



*Presidenza del Consiglio dei Ministri*

SEGRETERIA DELLA CONFERENZA PERMANENTE  
PER I RAPPORTI TRA LO STATO LE REGIONI  
E LE PROVINCE AUTONOME

**Repertorio Atti n. 1770 del 10 luglio 2003**

**CONFERENZA STATO REGIONI  
SEDUTA DEL 10 LUGLIO 2003**

Oggetto: Accordo tra Ministro della salute, le Regioni e le Province autonome di Trento e Bolzano sul documento recante: "Linee-guida in tema di raccolta, manipolazione e impiego clinico delle cellule staminali emopoietiche (CSE)."

**LA CONFERENZA PERMANENTE PER I RAPPORTI TRA LO STATO, LE REGIONI E  
LE PROVINCE AUTONOME DI TRENTO E BOLZANO**

**VISTA** la legge 4 maggio 1990, n. 107, recante: "Disciplina per le attività trasfusionali relative al sangue umano ed ai suoi emocomponenti e per la produzione di plasmaderivati", che all'articolo 1, comma 3, consente il prelievo di cellule staminali, midollari e periferiche, nel rispetto delle norme indicate per l'emaferesi, a scopo di infusione per l'allogtrapianto in soggetto diverso o l'autotrapianto nello stesso soggetto;

**VISTA** la legge 1° aprile 1999, n. 91, recante: "Norme per la disciplina del trapianto di organi e tessuti";

**VISTO** il decreto ministeriale 25 gennaio 2001, concernente "Caratteristiche e modalità per la donazione di sangue ed emocomponenti", che all'articolo 5, comma 1, stabilisce che le cellule staminali emopoietiche, in quanto cellule primitive in grado di automantenersi, differenziarsi e maturare lungo tutte le linee ematiche, siano utilizzate dai Centri di trapianto di midollo osseo, dopo adeguato condizionamento del ricevente, per un trapianto in grado di consentire il recupero della normale funzionalità midollare con la ricostituzione di tutte le linee ematiche;

**VISTO** il decreto ministeriale 26 gennaio 2001, relativo ai "Protocolli per l'accertamento della idoneità del donatore di sangue ed emocomponenti", che all'articolo 10, comma 3, prevede il consenso informato del donatore per ogni tipo di donazione, compresa la donazione di cellule staminali periferiche nonché di cellule cordonali ed all'articolo 13, comma 2, prevede che, relativamente al prelievo di cellule staminali periferiche, in particolari situazioni di necessità, e per specifiche esigenze cliniche possano essere adottati criteri di idoneità diversi, a giudizio del medico esperto in medicina trasfusionale, nel rispetto della massima tutela e protezione della salute del donatore;

**VISTA** la legge 6 marzo 2001, n. 52, a titolo "Riconoscimento del registro italiano dei donatori di midollo osseo", che regola la ricerca del donatore compatibile e la donazione di midollo osseo ed istituisce all'articolo 9, comma 2, la Commissione nazionale per i trapianti allogenici da non consanguinei;

**VISTA** la Legge 28 marzo 2001 n°145 "Ratifica ed esecuzione della Convenzione del Consiglio d'Europa per la protezione dei diritti dell'uomo e della dignità dell'essere umano riguardo all'applicazione della biologia e della medicina: Convenzione sui diritti dell'uomo e sulla

biomedicina, fatta ad Oviedo il 4 aprile 1997, nonché del Protocollo addizionale del 12 gennaio 1998 n°168, sul divieto di clonazione di esseri umani”;

**VISTO** il decreto del Presidente del Consiglio dei Ministri del 29 novembre 2001 di definizione dei Livelli Essenziali di Assistenza Sanitaria, confermati dall’articolo 54 della legge 27 dicembre 2002, n.289 che, al livello Essenziale di cui al punto 3-Assistenza Ospedaliera, lettera I –individua le “attività di prelievo, conservazione e distribuzione di tessuti”;

**VISTO** il Decreto Legislativo 19 settembre 1994 n°626 e successive modifiche ed integrazioni recante attuazione delle direttive comunitarie riguardanti il miglioramento della sicurezza e della salute dei lavoratori sul luogo di lavoro;

**VISTO** il documento di linee guida in oggetto, trasmesso dal Ministero della salute con nota del 4 aprile 2003;

**CONSIDERATO** che, in sede tecnica il 12 maggio u.s. è stato avviato l’esame del provvedimento e che, nella riunione del 26 maggio 2003, l’esame è stato rinviato per ulteriori approfondimenti richiesti al Ministero della salute., in ordine alla coerenza dei contenuti del suddetto accordo con il quadro normativo e finanziario vigente; che il Ministero della salute, con nota del 17 giugno, ha espresso l’avviso che lo stesso non risulta innovativo ed ampliativo rispetto ai Livelli di Essenziali di Assistenza Sanitaria, come definiti dal decreto del Presidente del Consiglio dei Ministri del 29 novembre 2001, confermati dall’articolo 54 della legge 27 dicembre 2002, n.289;

**CONSIDERATO** che, in sede tecnica il 17 giugno u.s. alla quale era presente anche un rappresentante del Ministero dell’Economia e Finanze, sono stati partecipati i contenuti della suddetta nota e si è convenuto il testo dell’accordo in questione;

**CONSIDERATO** che, nel corso dell’odierna seduta di questa Conferenza i Presidenti della Regioni hanno espresso avviso favorevole all’accordo;

**CONSIDERATO** che, nel corso dell’odierna seduta di questa Conferenza, il rappresentante del Ministero dell’economia e finanze ha chiesto di precisare che la istituzione della Commissione di cui alla lettera E) del testo del presente accordo non comporti ulteriori oneri a carico del bilancio dello Stato rispetto a quelli già previsti dall’ordinamento e che tale precisazione è stata condivisa dal rappresentante del Ministero della salute e dai Presidenti delle Regioni;

**ACQUISITO** l’assenso del Governo, delle Regioni e delle province Autonome di Trento e di Bolzano;

**Sancisce il seguente accordo tra il Ministro della salute , le Regioni e le Province autonome di Trento e Bolzano nei termini sottoindicati:**

-Tenuto conto dell’Ordinanza del Ministro della Salute del 30 dicembre 2002 che esprime l’esigenza di esercitare una più stretta attività di controllo e vigilanza riguardo all’utilizzazione delle cellule staminali da cordone ombelicale, che fa espressamente divieto alla conservazione di sangue di cordone ombelicale presso strutture private e che ribadisce il requisito dell’autorizzazione ministeriale all’importazione ed esportazione di cellule staminali emopoietiche da cordone ombelicale sia per uso autologo che allogenico;

-Preso atto che il tema del trapianto di cellule staminali emopoietiche è stato inoltre affrontato, tra gli altri, nella circolare del Ministero della sanità n. 10 del 22 febbraio 1986 inerente i Centri trapianto di midollo; nel parere del Consiglio superiore di sanità del 16 marzo 1994, sul programma nazionale per il trapianto di organi e tessuti;

-Accertato che l'insieme delle norme citate in premessa disciplina sostanzialmente la donazione di cellule staminali e l'accesso dei pazienti al registro dei donatori di midollo osseo e non concerne, in particolare, le caratteristiche delle strutture che si occupano della raccolta, manipolazione ed impiego clinico delle cellule staminali emopoietiche, atto medico di carattere oncoematologico di cui al decreto ministeriale 29 gennaio 1992 concernente l'"Elenco delle alte specialità e fissazione dei requisiti necessari alle strutture sanitarie per l'esercizio delle attività di alta specialità";

-Preso atto che il Consiglio superiore di sanità, nella seduta del 5 luglio 2001, oltre ad esprimersi favorevolmente sulla stimolazione della produzione di cellule staminali emopoietiche con fattore di crescita granulocitario nel donatore non consanguineo in occasione della seconda donazione, ha inoltre segnalato l'opportunità di predisporre uno schema di provvedimento inerente i requisiti strutturali, tecnologici ed organizzativi minimi per l'esercizio delle attività sanitarie relative alle strutture che effettuano prelievi di cellule staminali da donatore autologo o allogenico ed ai centri trapianti che le utilizzano nel ricevente;

-Ritenuto pertanto necessario garantire la qualità delle procedure di donazione conservazione, processazione e trapianto di cellule staminali emopoietiche attraverso la definizione di standard qualitativi per i centri di conservazione e trapianto e la raccolta dei dati relativi a queste attività su tutto il territorio nazionale;

-Rilevato che nel settore specifico del trapianto di cellule staminali sono attive in campo internazionale specifiche società ed organizzazioni denominate: EBMT (European Group for Blood and Marrow Transplantation), che si occupa delle procedure trapiantologiche e degli standard per i centri di trapianto, collegata all'ISCT (International Society for Cell Therapy), all'IBMTR (International Bone Marrow Transplant Registry) e al JACIE (Joint Accreditation Committee of ISHAGE and EBMT per l'accreditamento dei centri trapianto e le indicazioni al trapianto stesso); BMDW (Bone Marrow Donor Worldwide), che raccoglie tutti i donatori non consanguinei del mondo in un unico file telematico collegato con tutti i registri nazionali e con WMDA (World Marrow Donor Association), che si occupa di standard e procedure, diritti e doveri dei donatori nel mondo; NETCORD (network internazionale per la raccolta e la conservazione di sangue cordonale), che determina le procedure ed i criteri necessari all'accreditamento delle Banche Cordonali; ISBT (International Society of Blood Transfusion) che si occupa di standard procedure di Medicina Trasfusionale;

-Preso atto che le società ed organizzazioni internazionali citate alla precedente alinea sono collegate o associate con corrispondenti gruppi clinico-scientifici ed organizzazioni nazionali denominati: GITMO (Gruppo Italiano Trapianto Midollo Osseo), associato con EBMT; IBMDR/ADMO (Italian Bone Marrow Donor Registry ed Associazione Donatori Midollo Osseo, associati rispettivamente con BMDWW e WMDA; GRACE (Gruppo Raccolta ed Amplificazione delle Cellule Emopoietiche), associato con NETCORD; ERCBB (Emilia Romagna Cord Blood Bank associato con BMDKW); SIE (Società Italiana di Ematologia); AIEOP (Associazione Italiana di Oncoematologia Pediatrica); SIMTI (Società Italiana di Medicina Trasfusionale e di Immunoematologia), associata con ISBT; SIDE (Società Italiana di Emaferesi);  
Viste le linee-guida prodotte dalle sopraricordate società, organizzazioni e gruppi clinico-scientifici in tema di raccolta, manipolazione ed impiego clinico delle cellule staminali emopoietiche;

-Visto il documento conclusivo prodotto dalla Commissione di studio sull'utilizzo delle cellule staminali in campo terapeutico, istituita con decreto del Ministro della Salute 6 agosto 2001;

-Rilevato che per i trapianti di organi e tessuti la citata legge 1° aprile 1999, n. 91, prevede, tra l'altro, la costituzione del Centro nazionale per i trapianti ed affida ad esso la raccolta dei dati relativi alle attività di trapianto ed il compito di fissare parametri relativi alla qualità del funzionamento delle strutture trapiantologiche, senza escludere i trapianti da donatore vivente, tra cui il trapianto di cellule staminali emopoietiche va certamente considerato;

**il Ministro della salute , le Regioni e le Province autonome di Trento e Bolzano  
convengono quanto segue:**

A)-le attività di raccolta, manipolazione ed impiego clinico di cellule staminali emopoietiche devono avvenire secondo le linee-guida riportate nell'allegato documento, che costituisce parte integrante del presente atto, nelle quali sono descritti standard operativi in accordo con standard internazionali;

B)-le Regioni e le Province autonome di Trento e Bolzano avviano procedure di accreditamento dei centri trapianto e delle banche di cordone ombelicale in base alle indicazioni delle suddette linee-guida e nel rispetto delle norme di carattere generale sull'accREDITAMENTO delle strutture sanitarie;

C)-la verifica del rispetto dell'applicazione delle suddette linee-guida è effettuata dalle Regioni e Province autonome di Trento e Bolzano, in collaborazione con il Centro nazionale per i trapianti, anche avvalendosi delle società, organizzazioni e gruppi clinico-scientifici individuati in premessa, almeno ogni tre anni;

D)-le attività di raccolta, manipolazione ed impiego clinico di cellule staminali emopoietiche e le attività di immunogenetica dedicate al trapianto di cellule staminali possono avvenire solo nei centri accreditati dalle Regioni e Province autonome di Trento e Bolzano;

E)-con apposito provvedimento del Ministro della salute è istituita, senza ulteriori oneri a carico dello Stato, una Commissione composta da tre rappresentanti delle Regioni e Province autonome di Trento e Bolzano, da tre esperti designati dal Ministro della salute dei quali uno dell'Istituto Superiore di Sanità, dal direttore del Centro nazionale trapianti, da un rappresentante di ciascuna delle organizzazioni GITMO, IBMDR, GRACE, SIMTI, SIDE, SIE, AIEOP e da un esperto indicato dal Consiglio superiore di sanità, incaricata di valutare lo stato di attuazione del presente accordo, e più in generale l'andamento delle attività di trapianto delle cellule staminali emopoietiche, e di riferirne con periodici rapporti al Ministro ed alle Regioni e Province Autonome.

-convengono sul documento allegato sub A) recante: "Linee-guida in tema di raccolta, manipolazione e impiego clinico delle cellule staminali emopoietiche (CSE)."

Il Segretario  
f.to Carpino

Il Presidente  
f.to La Loggia

**ALLEGATO A)**

**LINEE-GUIDA IN TEMA DI RACCOLTA, MANIPOLAZIONE E IMPIEGO CLINICO  
DELLE CELLULE STAMINALI EMOPOIETICHE (CSE)**

## Indice

|  |             |    |
|--|-------------|----|
| <b>1) Introduzione</b>   | <i>Pag.</i> | 9  |
| <b>2) Programma di trapianto di cellule staminali emopoietiche:<br/>definizioni generali</b> | “           | 10 |
| 2.A) Unità Clinica.  | “           | 10 |
| 2.B) Il Centro di Raccolta   | “           | 10 |
| 2.C) Il Laboratorio di Processazione   | “           | 11 |
| <b>3) Le CSE da midollo osseo e da sangue periferico (raccolta e<br/>conservazione)</b>      | <i>Pag</i>  | 11 |
| 3.A) Identificazione dei centri  | “           | 11 |
| 3.B) Infrastrutture e servizi  | “           | 11 |
| 3.C) Personale   | “           | 12 |
| 3.D) Processi e procedure  | “           | 12 |
| 3.E) Consenso informato  | “           | 12 |
| 3.F) Identificazione e qualificazione delle CSE.   | “           | 13 |
| 3.G) Criopreservazione.  | “           | 13 |
| 3.H) Conservazione   | “           | 13 |
| 3.I) Trasporto   | “           | 13 |
| 3.L) Controlli di qualità  | “           | 14 |
| <b>4) Le CSE dal sangue di cordone ombelicale (SCO)</b>                                      | <i>Pag</i>  | 14 |
| 4.A) Il Consenso Informato   | “           | 14 |
| 4.B) La Raccolta   | “           | 14 |
| 4.C) Il Trasporto  | “           | 15 |
| 4.D) La Manipolazione  | “           | 15 |
| 4.E) La Conservazione  | “           | 15 |
| 4.F) Il Sistema Qualità  | “           | 15 |
| <b>5) Manipolazione delle cellule staminali ematopoietiche</b>                               | <i>Pag</i>  | 17 |
| 5.A) Standard per la manipolazione   | “           | 17 |
| 5.A.1) Personale   | “           | 17 |
| 5.A.2) Laboratorio   | “           | 17 |
| 5.A.3) Procedure   | “           | 17 |
| 5.A.4) Sicurezza   | “           | 18 |

|  |            |           |
|--|------------|-----------|
| 5.B) Aspetti generali della manipolazione cellulare                              | <i>Pag</i> | <i>18</i> |
| 5.B.1) Progenitori emopoietici non manipolati o minimamente manipolati           | “          | <i>18</i> |
| 5.B.2) Progenitori emopoietici manipolati  | “          | <i>19</i> |
| 5.B.3) Controlli di qualità  | “          | <i>19</i> |
| 5.B.4) Reagenti ed apparecchiature   | “          | <i>19</i> |
| 5.B.5) Etichette   | “          | <i>19</i> |
| 5.B.6) Reinfusione   | “          | <i>20</i> |
| <b>6) Indicazioni attuali per l'impiego clinico</b>                              | <i>Pag</i> | <i>20</i> |
| 1) Standard (S)  | “          | <i>20</i> |
| 2) Protocollo clinico (PC)   | “          | <i>20</i> |
| 3) Studio Pilota (Developmental D)   | “          | <i>20</i> |
| 4) Non Raccomandati (NR)   | “          | <i>20</i> |
| <i>Tabella 1</i><br>Indicazioni e Categorie di Trapianto nei Pazienti Adulti     | <i>Pag</i> | <i>22</i> |
| <i>Tabella 2</i><br>Indicazioni e Categorie di Trapianto nei Pazienti Pediatrici | <i>Pag</i> | <i>24</i> |
| <i>Abbreviazioni</i>   | <i>Pag</i> | <i>25</i> |
| <i>Definizioni</i>   | “          | <i>25</i> |

## **1) INTRODUZIONE**

Ferma restando l'autonomia delle singole Regioni per ciò che attiene i modelli organizzativi più consoni alle realtà territoriali, le presenti linee guida rappresentano uno strumento per garantire la qualità delle procedure di donazione, conservazione, processazione e trapianto di cellule staminali emopoietiche, attraverso la definizione di standard qualitativi per i centri di conservazione e trapianto e la raccolta dei dati relativi a queste attività, su tutto il territorio nazionale.

Le attività delle suddette procedure sono da intendersi limitatamente per quanto previsto dal decreto del Presidente del Consiglio dei Ministri del 29 novembre 2001 di definizione dei Livelli Essenziali di Assistenza Sanitaria, confermati dall'articolo 54 della legge 27 dicembre 2002, n.289.

L'impiego delle Cellule Staminali Ematopoietiche (CSE) a scopo terapeutico trova ormai ampia diffusione nella pratica clinica, che non limita il loro utilizzo al solo ambito trapiantologico, ma lo estende a quella che, più in generale, viene chiamata terapia cellulare.

Le formidabili potenzialità offerte dalla ricerca di laboratorio e la sofisticazione delle nuove tecnologie per la manipolazione cellulare impongono che ancor più siano garantiti, sul piano clinico-terapeutico oltre che etico, i soggetti coinvolti, siano essi i donatori sani di CSE che i pazienti, fruitori finali della terapia cellulare.

Scopo delle presenti linee-guida è definire le condizioni e le linee procedurali generali per gli operatori che si occupano della raccolta, manipolazione, conservazione e uso clinico delle CSE: pertanto, questo documento non intende includere tutte le modalità operative che una struttura o i singoli soggetti dovrebbero adottare, ma vuole fornire le linee-guida e le relative referenze, a cui attenersi perché strutture, procedure ed applicazioni cliniche rispondano a quei requisiti di qualità, definiti da "standard" internazionalmente riconosciuti, che costituiscono il presupposto indispensabile per una buona pratica clinica. Gli standard di riferimento proposti sono il frutto di lunga elaborazione da parte della comunità scientifica e tengono conto della condivisione che su questo tema è stata raggiunta nell'ambito di Paesi appartenenti all'Europa e ad altri continenti.

Con la denominazione di CSE viene correntemente identificata una piccola popolazione di cellule - contenute nel midollo osseo (MO), nel sangue periferico (SP), dopo mobilizzazione con chemioterapia e/o fattori di crescita, e nel sangue di cordone ombelicale (SCO) - che presenta le seguenti proprietà:

*-Auto-mantenimento:* capacità di generare nel corso delle divisioni mitotiche cellule non orientate secondo un processo di differenziazione morfologico-funzionale, mantenendo quelle caratteristiche di staminalità che assicurano indefinitamente l'attività del sistema emopoietico;

*-Ricostituzione:* capacità di rigenerare il tessuto emopoietico sia autologo che allogenico in pazienti sottoposti a terapie mieloablative;

*-Orientamento e Maturazione:* capacità di generare cellule delle varie filiere differenziative emopoietiche (progenitori emopoietici orientati) in grado di produrre, attraverso stadi maturativi intermedi (precursori emopoietici), cellule specializzate nello svolgimento di funzioni specifiche.

I tessuti fonte di CSE (MO, SP, SCO) sono correntemente utilizzati per terapie trapiantologiche in quanto contengono: a) cellule staminali pluripotenti, le CSE propriamente dette, quelle cioè in grado di dare origine a tutti i tipi di cellule mature del sistema emopoietico; b) progenitori ematopoietici "orientati", anche detti "commissionati", lungo una filiera differenziativa specifica e



in grado di maturare per dare origine ad un solo tipo di cellule ematiche; c) cellule fenotipicamente e funzionalmente mature: globuli rossi, granulociti, linfociti, piastrine, ecc.

Nelle presenti linee-guida si fa riferimento alle CSE ed alle sottopopolazioni cellulari sia fisiologicamente presenti nei tessuti ematopoietici (MO, SP, SCO) sia da questi derivate dopo separazione e/o manipolazione di laboratorio.

## **2) PROGRAMMA DI TRAPIANTO DI CELLULE STAMINALI EMOPOIETICHE: DEFINIZIONI GENERALI**

L'attività di trapianto di CSE deve essere definita e regolata all'interno di un programma (relativo all'atto terapeutico risultante dall'azione coordinata di più strutture e/o di più soggetti all'interno della stessa struttura) che, laddove istituito, si articola in tre componenti: *A) l'Unità clinica; B) il Centro di raccolta e C) il Laboratorio di processazione delle CSE*. Queste tre componenti devono essere presenti all'interno di strutture di degenza e di laboratorio localizzate in aree omogenee in relazione alle specifiche organizzazioni regionali. Tale vincolo non si applica ad alcune componenti, quali la criopreservazione del sangue placentare o particolari protocolli di manipolazione cellulare. Il programma di trapianto prevede una funzione di Direzione del Programma., con il compito di coordinare le attività delle tre unità in aree omogenee in relazione alle specifiche organizzazioni regionali, affinché esse operino secondo protocolli approvati e validati, con esecuzione degli opportuni controlli di qualità delle procedure e delle attività e con l'adozione di comuni programmi di formazione continua. Le attività delle tre componenti devono essere documentate.

### **2.A) Unità Clinica.**

L'Unità clinica è responsabile delle procedure di prelievo di midollo osseo che devono essere eseguite presso sale operatorie adeguate, localizzate di norma all'interno della stessa struttura ospedaliera, e delle procedure di trapianto nel paziente.

I medici della unità clinica devono possedere un documentato curriculum formativo in ematologia e relativo a tutti gli aspetti inerenti il trapianto di CSE. Il numero di medici che compongono l'unità di trapianto deve essere adeguato al numero di trapianti eseguiti per anno. E' possibile la presenza nell'unità di medici in formazione per i quali devono essere definiti compiti e responsabilità; la durata e il programma di formazione devono essere documentati e certificati. Per garantire l'appropriatezza della cura intensiva del paziente trapiantato, l'unità clinica deve garantire aree di degenza, Day-Hospital e ambulatori dedicati con adeguato isolamento protettivo e un servizio di guardia medica su 24 ore. L'unità deve avere l'accesso ad altre specialità sinergiche che devono garantire la consulenza richiesta. Il programma deve garantire la presenza di personale infermieristico adeguato ai bisogni del paziente trapiantato.

**2.B) Il Centro di Raccolta** Le procedure di raccolta delle CSE da sangue periferico devono avvenire in locali dedicati. I medici di questa unità devono documentare un curriculum formativo in medicina trasfusionale e possedere almeno un anno di comprovata esperienza nelle procedure di raccolta delle CSE. Il responsabile della raccolta deve essere in grado di intervenire in modo clinicamente appropriato qualora si verificano effetti collaterali durante le procedure di raccolta delle CSE. E' compito del responsabile accertarsi che l'idoneità fisica e psichica del donatore sia

stata valutata correttamente e che il consenso informato alla donazione sia raccolto in modo appropriato. Le procedure di raccolta sono definite da opportuni protocolli e manuali operativi e sono controllate da specifici programmi di qualità. Il responsabile garantisce l'attività svolta dai collaboratori e il rispetto del programma dei medici in formazione di cui dovrà certificare l'avvenuto addestramento. Le peculiarità che riguardano la raccolta di Midollo Osseo e di SCO sono descritte di seguito.

### **2.C) Il Laboratorio di Processazione**

Le procedure di processazione delle CSE ottenute da midollo osseo, sangue periferico o cordone ombelicale devono essere condotte presso laboratori che abbiano caratteristiche strutturali e organizzative adeguate, secondo le norme vigenti e accreditate dalle Regioni.

L'Unità di processazione deve prevedere un Responsabile con documentata esperienza negli aspetti di laboratorio inerenti la manipolazione delle CSE utilizzate con finalità terapeutiche.

L'attività del laboratorio deve essere svolta secondo procedure dettagliate in manuali operativi, sottoposta a programmi di controllo di qualità e accreditata. Il personale laureato e tecnico deve documentare curricula formativi e professionali che ne attestino la competenza. L'attività di formazione del personale laureato e tecnico deve avvenire secondo programmi predefiniti che stabiliscano compiti e responsabilità. La durata e la proficuità del periodo formativo deve essere documentata e certificata per poter rappresentare credito formativo.

Nell'ambito dell'area, come individuata al punto 2, qualora esistano più programmi trapianto, le singole unità (clinica, di raccolta e di processazione) possono partecipare a più di un programma.

## **3) LE CSE DA MIDOLLO OSSEO E DA SANGUE PERIFERICO (RACCOLTA E CONSERVAZIONE)**

### **3.A) Identificazione dei centri**

I Centri di raccolta e conservazione (CRC) delle CSE sono individuati dalle Regioni sulla base di quanto previsto dai relativi piani sanitari regionali.

I CRC delle CSE possono essere dislocati in una sede logistica diversa rispetto al Centro trapianto e possono svolgere indipendentemente attività produttive e servizi a favore di più Centri trapianto.

I CRC devono essere accreditati dalle Regioni, sulla base di requisiti e standard internazionalmente riconosciuti, riferiti sia a programmi definiti che a documentata esperienza sviluppata.

La validità dell'accreditamento ha la durata prevista dalle procedure regionali. Al termine di tale periodo, la procedura di accreditamento va rinnovata, allo scopo di garantire il rispetto continuativo dei requisiti necessari.

### **3.B) Infrastrutture e servizi**

Il CRC di CSE deve essere dotato di adeguati spazi, impianti ed attrezzature per lo svolgimento di tutte le attività di raccolta, processazione e conservazione delle CSE, come pure per le attività logistiche di supporto.

Nel caso di raccolta di CSE midollari, devono essere garantiti una sala operatoria allestita con personale adeguatamente qualificato e una struttura che ospiti il donatore o il paziente per il tempo necessario all'effettuazione del prelievo di midollo e al recupero post-operatorio. Nel caso di raccolta di CSE periferiche deve essere individuata un'area adibita all'attività di aferesi terapeutica,

con spazio sufficiente per l'assistenza al paziente o donatore durante la procedura. La struttura che ospita il CRC deve poter assicurare adeguata assistenza in caso di emergenza durante l'arco delle 24 ore

### **3.C) Personale**

I programmi di raccolta e criopreservazione devono prevedere organizzazione e qualificazione delle risorse umane. Le figure professionali saranno scelte sulla base della qualificazione specifica e della esperienza maturata nel settore.

### **3.D) Processi e procedure**

Per entrambe le modalità trapiantologiche (trapianto autologo e allogenico) le procedure operative riguardanti la raccolta, la processazione e la conservazione delle CSE devono tener conto delle normative vigenti, degli standard pertinenti e delle linee guida contenute nei documenti pubblicati dalle società scientifiche pertinenti. In ogni CRC deve essere codificato un protocollo per la gestione di tutte le procedure adottate e un manuale ad uso interno in cui siano descritte in modo dettagliato tutte le modalità operative. In particolare, il Coordinatore del programma deve assicurare che siano descritte le procedure riguardanti ognuna delle seguenti attività: **1)** i criteri di elegibilità del paziente e di selezione del donatore; **2)** Il giudizio di idoneità, documentato dal responsabile della unità clinica e dal responsabile della unità di raccolta per le rispettive aree di competenza; **3)** il consenso informato; **4)** la terapia di mobilizzazione delle CSE periferiche nel paziente e nel donatore; **5)** le modalità del predeposito di sangue autologo per l'espianto di midollo; **6)** la raccolta delle CSE midollari e periferiche; **7)** la gestione delle emergenze; **8)** la sicurezza degli operatori; **9)** i controlli di qualità; **10)** l'addestramento del personale; **11)** la definizione delle singole competenze; **12)** l'analisi dei risultati e gli opportuni eventi correttivi; **13)** l'identificazione, l'etichettatura, la conservazione, la scadenza, il trasporto e la procedura di cessione dell'unità raccolta; **14)** l'eliminazione dei rifiuti; **15)** la gestione dei materiali, dei reagenti e delle apparecchiature; **16)** la manutenzione periodica ordinaria e l'assistenza tecnica; **17)** la pulizia e l'igiene degli ambienti; ed infine **18)** un piano di emergenza in caso di calamità

### **3.E) Consenso informato**

Il paziente o il donatore (genitori o tutore legale in caso di minore) devono essere informati in maniera esaustiva in merito agli elementi che hanno determinato la scelta del trattamento, ai risultati clinici della strategia terapeutica, agli eventuali disagi e/o rischi legati alle procedure di mobilizzazione e di prelievo cui saranno sottoposti. Devono inoltre essere informati circa le condizioni di conservazione e le indicazioni relative alla validità e scadenza del prodotto trapiantologico raccolto. E' necessario che il donatore venga altresì informato e rilasci il relativo consenso sull'eventualità che si renda necessario un secondo prelievo per effettuare un secondo trapianto, in caso di fallimento del primo. Dopo esauriente illustrazione delle modalità di prelievo, degli effetti indesiderati e dei possibili rischi a breve e lungo termine, dopo che il giudizio di idoneità sia stato formulato e prima che la procedura abbia inizio, il paziente o il donatore (i genitori o il tutore legale in caso di minore) devono esprimere per iscritto il proprio consenso informato per essere sottoposti alla procedura.

Per quanto riguarda il donatore, il giudizio di idoneità e il consenso devono essere acquisiti prima dell'inizio del regime di condizionamento del ricevente e deve essere rinnovato per iscritto in occasione di ogni donazione.

Al soggetto minore dovranno essere fornite, direttamente e secondo i più opportuni mezzi di comunicazione, tutte le informazioni pertinenti il significato, gli scopi, le modalità e gli eventuali effetti collaterali relativi alla procedura alla quale sarà sottoposto.

### **3.F) Identificazione e qualificazione delle CSE.**

La procedura di identificazione deve essere condotta in maniera adeguata onde prevenire errori, di norma assegnando un numero o un codice di identificazione del prodotto e del donatore. L'unità prodotta deve essere identificata e acquisita sul registro di carico degli emocomponenti, come previsto da apposita normativa, al fine di garantire completa tracciabilità del prodotto. Le etichette definitive devono comprendere: 1) codice di identificazione del prodotto, 2) identità del centro raccolta, 3) nome del donatore, 4) nome ed identificativo del ricevente, 5) data del prelievo, 6) sede ed orario della raccolta, 7) volume del prodotto, 8) tipo di anticoagulante ed eventuali additivi, 9) temperatura raccomandata, 10) eventuale segnalazione di rischio infettivologico. Qualora si tratti di donazione allogenica, devono essere effettuati tutti gli esami di qualificazione previsti dalla legge prima di trasfondere l'emocomponente al ricevente.

### **3.G) Criopreservazione.**

In ogni CRC deve essere codificato un protocollo operativo per la manipolazione e la criopreservazione delle cellule staminali. Devono essere stabiliti i criteri per effettuare la criopreservazione della sospensione cellulare e il programma utilizzato. Nel protocollo di congelamento devono essere indicati: volume, concentrazione cellulare e crioprotettore alle concentrazioni finali; deve inoltre essere indicato il metodo di congelamento e la temperatura a fine procedura e, nel caso della discesa controllata, il programma della curva di congelamento, con registrazione della curva stessa. Il programma deve essere validato mediante controlli di qualità atti a testimoniare il recupero cellulare e funzionale dopo scongelamento. Per ogni procedura è necessario conservare, nelle stesse condizioni del prodotto criopreservato, aliquote "testimoni", disponibili per eventuali test di controllo.

### **3.H) Conservazione**

La conservazione dei prodotti criopreservati in Centri di raccolta e conservazione deve avvenire in condizioni di inequivocabile identificazione all'interno dei contenitori criogenici e in modo tale da eliminare il rischio di cross-contaminazioni.

La temperatura dei contenitori criogenici deve garantire un adeguato recupero cellulare e funzionale dopo scongelamento e deve essere monitorata e registrata, prevedendo anche sistemi di allarme remoto e piani di emergenza, in particolare per la salvaguardia della sicurezza degli operatori.

### **3.I) Trasporto**

Il trasporto delle unità di cellule staminali deve rispettare le norme vigenti in termini di sicurezza ed avvenire in contenitori rigidi a chiusura ermetica. I contenitori utilizzati per il trasporto devono

essere isolati termicamente per mantenere stabile la temperatura richiesta e permettere la relativa tracciabilità.

### **3.L) Controlli di qualità**

Nel CRC deve essere attuato un piano di gestione della qualità, che riguarda tutte le attività di processo e di rispetto degli standard ambientali di lavoro.

Vengono registrati gli eventi avversi, gli errori e i relativi interventi correttivi. I dati relativi alla qualità e all'efficienza di raccolta vengono analizzati periodicamente, così come i tempi necessari per conseguire l'attecchimento emopoietico.

Allo scopo di garantire gli standard richiesti per la riconferma dell'accreditamento, deve essere prevista una periodica verifica dell'attività e del mantenimento degli standard secondo modalità definite dalle Regioni.

## **4) LE CSE DAL SANGUE DI CORDONE OMBELICALE (SCO)**

### **4.A) Il Consenso Informato**

Il consenso informato deve essere ottenuto dalla madre prima del parto. Nel modulo di consenso devono essere specificati i seguenti punti: **1)** la donazione dello SCO è per uso trapianto; **2)** nel caso in cui la raccolta sia finalizzata al trapianto allogenico tra soggetti non consanguinei, l'unità SCO è messa a disposizione di altri soggetti e potrebbe non essere disponibile in futuro per il donatore o per la sua famiglia; **3)** nel caso, riconducibile a particolari situazioni cliniche incombenti, che la raccolta sia finalizzata al trapianto autologo o allogenico tra consanguinei, la distribuzione dell'unità SCO sarà limitata al ricevente consanguineo specificato o allo stesso donatore; **4)** verrà raccolta l'anamnesi personale e familiare; **5)** verranno eseguiti test allo scopo di individuare eventuali malattie infettive e genetiche; **6)** i campioni verranno conservati per futuri test; **7)** l'unità potrebbe essere utilizzata per ricerca, per controllo di qualità o per studi di validazione; **8)** l'unità potrebbe essere eliminata se non soddisfa i requisiti per la conservazione propri della banca.

### **4.B) La Raccolta**

Ai fini della raccolta il tempo di gestazione della madre non deve essere inferiore a 34 settimane.

La raccolta dello SCO deve essere eseguita secondo protocolli e procedure scritte nell'ambito del sistema di qualità di cui al punto 3.L in cui siano definiti i criteri per la selezione dei donatori e le manovre operative.

Devono essere adottate procedure atte a proteggere il ricevente da malattie trasmissibili ed a garantire la riservatezza dei dati sul donatore SCO e sulla madre. Su un campione di sangue materno devono essere effettuati i test previsti dalle norme in vigore al momento della raccolta.

Le Banche di Sangue di Cordone (BSC), individuate dalle Regioni secondo quanto previsto dall'articolo 15 della legge 1° aprile 1999, n.91 e dalla legge 4 maggio 1990, n.107, dovranno predisporre protocolli e procedure scritte per la risposta da fornire nel caso che i risultati del processo di screening o le analisi in laboratorio sui campioni di sangue materno o di SCO risultino ambigui o positivi.

Il prelievo del SCO è effettuato da personale qualificato nel luogo dove il neonato viene partorito, secondo accordi con una BSC accreditata.

Le procedure operative adottate per la raccolta dello SCO devono garantire la conservazione dello stesso secondo le norme vigenti e dovranno essere tali da salvaguardare la salute della madre e del neonato.

#### **4.C) Il Trasporto**

I mezzi di trasporto utilizzati per trasferire l'unità SCO dal luogo di prelievo alla BSC devono essere scelti in modo tale da salvaguardare l'integrità dell'unità stessa nonché la salute e la sicurezza del personale.

Il trasporto delle unità di cellule staminali deve rispettare le norme vigenti in termini di sicurezza ed avvenire in contenitori rigidi a chiusura ermetica. I contenitori utilizzati per il trasporto devono essere isolati termicamente per mantenere stabile la temperatura richiesta e permettere la relativa tracciabilità.

#### **4.D) La Manipolazione**

Le unità SCO devono essere manipolate e caratterizzate in conformità a una procedura operativa validata dal sistema di qualità. Le unità SCO devono essere congelate entro 48 ore dalla raccolta. La manipolazione dell'unità deve limitarsi alla riduzione di volume mediante deplezione degli eritrociti e/o del plasma. Per ciascuna unità devono essere conservati dei campioni di riferimento.

La caratterizzazione dell'unità deve essere descritta in una procedura e comprendere almeno: 1) la determinazione del volume, 2) il conteggio delle cellule nucleate del prodotto finale, 3) il gruppo ABO ed Rh, 4) il numero totale di cellule CD34+ o il numero totale di cellule emopoietiche in grado di formare CFU, 5) la valutazione di eventuale contaminazione batterica e/o fungina: in caso di risultato positivo è richiesto un antibiogramma, 6) la tipizzazione HLA-A,B,DRB1, eseguita da laboratori accreditati EFI o ASHI.

#### **4.E) La Conservazione**

Le unità SCO devono essere criopreservate con discesa di temperatura controllata, utilizzando una procedura operativa validata dal sistema di qualità. La documentazione relativa alla curva di congelamento di ogni unità deve essere conservata. I protocolli di criopreservazione devono specificare la sostanza crioprotettiva e la sua concentrazione finale. Le unità SCO congelate devono essere conservate ad una temperatura di  $-135^{\circ}$ . Deve essere operativo un sistema di controllo dell'inventario. Tale sistema dovrà indicare l'ubicazione di ogni unità SCO, nonché dei relativi campioni di riferimento. Dovrà essere minimizzato il rischio che le unità congelate subiscano variazioni di temperatura durante la loro conservazione. I congelatori ad azoto liquido devono avere un dispositivo che garantisca il controllo del livello di azoto e devono essere dotati di un sistema per il monitoraggio continuo della temperatura. Il sistema di allarme deve essere dotato di sistemi di segnalazione visivi e sonori e garantire il funzionamento 24 ore al giorno.

#### **4.F) Il Sistema Qualità**

Le banche di sangue di cordone (BSC) devono avere un Sistema Qualità che garantisca la revisione, la modifica, l'approvazione e l'implementazione di tutte le procedure destinate a monitorare la conformità con gli standard e/o la prestazione della struttura. La BSC deve definire e mantenere un programma per la valutazione e il miglioramento della qualità. Tale programma deve comprendere tutti gli aspetti della raccolta, del trattamento, dell'analisi, della conservazione, della selezione e

della distribuzione del sangue cordonale. La BSC deve avere protocolli e procedure scritte, che coprano tutti gli aspetti delle attività, secondo un manuale di qualità interno. I protocolli e le procedure devono coprire anche le seguenti operazioni della BSC:

- 1) Preparazione, approvazione, implementazione e modifica delle procedure standard operative.
- 2) Screening e consenso della madre
- 3) Raccolta e trasporto del sangue cordonale alla banca.
- 4) Manipolazione, caratterizzazione, criopreservazione, conservazione e data di scadenza del sangue cordonale.
- 5) Etichettatura.
- 6) Criteri per la gestione dei dati, la selezione e la distribuzione delle unità di sangue cordonale, comprese le unità non conformi.
- 7) Gestione della qualità, compresa la valutazione della qualità, le azioni di miglioramento e correttive, i rapporti di errori e incidenti.
- 8) Procedure per la raccolta e l'analisi dei dati relativi all'esito del trapianto.
- 9) Addestramento del personale e documentazione di una continua competenza nelle procedure eseguite.
- 10) Gestione del laboratorio, compresi il mantenimento dei materiali ed il monitoraggio delle apparecchiature, le procedure per pulizia e l'igiene, l'eliminazione dei rifiuti biologici sanitari pericolosi, le procedure di emergenza e di sicurezza, ed un piano di emergenza in caso di calamità.
- 11) Deve essere definita una procedura che garantisca la riservatezza dell'identità del donatore e del ricevente in accordo con le leggi relative al diritto sulla privacy.
- 12) La BSC definisce una procedura che confermi la corretta identificazione di una unità SCO, dei campioni di riferimento e dei campioni materni.
- 13) La BSC definisce una procedura in grado di rintracciare univocamente tutte le unità SCO, tutti i campioni dei donatori e quelli dei riceventi.
- 14) La BSC definisce una procedura in grado di confermare che i risultati delle analisi effettuate sulle unità SCO e sui campioni materni soddisfino determinati requisiti prima che l'unità venga dichiarata idonea per la distribuzione.  
Qualora vi siano più strutture distaccate per la raccolta, dovranno essere chiaramente definite le competenze delle stesse e del laboratorio responsabile relativamente a tutti gli aspetti inerenti la raccolta, il trattamento, l'analisi, la conservazione e la distribuzione
- 15) La BSC dovrà adottare metodi, attrezzature e materiali tali da mantenere la vitalità delle unità di sangue cordonale (CB) e da prevenire l'introduzione accidentale di agenti estranei.
- 16) La BSC deve effettuare ad intervalli regolari e predefiniti ispezioni e revisioni interne delle proprie procedure.
- 17) La BSC definisce una procedura in grado di individuare eventuali unità non pienamente conformi alle presenti linee guida e ai requisiti definiti dalla struttura.
- 18) La BSC definisce una procedura per il monitoraggio, l'individuazione, la documentazione e la denuncia di eventuali deviazioni, errori e incidenti che si verificano durante le operazioni.

## **5) MANIPOLAZIONE DELLE CELLULE STAMINALI EMATOPOIETICHE**

Con il termine di “manipolazione cellulare” si indicano tutti quei processi cui sono sottoposte le cellule fino alla infusione nel paziente.

La marcata eterogeneità funzionale e fenotipica delle cellule richiede che sia applicato un rigoroso controllo di qualità di tutto il processo di manipolazione che garantisca il prodotto biologico finale.

Il controllo di qualità si attua facendo riferimento alle presenti linee-guida che assicurano l' idoneità sia delle strutture dove le cellule emopoietiche sono manipolate che delle procedure alle quali le cellule vengono sottoposte.

Il presente documento individua gli standard che assicurano, in base alle conoscenze attualmente disponibili, la qualità delle procedure di laboratorio e della pratica clinica in relazione alla manipolazione e alla reinfusione di cellule emopoietiche. Gli standard proposti si applicano a tutte le fasi (prelievo, manipolazione, conservazione, reinfusione) della terapia cellulare, indipendentemente dalla sorgente delle cellule (MO, SP, SCO) o dalla modalità di manipolazione (rimozione o arricchimento di popolazioni cellulari; espansione di cellule emopoietiche; criopreservazione; infusione, espansione o attivazione di popolazioni linfocitarie a scopo di immunoterapia; modificazione genetica di cellule emopoietiche o linfoidi), allorché cellule emolinfopoietiche vengano utilizzate per la ricostituzione funzionale, permanente o transitoria, di un tessuto o a scopo di terapia genica o immunologica dopo modificazione, permanente o transitoria, della loro attività funzionale.

### **5.A) Standard per la manipolazione**

#### **5.A.1) Personale**

Il personale del laboratorio di manipolazione cellulare deve avere qualificazione, addestramento ed esperienza adeguati e possedere documentata esperienza negli aspetti di laboratorio inerenti la manipolazione delle CSE utilizzate con finalità terapeutiche.

#### **5.A.2) Laboratorio**

I criteri di garanzia di buone pratiche di laboratorio (GLP) sono derivati da apposite pubblicazioni dell'Istituto Superiore di Sanità.

Si intende specificare comunque che:

- 1) Il Laboratorio di Manipolazione Cellulare deve essere dotato di spazi ed apparecchiature adeguate alle procedure che vengono eseguite allo scopo di evitare che il sovraffollamento possa portare ad errori procedurali e ad una inadeguata conservazione dei materiali.
- 2) Il Laboratorio deve essere mantenuto pulito e in ordine e non deve essere accessibile a personale non autorizzato.
- 3) Il Laboratorio di Manipolazione Cellulare deve essere separato dalle zone nelle quali si svolgono attività o procedure non inerenti il trattamento di cellule usate a scopo di terapia cellulare.

#### **5.A.3) Procedure**

Le procedure di manipolazione cellulare devono essere monitorate e registrate al fine di assicurare e documentare che vengano espletate in conformità agli standard previsti. Il termine procedure definisce ogni aspetto direttamente o indirettamente connesso alla terapia cellulare (prelievo, manipolazione e conservazione delle cellule, conservazione dei reagenti, norme di sicurezza, ecc.).



Ciascun Laboratorio di Manipolazione Cellulare deve essere dotato di un "Manuale delle Procedure" che va revisionato annualmente, per consentirne l'esecuzione da parte del personale tecnico.

#### 5.A.4) Sicurezza

Le procedure del Laboratorio devono essere condotte nel rispetto della vigente normativa di settore in modo da minimizzare i rischi per la salute e la sicurezza del personale, dei pazienti, dei donatori, dei visitatori. Il Laboratorio deve essere dotato di norme scritte per il controllo delle infezioni, della sicurezza chimica e radiologica, della rimozione dei rifiuti e della biosicurezza, accompagnate dalla definizione delle procedure da seguire in caso di incidenti. Devono essere previste procedure per la decontaminazione e l'eliminazione di prodotti biologici di scarto.

#### **5.B) Aspetti generali della manipolazione cellulare**

Le cellule emopoietiche vengono ottenute in accordo con gli standard definiti per il prelievo da donatori adeguatamente selezionati o dal paziente stesso, di cui al D.M. 26 gennaio 2001. La manipolazione deve avvenire in base alle metodiche definite nel "Manuale delle Procedure".

Le procedure adottate consentiranno di ottenere:

1. Progenitori emopoietici non manipolati o minimamente manipolati, definiti come progenitori emopoietici non sottoposti a procedure di espansione o modificazione funzionale o genetica di specifiche popolazioni cellulari.
2. Progenitori emopoietici manipolati, definiti come progenitori emopoietici sottoposti a procedure di espansione o modificazione funzionale di specifiche popolazioni cellulari.

La produzione di progenitori emopoietici manipolati, comunque eseguita con farmaci, reagenti chimici e biologici o con apparecchiature in fase di sperimentazione o anche già approvate per l'uso clinico, deve sempre essere sottoposta all'approvazione del Comitato Etico e richiede che il ricevente di progenitori emopoietici manipolati abbia fornito il proprio consenso informato.

Qualsiasi metodica di manipolazione cellulare deve impiegare tecniche sterili e deve fornire progenitori emopoietici vitali in quantità considerate adeguate in relazione alle aggiornate conoscenze scientifiche.

Le varie fasi delle procedure di manipolazione cellulare devono essere documentate per iscritto in modo dettagliato e devono contenere una valutazione quantitativa del prodotto finale. Il risultato delle procedure di manipolazione di progenitori emopoietici deve essere notificato al Responsabile Clinico del Programma di Trapianto.

Le apparecchiature usate per le manipolazioni cellulari devono essere periodicamente sottoposte a manutenzione. Il numero di lotto e la data di scadenza dei reagenti e del materiale usato per la manipolazione cellulare devono essere registrati.

#### 5.B.1) Progenitori emopoietici non manipolati o minimamente manipolati

La definizione di progenitori emopoietici non manipolati o minimamente manipolati include le seguenti procedure:

- A. rimozione del plasma.
- B. rimozione delle emazie.

- C. preparazione del buffy-coat mediante rimozione del plasma e delle emazie.
- D. preparazione della frazione mononucleata mediante centrifugazione in gradiente di densità.
- E. criopreservazione del buffy-coat o della frazione mononucleata.
- F. Deplezione di una o più popolazioni di cellule (selezione negativa).
- G. Arricchimento di una o più popolazioni di progenitori emopoietici (selezione positiva).

#### 5.B.2) Progenitori emopoietici manipolati

La manipolazione di progenitori emopoietici include le seguenti procedure:

- A. Espansione di una o più popolazioni di progenitori emopoietici (espansione ex vivo).

#### 5.B.3) Controlli di qualità

E' necessario prevedere l'esecuzione di test e procedure per la misurazione e il monitoraggio delle caratteristiche funzionali delle cellule prelevate, manipolate ed eventualmente criopreservate. I risultati dei controlli di qualità devono essere registrati ed allegati alla scheda del materiale processato.

I controlli di qualità delle cellule emopoietiche prelevate, manipolate ed eventualmente criopreservate devono essere basati su esami appropriati e scientificamente riconosciuti allo scopo di dimostrare la sicurezza e l'efficacia delle cellule stesse.

Le cellule emopoietiche prelevate, manipolate ed eventualmente criopreservate devono essere sottoposte ad esame microbiologico. Nel caso gli esami microbiologici dimostrassero l'esistenza di contaminazioni queste devono essere immediatamente notificate al Responsabile Clinico competente.

Dopo la reinfusione di cellule emopoietiche non manipolate o manipolate, i controlli di qualità devono includere la registrazione del tempo necessario per ottenere la ricostituzione emopoietica con quella specifica frazione cellulare reinfusa.

Nel caso vengano utilizzati progenitori emopoietici manipolati (purging o selezione positiva), è necessario eseguire test immunofenotipici e saggi clonogenici prima e dopo la procedura di manipolazione.

#### 5.B.4) Reagenti ed apparecchiature

Reagenti ed apparecchiature utilizzati per prelevare, manipolare, analizzare, criopreservare, conservare e reinfondere cellule emopoietiche devono essere conservati in modo ordinato e sicuro in ambienti igienicamente controllati.

Tutti i reagenti utilizzati per prelevare, manipolare, analizzare, criopreservare, conservare e reinfondere cellule emopoietiche devono essere sterili.

Le apparecchiature utilizzate per prelevare, manipolare, analizzare, criopreservare, conservare e reinfondere cellule emopoietiche devono essere periodicamente sottoposte ad operazioni di manutenzione e calibrazione.

#### 5.B.5) Etichette

Le operazioni di etichettature delle cellule emopoietiche devono essere separate fisicamente o spazialmente da altre operazioni al fine di prevenire errori di denominazione. Le etichette devono essere compilate in modo chiaro e leggibile usando inchiostri indelebili.

Etichette d'identificazione devono essere applicate sul contenitore delle cellule al momento del prelievo e devono contenere le seguenti informazioni:

- A. Codice identificativo univoco.
- B. Tipo di cellule.
- C. Nome del donatore.

**D.** Nome del ricevente (se diverso da quello del donatore).

**E.** Data e ora del prelievo.

**F.** Volume del materiale prelevato.

**G.** Tipo e volume dell'anticoagulante usato e di eventuali altri additivi.

Alla fine delle procedure di manipolazione e prima dell'invio al Centro Trapianti, l'etichetta sul contenitore delle cellule deve indicare le seguenti ulteriori informazioni:

**A.** Codice identificativo univoco.

**B.** Gruppo sanguigno e fattore Rh del donatore (non necessario per le procedure autologhe).

**C.** Denominazione delle cellule.

**D.** Composizione del contenuto (medium, crioprotettore, ecc.).

**E.** Metodo di manipolazione.

#### 5.B.6) Reinfusione

Al momento della reinfusione, ciascun prodotto cellulare finale deve essere identificato da due persone differenti allo scopo di verificare le informazioni sul ricevente e l'integrità del contenitore. L'unità prodotta deve essere identificata e acquisita sul registro di carico degli emocomponenti, come previsto da apposita normativa, al fine di garantire completa tracciabilità del prodotto.

## **6) INDICAZIONI ATTUALI PER L'IMPIEGO CLINICO**

Le indicazioni al trapianto di midollo comprendono le leucemie acute, le leucemie croniche, le forme di insufficienza midollare, le talassemie, i linfomi di Hodgkin, i linfomi non Hodgkin, il mieloma, le malattie mieloproliferative, alcuni tumori solidi, numerose malattie genetiche, quali la talassemia e, molto recentemente, alcune malattie autoimmuni, quali la sclerosi multipla, l'artrite reumatoide, il lupus eritematoso.

Le indicazioni per l'impiego clinico di cellule staminali ematopoietiche sono riportate nella tabella 1 per gli adulti e nella tabella 2 per i bambini, suddivise secondo 4 categorie:

**1) Standard (S):** rientrano in questa categoria i trapianti effettuati secondo procedure accettate e diffuse per quella patologia con risultati ben caratterizzati e superiori a terapie alternative, che possono essere eseguiti in tutti i centri trapianto accreditati dalle Regioni.

**2) Protocollo clinico (PC):** rientrano in questa categoria i trapianti effettuati nel contesto di un protocollo clinico (PC) predisposto ed eseguito nel rispetto delle norme vigenti.

**3) Studio Pilota (Developmental: D):** fanno parte di questa categoria i trapianti eseguiti per indicazioni per le quali non vi è consistente esperienza nazionale od internazionale. Solitamente si tratta di casi singoli o piccole serie in studi pilota o di nuove indicazioni. Sono eseguiti da Centri accreditati dalle Regioni che hanno una esperienza riconosciuta in quella particolare patologia nel rispetto delle norme vigenti in tema di sperimentazione clinica.

**4) Non Raccomandati (NR):** Questa categoria si riferisce a trapianti non consigliati a causa della fase di malattia, dell'età o di altre caratteristiche del paziente. Possono essere identificati in pazienti per i quali l'indicazione al trapianto venga data in fase molto precoce di malattia, nei quali il rischio non è giustificato, o in pazienti in fase terminale, per i quali è improbabile prevedere un beneficio dalla procedura. Per questi ultimi va anche considerato il rischio per il donatore che diventa difficile da giustificare.

Le indicazioni di cui alle Tabelle 1 e 2 sono aggiornate annualmente dalla apposita Commissione istituita presso il Ministero della salute, in accordo con le società scientifiche e in armonia con gli standard internazionali.

Tabella 1

## Indicazioni e Categorie di Trapianto nei Pazienti Adulti

Trapianto

| Patologie                             | Stato di Malattia                      | Allogeneico            |                      | Autologo |
|---------------------------------------|--|------------------------|----------------------|----------|
|                                       |  | Familiare HLA Identico | Donatore Alternativo |          |
| LAM                                   | RC 1, 2 or 3                           | S                      | PC                   | S        |
|                                       | M3 Persistenza di malattia molecolare* | S                      | PC                   | NR       |
|                                       | M3 in 2° remissione molecolare         | S                      | NR                   | S        |
|                                       | Recidiva o Refrattarietà               | PC                     | NR                   | NR       |
| LAL                                   | RC1 ad alto rischio, RC2.              | S                      | PC                   | PC       |
|                                       | Recidiva o Refrattarietà               | PC                     | NR                   | NR       |
| LMC                                   | Fase Cronica                           | S                      | S                    | PC       |
|                                       | Fase Avanzata                          | S                      | PC                   | NR       |
|                                       | Crisi Blastica                         | D                      | NR                   | NR       |
| MMP(non-LMC)                          |  | PC                     | D                    | D        |
| SMD                                   | RA, RARS, RAEB, LMMoC                  | S                      | PC                   | PC       |
|                                       | RAEBt, sLAM in RC1 or RC2              | S                      | PC                   | PC       |
|                                       | Stati più avanzati                     | S                      | PC                   | NR       |
| LLC                                   |  | PC                     | D                    | PC       |
| Linfoma non Hodgkin:<br>Linfoblastico | come LAL                               |                        |                      |          |
| Alto Grado                            |  | PC                     | D                    | S        |
| Grado Intermedio                      | RC1                                    | NR                     | NR                   | S        |
|                                       | Recidiva, RC2, RC3                     | PC                     | PC                   | S        |
|                                       | Refrattarietà                          | PC                     | NR                   | NR       |
| Basso Grado                           | RC1                                    | NR                     | NR                   | PC       |
|                                       | Recidiva, RC2, RC3                     | PC                     | D                    | S        |
| Malattia di Hodgkin                   | RC1                                    | NR                     | NR                   | PC       |
|                                       | Prima recidiva, RC2, RC3               | PC                     | NR                   | S        |
|                                       | Refrattarietà                          | PC                     | NR                   | PC       |
| Mieloma Multiplo                      |  | PC                     | D                    | S        |
| Aplasia Midollare Grave               | Pazienti <45 anni                      | S                      | D                    | NR       |
| EPN                                   |  | PC                     | D                    |          |
| Tumori Solidi :                       |  |                        |                      |          |

|   |                            |    |    |    |
|---|----------------------------|----|----|----|
| Mammella                                      | Adiuvante ed infiammatorio | NR | NR | PC |
| Mammella                                      | Metastatico rispondente    | D  | NR | PC |
| Cellule Germinali                             | Recidiva Sensibile         | NR | NR | S  |
| Cellule Germinali                             | Refrattario                | NR | NR | PC |
| Ovaio   | MRD                        | NR | NR | PC |
| Ovaio   | Refrattario                | D  | NR | NR |
| Glioma  | Post-chirurgico            | NR | NR | D  |
| Microcitoma Polmonare                         | Prima Linea                | NR | NR | PC |
| Carcinoma Renale                              | Metastatico                | PC | NR | NR |
| Disordini Autoimmuni:                         |                            |    |    |    |
| Piastrinopenia<br>autoimmune con<br>emorragie |                            | —  | —  | PC |
| Sclerosi Sistemica                            |                            | —  | —  | PC |
| Artrite Reumatoide                            |                            | —  | —  | PC |
| Sclerosi Multipla                             |                            | —  | —  | PC |
| Lupus Eritematoso Sist.                       |                            | —  | —  | PC |
| Amiloidosi                                    |                            | D  | NR | PC |

RC 1, 2, 3 = prima, seconda, terza remissione completa; LAM= Leucemia Acuta Mieloide; LLA= Leucemia Acuta Linfoide; LMC= Leucemia Mieloide Cronica; M3 = Leucemia acuta promielocitica secondo classificazione FAB; SMD= Sindrome Mielodisplastica; RA= anemia refrattaria; RARS= anemia refrattaria con sideroblasti ad anello (ring); RAEB= anemia refrattaria con eccesso di blasti; LMMoC= leucemia mielomonocitica cronica; sLAM= leucemia acuta mieloide secondaria; LLC= Leucemia Linfoide Cronica; MMP= Malattie MieloProliferative.

\*Persistenza di malattia molecolare dopo terapia di consolidamento.

il trapianto non è raccomandato nel tumore della mammella refrattario con metastasi e per il tumore polmonare non a piccole cellule.

Questa classificazione non riguarda i pazienti per i quali sia disponibile un donatore singenico.

Tabella 2                      Indicazioni e Categorie di Trapianto nei Pazienti Pediatrici

| Patologie                  | Stato di Malattia           | Trapianto                    |                         |          |
|----------------------------|-----------------------------|------------------------------|-------------------------|----------|
|                            |                             | Allogeneico                  |                         | Autologo |
|                            |                             | Familiare<br>HLA<br>Identico | Donatore<br>Alternativo |          |
| LAM                        | RC1 (basso rischio)         | NR                           | NR                      | NR       |
|                            | RC1 (alto rischio)          | S                            | NR                      | S        |
|                            | RC2                         | S                            | S                       | S        |
| LAL                        | RC1 (basso rischio)         | NR                           | NR                      | NR       |
|                            | RC1 (alto rischio)          | PC                           | PC                      | NR       |
|                            | RC2                         | S                            | S                       | PC       |
|                            | > CR2                       | S                            | S                       | PC       |
| LMC                        | Fase Cronica                | S                            | S                       | PC       |
|                            | Fase Avanzata               | S                            | S                       | NR       |
| Linfoma non Hodgkin        | RC1 (basso rischio)         | NR                           | NR                      | NR       |
|                            | RC1 (alto rischio)          | PC                           | PC                      | PC       |
|                            | RC2                         | S                            | S                       | PC       |
| Linfoma di Hodgkin         | RC1                         | NR                           | NR                      | NR       |
|                            | Prima recidiva, RC2         | PC                           | D                       | S        |
| SMD                        | Come Adulti                 | S                            | S                       | NR       |
| Immunodeficiency           |                             | S                            | S                       | —        |
| Talassemia                 | Secondo età e stadio        | S                            | D                       | —        |
| Drepanocitosi              | See text                    | S                            | D                       | —        |
| Aplasia Midollare Grave    |                             | S                            | PC                      | —        |
| Anemia di Blackfan-Diamond |                             | S                            | PC                      | —        |
| Errori Congeniti           |                             | PC                           | PC                      | —        |
| Tumori Solidi:             | Tumore a cellule germinali  | NR                           | NR                      | PC       |
|                            | Sarcoma di Ewing            | NR                           | NR                      | PC       |
|                            | Sarcoma dei tessuti morbidi | D                            | D                       | PC       |
|                            | Neuroblastoma               | NR                           | NR                      | PC       |
|                            | Tumore di Wilms             | NR                           | NR                      | PC       |
|                            | Sarcoma Osteogenico         | NR                           | NR                      | D        |
|                            | Tumore Cerebrale            | NR                           | NR                      | PC       |
| Malattie Autoimmuni        |                             | NR                           | NR                      | D        |

## **1) ABBREVIAZIONI**

|                |  |
|----------------|--|
| <i>ADMO</i> :  | Associazione Donatori Midollo Osseo                                    |
| <i>AIEOP</i> : | Associazione Italiana di Oncoematologia Pediatrica                     |
| <i>ASHI</i> :  | American Society for Histocompatibility and Immunogenetics             |
| <i>BMDW</i> :  | Bone Marrow Donor World Wide   |
| <i>BSC</i> :   | Banca di Sangue di Cordone ombelicale                                  |
| <i>CRC</i> :   | Centri di Raccolta e Conservazione delle CSE                           |
| <i>CSE</i> :   | Cellule Staminali Ematopoietiche                                       |
| <i>EBMT</i> :  | European Blood and Marrow Transplantation Group                        |
| <i>Efi</i> :   | European Federation for Immunogenetics                                 |
| <i>ERCBB</i> : | Emilia Romagna Cord Blood Banf associato con BMDKW                     |
| <i>FACT</i> :  | Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy                   |
| <i>GCP</i> :   | Good Clinical Practice   |
| <i>GITMO</i> : | Gruppo Italiano Trapianto Midollo Osseo                                |
| <i>GLP</i> :   | Good Laboratory Practice   |
| <i>GRACE</i> : | Gruppo per la Raccolta e l'Amplificazione delle Cellule Ematopoietiche |
| <i>IBMDR</i> : | Italian Bone Marrow Donor Registry                                     |
| <i>IBMTR</i> : | International Bone Marrow Transplantation Registry                     |
| <i>ISBT</i> :  | International Society of Blood Transfusion                             |
| <i>ISCT</i> :  | International Society of Cell Therapy                                  |
| <i>JACIE</i> : | Joint Accreditation Committee ISCT and EBMT                            |
| <i>MO</i> :    | Midollo Osseo  |
| <i>MOGM</i> :  | Micro-Organismi Geneticamente Modificati                               |
| <i>SCO</i> :   | Sangue di Cordone Ombelicale   |
| <i>SIE</i> :   | Società Italiana di Ematologia   |
| <i>SIMTI</i> : | Società Italiana di Medicina Trasfusionale ed Immunoematologia         |
| <i>SIDE</i> :  | Società Italiana di Emaferesi  |
| <i>SIT</i> :   | Servizi di Immunoematologia e Trasfusione                              |
| <i>SP</i> :    | Sangue Periferico  |
| <i>WMDA</i> :  | World Marrow Donor Association   |

## **2) DEFINIZIONI**

*ACQUISITO* è riferito ad un agente estraneo microbiologico, chimico o radiobiologico introdotto in un'unità di CSE durante la raccolta, la processazione o l'infusione.

*ALLOGENICO* è riferito a cellule ottenute da un donatore per essere infuse in un altro individuo.

*ALLOGENICO CONSANGUINEO* è riferito a cellule raccolte da un donatore per essere infuse in un individuo geneticamente correlato al donatore stesso.

*ALLOGENICO NON CONSANGUINEO* è riferito a cellule raccolte da un donatore per essere infuse in un individuo geneticamente non correlato al donatore.



*ASSICURAZIONE DELLA QUALITÀ* descrive le azioni, pianificate ed attuate, per assicurare che tutti i sistemi e gli elementi che influenzano la qualità del prodotto funzionino come atteso, singolarmente e collettivamente.

*ATTECCHIMENTO* è la ricostituzione dell'emopoiesi di un ricevente con i leucociti, i globuli rossi e le piastrine di un donatore.

*AUTOLOGO* è riferito a cellule ottenute dal paziente/donatore per essere infuse nella stessa persona.

*BANCA DI SANGUE CORDONALE (BSC)* si riferisce a un programma integrato, sotto la direzione di un unico responsabile, per la raccolta, la processazione, la caratterizzazione, il bancaggio, la selezione e la distribuzione delle unità di sangue di cordone ombelicale per uso clinico.

*CAMPIONI DI RIFERIMENTO* sono aliquote di cellule, plasma, siero o componenti cellulari, prelevati dal midollo osseo, dal sangue periferico, dall'unità SCO o dal sangue della madre, usate per stabilire o confermare l'identità, la tipizzazione HLA e ABO Rh, la valutazione infettivologica e le informazioni su eventuali malattie genetiche o trasmissibili relative al donatore di CSE.

*CD34* è riferito all'antigene glicoproteico di 115 kD espresso dall'1-2% delle cellule mononucleate normali del midollo osseo riconosciuto da uno specifico anticorpo monoclonale (anti-CD34) secondo la terminologia convenzionale dei cluster di differenziazione (CD).

*CFU* si riferisce ad una unità capace di formare colonie, cioè ad una cellula clonogenica in grado di produrre colonie in vitro in condizioni specifiche, in presenza di appropriati fattori di crescita e definita in base al tipo di progenie cellulare matura a cui da origine.

*CONSERVAZIONE IN QUARANTENA* è la conservazione dello SCO in aree fisicamente separate, chiaramente identificate per questo scopo o l'uso di altre procedure, quale l'assegnazione automatica che impedisca la distribuzione impropria del prodotto prima che siano stati rivisti i risultati dei test per le malattie infettive.

*CRIOPRESERVAZIONE* è il processo di congelamento dell'unità contenente le CSE mediante l'impiego di apparecchiature, materiali e tecniche validate a questo scopo.

*DEPLEZIONE* è la manipolazione dell'unità di sangue midollare, periferico o cordonale che porta alla perdita di specifiche sottopopolazioni cellulari.

*DLI (DONOR LYMPHOCYTE INFUSION)* si intende la somministrazione al paziente trapiantato di linfociti, solitamente provenienti dallo stesso precedente donatore di CSE, con l'intento di spostare l'equilibrio in favore del donatore.

*DOCUMENTAZIONE E REGISTRAZIONE ELETTRONICA* è qualsiasi forma di identificazione documentale, costituita da una combinazione di testo, o grafico o altri dati, che viene creata, conservata, modificata o trasmessa in forma digitale da un computer.

*DONATORE DEDICATO* si riferisce al neonato il cui sangue placentare viene raccolto e conservato per essere eventualmente infuso in un familiare.

*DONATORE DI SANGUE PLACENTARE* è il neonato dalla cui placenta è stata ottenuta l'unità SCO.

*ESPANSIONE* si riferisce alla crescita in vitro, in un sistema di cultura, di una o più popolazioni di cellule ematopoietiche, sia indifferenziate che ematologicamente orientate.

*ETICHETTATURA* include le misure intraprese per identificare la raccolta all'origine di CSE, di ciascun componente cellulare e di ciascuna modifica dei componenti.

*MANUALE DELLE PROCEDURE operative standard* si riferisce alla compilazione di dettagliate istruzioni scritte richieste per l'esecuzione delle procedure cliniche o di laboratorio.

*QUALITÀ* si riferisce al grado di conformità, di un prodotto, di un'azione o di un processo, a standard pre-definiti.

*QUALITÀ-CONTROLLO* si riferisce alla componente del programma di qualità che include le attività ed i controlli adottati per determinare la precisione e l'affidabilità del personale, delle attrezzature, dei reagenti e delle operazioni della struttura nella quale avviene la raccolta, la manipolazione e l'infusione delle CSE.

*QUALITÀ-GESTIONE* si riferisce ad un programma integrato per il mantenimento della sicurezza e per la valutazione, il controllo ed il miglioramento della qualità.

*QUALITÀ-MIGLIORAMENTO* descrive le misure pianificate ed attuate per sviluppare un sistema di revisione e miglioramento della qualità di un prodotto, di un'azione o di un processo.

*QUALITÀ-SUPERVISORE DELLA GESTIONE* è un soggetto qualificato, incaricato di stabilire i metodi per la revisione, la modifica, l'approvazione e l'implementazione di tutti i prodotti, le azioni e le procedure intese a mantenere e migliorare la qualità nella gestione di un qualunque settore operativo e a monitorare la conformità agli standard.

*QUALITÀ-VALUTAZIONE* descrive le azioni, pianificate e attuate, per valutare tutti i sistemi e gli elementi che influenzano la qualità del prodotto o del servizio.

*RACCOLTA DI SANGUE CORDONALE* si riferisce alla raccolta del sangue di cordone ombelicale, prima e/o dopo l'espulsione della placenta, per la crioconservazione ed il trapianto.

*RIDUZIONE DI VOLUME* è la manipolazione dell'unità di CSE che porta alla perdita di volume senza una perdita significativa di cellule nucleate.

*SANGUE PLACENTARE O CORDONALE* si riferisce al sangue intero, comprese le cellule progenitrici ematopoietiche, raccolto dai vasi sanguigni placentari e dalla vena del cordone ombelicale.

*SELEZIONE* indica il processo dinamico di identificazione di un'unità per il trapianto, che soddisfi i criteri definiti.

*SELEZIONE POSITIVA* si riferisce ad una manipolazione mirata all'arricchimento di una specifica popolazione cellulare.

*SISTEMA INFORMATIVO* si riferisce all'hardware, al software, alle postazioni periferiche, al personale e alle documentazioni implicate nella produzione di una registrazione elettronica.

*STRUTTURA PER LA RACCOLTA* si riferisce al luogo dove il tessuto fonte delle cellule staminali viene prelevato.

*TRAPIANTO ALLOGENICO* si riferisce all'infusione di CSE provenienti da un donatore diverso dal paziente.

*TRAPIANTO AUTOLOGO* si riferisce all'infusione di CSE provenienti dallo stesso paziente.

*TRAPIANTO DI CSE* si riferisce a qualsiasi infusione di CSE, allogeniche o autologhe, allo scopo di ottenere un attecchimento con sostituzione, completa o parziale, temporanea o permanente, del sistema emo-linfopoietico.

*UNITÀ DI SANGUE CORDONALE* si riferisce alle cellule nucleate, comprese le cellule staminali e le cellule progenitrici emopoietiche, raccolte dai vasi sanguigni della placenta e dalla vena del cordone ombelicale di una singola placenta.

*UNITÀ NON CONFORME* è l'unità che non soddisfa requisiti specifici.

*VALIDAZIONE* si riferisce all'allestimento di prove documentate atte a fornire il massimo livello di confidenza che uno specifico processo è in grado di produrre in modo costante un'unità di CSE conforme alle specifiche prestabilite e ai requisiti di qualità.

*VALUTAZIONE DEL RISCHIO* si intende un momento essenziale della procedura, che precede il trapianto stesso, durante il quale il paziente viene informato dei rischi connessi e discute con il medico le eventuali alternative terapeutiche.