

Controle de esterilidade de produtos de células progenitoras hematopoéticas do sangue periférico

Sterility control of hematopoietic progenitor cells from peripheral blood products

Igor D. Almeida¹

Adriana S. Coitinho²

Clarice A. Juckowsky³

Tissiana Schmalfluss⁴

Almeri M. Balsan³

Liane M. Röhsig⁵

A taxa de contaminação microbiana dos produtos de células progenitoras hematopoéticas do sangue periférico é baixa. Neste estudo pesquisou-se a prevalência de hemoculturas positivas em células progenitoras hematopoéticas do sangue periférico (CPHSP) no Serviço de Hemoterapia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre. Do total de 618 coletas realizadas no período de 2000 a 2007, 26 (4,2%) apresentaram contaminação por bactérias. O Staphylococcus coagulase-negativo foi predominantemente isolado nas hemoculturas. A antibioticoterapia pré e pós-infusão foi estabelecida de acordo com o microorganismo e seu antibiograma, sendo que, em cinco das doze infusões contaminadas realizadas, não foram administrados antimicrobianos profilaticamente. Episódios febris foram observados em sete pacientes (58%), enquanto cinco (42%) não apresentaram febre. Das doze infusões contaminadas realizadas, seis (50%) apresentaram hemocultura pós-descongelamento positivas, enquanto as restantes (50%) foram negativas. Isto se deve às propriedades bactericidas do DMSO, de células fagocitose-ativas e de temperaturas muito baixas atingidas na criopreservação. Autores têm relatado sucesso neste procedimento após a infusão desses produtos contaminados com o mínimo de consequências clínicas. Rev. Bras. Hematol. Hemoter.

Palavras-chave: Sangue; transplante de células-tronco hematopoéticas; controle de qualidade; padrões de referência.

Introdução

As células progenitoras hematopoéticas do sangue periférico (CPHSP) são comumente utilizadas para transplantes autólogos e alogênicos em pacientes com as mais variadas neoplasias onco-hematológicas. As células progenitoras hematopoéticas (CPH) são capazes de se autorrenovarem e de se diferenciarem em todas as linhagens de células sanguíneas. A fonte tradicional para a obtenção da CPH é a medula óssea, coletada por meio de múltiplas punções e aspirações

das cristas ilíacas posteriores. O material aspirado contém hemácias, leucócitos, plaquetas, mastócitos, plasmócitos e células progenitoras hematopoéticas pluripotentes. Nos últimos anos, a coleta de CPHSP, via aférese, vem sendo cada vez mais utilizada. A combinação de doses elevadas de quimioterapia juntamente com o transplante dessas células constitui o tratamento padrão para muitas doenças onco-hematológicas.

A obtenção, o processamento, o armazenamento e o próprio transplante do produto envolvem várias etapas que

¹ Biomédico. Pesquisador do Serviço de Hemoterapia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre-RS.

² Farmacêutica bioquímica. Professora do Centro Universitário Metodista IPA

³ Médica hemoterapeuta do Serviço de Hemoterapia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre-RS.

⁴ Farmacêutica bioquímica do Serviço de Hemoterapia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre-RS.

⁵ Farmacêutica bioquímica. Chefe da Unidade de Criobiologia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre-RS.

Hospital de Clínicas de Porto Alegre-RS.

Correspondência: Igor Dullius Almeida
Hospital de Clínicas de Porto Alegre, Serviço de Hemoterapia
Rua Ramiro Barcelos 2350 – Santa Cecília
90035-903 – Porto Alegre-RS – Brasil
Tel: (55 51) 3443-3393
E-mail: igordullius@yahoo.com.br

normalmente são realizadas em diferentes locais e ambientes. A manipulação do produto de CPHSP durante o processamento e o período pré e pós-criopreservação constituem uma fonte potencial de contaminação bacteriana nestas células.¹

Desta forma, para se assegurar um produto final adequado para o transplante é essencial seguir uma política de controle de qualidade. Tais controles devem incluir contagem de células CD34+, avaliação de viabilidade celular, acompanhamento microbiológico, entre outros.²

No que se refere à contaminação microbiológica de CPHSP, estudos têm demonstrado que:

- Algumas espécies de bactérias e fungos podem sobreviver à criopreservação;
- Comumente, a contaminação ocorre por espécies de bactérias que fazem parte da microbiota normal da pele;
- O risco de contaminação microbiana e as taxas de contaminação variam de 0% a 4,5%;
- A Food and Drug Administration (FDA) estimou que, eliminando o risco de contaminação de CPHSP, evitar-se-iam sete mortes anuais devido a infecções.³

As infecções são a principal causa de mortalidade e morbidade em transplantados, seja em transplante de medula óssea (TMO) ou de CPHSP, pois estes pacientes têm sua imunidade humoral e celular debilitada.⁴ Apesar da utilização de técnicas estéreis durante a coleta e o processamento desses produtos, a contaminação bacteriana pode ocorrer. Estes produtos devem ser administrados apenas com o consentimento informado do paciente e com a aprovação do médico. Orientações pormenorizadas para infusão de CPHSP contaminadas não estão disponíveis, mas várias diretrizes foram estabelecidas para impedir ou detectar a contaminação microbiana desses produtos.

O guia de Boas Práticas de Fabricação (BPF) da União Européia descreve as condições gerais, instalações, equipamentos, documentação e controle de qualidade de componentes de sangue. Regulamentos similares estão disponíveis através da Food and Drug Administration (FDA), American Association of Blood Banks (AABB) e Foundation for the Accreditation of Hematopoietic Cell Therapy (FAHCT).

O principal objetivo deste estudo foi investigar a prevalência de hemoculturas positivas nos produtos de células progenitoras hematopoéticas do sangue periférico (CPHSP) no período compreendido entre os anos de 2000 a 2007 em pacientes do Serviço de Hemoterapia do Hospital. Paralelamente, investigaram-se as principais bactérias contaminantes do produto de CPHSP e se estabeleceu o perfil patológico dos pacientes que realizaram a coleta de CPHSP. A antibioticoterapia pré e pós-infusão destas células contaminadas também foi investigada, além da descrição dos resultados das hemoculturas pós-descongelamento da bolsa e a sintomatologia (afébril ou febril) após a infusão contaminada.

Material e Método

Trata-se de um estudo observacional transversal retrospectivo, com levantamento e análise quantitativa de dados. Analisaram-se, primeiramente, os protocolos de coleta de CPHSP dos pacientes que a realizaram no período de 2000 a 2007 no Serviço de Hemoterapia do Hospital de Clínicas de Porto Alegre, para averiguação do número de coletas realizadas neste período e, destas, quantas obtiveram hemoculturas positivas. Posteriormente, foram consultados os prontuários dos pacientes que obtiveram hemoculturas positivas descritas no protocolo de coleta para levantamento das variáveis. Os protocolos que não continham o resultado da hemocultura foram consultados diretamente nos prontuários. Esta pesquisa foi aprovada pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital, o qual é credenciado junto à Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (Conep) do Ministério da Saúde e ao Office for Human Research Protection (OHRP) dos Estados Unidos, sob protocolo 08-090.

Análise estatística

Os dados foram organizados em um banco de dados no Excel 2000 e apresentados através de análise de frequência.

Análise microbiológica

Para o controle de esterilidade dos produtos de CPHSP, após o processo de criopreservação (antes do congelamento), amostras de 3 ml do produto eram inoculadas em tubos pediátricos de hemoculturas com 20 ml de carvão ativado (BacT/Alert® BioMérieux Corporate) PF, FAN, volume reduzido; 20 ml de caldo tripticase soja enriquecido com peptona, suplementado com sólidos BHI e carvão ativado). As hemoculturas eram enviadas para o setor de microbiologia, onde eram incubadas por um período máximo de cinco dias. Quando positivas, eram realizados microscopia e isolamento das culturas, e, posteriormente, sua identificação era realizada através de testes bioquímicos padronizados.

Os estudos microbiológicos foram realizados em aparelho automatizado BacT/Alert® (BioMérieux Corporate) a 36°C. Os produtos foram transformados (Criopreservação) em capela de fluxo laminar "Classe I" com filtros HEPA (Veco do Brasil Ind. Com. Equipamentos Ltda).

Resultados

No período 2000 a 2007 foram realizadas 618 coletas de CPHSP no Serviço de Hemoterapia do hospital. Destas, 330 pacientes realizaram uma média de 1,9 coletas. Na Tabela 1, observam-se as principais patologias apresentadas pelos pacientes submetidos à coleta de CPHSP, verificando-se que a maioria apresentava mieloma múltiplo (n=120), seguido por linfoma de Hodgkin (n=59), linfoma não Hodgkin (n=54), leucemia mieloide aguda (n=25), neuroblastoma (n=17),

Tabela 1. Perfil patológico dos pacientes que realizaram coleta de CPHSP no Serviço de Hemoterapia (2000-2007)

| Patologia | n (%) |
|-------------------------|-----------|
| Mieloma múltiplo | 120 (36) |
| Linfoma de Hodgkin | 59 (18) |
| Linfoma não Hodgkin | 54 (16) |
| Leucemia mieloide aguda | 25 (8) |
| Neuroblastoma | 17 (5) |
| Tumor de Wilms | 12 (4) |
| Meduloblastoma | 11 (3) |
| Sarcoma de Ewing | 6 (2) |
| Outras neoplasias | 26 (8) |
| Total | 330 (100) |

tumor de Wilms (n=12), meduloblastoma (n=11), sarcoma de Ewing (n=6) e outras neoplasias (n=26).

Vinte e seis das 618 coletas (4,2%) obtiveram hemoculturas positivas para bactérias. A maioria das espécies encontradas faz parte da microbiota normal da pele. O organismo mais frequentemente isolado foi o *Staphylococcus* coagulase-negativo com 11 (42%) do total de 26 hemoculturas positivas, seguido por *Staphylococcus aureus* com seis (23%), *Bacillus sp* com três (12%), Bacilo gram positivo corineforme com três (12%), Bacilo gram positivo não corineforme com um (4%), *Enterobacter sp* com um (4%) e *Citrobacter freundii* com um (4%).

Do total de 26 coletas contaminadas, 12 foram infundidas e 14 desprezadas, por opção do médico.

A antibioticoterapia pré e pós-infusão (Tabela 2) dos produtos contaminados foi estabelecida baseada no microorganismo isolado e seu antibiograma. Apesar de cinco das 12 infusões não terem recebido profilaxia com antimicrobianos, todos a receberam no momento ou após a infusão das CPHSP.

A partir das 12 infusões contaminadas realizadas, sete pacientes (58%) apresentaram pico febril e cinco (42%) não apresentaram episódios de febre.

No momento da infusão, após o descongelamento da bolsa de sangue, alíquotas são retiradas para nova hemocultura. Tal ação serve para verificar possível contaminação na hora do descongelamento em banho-maria. Se a contaminação foi anterior ao momento da infusão, verifica-se se ainda há viabilidade do microorganismo isolado.

Das 12 infusões contaminadas realizadas, seis (50%) apresentaram hemocultura pós-descongelamento positiva, enquanto as restantes (50%) hemoculturas foram negativas.

Discussão

Este estudo está de acordo com outros publicados, demonstrando que a taxa de contaminação microbiana dos produtos de CPHSP é baixa.⁵⁻¹²

No grupo de 330 pacientes (Tabela 1) que realizaram um total de 618 coletas de CPHSP, no período de 2000 a 2007, verificou-se que 26 (4,2%) estavam contaminadas bacteriologicamente. Estudos prévios relataram taxas de contaminação microbiana, no mesmo intervalo, variando de 1,6 a 4,5%.⁵⁻¹²

A incidência de contaminação microbiana varia de acordo com a fonte dessas células. Kamble *et al.*⁶ demonstraram que quatro de 26 coletas (15%) eram de sangue de cordão umbilical, oito de 177 (4,5%) de medula óssea, e 21 de 532 (3,9%) foram de sangue periférico.

O organismo predominantemente isolado neste estudo foi o *Staphylococcus* coagulase-negativo com 11 (42%) do total de 26 hemoculturas positivas. Na maioria dos estudos publicados anteriormente, o microorganismo mais frequentemente identificado, tanto em produtos de medula óssea quanto de CPHSP, também foi o *Staphylococcus* coagulase-negativo e outras espécies colonizadoras da pele e contaminantes da água.^{1,2,5-7,11-23}

As fontes potencialmente contaminantes dos produtos de CPHSP podem ser: reagentes, acesso venoso através

Tabela 2. Antibioticoterapia realizada pré e pós-infusão das CPHSP contaminadas*

| Bactéria | Pré-Infusão | Pós-Infusão |
|--------------------------------------|---------------------------------|----------------------------|
| Bacilo gram+ não corineforme | Não administrado | Norfloxacina |
| <i>Staphylococcus</i> coagulase neg. | Não administrado | Ampicilina+ Cefepime |
| <i>Bacillus sp</i> | Ciprofloxacina | Vancomicina+Ciprofloxacina |
| <i>Staphylococcus</i> coagulase neg. | Sulfa+Trimetropim | Vancomicina |
| <i>Staphylococcus</i> coagulase neg. | Ciprofloxacina | Oxacilina+Cefepime |
| <i>Staphylococcus</i> coagulase neg. | Não administrado | Gentamicina+Cefepime |
| <i>Staphylococcus</i> coagulase neg. | Não administrado | Vancomicina+Cefepime |
| <i>Bacillus sp</i> | Não administrado | Vancomicina+Cefepime |
| <i>Enterobacter sp.</i> | Norfloxacina+ Sulfa+trimetropim | Cefepime |
| <i>Staphylococcus</i> coagulase neg. | Oxacilina | Vancomicina+Cefepime |
| <i>Bacillus sp</i> | Cefepime | Amicacina |
| Bacilo gram+ corineforme | Ciprofloxacina | Vancomicina+Cefepime |

*As infusões contaminadas acima descritas foram realizadas em diferentes pacientes

de cateteres, falha na assepsia, processamento dessas células, rompimento das bolsas, equipamentos utilizados como banho-maria, incubadoras e centrifugas.^{1,2,6,7,11,12,14-23}

Doze das 26 coletas contaminadas foram infundidas, sendo que sete (58%) dos pacientes que as receberam apresentaram episódios febris, e o restante, cinco (42%), não apresentou tal sintoma. Webb *et al.*¹¹ relataram que dois dos 75 pacientes que receberam a infusão de CPHSP contaminadas apresentaram febre. Larrea *et al.*² mostraram que, dos 28 pacientes que receberam produtos contaminados, 19 desenvolveram febre após o transplante com hemocultura positiva. Autores têm relatado sucesso neste tipo de procedimento após a infusão desses produtos contaminados, com o mínimo de consequências clínicas.^{6,16,24} No presente estudo, 14 coletas das 26 contaminadas foram desprezadas. A Tabela 3 sugere considerações que devem ser analisadas na hora de decidir desprezar ou administrar o produto, pois um estudo apoia a ideia de que os produtos de CPH contaminados não devem ser automaticamente descartados, pois, quando administrados com precauções adequadas, não causam efeitos adversos e nem sequelas significativas.²⁵

A contaminação com resultados clinicamente significativos é incomum, com uma incidência de 0,29% a partir de casos notificados.⁶

Klein *et al.*¹⁴ relataram um caso no qual o paciente evoluiu a óbito devido à falência múltipla dos órgãos depois de ter recebido o produto contaminado com *Burkholderia cepacia*, mesmo iniciando antes a infusão de antimicrobianos adequados. Além disso, dados mostram que os produtos de CPH podem ser contaminados com bactérias potencialmente patogênicas, como *Staphylococcus aureus* metilina-resistente, podendo ser um risco à vida de pacientes imunodeprimidos.⁶

É importante ressaltar que a contaminação bacteriana desses produtos não afeta a cinética do transplante nos pacientes. Foi o que demonstraram Schwella *et al.*²³ comparando o tempo de recuperação hematopoética, a duração da febre e os dias de administração de antimicrobianos em pacientes que receberam CPH contaminadas em comparação com aqueles que recebiam produtos livres de contaminação; nenhuma diferença significativa entre os dois grupos foi encontrada.

Estudos mostram que os pacientes normalmente recebem antibioticoterapia antes da infusão do produto contaminado, com base no organismo isolado e sensibilidade ao antibiograma para melhor resposta contra possível infecção.^{5,14}

A decisão de administrar profilaticamente os antimicrobianos difere de centro para centro. Kamble *et al.*⁶ relataram que a profilaxia é desnecessária, visto que a maioria das contaminações é por bactérias não patogênicas e que as infusões destas raramente ocasionam bacteremia ou septicemia.

Como foi visto anteriormente em nosso estudo, em 12 das infusões contaminadas realizadas, seis (50%) apresentaram hemoculturas, após descongelamento, positivas, sendo que as bactérias isoladas foram na maioria gram-positivas: *Bacillus sp* (1), *Staphylococcus coagulase-negativo* (4), seguidas por gram-negativas: *Enterobacter sp* (1), enquanto as restantes (50%) hemoculturas, pós-descongelamento, foram negativas. Vários podem ser os fatores que ocasionaram tal acontecimento. Uma possível razão para este achado poderia ser um número muito baixo de unidades formadoras de colônias (UFCs) de contaminação bacteriana no componente. Outra possibilidade poderia ser a potencial propriedade bactericida do crioprotetor dimetilsulfóxido (DMSO).^{10,25} A adição de crioprotetores penetrantes, tais como o DMSO, diminui o volume de água para formação de cristais de gelo e, conseqüentemente, o grau de desidratação da célula. Isso resulta em uma adequada criopreservação das células hematopoéticas.²⁶

A criopreservação leva a uma perda significativa de células; assim, pode-se argumentar que uma bactéria também poderia ser afetada por este processo. Kipp *et al.*³ demonstraram que as UFCs diminuem após o processo de criopreservação. Para o *Staphylococcus epidermidis*, essa diferença resultou em uma diminuição, em média, de 13,7%. Outra causa poderia ser a presença de células fagocíticas ativas, eliminando uma parte das bactérias existentes.³ Bactérias gram-positivas (contaminantes mais comuns) podem sobreviver à criopreservação.⁶ A sobrevivência do *Staphylococcus coagulase-negativo*, após o processo de criopreservação, tem sido relatada como variável. Alguns autores relatam que tais bactérias não conseguiram sobreviver após o congelamento, enquanto outros autores afirmam que o *Staphylococcus coagulase-negativo* poderia sobreviver à criopreservação e aos procedimentos de descongelamento.^{5,12,16,23}

Evidências mostram que há impacto das condições de assepsia nas salas de manipulação de CPH sobre a taxa de contaminação bacteriana nestes produtos, mostrando que há uma queda considerável após implementação de boas práticas de fabricação. Registra-se uma diminuição de 5,2% em uma bancada limpa de um laboratório normal, para 0,8% em uma com as condições certificadas.⁸

Tabela 3. Considerações sobre administração de produtos CPH com hemoculturas positivas. Padley *et al.*²⁵

| Administrar o produto | Descartar o produto |
|--------------------------------------------------------------------|------------------------------------------------------------|
| Crescimento lento do organismo | Rápido crescimento do organismo |
| Contaminante ambiental ou pele | Organismos entéricos ou patogênicos |
| O doador ou paciente não está disponível para nova coleta | Produto pode ser facilmente substituído |
| Novo produto requer remobilização com colocação de cateter central | Paciente pode tolerar atrasos e recoletas |
| Produto contém maioria do total de dose de células | Produto contém pequeno percentual de dose total de células |

Desta forma, o controle de qualidade e as boas práticas na manipulação e conservação de reagentes e equipamentos utilizados na criopreservação das células são fundamentais para fornecer aos pacientes produtos mais seguros, com a redução de prováveis fontes de contaminação. Por este motivo, na maioria dos países que possuem centros que realizam o processamento de células progenitoras hematopoéticas, há supervisão e acreditação por organizações certificadoras específicas.¹⁵

Conclui-se que a contaminação dos produtos de CPHSP é baixa e causada, principalmente, por microbiota normal da pele, podendo sobreviver ao processo de criopreservação. Verifica-se que a contaminação destes produtos não compromete, na maioria das vezes, o sucesso do transplante. Constata-se ainda que os processos, desde a coleta até a infusão das CPHSP, realizados no Serviço de Hemoterapia do Hospital estão de acordo com os parâmetros de centros internacionalmente reconhecidos e certificados.

Abstract

The rate of microbial contamination of hematopoietic progenitor cell products from peripheral blood is low. In this study, we investigated the prevalence of positive blood cultures of hematopoietic progenitor cells from peripheral blood in a hemothrapy service. Of a total of 618 samples taken during the period from 2000 to 2007, 26 (4.2%) were contaminated by bacteria. Staphylococcus coagulase-negative was the predominant bacterium isolated in blood cultures. Pre- and post-infusion antibiotic therapy was established depending on the microorganism and antibiogram, whereas in five out of twelve contaminated infusions, no antibiotics were administered prophylactically. Febrile episodes were observed in seven patients (58%), while five (42%) did not suffer from fever. Of the twelve contaminated infusions performed, six (50%) of the samples had positive blood cultures after thawing, while the others (50%) were negative. This is due to the bactericidal properties of DMSO, phagocytosis-active cells and the extremely low temperatures during cryopreservation. Authors have reported success in the procedure after the infusion of contaminated products with minimal clinical consequences. Rev. Bras. Hematol. Hemoter.

Key words: Blood; hematopoietic stem cell transplantation; quality control; reference standards.

Referências Bibliográficas

- Hirji Z, Saragosa R, Dedier H, Crump M, Franke N, Burrows L, et al. Contamination of bone marrow products with an actinomycete resembling Microbacterium species and reinfusion into autologous stem cell and bone marrow transplant recipients. Clin Infect Dis. 2003;36(10):e115-21.
- Larrea L, de la Rubia J, Soler MA, Ribas P, Fernández JM, Picón I, et al. Quality control of bacterial contamination in autologous peripheral blood stem cells for transplantation. Haematologica 2004;89(10):1232-7.
- Kipp F, Linnemann E, Fischer RJ, Sibrowski W, Cassens U. Cryopreservation reduces the concentration of detectable bacteria in contaminated peripheral blood progenitor cell products. Transfusion 2004;44(7):1098-103.
- Aksu G, Ruhi MZ, Akan H, Bengisun S, Ustün C, Arslan Ö et al. Aerobic bacterial and fungal infections in peripheral blood stem cell transplants. Bone Marrow Transplant. 2001;27(2):201-5.
- Patah PA, Parmar S, McMannis J, Sadeghi T, Karandish S, Rondon G et al. Microbial contamination of hematopoietic progenitor cell products: clinical outcome. Bone Marrow Transplant. 2007; 40(4):365-68.
- Kamble R, Pant S, Selby GB, Kharfan-Dabaja MA, Sethi S, Kratochvil K, et al. Microbial contamination of hematopoietic progenitor cell grafts-incidence, clinical outcome, and cost-effectiveness: an analysis of 735 grafts. Transfusion. 2005; 45(6):874-8.
- Lowder JN, Whelton P. Microbial contamination of cellular products for hemolymphoid transplantation therapy: assessment of the problem and strategies to minimize the clinical impact. Cytotherapy. 2003;5(5):377-90.
- Ritter M, Schwedler J, Beyer J, Movassaghi K, Mutters R, Neubauer A, et al. Bacterial contamination of ex vivo processed PBPC products under clean room conditions. Transfusion. 2003; 43(11):1587-95.
- Padley DJ, Greiner CW, Heddlesten TL, Hopkins MK, Maas ML, Gastineau DA. Endogenous microbial contamination of cultured autologous preparations in trials of cancer immunotherapy. Cytotherapy. 2003;5(2):147-52.
- Cassens U, Ahlke C, Garritsen H, Krakowitzky P, Wüllenweber J, Fischer RJ et al. Processing of peripheral blood progenitor cell components in improved clean areas does not reduce the rate of microbial contamination. Transfusion. 2002;42(1):10-7.
- Webb II, Coral PS, Andersen JW. Sources and sequelae of bacterial contamination of hematopoietic stem cell components: implications for the safety of hematotherapy and graft engineering. Transfusion. 1996;36(9):782-8.
- Prince HM, Page SR, Keating A, Saragosa RF, Vukovic NM, Imrie KR, et al. Microbial contamination of harvested bone marrow and peripheral blood. Bone Marrow Transplant. 1995; 15(1):87-91.
- Nifong TP, Ehmann WC, Mierski JA, Domen RE, Rybka WB. Favorable outcome after infusion of coagulase-negative Staphylococci-contaminated peripheral blood hematopoietic cells for autologous transplantation. Arch Pathol Lab Med. 2003;127 (1):e19-e21.
- Klein MA, Kadidlo D, McCullough J, McKenna DH, Burns LJ. Microbial contamination of hematopoietic stem cell products: Incidence and clinical sequelae. Biol Blood Marrow Transplant. 2006;12(11):1142-9.
- Mele L, Dallavalle FM, Verri MG, Balza G, Allione B, Salvi F, et al. Safety control of peripheral blood progenitor cell processing-eight year-survey of microbiological contamination and bag ruptures in a single institution. Transfus Apher Sci. 2005;33 (3): 269-74
- Jestice HK, Farrington M, Hunt C, Matthews I, Scott MA, Foreman J, et al. Bacterial contamination of peripheral blood progenitor cells for transplantation. Transfus Med. 1996;6(2):103-10.
- Padley D, Koontz F, Trigg ME, Gingrich R, Strauss RG. Bacterial contamination rates following processing of bone marrow and peripheral blood progenitor cell preparations. Transfusion. 1996; 36(1):53-6.
- Espinosa MTF, Fox R, Creger RJ, Lazarus HM. Microbiologic contamination of peripheral blood progenitor cells collected for

- hematopoietic cell transplantation. *Transfusion*. 1996;36(9):789-93.
19. Attarian H, Bensinger WI, Buckner CD, McDonald DL, Rowley SD. Microbial contamination of peripheral blood stem cell collections. *Bone Marrow Transplant*. 1996;17(5):699-702.
 20. Smith D, Bradley SJ, Scott GM. Bacterial contamination of autologous bone marrow during processing. *J Hosp Infect*. 1996;33(1):71-6.
 21. Farrington M, Matthews I, Jestice HK, Scott MA, Marcus RE, Hunt C, *et al*. Bacterial contamination of autologous bone marrow during processing. *J Hosp Infect*. 1996;34(3):230-3.
 22. Fountain D, Ralston M, Higgins N, Gorlin JB, Uhl L, Wheeler C, *et al*. Liquid nitrogen freezers: a potential source of microbial contamination of hematopoietic stem cell components. *Transfusion*. 1997;37(6):585-91.
 23. Schwella N, Rick O, Heuft HG, Miksits K, Zimmermann R, Zingsem J, *et al*. Bacterial contamination of autologous bone marrow: reinfusion of culture-positive grafts does not result in clinical sequelae during the post transplantation course. *Vox Sang*. 1998;74(2):88-94.
 24. Nasser RM, Hajjar I, Sandhaus LM, Hall GS, Avery RK, Bolwell BJ, *et al*. Routine cultures of bone marrow and peripheral stem cell harvests: clinical impact, cost analysis, and review. *Clin Infect Dis*. 1998;27(4):886-8
 25. Padley DJ, Dietz AB, Gastineau DA. Sterility testing of hematopoietic progenitor cell products: a single-institution series of culture-positive rates and successful infusion of culture-positive products. *Tranfusion*. 2007;47(4):636-43.
 26. Massumoto CM, Mizukami S, Campos MF, Silva LAG, Mendrone Junior A, Sakashita A *et al*. Criopreservação de medula óssea utilizando um congelador programável: experiência em 86 congelamentos. *Rev Assoc Med Bras*. 1997;43:93-8.

Avaliação: Editor e dois revisores externos

Conflito de interesse: sem conflito de interesse

Recebido: 24/03/2009

Aceito após modificações: 17/05/2009