of clinical apheresis. 2016;31(3):149-62.
31. Rook AH, Suchin KR, Kao DM, Yoo EK, Macey WH, DeNardo BJ, et al., editors. Photopheresis: clinical applications and mechanism of action. Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings; 1999: Elsevier.
32. Bloor AJ, Thomson K, Chowdhry N, Verfuert S, Ings SJ, Chakraverty R, et al. High response rate to donor lymphocyte infusion after allogeneic stem cell transplantation for indolent non-Hodgkin lymphoma. 2008;14(1):50-8.
33. REMES K, MATINLAURI I, GRENMAN S, ITÄLÄ M, KAUPPILA M, PELLINIEMI T-T, et al. Daily measurements of blood CD34+ cells after stem cell mobilization predict stem cell yield and posttransplant hematopoietic recovery. 1997;6(1):13-9.
34. Rujkijyanont P, Hipps J, Gan K, Yang J, Wang C, Geiger TL, et al. Prediction of CD34+ cell yield in hematopoietic cell products from children by peripheral blood CD34+ cell counts. 2012;14(4):473-82.
35. Armitage S, Hargreaves R, Samson D, Brennan M, Kanfer E, Navarrete CJBmt. CD34 counts to predict the adequate collection of peripheral blood progenitor cells. 1997;20(7):587-91.
36. Barnett D, Janossy G, Lubenko A, Matutes E, Newland A, Reilly JJC, et al. Guideline for the flow cytometric enumeration of CD34+ haematopoietic stem cells PREPARED BY THE CD34+ HAEMATOPOIETIC STEM CELL WORKING PARTY. 1999;21(5):301-8.
37. Moehring AK. FACT-JACIE International Standards for HEMATOPOIETIC CELLULAR THERAPY-Product Collection, Processing, and Administration. 2021.
38. Saúde M. Manual de Boas Práticas Unidades de Colheita, Bancos de Tecidos e Células, Unidades de Aplicação. Autoridade para os Serviços de Sangue e da Transplantação. 2013.
39. McKinnon KMJ. Flow cytometry: an overview. 2018;120(1):5.1. -5.1. 11.
40. Givan AL. Flow cytometry: an introduction. Methods in molecular biology (Clifton, NJ). 2011;699:1-29.
41. Sutherland DR, ANDERSON L, KEENEY M, NAYAR R, Chin-Yee IJ. The ISHAGE guidelines for CD34+ cell determination by flow cytometry. 1996;5(3):213-26.
42. Wognum B, Yuan N, Lai B, Miller CL. Colony forming cell assays for human hematopoietic progenitor cells. Methods in molecular biology (Clifton, NJ). 2013;946:267-83.
43. Technologies S. Hematopoietic Colony Enumeration and Identification: A Brief Overview. 2017. p. https://www.youtube.com/watch?v=x-AeCq7muZg&ab_channel=STEMCELLTechnologies.
44. Cobo F, Cabrera C, Catalina P, Concha AJC. General safety guidances in stem cell bank installations. 2006;8(1):47-56.
45. McKinney RW, Richmond JY. Primary containment for biohazards: Selection, installation and use of biological safety cabinets: US Government Printing Office; 1995.
46. Hechler G, Weide R, Heymanns J, Köppler H, Havemann KJA. Storage of noncryopreserved peripheral blood stem cells for transplantation. 1996;72(5):303-6.
47. Brecher ME, Banks AAoB. Technical Manual: American Association of Blood Banks; 2005.
48. Grout B, Morris J, McLellan MJ. Cryopreservation and the maintenance of cell lines. 1990;8:293-7.
49. Bakken AMJ. Cryopreserving human peripheral blood progenitor cells. 2006;1(1):47-54.
50. ROWLEY SD. Hematopoietic stem cell cryopreservation: a review of current techniques. 1992;1(3):233-50.
51. Hubel A. Preservation of cells: a practical manual: John Wiley & Sons; 2018.

52. Watt SM, Austin E, Armitage SJ, protocols f-d. Cryopreservation of hematopoietic stem/progenitor cells for therapeutic use. 2007;237-59.
53. Berz D, McCormack EM, Winer ES, Colvin GA, Quesenberry PJJ. Cryopreservation of hematopoietic stem cells. 2007;82(6):463-72.
54. Röllig C, Babatz J, Wagner I, Maiwald A, Schwarze V, Ehninger G, et al. Thawing of cryopreserved mobilized peripheral blood—comparison between waterbath and dry warming device. 2002;4(6):551-5.
55. Triana E, Ortega S, Azqueta C, Pomares H, Valdivia E, Duarte R, et al. Thawing of cryopreserved hematopoietic progenitor cells from apheresis with a new dry-warming device. 2013;53(1):85-90.
56. Johnson S, Nguyen V, Coder D. Assessment of cell viability. Current protocols in cytometry. 2013;Chapter 9:Unit9.2.
57. Stoddart MJ. Cell viability assays: introduction. Methods in molecular biology (Clifton, NJ). 2011;740:1-6.
58. Strober W. Trypan blue exclusion test of cell viability. Current protocols in immunology. 2001;Appendix 3:Appendix 3B.
59. Chan LL, McCulley KJ, Kessel SL. Assessment of Cell Viability with Single-, Dual-, and Multi-Staining Methods Using Image Cytometry. Methods in molecular biology (Clifton, NJ). 2017;1601:27-41.
60. Zembruski NC, Stache V, Haefeli WE, Weiss J. 7-Aminoactinomycin D for apoptosis staining in flow cytometry. 2012;429(1):79-81.
61. Alves ALG, Vieira MEM, Barreira APB, da Mota LSLS, Saito ME, Kohayagawa A, et al. Protocolo de isolamento de células mononucleares de medula óssea de equinos. 2009;16(4):650-5.
62. Daniele N, Scerpa MC, Rossi C, Lanti A, Adorno G, Isacchi G, et al. The processing of stem cell concentrates from the bone marrow in ABO-incompatible transplants: how and when. 2014;12(2):150.
63. Booth GS, Gehrie EA, Bolan CD, Savani BN. Clinical guide to ABO-incompatible allogeneic stem cell transplantation. Biology of blood and marrow transplantation : journal of the American Society for Blood and Marrow Transplantation. 2013;19(8):1152-8.
64. DeSimone RA, Schwartz J, Schneiderman J. Extracorporeal photopheresis in pediatric patients: Practical and technical considerations. Journal of clinical apheresis. 2017;32(6):543-52.
65. Goussetis E, Varela I, Tsigotis PJT, Science A. Update on the mechanism of action and on clinical efficacy of extracorporeal photopheresis in the treatment of acute and chronic graft versus host disease in children. 2012;46(2):203-9.
66. Yamashita K, Horwitz ME, Kwatema A, Nomicos E, Castro K, Sokolic R, et al. Unique abnormalities of CD4+ and CD8+ central memory cells associated with chronic graft-versus-host disease improve after extracorporeal photopheresis. 2006;12(1):22-30.
67. Depil S, Duchateau P, Grupp SA, Mufti G, Poirot L. 'Off-the-shelf' allogeneic CAR T cells: development and challenges. Nature reviews Drug discovery. 2020;19(3):185-99.
68. Gaballa MR, Ramos CAJ. Cellular immunotherapy in lymphoma: beyond CART cells. 2020;21(3):1-15.
69. Rioufol C, Wichmann C. Receiving, Handling, Storage, Thawing, Distribution, and Administration of CAR-T Cells Shipped from the Manufacturing Facility. The EBMT/EHA CAR-T Cell Handbook: Springer, Cham; 2022. p. 37-43.
70. República A. Lei n.º 12/2009 de 26 de Março. Diário da República. 2009:1876-97.
71. República A. Lei n.º 1/2015 de 8 de janeiro. Diário da República. 2015:209-11.
72. República A. Lei n.º 99/2017 de 25 de agosto. Diário da República. 2017:5050-62.
73. CEN. NP EN ISO 9001. Sistema de Gestão da Qualidade Requisitos. 2015.
74. Sinderen Nv. Maintaining the Quality Management Program. Quality Management and Accreditation in Hematopoietic Stem Cell Transplantation and Cellular Therapy: Springer, Cham; 2021. p. 147-55.
75. Europeias CdC. Directivas 91/356/CEE. Jornal Oficial das Comunidades Europeias 1991:193/30-/33.
76. Warwick RM, Chapman J, Pruett TL, Wang HJ. Globally consistent coding systems for medical products of human origin. SciELO Public Health; 2013. p. 314-.
77. ICCBBA. ISBT 128 STANDARD Technical Specification. 2021.
78. Rabe F, Kadidlo D, Van Orsow L, McKenna DJT. Establishment of an unrelated umbilical cord blood bank qualification program: ensuring quality while meeting Food and Drug Administration vendor qualification requirements. 2013;53(10):2243-7.
79. Pinto A, Soares I. Sistemas de gestão da qualidade: guia para a sua implementação 2010.
80. CEN. NP EN ISO 9000. Sistema de Gestão da Qualidade Fundamentos e vocabulário. 2015.
81. CEN. NP EN ISO 9004. Gestão do sucesso sustentado de uma organização Uma Abordagem da gestão pela qualidade. 2009.

82. Johnson CNJQP. The benefits fo PDCA. 2002;35(5):120.
83. Kholif AM, Abou El Hassan DS, Khorshid MA, Elsherpieny EA, Olafadehan OAJJoFS. Implementation of model for improvement (PDCA-cycle) in dairy laboratories. 2018;38(3):e12451.
84. Harvey* LJJoHEP, Management. The power of accreditation: Views of academics. 2004;26(2):207-23.
85. Sanyal BC, Martin MJRHEitWafQAWiaS. Quality assurance and the role of accreditation: An overview. 2007.
86. Acreditação IPd. A ACREDITAÇÃO O que é a Acreditação? : IPAC; 2022 [Available from: <http://www.ipac.pt/ipac/funcacao.asp>].
87. Conselho PEed. Diretiva 2004/23/CE. Jornal Oficial da União Europeia. 2004;102/48-/58.
88. WHO. Annex 4 Supplementary guidelines on good manufacturing practices: validation. Fortieth report of the WHO Expert Committee on Specifications for Pharmaceutical Preparations: World Health Organization; 2006. p. 107-78.
89. Conselho PEed. Directiva 2006/86/CE. Jornal Oficial da União Europeia. 2006: 294/32-/50.
90. Lumpur K. Validations –Workshop on GMP and Quality Assurance of TB products. 2005.
91. Figueira F. Process Validation in Tissue and Cells Banking – Workshop on Regulation of Tissues and Cells. 2014.
92. COMMISSION E. Annex 15: Qualification and Validation. Guidelines for Good Manufacturing Practice for Medicinal Products for Human and Veterinary Use. 2015;Volume 4.
93. . EC. EudraLex The Rules Governing Medicinal Products in the European Union Volume 4: Good Manufacturing Practice Guidelines on Good Manufacturing Practice specific to Advanced Therapy Medicinal Products. 2017.
94. Ricardo Girão RT. Qualificação de Equipamentos e Sistemas – Telstar. 2012.
95. Pharmacopeia U, editor General Chapters:< 1058> Analytical Instrument Qualification2009: Rockville, MD: United States Pharmacopeial Convention.
96. Dock N, Osborne J, Brubaker S. American Association of Tissue Banks: Standards for tissue banking. McLean, VA: AATB; 2012.
97. Kallur T, Blomberg P, Stenfelt S, Tryggvason K, Hovatta OJSCB. Quality assurance in stem cell banking: emphasis on embryonic and induced pluripotent stem cell banking. 2017:11-6.
98. Marques JC. Boas Práticas Laboratoriais. Penteada-Madeira.
99. De Boer L, Labro E, Morlacchi PJEjop, management s. A review of methods supporting supplier selection. 2001;7(2):75-89.
100. Callery M, Nevalainen D, Kirst TJT. Quality systems and total process control in blood banking. 1994;34(10):899-906.
101. Zuck TJT. Current good manufacturing practices. 1995;35(11):955-66.
102. O'Shea O, Abranches EJSCR. UK Stem Cell Bank. 2020;49:102019.
103. Mascotti KMJTM. Quality Programs in Blood Banking and Transfusion Medicine. 2021:541-55.
104. Agency MC. Rules and Guidance for Pharmaceutical Manufacturers. London: HMSO1993.
105. Harvey E, Hewison C, Nevalainen D, Lloyd HJBr. Maintaining quality in blood banking. 1995;9(1):15-24.
106. Brooks JPJCilm. Quality improvement opportunities in blood banking and transfusion medicine. 2008;28(2):321-37.
107. Kim DUJlloh. The quest for quality blood banking program in the new millennium the American way. 2002;76(2):258-62.
108. Rodrigues RSM. Avaliação da estabilidade de Produtos de Terapia Celular criopreservados em azoto líquido 2021.

Anexos

Anexo 1: Comunicação oral e apresentação do trabalho “Correlação entre o número de células CD34⁺ CFU-GM em maus e bons mobilizadores: experiência de um centro” no XII Congresso da APIH, 2022

CO27 - CORRELAÇÃO ENTRE O NÚMERO DE CÉLULAS CD34⁺ E CFU-GM EM MAUS E BONS MOBILIZADORES: EXPERIÊNCIA DE UM CENTRO

Ana Guimarães¹; Fátima Amado²; Sérgio Lopes²; Filipa Bordalo²; Catarina Pinho²; Sara Ferreira²; Rita Relvas²; Sílvia Dias²; Rita Calisto²; Susana Roncon²

1 - ESS, IPP – Escola Superior de Saúde, Porto, Portugal; 2 - IPOPPG, EPE – Instituto Português de Oncologia do Porto

Introdução

A colheita de Células Progenitoras Hematopoiéticas (CPH) para transplante autólogo, é realizada por aférese após mobilização com fator de crescimento, granulocyte colony-stimulating (G-CSF). O produto de aférese, é submetido a controlo de qualidade, nomeadamente, a avaliação do conteúdo celular e a sua capacidade clonogénica. Consideram-se maus mobilizadores os doentes que, na 1^a mobilização, não colheram células CD34⁺/kg $\geq 2.5 \times 10^6$, necessárias para a recuperar a hematopoiese, e não obtiveram em cultura, unidades formadoras de colónias de granulócitos e macrófagos (CFU-GM) $\geq 1.0 \times 10^5$ /kg de peso do receptor.

Objetivos

Comparar os produtos de colheita de maus (população-estudo) e bons e mobilizadores (controlo) e analisar a correlação entre o n.º de células CD34⁺ e as CFU.

Material e métodos

Foi feita uma análise retrospectiva das colheitas de CPH, Aférese, num período compreendido entre janeiro de 2020 e dezembro de 2021. Estudaram-se produtos de doentes, 26 maus mobilizadores e 39 bons mobilizadores. As variáveis estudadas foram: idade, sexo, peso, patologia, dosagem de G-CSF, contagem de leucócitos e células CD34⁺ no SP; no produto de aférese avaliou-se o n.º células CD34⁺/kg e CFU-GM. A avaliação das células CD34⁺ foi feita por citometria de fluxo e as amostras in-

XII CONGRESSO APIH

53

cubadas com anticorpos anti-CD45 e anti-CD34 e analisadas pelo método ISHAGE, a capacidade clonogénica foi realizada pela cultura de células do produto em meio semi-sólido suplementado com fatores de crescimento. Os dados foram registados em Excel e a análise estatística realizada no software R 4.1.0.

Caso Clínico

Resultados: 56 amostras foram analisadas (Tabelas 1-3).

Conclusão

Os dados obtidos demonstram que a patologia, a dose de G-CSF e o n.º células CD34⁺/µl no SP influenciam com significância estatística o n.º de células CD34⁺/kg no produto de CPH. Os doentes com maior n.º células CD34⁺ no SP e no produto de aférese têm uma maior funcionalidade (> n.º CFU-GM), garantindo uma maior qualidade ao produto a ser infundido. Considera-se também que o n.º de células CD34⁺ à periferia é preditivo do sucesso da mobilização.

Tabela 1- Caracterização dos doentes

	População-estudo	Controlo	p-valor
Sexo	N(%)		
Fem.	15(57.7)	16(53.3)	0.9529*
Mas.	11(42.3)	14(46.7)	
Diagnóstico	N(%)		
Linfoma de Hodgkin	3(11.5)	8(26.7)	
Linfoma Não-Hodgkin	15(57.7)	6(20.0)	0.03*
Mieloma Múltiplo	4(15.4)	11(36.7)	
Outros	4(15.4)	5(16.7)	
Idade	Mediana[Min-Max]		
	57.5[1-71]	49.5[2-70]	<0.01*
Peso(kg)	68.8[19-96]	65.5[19-92]	<0.01*
Dosagem G-CSF(µg)	840[150-1920]	960[150-1920]	<0.01*
CD34⁺/µl SP	7[1-19]	47.5[1-144]	<0.01*

*Teste Qui-quadrado; *Teste Wilcoxon

Tabela 2 - Caracterização do Produto

	População-estudo	Controlo	p-valor
	Mediana[Min-Max]		
CD34⁺x10⁶/kg	0.48[0.03-2.45]	6.94[2.54-15.8]	<0.01*
Total Leuc.x10⁶	376[74.5-2260]	677[134-1760]	<0.01*
CFU-GMx10⁴	22.8[0-297]	620[145-1620]	<0.001*
CFU-GMx10⁵/kg	0.35[0-10.1]	8.2[0.85-22.1]	<0.001*

*Teste Wilcoxon

Tabela 3 - Correlação entre n.º CD34⁺ e CFU-GMx10⁵/kg

	Total		População-estudo		Controlo	
	C	p-valor	C	p-valor	C	p-valor
CD34⁺/kg	1.14	<0.001*	1.01	0.05*	0.77	<0.01*
CD34⁺/µl no SP	0.11	<0.001*	0.17	0.05*	0.06	0.01*

C:Constante; *Regressão linear Univariada

Revista Portuguesa de Imuno-Hematologia, nº3, Outubro 2022



Revista Portuguesa de Imuno-Hematologia, nº3, Outubro 2022



Correlação entre o número de células CD34⁺ e CFU-GM em maus e bons mobilizadores - experiência de um centro



Autores: Ana Guimarães, Fátima Amado, Sérgio Lopes, Filipa Bordalo, Catarina Pinho, Sara Ferreira, Rita Relvas, Sílvia Dias, Rita Calisto, Susana Roncon

P034 - ESTUDO COMPARATIVO DE DUAS TÉCNICAS DE DESCONGELAÇÃO DE CÉLULAS PROGENITORAS HEMATOPOIÉTICAS

Rita Relvas¹; Fátima Amado¹; Filipa Bordalo¹; Sérgio Lopes¹; Catarina Pinho¹; Sara Ferreira¹; Sílvia Dias¹; Ana Guimarães¹; Susana Roncon¹

1 - Serviço de Terapia Celular do Instituto Português de Oncologia do Porto Francisco Gentil, EPE, Porto, Portugal

Palavras-chave: descongelação "em banho", descongelação "a seco", CPH, viabilidade, funcionalidade

Objetivos

A descongelação de células progenitoras hematopoiéticas (CPH) para transplante utiliza a técnica clássica ou "em banho" que é feita num equipamento próprio. Mais recentemente foi introduzida na prática clínica a técnica "a seco" com o principal objetivo de prevenir a contaminação por microrganismos eventualmente presentes na água destilada. Com este estudo pretende-se garantir que, após descongelação, as características quantitativas e funcionais das células são preservadas na descongelação "a seco", comparando com a técnica "em banho".

Materiais e métodos

Foi realizada a descongelação, em paralelo, de dois sacos de CPH criopreservados referentes à mesma colheita de aférese, num total de 40 amostras, provenientes de doentes e doadores, com volumes compreendidos entre 47-148mL. Estas seguiram os mesmos critérios de processamento, armazenamento e estabilidade.

A técnica "em banho" foi realizada no equipamento JULABO, no qual o saco de CPH é imerso em água destilada, previamente aquecida a 37°C, sob agitação contínua pelo operador. Para a técnica "a seco" utilizou-se o equipamento TRANSMED, modelo SAHARA-TSC que realiza de forma automática, com monitorização do tempo, sob temperatura controlada e agitação constante, a descongelação homogénea do produto. A descongelação termina quando os cristais de gelo desaparecem totalmente e se obtém a viscosidade pretendida.

Para as duas técnicas foram avaliados: tempo de descongelação; viabilidade celular (método de exclusão de azul de tripano e marcação com 7-Amino-Actinomicina, 7-AAD); esterilidade (inoculação em hemoculturas em aerobiose/anaerobiose); funcionalidade das células (capacidade de diferenciação e de proliferação das CPH, após 14 dias em incubação na estufa de CO₂). Para as técnicas de citometria de fluxo, foram utilizados o citómetro BD FACSCANTOII e o contador hematológico Sysmex XN-9000.

robiose/anaerobiose); funcionalidade das células (capacidade de diferenciação e de proliferação das CPH, após 14 dias em incubação na estufa de CO₂). Para as técnicas de citometria de fluxo, foram utilizados o citómetro BD FACSCANTOII e o contador hematológico Sysmex XN-9000.

Resultados

Os resultados obtidos no estudo foram avaliados, estatisticamente, utilizando-se o teste *Wilcoxon signed-rank* e estão apresentados na seguinte tabela:

Não existem diferenças estatisticamente significativas nas medianas das variáveis em estudo entre as duas técnicas de descongelação, $p > 0,05$, verificando-se até valores ligeiramente superiores nos resultados da viabilidade celular e funcionalidade no descongelador "a seco".

A mediana do tempo de descongelação "em banho" foi maior na descongelação "a seco", não interferindo nos parâmetros em estudo.

Quanto ao controlo microbiológico, todas as amostras testadas se mantiveram estéreis.

Conclusão

Comparando os resultados obtidos nas duas técnicas de descongelação concluímos que as características funcionais e a avaliação quantitativa das CPH descongeladas pelo sistema "a seco" são sobreponíveis às obtidas pela descongelação "em banho".

A descongelação "a seco" é mais lenta, mas permite um processo homogéneo através do controlo da temperatura do produto e da autonomia na agitação constante dos sacos criogénicos ao longo do procedimento. Além disso existe baixa manipulação pelo operador e redução da probabilidade de contaminação das CPH, tornando a utilização deste equipamento benéfica na disponibilização final dos produtos de terapia celular para transplante.

Tabela 1

	"Em banho"		"A seco"		p-valor	
	Mediana	Min. - Máx.	Mediana	Min. - Máx.		
Tempo(min.)	2.1	1.2-3.0	6.4	4.1-11.0		
Viabilidade celular(%)	Azul tripano	76	58-94	81	51-94	0.051
	Células CD34+ (7-AAD)	99	96-100	99	98-100	0.627
	Células CD45+ (7-AAD)	76	50-95	77	44-93	0.827
N.º Unidades Formadoras de Colónias(UFC)	17	0-500	20	0-500	0.552	

Anexo 3: Poster do trabalho "Avaliação da eficácia da colheita de células mononucleares por aférese e posterior produção de células CAR-T" no XII Congresso da APIH, 2022

PO75 - AVALIAÇÃO DA EFICÁCIA DA COLHEITA DE CÉLULAS MONONUCLEARES POR AFÉRESE E POSTERIOR PRODUÇÃO DE CÉLULAS CAR-T

Silvia Dias¹; Fátima Amado¹; Filipa Bordalo¹; Rita Relvas¹; Sara Ferreira¹; Sérgio Lopes¹; Catarina Pinho¹; Ana Guimarães¹; Susana Roncon¹

1 - Serviço de Terapia Celular do Instituto Português de Oncologia do Porto

Palavras-chave: Aférese, CMNs, CAR-T

Objetivos

A utilização de Células *Chimeric Antigen Receptor* T (CAR-T), no tratamento de determinadas doenças hemato-oncológicas é considerada uma terapia avançada e inovadora. O primeiro passo para a produção de células CAR-T consiste na recolha de células mononucleares (CMNs) autólogas por aférese. Este estudo teve como objetivo a avaliação da eficácia da colheita de CMNs por aférese.

Materiais e métodos

Foram avaliadas 23 colheitas realizadas em 3 separadores *Spectra Optia* entre novembro/2019 e fevereiro/2022: 12 foram em doentes do sexo feminino e 11 do sexo masculino, com diagnóstico de LNH (n=22) e LLA (n=1), idade compreendida entre 18 e 70 anos e peso entre 47 e 106 Kg. Todas as colheitas avaliadas cumpriram com os requisitos exigidos pela empresa farmacêutica responsável pela posterior produção de CAR-T: Total de Células Nucleadas (TCN) $\geq 2 \times 10^9$, Total de células CD3+ $\geq 1 \times 10^8$ e %CD3+ $\geq 3\%$. Para o cálculo da eficácia da colheita dividiu-se o valor de [concentração de células CD3+ ($\times 10^9/L$)] obtidas no produto de aférese x volume do produto de aférese (L) pelo valor de [concentração de células CD3+ ($\times 10^9/L$)] no sangue periférico x volume de sangue processado (L). Os resultados foram obtidos por citome-

tria de fluxo através dos equipamentos BD FACSCANTO II (marcação com anticorpo CD3 e CD45) e *Symyx* XN-9000.

Resultados

A mediana da eficácia da colheita de células CD3+ obtida foi $\geq 58\%$ (Tabela 1). Aplicando o teste de *Kruskal-Wallis* verificou-se que não existem diferenças estatisticamente significativas na eficácia de colheita obtida nos 3 equipamentos de aférese (p= 0.503); verificou-se ainda que não existe diferença estatisticamente significativa na eficácia de colheita por género (p=0.268, Tabela 2). Através da correlação de *Spearman*, constatou-se que a idade e o peso não afetam a eficácia da colheita nos 3 equipamentos (respectivamente, p=0.397 e p=0.606) (Tabela 2). Os três separadores celulares permitiram a obtenção de um produto de aférese com um conteúdo celular que cumpre com os requisitos pretendidos.

Conclusão

Apesar de algumas colheitas apresentarem eficácia inferior à mediana, o produto obtido cumpriu com os requisitos pretendidos. Assim, considera-se que os separadores *Spectra Optia* apresentam um bom desempenho na recolha de células CD3+ para a produção de células CAR-T. Existem variáveis que podem influenciar a eficácia, mas são necessários estudos alargados para determinar o respetivo impacto.

Tabela 1- Avaliação da eficácia de colheita de células CD3+ nos equipamentos *Spectra Optia*. Mediana(Mínimo-Máximo).

Spectra Optia	TCN($\times 10^9$) PA*	T CD3+ ($\times 10^8$) PA*	%CD3+ PA*	Eficácia da colheita de CD3+(%)	p-valor
I	12.21	5.62	46	58(33-70)	0.503
II	16.37	8.68	53	70(18-99)	
III	10.63	5.73	54	72(34-100)	

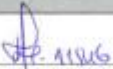
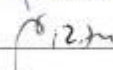
*PA - Produto de Aférese

Tabela 2 - Avaliação da eficácia de colheita de células CD3+ por Género, Idade e Peso. Mediana(Mínimo-Máximo).

	Eficácia da colheita de CD3+(%)	p-valor
Masculino	70(18-99)	0.268
Feminino	57(22-100)	
Idade	56(18-70)	0.397
Peso	81(47-106)	0.606

Anexo 4: Template utilizado no STC para a qualificação do DMSO. Domínio: Instalação

Serviço Terapia Celular	REGISTO DE QUALIFICAÇÃO	
-------------------------------	-------------------------	---

Objeto: Reagentes			
Tipo: Qualificação inicial		Domínio: Instalação	
Identificação			
Identificação: Dimethyl Sulfoxide (DMSO), FRS.10mL		Designação: Crioprotetor	
Justificação da requalificação: Mudança de lote P19100009			
Requisitos avaliados			
	Documentos associados	Valores aceitáveis	Resultados
Fornecedor qualificado	T.STC.52	Índices de qualidade ≥ 3 , criticidade ≤ 30	OK <input checked="" type="checkbox"/>
Embalagem apropriada conforme	Diretiva conselho da Europa 94/62/CE	Original, rotulada, limpa, intacta e selada	OK <input checked="" type="checkbox"/>
Documentos acompanhantes	Ficha técnica com marcação CE	1 Exemplar de instruções de utilização arquivado	OK <input checked="" type="checkbox"/>
Integridade física ou biológica do reagente	Por observação	Íntegro	OK <input checked="" type="checkbox"/>
Rótulo com especificações claramente descritas	Standards EN980 e EN1041	Conteúdo, fabricante, condições de armazenamento e data de validade	OK <input checked="" type="checkbox"/>
Condições de armazenamento apropriadas	Manual de segurança Ficha técnica T.STC.36	Temperatura ambiente, estruturas limpas	OK <input checked="" type="checkbox"/>
Rastreabilidade ao lote com identificação do material, stock mínimo definido, número de lote, data de receção, data de validade, inspeção visual, data de abertura e fecho	QAP10	Registo devidamente atualizado e assinado pelo responsável	OK <input checked="" type="checkbox"/>
Fabrico conforme	Anexo II da Diretiva do Conselho da Europa 93/42/EEC	Certificado de análise	OK <input checked="" type="checkbox"/>
			OK <input checked="" type="checkbox"/>
Observações/Conclusão			
Os resultados obtidos garantem a qualificação de instalação do reagente (por lote).			
Responsabilidades			
Elaborado por: Filipa Bordalo	Assinatura: 	Data: 26-03-2020	
Aprovado por: <i>Fátima Azevedo</i>	Assinatura: 	Data: 26.3.2020	

Impresso no iPOP_{Porto}

N.º Documento	N.º Versão	N.º Página
P.STC.11.01	00	1/1

Anexo 5: *Template* utilizado no STC para a qualificação do DMSO. Domínio: Operacionalidade

Serviço Terapia Celular	REGISTO DE QUALIFICAÇÃO	
-------------------------------	-------------------------	---

Objeto: Reagentes			
Tipo: Qualificação inicial		Domínio: Operacionalidade	
Identificação			
Identificação: Dimethyl Sulfoxide (DMSO), FRS.10mL		Designação: Crioprotetor	
Justificação da requalificação: Mudança de lote P19100009			
Requisitos avaliados			
	Documentos associados	Valores aceitáveis	Resultados
Especificidades	Ficha técnica	Estéril, de uso único	OK <input checked="" type="checkbox"/>
Procedimentos bem definidos e de fácil acesso	SOP.STC.15	Disponibilizados na pasta partilhada e no arquivo	OK <input checked="" type="checkbox"/>
Formação do profissional operador	P.STC.01.02/02.10/07.07	Documentos devidamente atualizados	OK <input checked="" type="checkbox"/>
Eliminação de resíduos hospitalares	Procedimentos institucionais estabelecidos pelo Serviço de Gestão Hoteleira	Conformidade	OK <input checked="" type="checkbox"/>
Verificação lote-a-lote	Arquivo do Serviço	Viabilidade celular amostra congelada / amostra a fresco \geq 80%	OK <input checked="" type="checkbox"/>
			OK <input type="checkbox"/>
			OK <input type="checkbox"/>
			OK <input type="checkbox"/>
			OK <input type="checkbox"/>
			OK <input type="checkbox"/>
			OK <input type="checkbox"/>
Observações/Conclusão			
Os resultados obtidos garantem a qualificação de operacionalidade (por lote).			
Responsabilidades			
Elaborado por: Filipa Bordalo	Assinatura: 	Data: 26-03-2020	
Aprovado por: <i>Fátima Azevedo</i>	Assinatura: 	Data: 26-03-2020	

Impresso no IPOPorto

N.º Documento	N.º Versão	N.º Página
P.STC.11.01	00	1/1

Anexo 6: *Template* utilizado no STC para a qualificação do DMSO. Domínio: Desempenho

Serviço Terapia Celular	REGISTO DE QUALIFICAÇÃO	
-------------------------------	-------------------------	--

Objeto: Reagentes			
Tipo: Qualificação inicial		Domínio: Desempenho	
Identificação			
Identificação: Dimethyl Sulfoxide (DMSO), FRS.10mL		Designação: Crioprotetor	
Justificação da requalificação: Mudança de lote P19100009			
Requisitos avaliados			
	Documentos associados	Valores aceitáveis	Resultados
Plano de validação	P.STC.04.01.12/29/39	No mínimo 5 amostras	OK <input checked="" type="checkbox"/>
Ocorrências descritas na materiovigilância	T.STC.66 - Materiovigilância	Documentos preenchidos, datados e assinados	OK <input checked="" type="checkbox"/>
			OK <input type="checkbox"/>
			OK <input type="checkbox"/>
			OK <input type="checkbox"/>
			OK <input type="checkbox"/>
			OK <input type="checkbox"/>
			OK <input type="checkbox"/>
Observações/Conclusão			
Os resultados obtidos garantem a qualificação de desempenho do reagente (por lote).			
Responsabilidades			
Elaborado por: Filipa Bordalo	Assinatura:	Data: 28-05-2020	
Aprovado por: <i>Fátima Amado</i>	Assinatura:	Data: 28.5.2020	

Impressão no P.O.P.O.

N.º Documento	N.º Versão	N.º Página
P.STC.11.01	00	1/1