

O Uso de Técnicas para Controle de Qualidade Microbiológico Adotadas em um Banco de Tecidos Humanos

Carlos Alexandre Curylofo Corsi^{1*} , Katia Carmen Gabriel Scarpelini¹ , Rodolfo Leandro Bento¹ ,
Alan Vinicius Assunção-Luiz² , Flávio Luís Garcia¹ , Luís Gustavo Gazoni Martins¹ 

1. Universidade de São Paulo  - Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Hospital das Clínicas - Ribeirão Preto (SP) - Brasil.
2. NOVA University Lisbon  - National School of Public Health - Comprehensive Health Research Centre - Lisboa - Portugal.

*Autor correspondente: carlos_ccorsi@hotmail.com

Editora de Seção: Ilka de Fátima Santana F. Boin 

Recebido: Fev 01, 2024 | Aceito: Fev 29, 2024

RESUMO

A Portaria de Consolidação nº 4, de 28 de setembro de 2017, do Ministério da Saúde, dispõe sobre a avaliação dos serviços destinados aos bancos de tecidos humanos (BTH) quanto ao controle microbiológico dos ambientes (sala de processamento classificação ISO 5) e dos produtos (cultura para patógenos aeróbicos, anaeróbicos e fungos), visando a garantia de inocuidade nos transplantes de tecidos. **Objetivos:** Evidenciar as técnicas para controle microbiológico dos tecidos distribuídos, adotadas por um BTH em 5 anos, assim como os resultados obtidos pela aplicação e uso dessas técnicas. **Métodos:** Por meio de procedimentos operacionais padrão (POP), foram estabelecidas previamente a metodologia e a frequência das coletas, dos exames e da limpeza das salas. Foram coletadas culturas microbiológicas dos tecidos em todas as captações e processamentos. Além disso, durante o processamento do tecido, amostras das digitais nas luvas do processador e na sala de processamento foram semeadas em placas ágar sangue. Semanalmente, a sala de processamento foi limpa com “biguanida + quaternário de amônia”, sendo a bancada de processamento higienizada com álcool 70% estéril e o controle ambiental microbiológico realizado semestralmente, por empresa terceirizada e qualificada. **Resultados:** No período analisado, as técnicas se mostraram eficazes em 46 (96%) casos, tendo sido identificada contaminação em apenas duas (4%) amostras processadas e coletadas. A eficácia e os resultados foram documentados. **Conclusão:** Métodos eficazes de controle de qualidade biológico são legitimamente obrigatórios, porém passíveis de aperfeiçoamento, suscitando a necessidade do desenvolvimento de protocolos seguros para qualidade dos serviços e inocuidade dos tecidos transplantados.

Palavras-chave: Doação de Tecidos; Transplante de Tecidos; Controle de Qualidade Biológico; Produtos Inócuos; Banco de Tecidos Humanos.

The Use of Microbiological Quality Control Techniques Adopted in a Human Tissue Bank

ABSTRACT

The Brazilian Ministry of Health's Consolidation Ordinance No. 4 of September 28, 2017, provides the requisites for the evaluation of services for human tissue banks (bancos de tecidos humanos [BTH]) in terms of the microbiological control of environments (ISO 5 classification processing room) and products (culture for aerobic, anaerobic, and fungal pathogens), with a view to guaranteeing harmlessness in tissue transplants. **Objectives:** To highlight the techniques for microbiological control of distributed tissues adopted by a BTH over 5 years, as well as the results obtained from the application and use of these techniques. **Methods:** Using standard operating procedures (SOPs), the methodology, and frequency of collections, tests and room cleaning were established in advance. Microbiological cultures were taken from the tissues during all the collections and processing. During tissue processing, fingerprint samples on the processor's gloves and in the processing room were seeded on blood agar plates. The processing room was cleaned weekly with biguanide and quaternary ammonium. The processing bench was sanitized with sterile 70% alcohol and the microbiological environmental control was carried out every 6 months by a qualified outsourced company. **Results:** In the period analyzed, the techniques proved effective in 46 (96%) cases, with contamination identified in only two (4%) processed and collected samples. The effectiveness and results were documented. **Conclusion:** Effective biological quality control methods are legitimately required, but they can be improved, raising the need to develop safe protocols for the quality of services and the safety of transplanted tissues.

Descriptors: Tissue Donation; Tissue Transplantation; Biological Quality Control; Innocuous Products; Human Tissue Bank.

INTRODUÇÃO

Os bancos de tecidos humanos (BTH) são instituições públicas ou privadas especializadas em serviços de saúde e responsáveis, principalmente, por captar, processar, armazenar e distribuir tecidos humanos para transplantes e pesquisas oriundos de doadores vivos e/ou falecidos (autoenxertos/aloenxertos)^{1,2}. Dentre os muitos tipos de tecidos passíveis de transplantação, destacam-se pele, membrana amniótica, córneas, vasos, valvas, ossos, tendões, meniscos, fâscias, cartilagens, entre outros^{2,3}.

Os produtos disponibilizados pelos BTH são destinados, principalmente, a atender às demandas clínicas de pacientes em lista de espera gerenciada pelo Sistema Nacional de Transplantes (SNT), com necessidades de reparação, regeneração e/ou falhas teciduais, sendo esses tecidos isentos da necessidade de histocompatibilidade com o doador³⁻⁵. Sendo assim, tais instituições devem manter a seguridade e o controle de qualidade em todos os processos que permeiam seus produtos, desde a triagem do doador até a entrega dos tecidos para o médico transplantador e, também, após os transplantes, com o acompanhamento de quaisquer reação e/ou evento adverso no receptor⁵⁻⁷.

A Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) N° 707, de 1° de julho de 2022, destinada às boas práticas em BTH, que revogou a RDC N° 55, de 11 de dezembro de 2015, destinada à avaliação dos serviços quanto ao controle microbiológico dos ambientes, sala de processamento classificação ISO 5 e dos produtos, cultura para patógenos aeróbicos, anaeróbicos e fungos, visa estabelecer técnicas que garantam a inocuidade dos produtos humanos ofertados para transplantes^{6,7}. Ainda, permite aos BTH estabelecerem diretrizes específicas de controle microbiológico, segundo autorização e supervisão de um médico e diretor clínico responsável pela instituição⁶⁻⁸.

Sendo assim, devido à falta de padronização de técnicas e diretrizes destinadas especificamente aos BTH de todo país, suscita-se a necessidade de mais divulgação dos processos desenvolvidos por essas instituições, a fim de auxiliar na tomada de decisões de outros BTH, em meio aos desafios que envolvem os processos estabelecidos pela legislação⁵⁻⁸.

OBJETIVO

Evidenciar as técnicas para controle microbiológico dos tecidos distribuídos adotadas por um BTH em 5 anos, assim como os resultados obtidos pela aplicação e uso dessas técnicas.

MÉTODO

Trata-se de estudo experimental com intervenções em amostras de tecidos ósseos humanos (produto/cabeças femorais) e do ambiente (sala de processamento estéril – classificação ISO 5) localizadas em um BTH alocado em um hospital terciário do interior do estado de São Paulo, onde os mesmos foram processados com análises de diferentes técnicas, assim como seus processos e períodos/frequências previamente determinados.

A fim de otimizar e estabelecer a rotina de produção, tipos de análises a serem empregadas e frequência de coletas, uma equipe interna, coordenada por um diretor clínico médico, foi estabelecida por meio de um organograma e, em seguida, criaram-se documentos norteadores às temáticas que estabeleceram todos os processos que envolveram este estudo, sob a luz do Sistema de Gestão da Qualidade ISO 9001/2015 e Gestão de Alto Nível¹, sendo: Manual da Qualidade (MQ); Procedimentos Gerenciais (PGs); Procedimentos Operacionais Padrão (POPs); Registros da Qualidade (RQs); Indicadores da Qualidade (IQs); Treinamento da equipe de limpeza terceirizada junto à Comissão de Controle de Infecção Hospitalar (CCIH); modelos de treinamento com registro de eficácia.

Todos os tecidos captados e utilizados na pesquisa foram oriundos de pacientes vivos, eletivos à cirurgia de artroplastia total de quadril no mesmo hospital onde está alocado o BTH. Realizou-se a seleção dos pacientes por amostragem por conveniência (não probabilística) e a autorização para inclusão das amostras no estudo foi realizada após anuência do paciente, por meio do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE). Foram utilizadas para o estudo amostras de tecidos ósseos coletadas no período de 14/01/2018 a 18/12/2022.

Por meio dos documentos descritos, foram estabelecidas a metodologia e a frequência das amostras coletadas, exames e limpeza das salas, com os devidos treinamentos das equipes, conforme descrito a seguir.

Limpeza terminal

Semanalmente, ou antes e após todos os processamentos, a sala de processamento foi limpa pela equipe de limpeza com solução de biguanida + quaternário de amônia 0,4% estéril, sendo a bancada de processamento higienizada com álcool 70% estéril pelo técnico do BTH (Fig. 1a).

Processamento do tecido

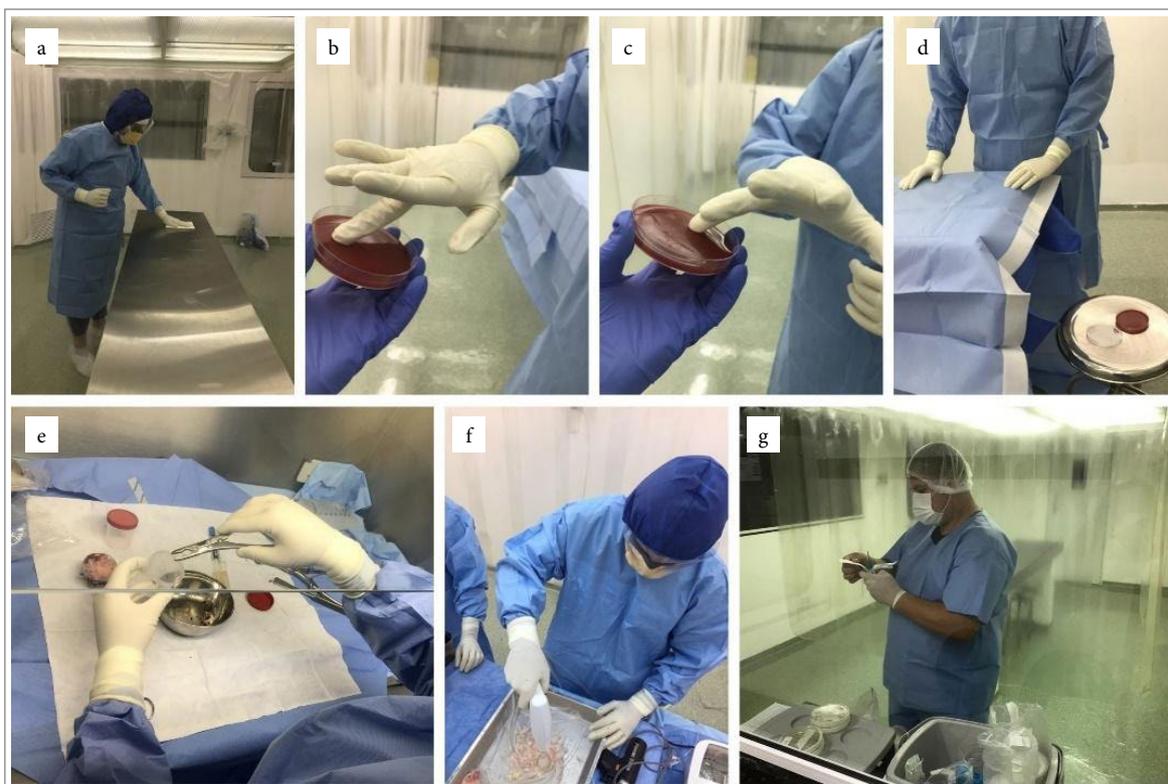
Ao início do processamento do tecido, foram coletadas e semeadas, em placas ágar sangue, amostras das digitais das mãos do processador, o qual calçava luvas estéreis (Figs. 1b, 1c), e, durante todo o processamento, uma placa contendo meio de cultura ágar sangue ficou exposta debaixo do fluxo laminar do ambiente da sala de processamento (Fig. 1d).

Controle microbiológico do processamento

Em todas as captações e processamentos, três amostras de fragmento ósseo e três amostras de lavado [10 mL de soro fisiológico (SF) 0,9% utilizado para lavar o tecido ósseo durante o processamento] foram coletadas para realização de culturas microbiológicas, incluindo bactérias aeróbias, anaeróbias e fungos (Figs. 1e, 1f).

Controle ambiental da sala

O controle ambiental microbiológico (bactérias e fungos) da sala de processamento foi realizado semestralmente, por uma empresa terceirizada que coletava e qualificava a sala da seguinte maneira: a) Análise do fluxo laminar (ISO 5) – colhidas amostras após processamento (pior cenário) e após primeira limpeza (melhor cenário); b) Análise passiva do ar – colhidas três amostras com placas *replicate organism direct agar contact*. (RODAC) em exposição no ambiente por 4 horas consecutivas, dentro do fluxo laminar; c) Análise da bancada de processamento – colhidas três amostras da superfície da bancada com placas RODAC; d) Análise da sala de processamento, fora da cortina de fluxo (ISO 7) – análise passiva do ar de quatro amostras em pontos diferentes da sala por 4 horas de exposição e análise do chão e paredes com coleta de quatro amostras com placas RODAC (Fig. 1g).



Fonte: Acervo fotográfico dos autores, 2024.

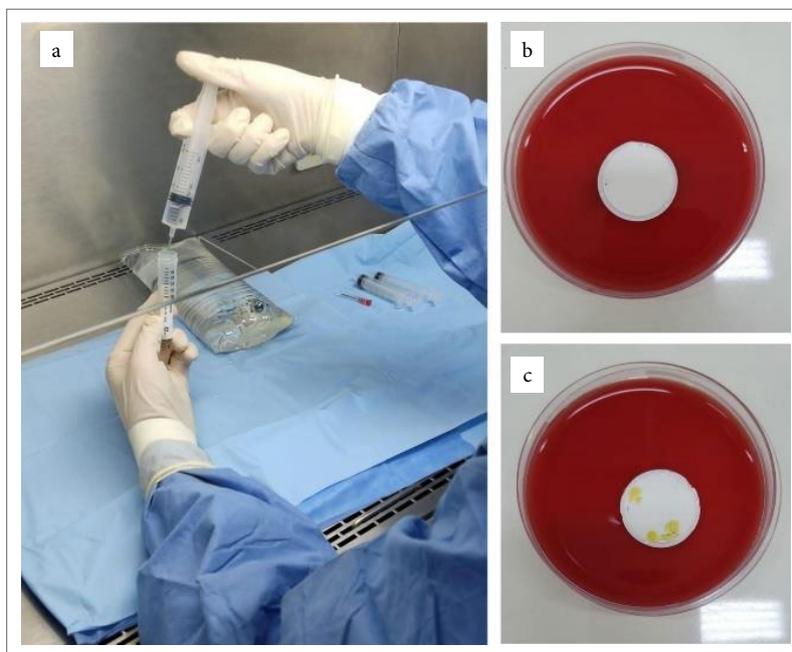
Figura 1. Registros dos processos metodológicos empregados para as análises do ambiente e dos produtos produzidos pelo BTH, 2024.

Bioburden

Empregou-se ainda, para todas as amostras produzidas no período, o exame quantitativo/qualitativo de carga microbiana (*bioburden*), sendo esse capaz de definir o número de micro-organismos presentes em determinada superfície e/ou produto^{9,10}. Para esse fim, um fragmento de tecido ósseo foi armazenado por 24 horas a 37°C em 50 mL de SF 0,9% estéril. Posteriormente, o líquido foi passado por sistema fechado contendo uma membrana/filtro (K18-230/ lote: 210410-338) estéril, com 0,22 µm de poro (Kasvi, São José dos Pinhais, Brasil). A membrana foi retirada do sistema e colocada na superfície de uma placa de ágar sangue de carneiro 5% (Plastilabor, Rio de Janeiro, Brasil) identificada e encaminhada para o mesmo laboratório no qual foi incubada em estufa bacteriológica por 24-48 horas a 35°C¹⁰ (Fig. 2).

Todas as amostras coletadas foram encaminhadas ao Laboratório de Análises Clínicas do mesmo hospital. As análises microbiológicas das amostras se deram por meio da pesquisa de crescimento de bactérias aeróbias, anaeróbias e fungos. As amostras de tecidos ósseos e as soluções foram colocadas em tubos contendo caldo *brain hearth infusion* (BHI) (Plastilabor, Rio de Janeiro, Brasil) e incubadas por 24 horas em estufa a 37°C com 5% de CO₂. Após esse período, foram semeadas em placas de ágar sangue de carneiro 5%, ágar Mac Conkey e ágar manitol (Plastilabor, Rio de Janeiro, Brasil) e incubadas por 24-48 horas

em estufa bacteriológica. A pesquisa para bactérias anaeróbias foi realizada inoculando o material em caldo tioglicolato *fluid* (Plastilabor, Rio de Janeiro, Brasil), o qual foi incubado em estufa por 24 horas e, após esse período, semeado em placas de ágar *Brucella* (Plastilabor, Rio de Janeiro, Brasil) e novamente incubados em estufa por 48 horas em jarra de anaerobiose com inibidor de oxigênio. Com relação à pesquisa de fungos leveduriformes e filamentosos, durante o processamento do material, foram semeados diretamente no ágar Sabouraud em tubo, permanecendo incubados pelo período de até 42 dias.



Fonte: Acervo fotográfico dos autores, 2024.

Figura 2. Realização do exame *bioburden* para as análises microbiológicas. a) Preparo do sistema fechado para passagem do líquido onde esteve a amostra pela membrana; b) Membrana teste semeada na placa pronta para incubar; c) Membrana teste apresentando contaminação após incubação.

Para as culturas de bactérias ou fungos que obtivessem crescimento de micro-organismos, realizaram-se a identificação e a quantificação de colônias dos microrganismos, utilizando espectrometria de massa pelo equipamento Microflex LT MALDI TOF (Bruker, Billerica, EUA) e o teste de sensibilidade por microdiluição em caldo, realizado por meio do equipamento VITEK® 2 Compact (bioMérieux, Rio de Janeiro, Brasil); os testes de sensibilidade foram realizados por disco de difusão. Os resultados de suscetibilidade antimicrobiana foram interpretados de acordo com as mais recentes diretrizes do Comitê Brasileiro de Testes de Suscetibilidade aos Antimicrobianos/ European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing^{11,12}. Os resultados foram tabulados e apresentados a seguir.

RESULTADOS

No período analisado, as técnicas se mostraram eficazes em 46 (96%) casos, tendo sido identificada contaminação em apenas duas (4%) amostras processadas e coletadas, conforme descrito na Tabela 1.

Tabela 1. Identificação da amostra, local de detecção e gêneros/espécie dos micro-organismos encontrados durante o processamento dos tecidos.

ID	Amostra	Micro-organismo
08/2019	Fragmento ósseo	Fungo/ <i>Candida albicans</i>
08/2021	Mão do processador	Bactéria/ <i>Staphylococcus epidermidis</i>

Fonte: Elaborada pelos autores.

Com relação as 46 amostras que não apresentaram contaminação em nenhuma das análises, destacam-se a importância e a efetividade dos processos estabelecidos pelo BTH, principalmente quanto à escolha dos protocolos, tipos de técnicas utilizadas, treinamento da equipe interna (cirurgiões e processadores) e externa (equipe de limpeza terceirizada), frequência de captação das amostras e maior segurança dos produtos oferecidos, pois 96% das amostras apresentaram inocuidade.

Decerto que diretrizes bem estabelecidas e operacionalizadas podem ser capazes de melhorar os processos internos, agregando qualidade aos produtos oferecidos e satisfação aos clientes, médicos transplantadores e pacientes receptores.

DISCUSSÃO

Quando se propõe a analisar e discutir a eficácia dos processos que permeiam a captação e produção de tecidos humanos, cabe avaliar, de forma aprofundada, os resultados de exames microbiológicos como indicadores de qualidade. Urgem-se, então, as análises de contaminação microbiológica dos tecidos de forma negativa, porém como papel muito importante e crítico na segurança e inocuidade dos aloenxertos distribuídos^{12,13}. Nesse sentido, vale destacar que essas evidências negativas podem ser transformadas em pontos de melhorias imediatas e futuras a serem adotadas pelos BTH¹.

Muitos são os fatores, dentro do BTH, que podem estar associados à contaminação dos tecidos, além da captação e do processamento; por exemplo, a contaminação em feridas cirúrgicas no pós-operatório imediato e/ou tardio de pacientes submetidos a cirurgias ortopédicas¹³. Estudos recentes descrevem a prevalência de diferentes bactérias, como *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae* e *Pseudomonas aeruginosa*, entre outras, em culturas associadas a essas cirurgias^{14,15}.

Outro dado importante a ser analisado, devido à contaminação das amostras, é o número de pessoas que participaram da captação e/ou do processamento. Estudos demonstraram que o número de pessoas que participou da captação/processamento pode aumentar a contaminação de patógenos nos tecidos^{12,16}, principalmente em centros cirúrgicos nos quais o tecido foi coletado e/ou na sala de processamento em que foi processado; ainda que pequena, existe a possibilidade de contaminação por meio da flora da pele do cirurgião/processador, caso não realizem técnicas assépticas satisfatórias¹⁶⁻¹⁸. Além disso, Paolin et al.¹² afirmam que uma equipe deve conter até três pessoas e que para cada pessoa extra na equipe de captação/processamento, aumenta-se o risco de contaminação em 1,28 vezes¹².

O tempo de duração da captação e do transporte das amostras também pode ser fator de risco para contaminação, assim como o período do ano, o que pode ser explicado pelo estado de conservação da amostra, dadas a temperatura do corpo do doador no momento de retirada ou a falta de cuidados no transporte dos tecidos^{12-16,18}.

Outras variáveis relacionadas com o doador podem determinar os possíveis fatores que afetam o risco de contaminação durante a captação, tais como o gênero¹², o tipo do doador (vivo ou falecido)¹⁸ e a temperatura¹⁶; porém, tais correlações não foram abordadas neste estudo inicial.

Por fim, os resultados deste estudo podem ser um excelente ponto de partida para melhorar os procedimentos de captação e processamento de tecidos em todos os BTH do país. Minimizar riscos de contaminação nos produtos produzidos por BTH é um objetivo que deve ser buscado com técnicas assépticas e protocolos bem estabelecidos, a fim de suprir as necessidades das instituições, dos transplantadores e dos pacientes receptores.

CONCLUSÃO

Métodos eficazes de controle de qualidade microbiológico são legitimamente obrigatórios para evidenciar indicadores de qualidade. Além disso, podem proporcionar a diminuição do risco de contaminação dos tecidos por meio da melhoria contínua das técnicas assépticas utilizadas na captação e processamento. Entretanto, a padronização dos exames não é específica, suscitando o desenvolvimento de protocolos seguros para a qualidade dos serviços em cada BTH.

CONFLITO DE INTERESSES

Nada a declarar.

CONTRIBUIÇÃO DOS AUTORES

Contribuições científicas e intelectuais substantivas para o estudo: Corsi CAC, Scarpelini KCG, Bento RL, Assunção-Luiz AV; **Concepção e desenho:** Corsi CAC, Scarpelini KCG, Bento RL, Assunção-Luiz AV; **Análise e interpretação dos dados:** Corsi CAC, Scarpelini KCG, Bento RL, Assunção-Luiz AV; **Redação do artigo:** Corsi CAC, Assunção-Luiz AV; **Revisão crítica:** Garcia FL, Martins LGG; **Aprovação final:** Garcia FL, Martins LGG.

DISPONIBILIDADE DE DADOS DE PESQUISA

Todos os dados estão apresentados no artigo.

FINANCIAMENTO

Não aplicável.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem ao Banco de Tecidos Humanos do Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto - Universidade de São Paulo.

REFERÊNCIAS

1. Corsi CA, Shoji M, Scarpelini KC, Bento RL, Becari C, et al. Implementation and certification of ISO 9001: 2015 seal in human tissue bank HCFMRP-USP. *Cell Tissue Bank* 2020;21:563-71. <https://doi.org/10.1007/s10561-020-09852-1>
2. Vialle LRG, Vialle EN, Nianni FN. A technique for the reconstruction of the limbs of osteomuscular tissue donors. *Rev Bras Ortop.* 2020;55(1):112-4. <https://doi.org/10.1055/s-0039-1692696>
3. Corsi CAC, Assunção-Luiz AV, Pitta NC, Cintra AS, Scarpelini KCG, Bento RL, et al. Educational actions to raise student awareness about the donation and transplantation of human organs and tissues. *Transplant Proc.* 2023;55(6):1329-36. <https://doi.org/10.1016/j.transproceed.2023.04.024>
4. Associação Brasileira de Transplante De Órgãos. Registro Brasileiro de Transplantes. Ano XXIX; 2023 [acesso em 14 Jan 2024]. Disponível em: <https://site.abto.org.br/wp-content/uploads/2023/12/rbt2023-3trim-naoassociados.pdf>
5. Brasil. Ministério da Saúde. Regulamento nº 9.175, de 18 de outubro de 2017. Regulamenta a Lei nº 9.434, de 4 de fevereiro de 1997, para tratar da disposição de órgãos, tecidos, células e partes do corpo humano para fins de transplante e tratamento. Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 1997.
6. Brasil. Ministério da Saúde. Portaria de Consolidação nº 04, de 28 de setembro de 2017. Consolidação das normas sobre os sistemas e os subsistemas do Sistema Único de Saúde. Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2017.
7. Brasil. Ministério da Saúde. Resolução da Diretoria Colegiada (RDC) da Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA) nº 707, de 1 de julho de 2022. Dispõe sobre as Boas Práticas em Tecidos humanos para uso terapêutico. Oficial da República Federativa do Brasil. Brasília (DF): Ministério da Saúde; 2022.
8. Corsi CAC, Assunção-Luiz AV, Cintra AS, Scarpelini KCG, Bento RL, Garcia FL, et al. The significance of the nucleic acid test (NAT) to prevent viral contamination in musculoskeletal tissue transplantation. *Rev Bra Ortop.* 2023;58(1):23-9. <https://doi.org/10.1055/s-0042-1756156>
9. Oliveira MA, Vellarde GC, Sá RAM. Entendendo a pesquisa clínica IV: estudos de caso controle. *Femina.* 2015;43(4):175-80.
10. Hentz NG. Pharmaceutical bioburden testing. In: *Encyclopedia of industrial biotechnology: bioprocess, bioseparation, and cell technology.* New York: Wiley 2009. p. 757-74.
11. Arendrup MC, Jørgensen KM, Guinea J, Lagrou K, Chryssanthou E, Hayette MP, et al. Multicentre validation of a EUCAST method for the antifungal susceptibility testing of microconidia-forming dermatophytes. *J Antimicrob Chemother.* 2020;75(7):1807-19. <https://doi.org/10.1093/jac/dkaa111>
12. Paolin A, Romualdi C, Romagnoli L, Trojan D. Analysis of potential factors affecting allografts contamination at retrieval. *Cell Tissue Bank* 2017;18(4):539-45. <https://doi.org/10.1007/s10561-017-9667-9>
13. Paolin A, Trojan D, Petit P, Coato P, Rigoli R. Evaluation of allograft contamination and decontamination at the Treviso Tissue Bank Foundation: a retrospective study of 11,129 tissues. *PLoS One.* 2017;12(3):e0173154. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0173154>
14. Coutinho BS, Ribeiro AD, Oliveira SMB, Miranda MKV, Gouvêa-e-Silva LF. Infecções de sítio cirúrgico em cirurgias ortopédicas de um hospital do estado do Pará, Brasil. *Av Enferm.* 2022;40(3):395-407. <https://doi.org/10.15446/av.enferm.v40n3.93397>
15. Novato TF, Wilk MMS, Araújo LT, Abreu EP. Perfil de infecções em artroplastia de quadril: uma revisão integrativa. *Health Resid. J.* 2021;2(10):91-110. <http://dx.doi.org/10.51723/hrj.v2i10.145>
16. Forsell JH, Liesman J. Analysis of potential causes of positive microbiological cultures in tissue donors. *Cell Tissue Bank.* 2000;1:111-5. <https://doi.org/10.1023/A:1010106214542>
17. Corsi CA, Sares CT, Mestriner F, Michelon-Barbosa J, Dugaich VF, Martins TV, et al. Isolation and primary culture of human abdominal aorta smooth muscle cells from brain-dead donors: an experimental model for vascular diseases. *Cell Tissue Bank.* 2023;25(5):1-8. <https://doi.org/10.1007/s10561-023-10091-3>
18. Lannau B, Van Geyt C, Van Maele GE, Beele H. Analysis of potential factors affecting microbiological cultures in tissue donors during procurement. *Cell Tissue Bank.* 2015;16:65-71. <https://doi.org/10.1007/s10561-014-9439-8>