



Experiência do Biobanco do Hospital de Câncer de Barretos na pesquisa translacional em oncologia

Aline Oliveira da Rocha^{1,2}, Ana Caroline Neuber^{1,2}, Cássio Hoft Tostes^{1,2}, Márcia Maria Chiquitelli Marques^{1,2,3}

¹Centro de Pesquisa em Oncologia Molecular, Hospital de Cancer de Barretos, Barretos, SP, Brasil

²Biobanco Hospital de Câncer de Barretos, Barretos, SP, Brasil

³Faculdade de Ciências da Saúde de Barretos - Dr. Paulo Prata, SP, Brasil

RESUMO

Introdução: O Biobanco do Hospital de Câncer de Barretos (BB-HCB) foi fundado em 2006, diante da necessidade de criar um acervo de amostras biológicas humanas normais e tumorais com finalidade de pesquisa. Biobanco é uma coleção organizada de material biológico e informações associadas, coletadas e armazenadas de acordo com padrões técnico, éticos e operacionais, sem finalidade comercial, sob responsabilidade e gestão institucional. A existência desta coleção permite desenvolvimento da pesquisa translacional, especialmente em oncologia, permite maior acesso as características moleculares de pacientes e indivíduos sem câncer. **Objetivo:** Dessa forma, este estudo teve como objetivo caracterizar o acervo de material biológico humano do BB-HCB e demonstrar a importância de um fluxo de trabalho organizado no que tange o consentimento informado adequado dos participantes, transporte, processamento, armazenamento e gerenciamento de amostras biológicas. Resultados: Atualmente, o BB-HCB é um dos maiores BioBancos da América Latina contendo um acervo de amostras humanas normais e tumorais armazenadas. Apesar dos inúmeros desafios, o acervo de amostras mostra um constante e expressivo aumento ao longo dos anos fazendo com que o BB-HCB esteja inserido em projetos e consórcios tanto nacionais quanto internacionais permitindo assim participação do HCB na pesquisa translacional em oncologia no Brasil e no mundo. **Conclusão:** A experiência do BB-HCB quanto ao consentimento livre e esclarecido bem como a coleta, processamento, armazenamento e gerenciamento de amostras biológicas mostra a importância de se estabelecer um processo organizado para que a qualidade seja garantida permitindo assim o desenvolvimento de pesquisas nacionais e internacionais na área.

Palavras-chave: Biobanco, amostras biológicas criopreservadas, oncologia, pesquisa translacional.

ABSTRACT

Introduction: Barretos Cancer Hospital Biobank (BB-HCB) was founded in 2006, due to the need to create a collection of normal and tumor human biological samples for research purposes. Biobank is an organized collection of biological material and associated information, collected and stored in accordance with technical, ethical and operational standards, not for commercial purposes, under the responsibility and institutional management. The existence of this collection allows the development of translational research, especially in oncology, ensure greater access to the molecular characteristics of patients and individuals without cancer. **Aim:** This study aimed to characterize the collection of BB-HCB and to demonstrate the importance of an organized workflow regarding the appropriate informed consent of participants, transportation, processing, storage and management of samples. **Results:** Currently BB-HCB is one of the largest BioBanks in Latin America containing a collection of stored normal human and tumor samples. Despite the numerous challenges, the collection of samples shows a constant and significant increase over the years, making BB-HCB part of both national and international projects and consortia, thus allowing HCB's participation in translational research in oncology in Brazil and all world. **Conclusion:** The experience of BB-HCB regarding free and informed consent as well as the collection, processing, storage and management of human biological samples shows the importance of establishing an organized process to ensure quality, thus allowing the development of national and international research.

Keywords: Biobank, cryopreserved biological samples, oncology, translational research.

INTRODUÇÃO

BioBanco do Hospital de Amor de Barretos

Inaugurado em 1967, Hospital de Amor de Barretos, anteriormente conhecido como Hospital de Câncer de Barretos, é uma instituição filantrópica, especializada no tratamento e na prevenção do câncer. O BioBanco do Hospital de Câncer de Barretos (BB-HCB) foi inicialmente fundado em 2006 a partir de um projeto de pesquisa com fomento da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) diante da necessidade da criação de um acervo de amostras biológicas humanas¹. No ano de 2009, com início das atividades do Instituto de Ensino e Pesquisa (IEP) na unidade, iniciou-se o processo de credenciamento do BioBanco institucional junto à Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), com a intenção de criar um fluxo organizado de coletas de amostras biológicas para fins de pesquisa, visando o avanço científico e inovação na área de oncologia. Em 2012, o BB-HCB foi aprovado pelo Conselho Nacional de Saúde².

A implementação do BioBanco é um facilitador primordial das pesquisas tornando possível o delineamento de estudos que responderão a novas perguntas científicas. Essas estruturas de pesquisa podem estar associadas a estudos específicos ou à capacidade das instituições de armazenar amostras biológicas para pesquisas sem prazo definido, com informações associadas destinadas a pesquisadores interessados sob os aspectos médicos, biológicos e a centros de inovação tecnológica.

De acordo com a resolução 441 do Conselho Nacional de Saúde (Conselho Nacional de Saúde, 2011), BioBanco refere-se a uma coleção organizada de material biológico humano e informações associadas, coletado e armazenado para futuros projetos de pesquisa de acordo com normas técnicas éticas e operacionais^{3,4}.

Qualquer material biológico humano coletado pertence ao indivíduo cedente, mas podem ser armazenadas em dois diferentes tipos de reservatórios para fins de pesquisa, como BioBanco ou Biorrepositório^{3,5}.

A coleção BioBanco fica sob responsabilidade institucional, sem fins comerciais, para aplicação em pesquisas científicas futuras, sob tempo de

armazenamento indeterminado^{3,4}. Por outro lado, para a coleção Biorrepositório trata-se de uma coleção de material biológico humano e informações associadas, coletadas e armazenadas ao longo da execução de um projeto de pesquisa específico, previamente aprovado pelo CEP (Comitê de Ética em Pesquisa) e, quando for o caso, pela CONEP⁶. No caso de Biorrepositório as amostras ficam sob responsabilidade institucional e sob gerenciamento do pesquisador, sem fins comerciais^{3,4}.

O uso de amostras biológicas é crucial para permitir o avanço da pesquisa translacional, levando em consideração a heterogeneidade dos indivíduos para a realização de experimentos e para novas descobertas. Poucos estudos descrevem em detalhes como se faz um fluxo de trabalho organizado.

Este artigo relata os pontos principais que guiaram a fundação do BioBanco da instituição, e os pontos determinantes para um consentimento adequado, o modo como as amostras biológicas são coletadas, transportadas, processadas, gerenciadas e estocadas no BB-HCB.

Experiência do BB-HCB: um BioBanco na área da oncologia

O BioBanco do Hospital de Amor tem como missão armazenar, processar, gerenciar e fornecer dados de amostras originárias de pacientes atendidos na instituição, visando o avanço científico na área de oncologia.

A inclusão do participante de pesquisa é feita de forma voluntária e não obrigatória. O participante pode aceitar participar ou se recusar, e pode desistir, encerrando a qualquer momento sua participação, e isto não tirará nenhum direito do seu tratamento e a assistência no hospital⁵. A anuência para participação na pesquisa é realizada de forma privada, em consultórios de atendimento, diante da manifestação da vontade do participante de pesquisa após o consentimento do mesmo e esclarecimento de suas dúvidas. É concedido ao participante tempo adequado para que ele possa refletir, consultando, se necessário, seus familiares ou outras pessoas que possam ajudá-los na tomada de decisão⁵. Os participantes de pesquisa aceitam riscos e inconveniências da pesquisa com objetivo de contribuir para o avanço do conhecimento científico. O consentimento livre

e esclarecido do participante refere-se a coleta, depósito, armazenamento e utilização de material biológico humano somente para fins de pesquisa e seu consentimento é firmado por meio da assinatura do termo de consentimento livre esclarecido (TCLE)⁵.

Os pacientes anteriormente eram convidados a participar do projeto do BioBanco no momento da abertura do prontuário junto as recepções do HCB e, quando aceitavam participar, a amostra sanguínea era coletada a posteriori, durante a primeira coleta de exames sanguíneos na instituição. Apesar da grande abrangência, muitos pacientes acabavam não realizando a coleta de sangue para BioBanco, apenas para os exames laboratoriais. Visando melhorar o fluxo de inclusões, a partir do ano de 2017 houve a necessidade da inclusão de um profissional da área dedicado exclusivamente para a aplicação do TCLE, coleta do sangue e gerenciamento das amostras até o BB-HCB. Em nossa instituição, temos um departamento chamado Núcleo de Apoio ao Pesquisador (NAP) que tem como finalidade capacitar profissionais da área de saúde para coordenar estudos no que tange a coleta organizada de material biológico e aplicação do TCLE para uso de amostra em pesquisa. Assim, uma coordenadora de estudos e uma estagiária foram contratadas exclusivamente para esta demanda junto ao BB-HCB. Essa coordenadora é responsável por gerenciar o recrutamento, capacitar a equipe, selecionar e consentir os pacientes além de coletar a amostra de sangue, com auxílio de uma estagiária. Essa mudança, melhorou significativamente a gestão dos processos e qualidade das amostras coletadas uma vez que o envio da amostra biológica acontece em menor tempo hábil ao BioBanco impactando diretamente na qualidade das amostras biológicas criopreservadas.

O recrutamento dos participantes ocorre na unidade hospitalar, na unidade de prevenção ou em unidades móveis (carreta ou van), em todas as especialidades atendidas da unidade 1 (Antenor Duarte Vilela) do HCB. Podem ser aplicados dois tipos de termos de consentimento, um deles é destinado a pacientes oncológicos ou com suspeita de câncer, o outro é direcionado a indivíduos sem câncer que estão nas unidades de prevenção. Ambos os TCLE foram aprovados pela Comissão Nacional de Ética em Pesquisa (CONEP), sendo padrão institucional para o BB-HCB^{3,5,6}. A participação na pesquisa

científica se firma por meio da assinatura de Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) em duas vias, rubricadas em todas as suas páginas e assinadas na última página, pelo convidado a participar da pesquisa, ou por seu representante legal, assim como pela pessoa responsável pela aplicação, uma das vias é entregue ao participante de pesquisa e a outra via é arquivada no prontuário médico ou nos arquivos do estudo⁵. Uma vez incluído esse participante autoriza a coleta, o depósito, o armazenamento e a utilização do material biológico humano para fins de pesquisas junto ao BB-HCB³. Aos sujeitos de pesquisa ou seu representante legal é oferecida a opção de escolher entre serem informados ou não sobre o resultado da pesquisa. O sujeito da pesquisa ou seu representante legal pode retirar o consentimento de guarda e utilização do material biológico valendo a desistência a partir da data de formalização, por manifestação por escrito e assinada pelo sujeito da pesquisa ou seu representante legal, cabendo-lhe a devolução ou descarte das amostras existentes^{3,5}.

Após a criação de um grande acervo de amostras na instituição, com diversos tipos de materiais biológicos, o principal foco do BioBanco da instituição atualmente é realizar o “consentimento em tríade”, que representa o consentimento do paciente, acompanhado da coleta de amostra sanguínea, seguido da coleta de tecido (normal, tumoral ou metastático), durante a realização de biópsia (se o médico julgar pertinente a coleta) ou durante um procedimento cirúrgico, do material excedente da cirurgia. São selecionados primordialmente pacientes que não tenham feito nenhum tratamento prévio à cirurgia ou à biópsia, como quimioterapia, radioterapia ou imunoterapia.

MATERIAIS

1. Coleta e transporte de material biológico

Após obter o consentimento do paciente, é realizada a coleta de aproximadamente 20ml de sangue (Vacutainer EDTA, SST; Kasvi). Os tubos são identificados com etiquetas que contém dados pessoais do paciente e código de barras. Logo após a coleta esse material é encaminhado ao BioBanco em caixas térmicas, à temperatura ambiente. Os tecidos coletados em cirurgias passam primeiramente por um controle de qualidade,

cujo o objetivo é avaliar a porcentagem de tumor presente na amostra. Essa etapa é realizada por um técnico e um médico patologista, o primeiro fará o corte histológico do tecido e o segundo determinará a porcentagem tumoral presente na amostra. São enviadas para armazenamento somente amostras que possuam $\geq 60\%$ de células neoplásicas e até 20% de necrose, de acordo com o preconizado por regras internacionais de qualidade. Amostras de tecido provenientes de biópsias não são submetidas a esse controle de qualidade, visto que a quantidade de tecido é insuficiente para realização da técnica.

2. Processamento e armazenamento

O processamento das amostras ocorre de acordo com protocolos creditados nacional e internacionalmente que variam de acordo com o tipo de material biológico.

O sistema de armazenamento do BioBanco-HCB é por meio de criopreservação em ultra freezers -80°C , os quais são monitorados diariamente por plantonistas, encarregados de realizar o plano de contingência, transferindo as amostras para um backup, quando necessário.

3. Sistema de gerenciamento de informações

O BioBanco conta com um sistema seguro de identificação de amostras que garante o sigilo, o respeito à confidencialidade e à recuperação dos dados dos sujeitos da pesquisa, para fornecimento de informações do interesse destes ou para a obtenção de consentimento específico para utilização em nova pesquisa, quando necessário. O Hospital de Amor de Barretos irá interligar os dados do sistema de gerenciamento com as informações do prontuário eletrônico do Hospital que está em fase de implantação; e futuramente com outros BioBancos das filiais da instituição.

4. Solicitação de amostra biológicas criopreservadas junto ao BB-HCB

Para utilização das amostras biológicas o pesquisador consulta o BioBanco sobre os casos disponíveis (quantidade e tipos de casos desejados) e submete o projeto de pesquisa ao Comitê de Ética local (CEP-HCB), que avalia o trabalho de acordo com os trâmites legais da Instituição. Após aprovação do projeto de pesquisa junto ao CEP-HCB, o pesquisador

faz um cadastro do projeto junto ao BB-HCB por meio do software de gerenciamento NorayBank (Noray Bioinformatics, S.L.U). O projeto é então avaliado e são verificadas informações a respeito do número e tipo de amostras biológicas bem como a necessidade de extração de material genético (DNA) seguindo os Procedimentos Operacionais Padrão (POPs) do BB-HCB. A entrega de alíquotas do material biológico é feita após a realização de um controle de qualidade quanto à pureza por meio de espectrofotômetro. A entrega do material ao pesquisador é firmada mediante assinatura de um Termo de Transferência de Material Biológico (TTMB) institucional, conforme aprovado pela CONEP (Figura 1).

RESULTADOS

Atualmente o BB-HCB é considerado um dos maiores BioBancos da América Latina, contando com um acervo de mais de 240 mil amostras biológicas. Destas, cerca de 32 mil são de indivíduos sem câncer, e as demais de pacientes. Deste total, 80% são armazenadas como BioBanco e 20% reservadas para um tipo específico de projeto, denominadas amostras de Biorrepositório (Figura 2).

As amostras de pacientes são representativas de 12 especialidades oncológicas diferentes em que existe coleta de material biológico para o BB-HCB (Figura 3).

Para realização de pesquisa usando amostras biológicas criopreservadas junto ao BB-HCB inicialmente é necessária aprovação junto ao CEP-HCB. Casos específicos de projetos de pesquisa em execução que já contam com aprovação do CEP-HCB e já são cadastrados no BB-HCB, podem necessitar avaliação durante o curso do projeto junto a um Comitê Gestor do BB-HCB.

O Hospital de Câncer de Barretos conta um Comitê de BioBanco, desde 2012 formado por 5 membros e um secretário. Compete ao comitê a regulamentação da utilização, armazenamento e manipulação de material biológico humano cuja finalidade é a pesquisa científica. Desta maneira são atribuições do Comitê BB-HCB:

a) Definir diretrizes para a liberação e distribuição de amostras biológicas alocadas nas dependências da Fundação Pio XII – Hospital de Amor de Barretos,



Figura 1. Fluxo do Biobanco do Hospital de Câncer de Barretos.

sob sua guarda.

b) Acompanhar e definir periodicamente os indicadores administrativos do BioBanco.

c) Definir a liberação de novas frações ao envio das informações solicitadas por este Comitê.

d) Deliberar sobre assuntos relacionados à política institucional do BioBanco.

e) Apreciar, diretamente ou através de comissão especial, os projetos de pesquisa que visem à utilização das amostras biológicas respeitando a política de propriedade intelectual da Fundação Pio XII.

f) Fazer planejamento e estabelecer critérios de como as amostras biológicas serão disponibilizadas para os projetos aprovados. Se os itens não forem contemplados, o pesquisador ficará impedido de usar novas amostras. Seguir política institucional de acordo com um Procedimento Operacional Padrão Institucional (POP) para o fornecimento de material biológico humano.

O BB-HCB conta ainda com uma moderna e ampla infraestrutura localizado próximo ao Centro de Oncologia Molecular (CPOM) com controle de acesso de pessoal. Esta área dispõe de duas salas de freezers e um laboratório de biologia molecular para o processamento de amostras biológicas e material genético. As salas de freezer contam com monitoramento de temperatura 24 horas e estão ligadas a um gerador de energia afim de garantir as boas condições de armazenamento das amostras criopreservadas (Figura 4).

Atualmente o BB-HA possui 10 freezers -80°C e 2 freezers -20°C com capacidade que varia de 30 a 56 mil alíquotas, cada freezer. Destes, dois equipamentos são utilizados para backup. Para o processamento do material biológico o laboratório de biologia molecular está equipado com microdissector a laser (Leica), uma plataforma para extração automatizada de ácidos nucleicos

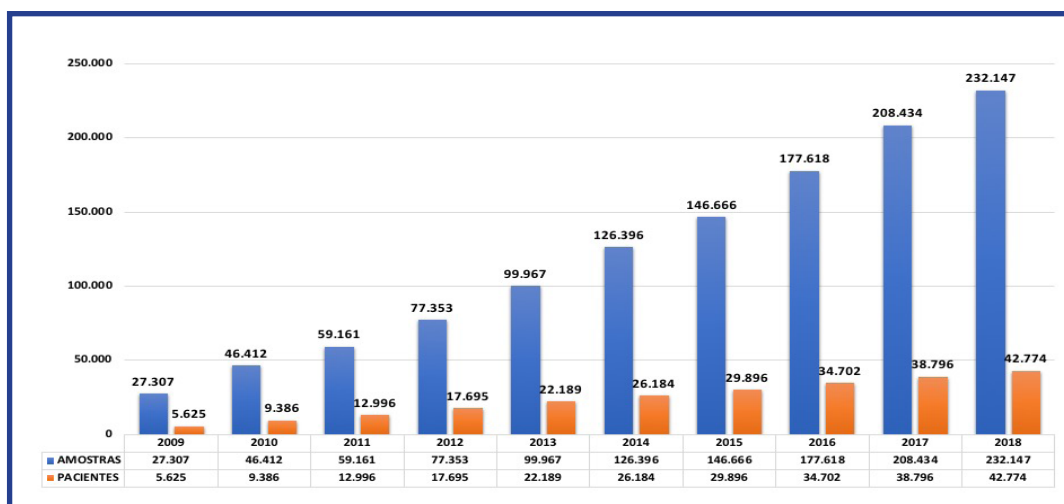


Figura 2. Série histórica de amostras criopreservadas armazenadas no BB-HCB.

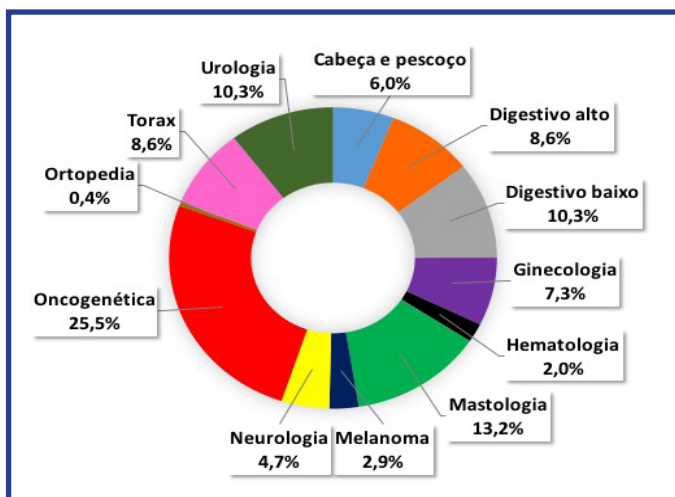


Figura 3. Relação das principais especialidades em que são coletadas amostras biológicas para o BB-HCB.



Figura 4. Imagem do laboratório de biologia molecular e da sala de freezers do BB-HCB.

(QIASYMPHONY), 2 sistemas de eletroforese microfluídica (Bioanalyzer e TapeStation), espectrofotômetro e fluoroespectrofotometro (Nanodrop e Quibit), e conta com análise de STR também, o que permite a obtenção de material com excelente qualidade e confiabilidade.

A série histórica de amostras criopreservadas no BB-HCB serviram de base para o desenvolvimento até o momento 17.083 projetos de pesquisa tanto em parcerias nacionais quanto internacionais (Figura 5). Nos últimos anos, o BB-HCB conquistou visibilidade internacional, participando de grandes projetos e consórcios em parceria com renomadas instituições internacionais, como a Rede de pesquisa Latino Americana-USA do Cancer (USLANCRN), o Cancer Genome Atlas (TCGA), o International Genome Consortium (ICGC), o NCI (National Cancer Institute) e o IARC (International Agency for research on Cancer).

DISCUSSÃO

A implementação do BB-HCB se deu diante da necessidade de se avançar na pesquisa translacional aplicada à oncologia por meio da criação de um acervo de amostras biológicas humanas criopreservadas, a serem utilizadas como matéria prima para o desenvolvimento de projetos científicos com geração de conhecimento na área de oncologia translacional, visando futuramente sua potencial aplicação em benefício da população. O BioBanco proporciona um vasto campo para desenvolvimento de pesquisas, resultando em contribuições expressivas para ações no campo de prevenção, controle, tratamento de doenças.

Promover acesso a comunidade científica a essas amostras biológicas humanas de qualidade, bem como seus dados associados, oferece suporte para investigação científica e inovação tecnológica, sendo

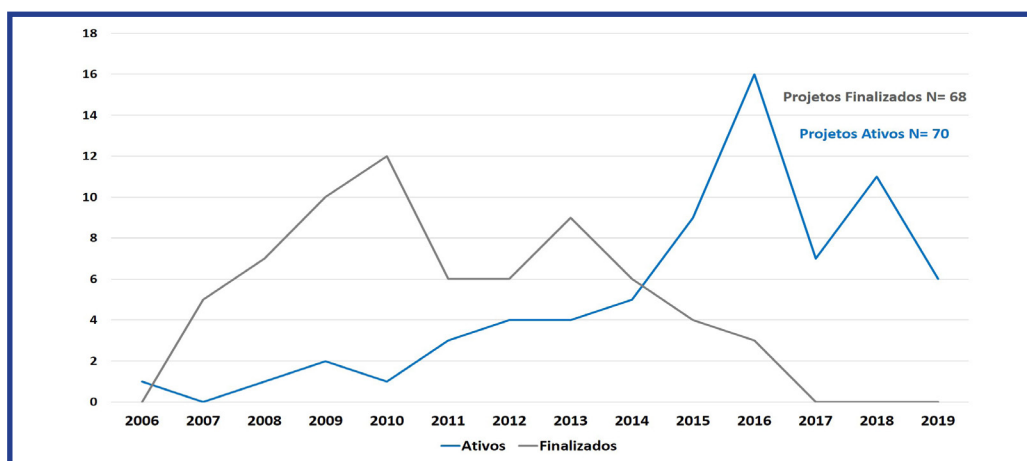


Figura 5. Relação de projetos que já utilizaram amostras biológicas armazenadas no BB-HCB.

considerado uma ferramenta crucial para medicina personalizada, cujo objetivo é o desenvolvimento de novas drogas e tratamento.

A coleta organizada de material biológico na instituição promoveu um fluxo de trabalho mais organizado, permitindo rastrear e selecionar principalmente os pacientes que tem previsão de coleta de tecido durante a biópsia ou cirurgia, permitindo assim o pareamento das amostras.

O desenvolvimento de pesquisas locais, nacionais e internacionais utilizando amostras biológicas provenientes do BioBanco do Hospital de Amor cresceu expressivamente. Esse crescimento é atribuído principalmente ao grande acervo de amostras e a variabilidade de materiais disponíveis para a realização de pesquisa, e também a grande notoriedade que o hospital alcançou nos últimos anos como centro de ensino e pesquisa.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos à diretoria do Hospital de Amor pela iniciativa e suporte, a equipe do BioBanco, aos pesquisadores, a equipe do núcleo de apoio ao pesquisador (NAP), a equipe de médicos da instituição e especialmente a todos os participantes que concordaram em ceder amostra biológica para pesquisa. Agradecemos ainda ao Departamento de Patologia pelo suporte na coleta junto ao Centro Cirúrgico do HCB e ao CPOM por todo o suporte científico.

REFERÊNCIAS

1. Brasil. Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP). Protocolo número 2005/51691-7. 2005.
2. Brasil. Protocolo de Desenvolvimento do Biobanco do Hospital de Câncer de Barretos. Conselho Nacional de Saúde. Ministério da Saúde. Tumores CONEP B007. Plataforma Brasil .
3. Brasil. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº 411 de 12 de maio de 2011. Diretrizes para análise ética de projetos de pesquisas que envolvam armazenamento de material biológico humano ou uso de material armazenado em pesquisas. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Diário Oficial da União, Brasília, DF. 2011.
4. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria nº 2.201 de 2011. Estabelece as Diretrizes Nacionais para Biorrepositório e Biobanco de Material Biológico Humano com Finalidade de Pesquisa. 2011.

5. Brasil. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Resolução n. 466, de 12 de dezembro de 2012. Diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisas envolvendo seres humanos. Brasília, Diário Oficial da União, 12 dez. 2012. 2012.
6. Brasil. Conselho Nacional de Saúde. Norma Operacional 001 de 2013. Dispõe sobre a organização e o funcionamento do sistema CEP/CONEP. 2013.

AUTOR DE CORRESPONDÊNCIA

Márcia Maria Chiquitelli Marques Silveira

mmcmsilveira@gmail.com

Molecular Oncology Research Center, Barretos Cancer Hospital, Rua Antenor Duarte Villela, Barretos, 1331, São Paulo, 14784-400, Brazil.