

XV CONGRESSO NAZIONALE DELLA SOCIETÀ ITALIANA DI EMAFERESI E MANIPOLAZIONE CELLULARE
XVI CORSO DI AGGIORNAMENTO IN EMAFERESI PER PERSONALE INFERMIERISTICO E TECNICO
3° SIMPOSIO "CELLULE STAMINALI: DALLA BIOLOGIA ALLA CLINICA"

Torino, 9-12 novembre 2011 Centro Congressi Lingotto



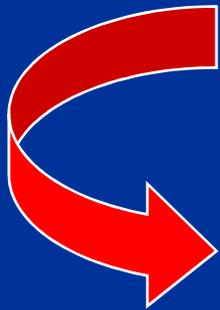
LA CRIOPRESERVAZIONE DEI PRODOTTI CELLULARI

Arianna Incontri
UOS Aferesi e Nuove Tecnologie Trasfusionali - SIMT
AO San Gerardo - Monza



PERCHÈ LA CRIOPRESERVAZIONE

- La raccolta delle cellule staminali/prodotti cellulari senza utilizzo immediato è una diffusa pratica clinica



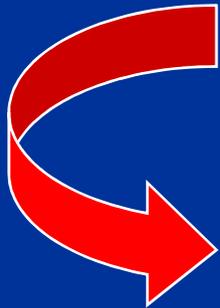
Razionale:

Necessità di conservarli per lunghi periodi di tempo (anche diversi anni) garantendo il mantenimento delle caratteristiche cellulari

Manipolazione minima: laboratorio in classe D

PERCHÈ LA CRIOPRESERVAZIONE

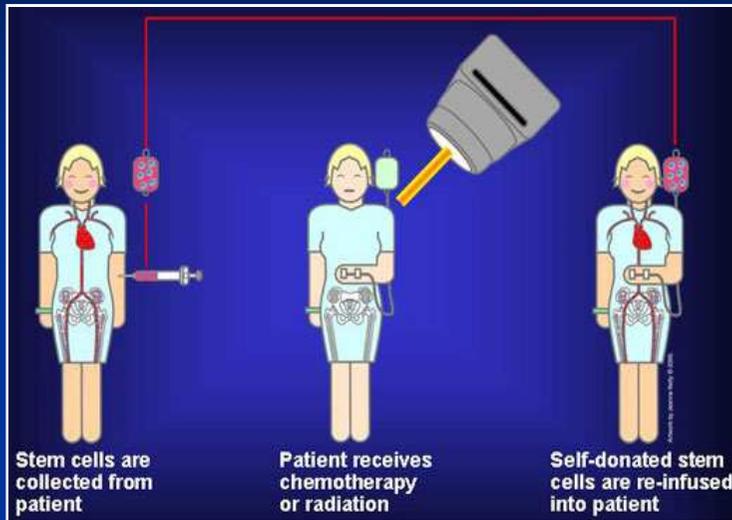
- Se l'infusione avviene entro 48-72 ore è possibile conservare a 4°C
- Oltre le 48-72 ore le cellule, metabolicamente attive, esauriscono le sostanze nutritive, accumulano metaboliti e possono formare aggregati cellulari



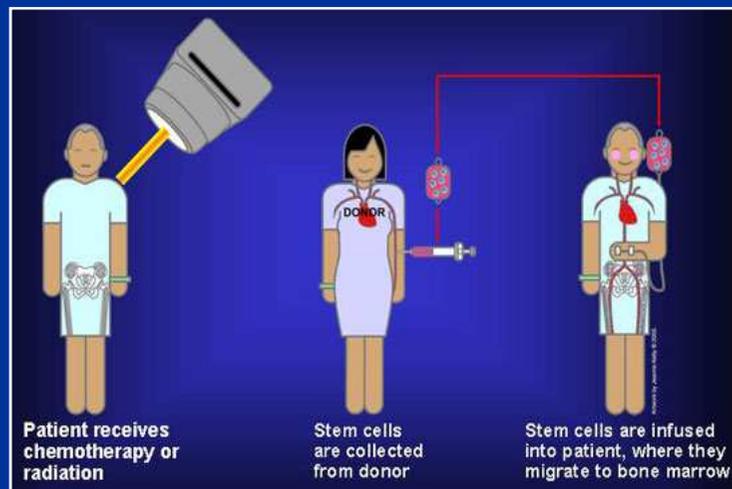
CRIOPRESERVAZIONE

consiste nell'uso di basse temperature per preservare strutturalmente intatte le cellule

PERCHÈ LA CRIOPRESERVAZIONE

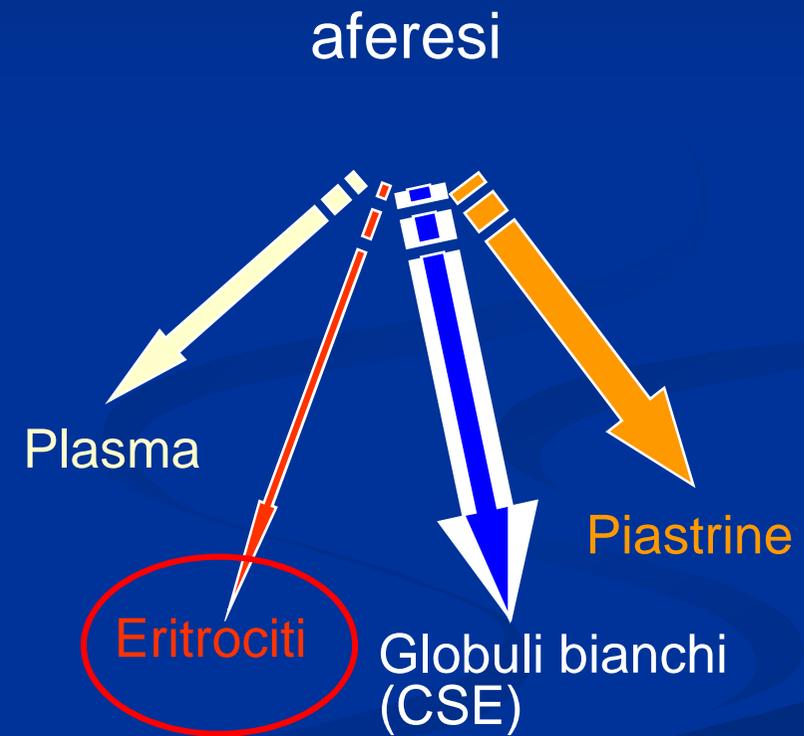
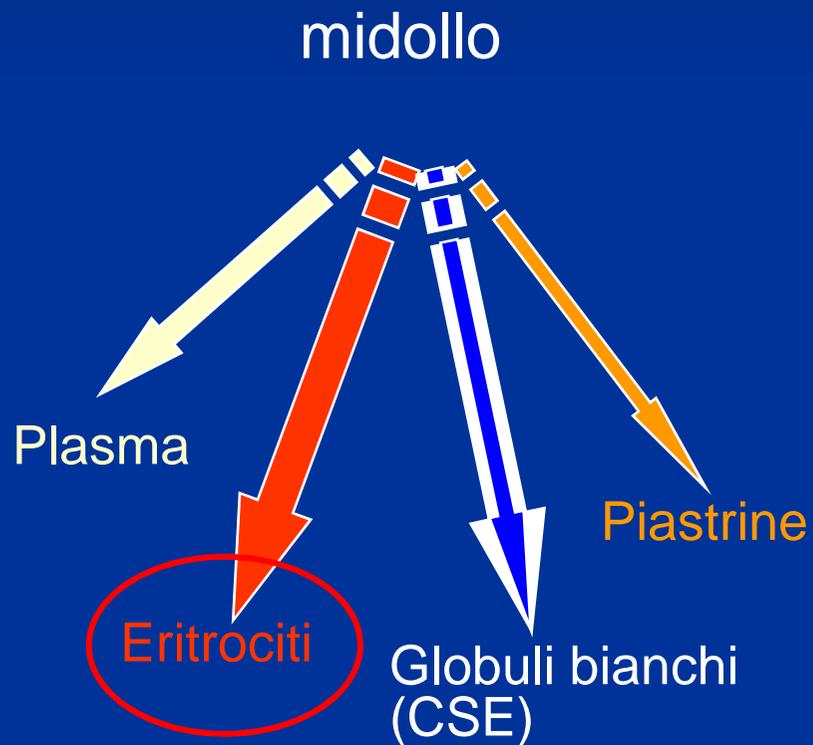


AUTOLOGO: quasi sempre
(tempo necessario per terapia
e condizionamento)



ALLOGENICO: quasi mai
(solo in casi particolari)

COMPOSIZIONE DEI PRODOTTI CELLULARI

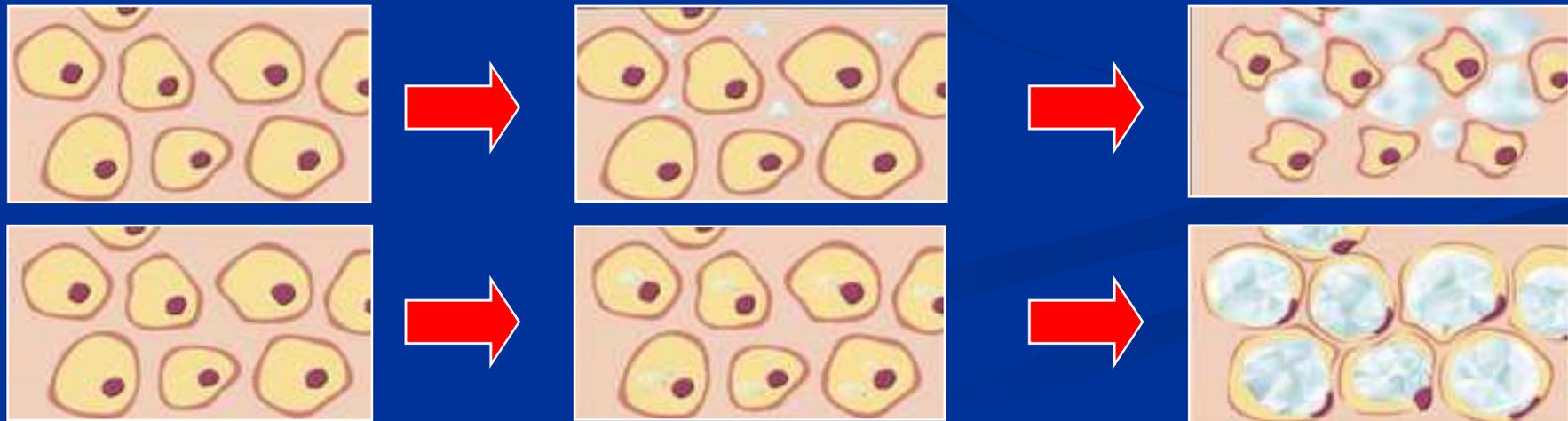


NUMERO DI UNITÀ

- Numero di infusioni previste (prescription)
- Volume del materiale da congelare
- Concentrazione < 200.000 WBC/ μ l
- I prodotti ad elevata concentrazione cellulare sono più suscettibili ai danni meccanici durante il congelamento
- Diluizione con plasma autologo
 - con plasma omologo (previo consenso informato)
 - con fisiologica albuminata

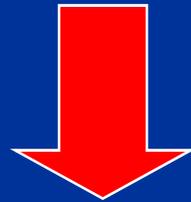
EFFETTI COLLATERALI DELLA CRIOPRESERVAZIONE

- Aumento concentrazione ioni e soluti
- Disidratazione
- Cambiamenti nel pH
- Formazione di cristalli di ghiaccio
- Estrema fragilità delle unità



EFFETTI COLLATERALI DELLA CRIOPRESERVAZIONE

- Aumento concentrazione ioni e soluti
- Disidratazione
- Cambiamenti nel pH
- Formazione di cristalli di ghiaccio
- Estrema fragilità



CRIOPROTETTIVI
CONGELAMENTO LENTO

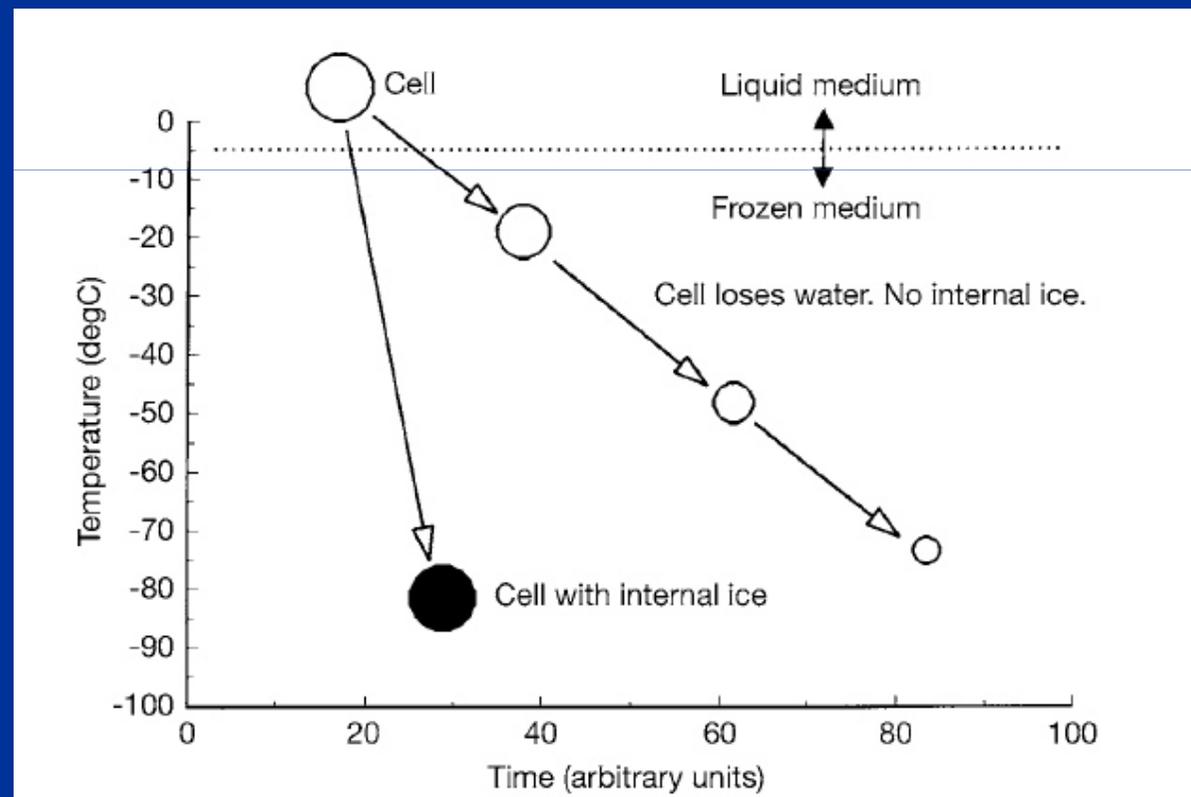
I CRIOPROTETTIVI

aumentano la concentrazione totale dei soluti del sistema e riducono la quantità di ghiaccio che si forma

- Dimetilsolfossido (DMSO) 10%
- DMSO/HES
- Glicerolo
- Trealosio

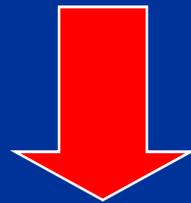
IL CONGELAMENTO GRADUALE

La velocità di congelamento controlla il trasporto dell'acqua attraverso la membrana cellulare e di conseguenza la formazione dei cristalli di ghiaccio



EFFETTI COLLATERALI DELLA CRIOPRESERVAZIONE

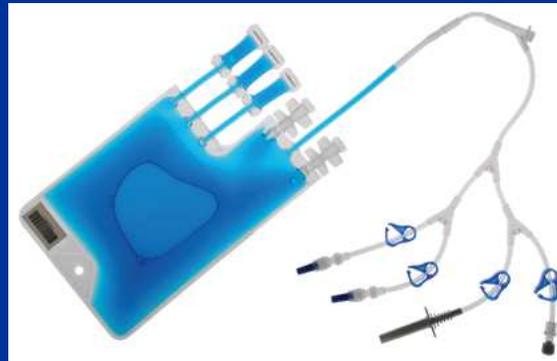
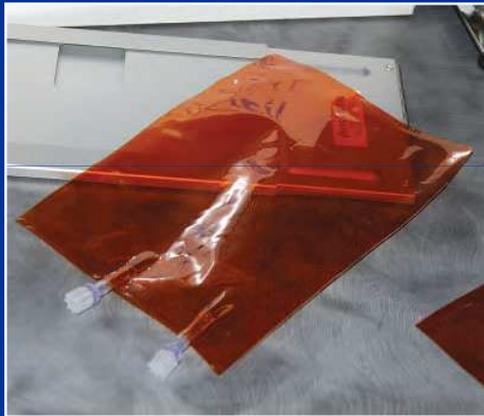
- Aumento concentrazione ioni e soluti
- Disidratazione
- Cambiamenti nel pH
- Formazione di cristalli di ghiaccio
- Estrema fragilità



SACCHE IN MATERIALE RESISTENTE E
FOLDER DI ACCIAIO

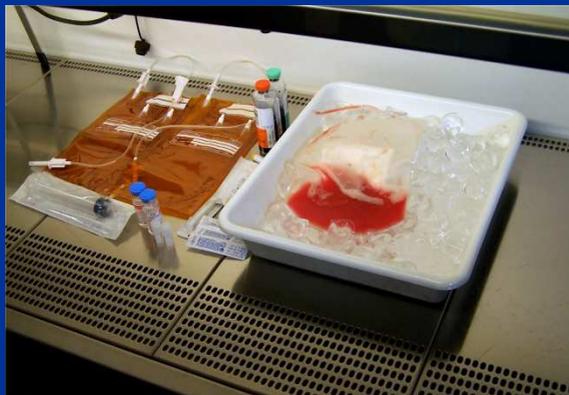
CONTENITORI

- Diversi materiali resistenti alle basse temperature (Kapton/Teflon, Kapton/FEP, EVA)
- Folder di acciaio per proteggere dagli urti accidentali



PROCEDURA DI CRIOPRESERVAZIONE

- Preparazione della miscela DMSO/ACD
- Aggiunta graduale della miscela
- Campionamenti per sterilità e controcampioni
- Divisione e saldatura
- Posizionamento nelle griglie
- Posizionamento nel criopreservatore
- Avvio della procedura
- REGISTRAZIONE PER STANDARD JACIE

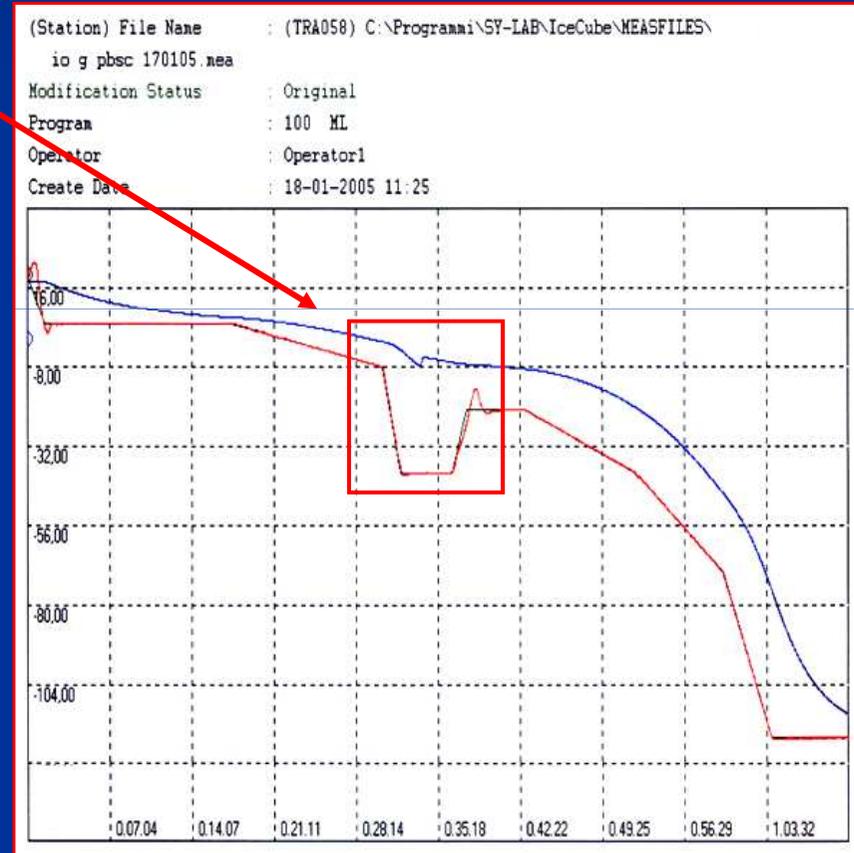
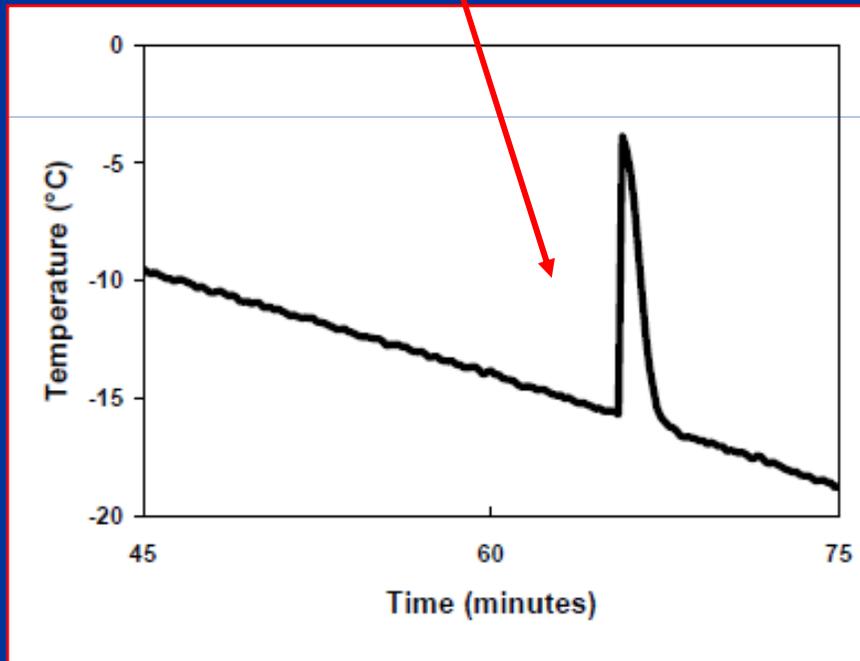


IL CRIOPRESERVATORE



CURVA DI CRIOPRESERVAZIONE

Fase di passaggio di stato
da liquido a solido



PROCEDURE ALTERNATIVE

La procedura di emergenza prevede il posizionamento direttamente ai vapori d'azoto, avendo cura di ricoprire le sacche con diversi strati di carta in modo da far arrivare gradualmente il freddo alle cellule

Le vials possono essere congelate a -80°C all'interno dei contenitori con alcol isopropilico ($-1^{\circ}\text{C}/\text{min}$)



STOCCAGGIO



Monitoraggio continuo delle condizioni di stoccaggio!!!

INFUSIONE - FASE PREPARATIVA

- ❏ Paziente premedicato (idrocortisone, antistaminici, diuretici) e monitorato (ECG e saturazione O₂)
- ❏ Effetti collaterali (sovraccarico circolatorio, liberazione di istamina, difficoltà respiratorie, ipotensione, bradicardia, rilascio di citochine, ...)
- ❏ Dose massima di DMSO 1ml/kg



INFUSIONE - FASE OPERATIVA

- ✚ Trasporto delle unità in azoto liquido fino al letto del paziente
- ✚ Scongelamento rapido in bagnetto a 37°C
- ✚ Infusione immediata!!!
- ✚ Campionamenti per vitalità e sterilità



PROSPETTIVE FUTURE



Rimane aperta la questione della definizione di un tempo massimo di conservazione dei prodotti cellulari durante il quale sia possibile garantire una vitalità elevata ed una buona funzionalità cellulare che permettano una efficiente ripresa della corretta emopoiesi

Personale Tecnico/Infermieristico

- Milena Pozzi
- Elena Casarotto
- Eulalia Bruna
- Laura Meroni
- Romira Veneziano
- Lorenza Colombo



Personale Medico

- Valentina Baldini
- Giorgio Confalonieri
- Angelo Colaemma
- Chiara Borella

- Paolo Perseghin

GRAZIE!!!





LA RIMOZIONE DEI GLOBULI ROSSI

- Centrifugazione del midollo osseo e separazione dell'intero buffy-coat
- Centrifugazione su gradiente di Ficoll e separazione delle cellule mononucleate ('anello' all'interfaccia)
- Eritrosedimentazione con HES 6% e raccolta del plasma e del buffy-coat
- Trattamento con separatore cellulare