

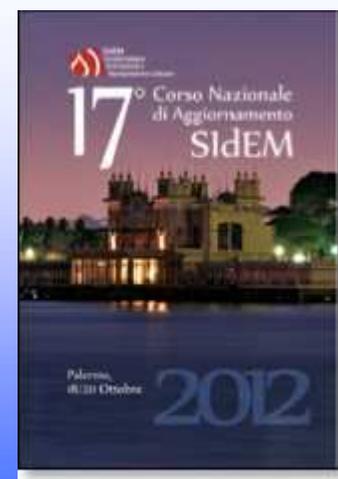
HPC-A HPC-M: CONGELAMENTO CONSERVAZIONE CONTROLLI DI QUALITA'

Dr.ssa Maria Bulleri

Lab. Manipolazione e Criopreservazione Cellulare

U.O. Medicina Trasfusionale e Biologia dei Trapianti

Azienda Ospedaliero Universitaria Pisana



Cellule staminali ematopoietiche (HPC) autologhe e, in alcuni casi anche allogeniche, possono essere conservate per periodi di tempo variabili prima di essere infuse.

Per tempi superiori alle 48 ore la conservazione richiede la criopreservazione.

Il processo di criopreservazione può essere suddiviso in tre fasi:

✓ **Congelamento** del materiale biologico fino ad una temperatura adeguata per lo stoccaggio;

✓ **Stoccaggio** del materiale biologico ad una temperatura adeguata;

✓ **Scongelamento** e riscaldamento del materiale fino alla temperatura di utilizzo.

Criopreservazione

Insieme di metodi che consentono la conservazione a medio e lungo termine, a basse temperature, di materiale biologico (cellule, tessuti, fluidi biologici, acidi nucleici, ecc.) in previsione di un utilizzo futuro, sia a fini di ricerca, sia per applicazioni cliniche e diagnostiche.

Prerequisito fondamentale è mantenere la qualità del materiale biologico criopreservato la più vicina possibile a quella iniziale prima del processo di criopreservazione

Criopreservazione

- ✓ Fra tutti i corpi che ci circondano, i prodotti biologici o naturali sono i più instabili.
- ✓ **L'acqua** è responsabile di questa instabilità in quanto essa è il costituente principale di tutti gli esseri viventi.
- ✓ Tutte le reazioni chimiche che hanno luogo nell'organismo si svolgono in soluzione acquosa. Alcuni animali marini (meduse, ctenofori, ecc.) possono contenere fino al 95% di acqua, ma anche negli organismi terrestri si trova in percentuali elevate (uomo 60-70%).
- ✓ Essa permette la soluzione dei vari componenti chimici, degli enzimi, dei diversi fattori catalitici, e serve da mezzo di reazione e di supporto comune all'attività dei batteri e delle muffe.
- ✓ Alcuni animali (protozoi, rotiferi, tardigradi) sono in grado di sospendere le attività vitali e di ridursi a vita latente per mezzo di una accentuata disidratazione

Criopreservazione

Per assicurare il mantenimento di uno stato di equilibrio costante in seno a questa massa vivente, dobbiamo quindi diminuire il ruolo dell'acqua fino ad inattivarlo , ed è qui che interviene il freddo.

Criopreservazione

Classicamente si distinguono tre diversi modi di applicazione del freddo:

✓ REFRIGERAZIONE

✓ CONGELAMENTO

✓ LIOFILIZZAZIONE

Refrigerazione

Si utilizza il potere moderatore del freddo. La velocità delle reazioni chimiche, o meglio ancora delle fermentazioni batteriche o micotiche, dipende dalla temperatura e diminuisce con essa. Si possono quindi ritardare questi processi degenerativi e assicurare una conservazione temporanea dei prodotti senza alterare il loro equilibrio naturale

Congelamento

Purtroppo un semplice raffreddamento del materiale intorno a 0° C non è sufficiente ad assicurare la conservazione a lungo termine di prodotti particolarmente sensibili e dove la presenza di acqua mantiene dei fenomeni di degradazione chimica.

Il congelamento è un raffreddamento più energico, che provoca la separazione dell'acqua sottoforma di ghiaccio e allo stesso tempo la sua sottrazione al sistema chimico che, non avendo più il supporto per esercitare la sua attività, diviene inerte.

Il freddo esercita così il suo *potere stabilizzante*

Liofilizzazione

Più propriamente detta criodisseccazione, combina gli effetti stabilizzanti del freddo e dell'essiccazione. Il prodotto viene prima raffreddato a bassa temperatura, quindi immediatamente disseccato per sublimazione (trasformazione diretta del ghiaccio in vapore in ambiente sotto vuoto).

Il prodotto così ottenuto conserva forma ed aspetto originali ma essendo completamente disidratato è al riparo da variazioni termiche. Può essere conservato a temperatura ambiente e per la ricostituzione è sufficiente aggiungere la quantità d'acqua precedentemente estratta.

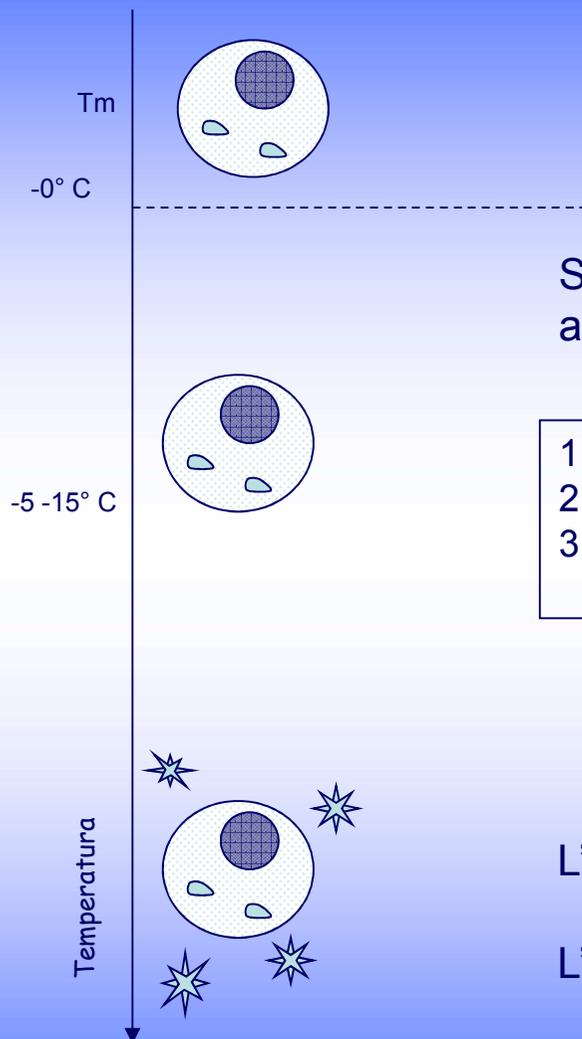
Criobiologia

Ramo della biologia che studia il comportamento della materia vivente sottoposta al raffreddamento.

Obiettivo: la conservazione della struttura morfologica e della funzionalità della cellula oltre i limiti di tempo impostati in natura.

Obiettivo raggiunto mantenendo la vita sospesa in forma latente, bloccando, in modo reversibile, tutte le reazioni biochimiche ovvero il **metabolismo della cellula.**

Congelamento di una sospensione cellulare



Sia l'ambiente intracellulare che quello extracellulare permangono a causa del sottoraffreddamento, nello stato acquoso.

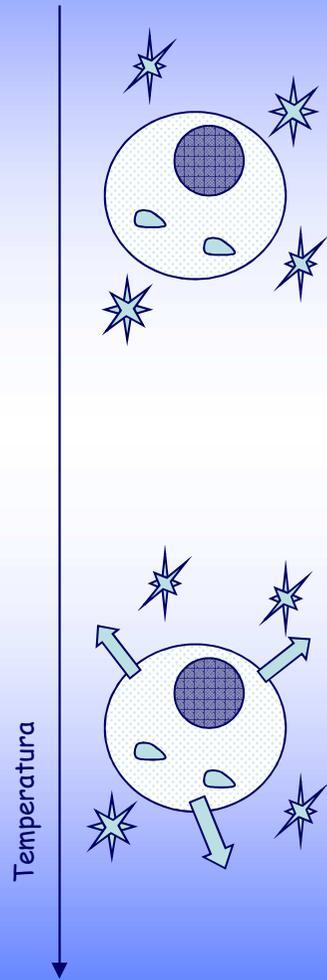
1. La probabilità di nucleazione è funzione del volume del campione
2. Il numero di agenti di nucleazione all'interno della cellula è basso
3. La membrana plasmatica previene la formazione dei cristalli di ghiaccio

Perché?

L'ambiente extracellulare inizia a solidificare

L'ambiente intracellulare continua a sottoraffreddarsi

Cosa succede durante il congelamento della soluzione extracellulare?



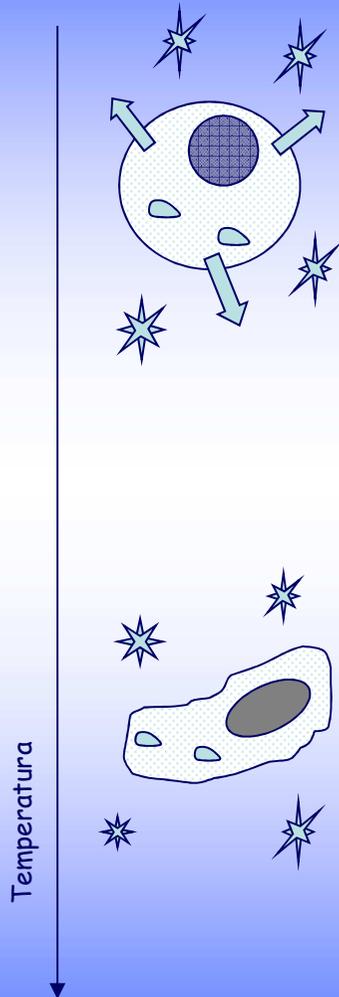
Mentre il ghiaccio si forma, il cristallo puro esclude i soluti che si concentrano nel liquido residuo

L'aumento della concentrazione della soluzione extracellulare provoca l'efflusso di acqua dalla cellula

Fattori che influenzano la disidratazione cellulare

1. Permeabilità della membrana cellulare
2. Rapporto superficie volume/cellulare
3. Velocità di raffreddamento

Raffreddamento lento



✓ L'acqua fuoriesce dalla cellula con la stessa velocità con cui la soluzione extracellulare cristallizza.

✓ La cellula e l'ambiente esterno evolvono per successivi stati di equilibrio del potenziale chimico.



Progressiva disidratazione della cellula

Danneggiamenti indotti dal raffreddamento lento

La cellula è esposta a [] crescenti di soluti dovute alla formazione di ghiaccio nel mezzo di soluzione



ALTA [] SOLUTI EXTRACELLULARE



VARIAZIONI DI pH

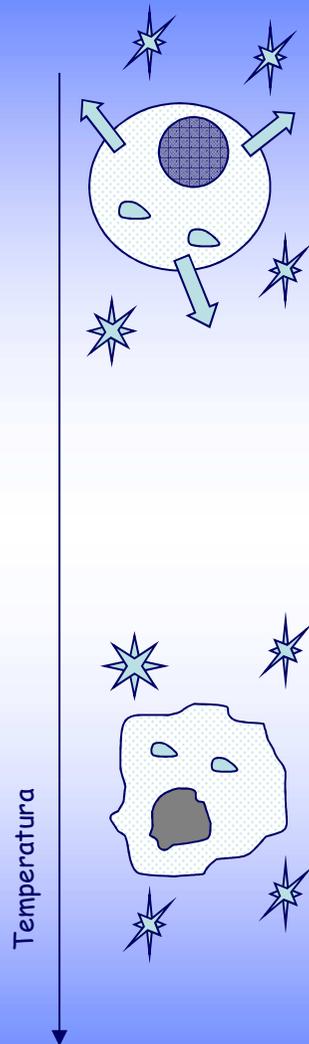


DISIDRATAZIONE CITOPLASMATICA



ALTERAZIONE
IRREVERSIBILE DELLE
MOLECOLE IDRATE
INTRACELLULARI

Raffreddamento rapido

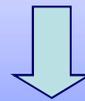


La solidificazione dell'acqua extracellulare è più veloce dell'efflusso di acqua dalla cellula.

Lo squilibrio tra i potenziali chimici intracellulare ed extracellulare aumenta col procedere del raffreddamento.

La cellula continua a sottoraffreddarsi

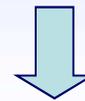
La probabilità di nucleazione intracellulare aumenta



Formazione di ghiaccio intracellulare

Danneggiamenti indotti dal raffreddamento rapido

Si ha la formazione di nuclei di cristallizzazione soprattutto all'interno della cellula (NUCLEAZIONE DELL'ACQUA):



DANNO MECCANICO



CRISTALLI INTRACELLULARI



CRISTALLI EXTRACELLULARI

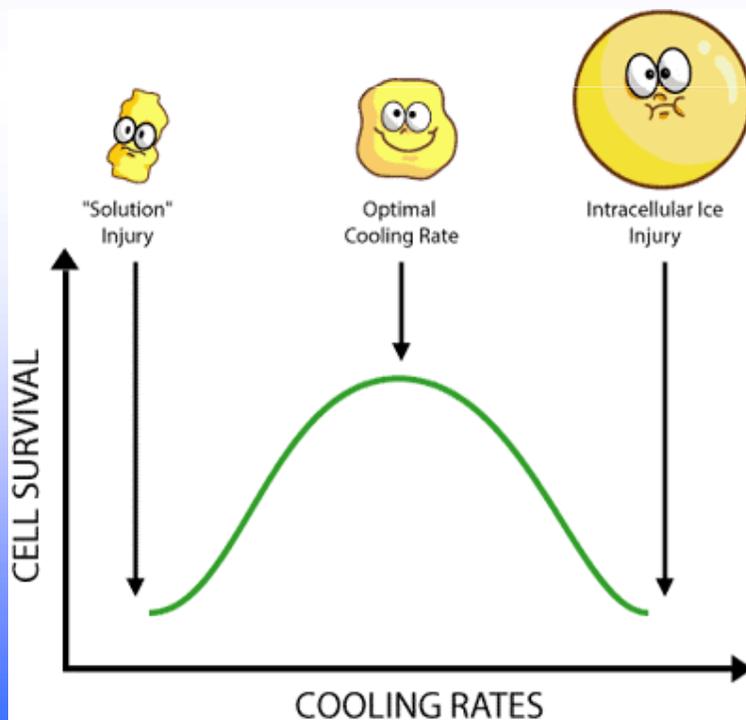


DISTRUZIONE DELLA MEMBRANA CELLULARE

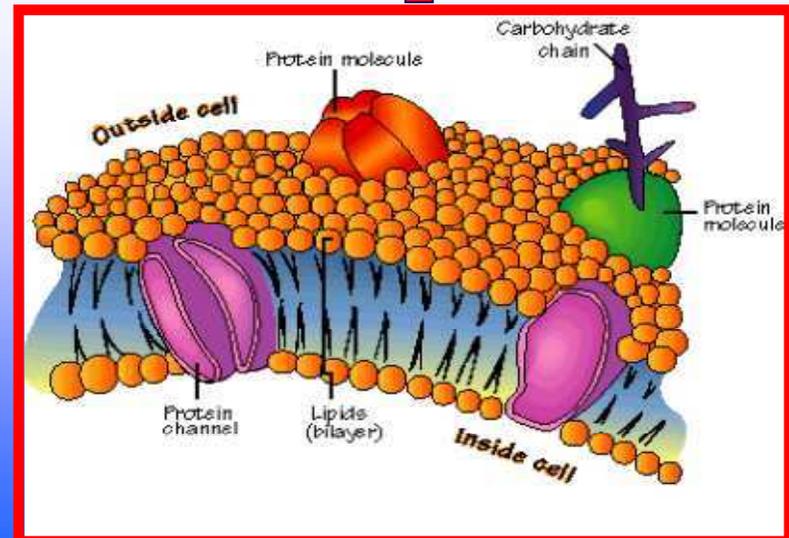
ESISTE LA VELOCITA' IDEALE?

Il raffreddamento deve essere **lento** in modo tale da evitare la formazione di ghiaccio intracellulare!

Il raffreddamento deve essere nello stesso tempo **rapido** in modo tale da non danneggiare la cellula per disidratazione: l'aumento della viscosità ostacola la diffusione extracellulare di acqua.



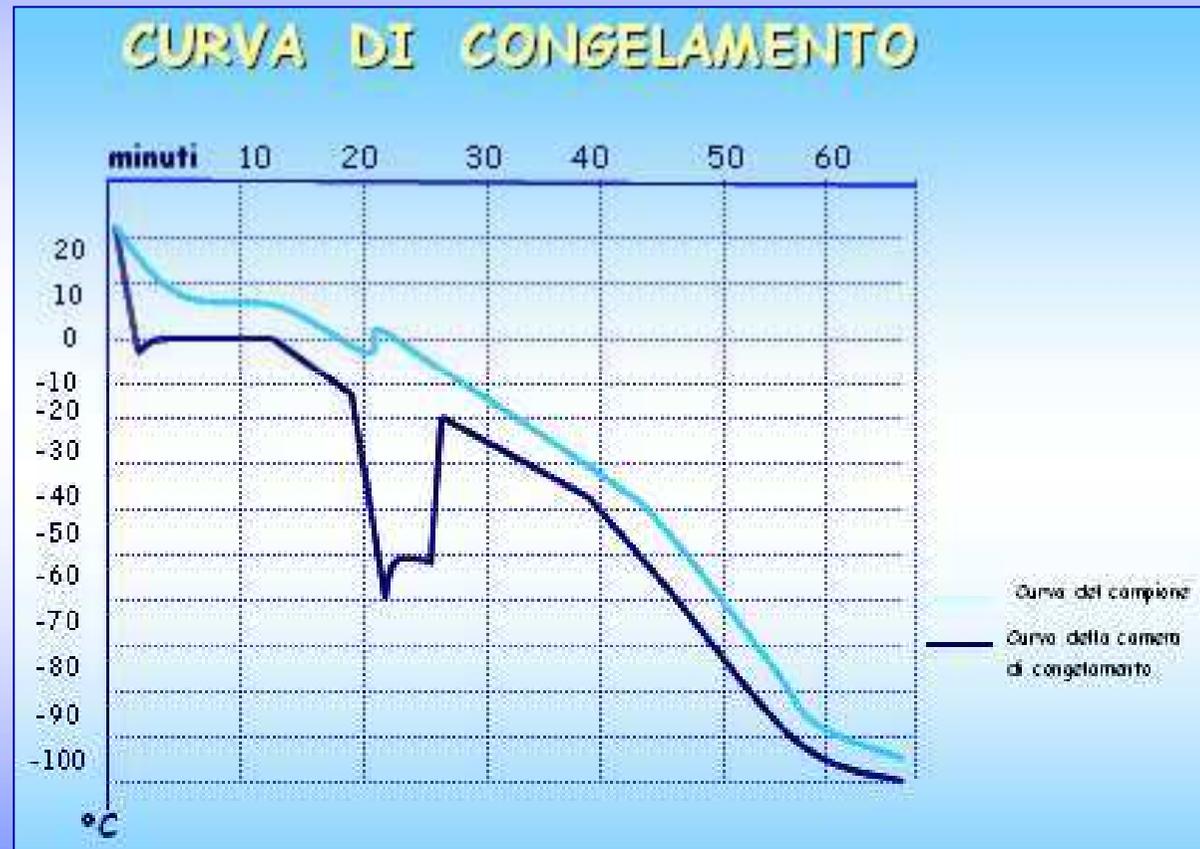
La velocità di congelamento ideale non è universale, ma dipende dal tipo cellulare



Congelamento

- La velocità di raffreddamento influenza la sopravvivenza cellulare del materiale biologico criopreservato.
- Un congelamento a discesa di temperatura controllata, che regola la nucleazione e permette di compensare il calore di solidificazione rilasciato dal materiale che congela, consente di massimizzare la vitalità cellulare.
- Per questo è vantaggioso usare **congelatori elettronici programmabili**, che sfruttano l'azoto liquido per il raffreddamento, piuttosto che congelare semplicemente posizionando il campione in un ambiente freddo.

Criopreservazione cellule staminali ematopoietiche



Crioprotettori

Per prevenire le lesioni da freddo non basta controllare la discesa della temperatura bisogna usare **agenti crioprotettivi** .

Composti in grado di ridurre i danni indotti sulla cellula da disidratazione e cristallizzazione dell'acqua

Crioprotettori

Esistono diverse sostanze con questa proprietà, i cui requisiti dovrebbero essere:

✓ **Alta solubilità in acqua**

✓ **Bassa tossicità cellulare**

La loro azione protettiva si esplica abbassando la concentrazione degli elettroliti e riducendo la rapidità dell'efflusso di acqua dalla cellula. Inoltre influenzano la nucleazione e la crescita di cristalli di ghiaccio, modificando la modalità di congelamento delle cellule.

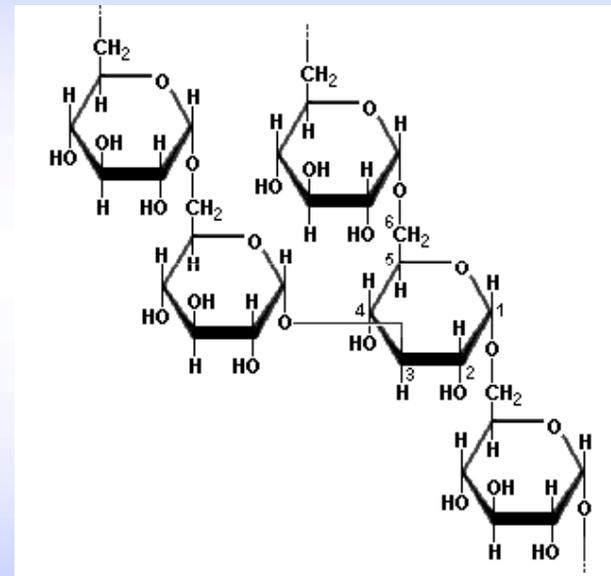
Tradizionalmente vengono distinti in due categorie:
ad azione **extracellulare** o **intracellulare**

Agenti crioprotettori ad azione extracellulare

Saccarosio, Glucosio, Destrano, Lattosio, Amido .

Agiscono all'esterno della cellula o comunque non hanno azione colligativa.

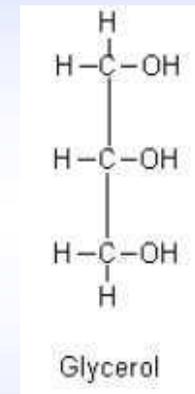
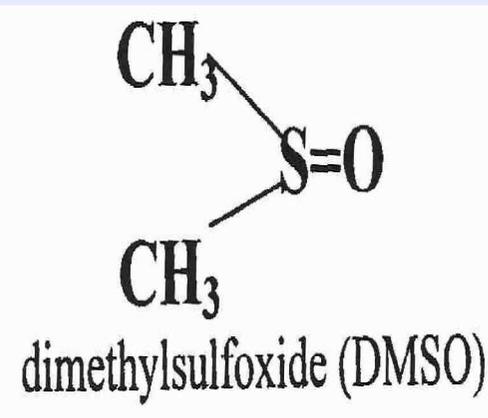
Sono più efficaci nelle discese rapide di temperatura, perché richiamano acqua dal citosol all'ambiente extracellulare e ne favoriscono la fuoriuscita modificando la permeabilità della membrana



Destrano

Agenti crioprotettori ad azione intracellulare

Glicerolo, DMSO ed Etanolo.
Azione colligativa. Agiscono sia all'interno che all'esterno della cellula, ad alte concentrazioni. Ritardano il passaggio di stato liquido-solido hanno un punto di congelamento molto più basso rispetto all'acqua.
Diluendo i soluti, riducono la solution injury. Sono utilizzati con lente velocità di raffreddamento.



DMSO

Per il congelamento delle staminali ematopoietiche il crioprotettore più utilizzato è il **DMSO**, sia da solo che in combinazione con fisiologica, amido idrossietilico (HES) e albumina umana (HAS).

CARATTERISTICHE:

- altamente solubile in acqua;
- penetra rapidamente nelle cellule;
- legandosi all' H_2O rallenta la formazione di cristalli di ghiaccio ed evita lo shock da iperosmolarità che si produce durante la formazione dei cristalli di ghiaccio.

DMSO

ATTENZIONE:

- L'aggiunta di DMSO a una soluzione organica da luogo a una reazione esotermica per cui occorre manipolare le cellule staminali in ghiaccio.
- Il DMSO è tossico per le cellule e la tossicità è funzione del **tempo** di contatto con le cellule e della **temperatura** a cui si utilizza:
 - manipolare le cellule in ghiaccio T 6-8° C;
 - manipolare velocemente;
 - procedere rapidamente al congelamento.

DMSO

ATTENZIONE:

Il DMSO è ritenuto il responsabile della tossicità che si verifica nel paziente al momento del trapianto: sono stati riscontrati effetti quali vomito, disfunzioni cardiache, problemi respiratori e complicazioni renali.

Tossicità per valori superiori a 1 ml/Kg paziente.

Metodiche alternative di congelamento:

Diminuire il quantitativo di DMSO:

- riducendo il volume del materiale da congelare mediante centrifugazione e rimozione del surnatante;
- riducendo la percentuale di DMSO nella soluzione di congelamento. E' stato osservato che anche percentuali di DMSO inferiori al 10% sono efficaci per la criopreservazione delle staminali ematologiche;
- combinazione di DMSO al 5%, 6% HES e 4% HSA. Le molecole di amido non attraversano la membrana cellulare ma formano un guscio attorno alla cellula che inibisce i movimenti dell'acqua e previene la progressiva disidratazione cellulare.

Metodiche alternative di congelamento

PROTEINE SIERICHE

Sono un ottimo fattore protettivo sia nella fase di congelamento che di scongelamento, probabilmente esercitano modificazioni sulla viscosità della soluzione di congelamento.

La maggior parte delle soluzioni di criopreservazione contiene o plasma autologo o albumina.

Metodiche alternative di congelamento:

Alcuni studi suggeriscono che l'attivazione delle **caspasi**, particolarmente durante il processo di scongelamento, possano indurre l'apoptosi e quindi aumentare il contributo dei danni da ghiaccio alle cellule staminali da trapiantare. Pertanto è stata proposta l'utilizzo di inibitori della caspasi come zVAD –fmk come agente crioprotettore.

Concentrazione Cellulare

In passato si riteneva che anche un'alta **concentrazione cellulare** del criopreservato determinasse tossicità cellulare.

Si suggeriva per congelare le cellule staminali ematopoietiche non superare **2×10^7 cellule/ml**.

Successivamente è stato stabilito che è possibile arrivare fino a **5.6×10^8 cellule/ml**.

Per motivi pratici più utilizzata **2×10^8 cellule/ml**

Altri autori ritengono che la vitalità delle PBSC dopo scongelamento dipenda sia dalla **concentrazione cellulare** che dalla **concentrazione DMSO**: con DMSO al 5% si consiglia di non concentrare le cellule oltre **2×10^8 cellule/ml**

Criopreservazione cellule staminali ematopoietiche

- HPC-A: centrifugazione e rimozione del plasma per ridurre il vol. del prodotto;
- HPC-M: effettuare un buffy coat per ridurre il volume e rimuovere RBC;
- **soluzione di criopreservazione**: fisiologica con DMSO al 10% del Vol. finale insieme ad HSA al 2% o al plasma autologo, in ghiaccio;
- **concentrazione cellulare**:
 - HPC-A ad una conc. cell. variabile tra **1-2 x 10⁸/ml** max **3x10⁸/ml**
 - HPC-M ad una conc. cell. intorno a **6-7 x 10⁷/ml**
- aggiungere la soluzione crioprotettiva alla sospensione cellulare avendo cura di lavorare in ghiaccio;
- distribuire il materiale nelle particolari sacche da congelamento;
- preparare delle aliquote-pilota per potere eseguire test di controllo;
- avviare la vera e propria fase di congelamento;
- stoccare in azoto liquido o vapori.

Criopreservazione cellule staminali ematopoietiche

L'utilizzo di temperature così basse impone l'uso di sacche particolarmente resistenti.

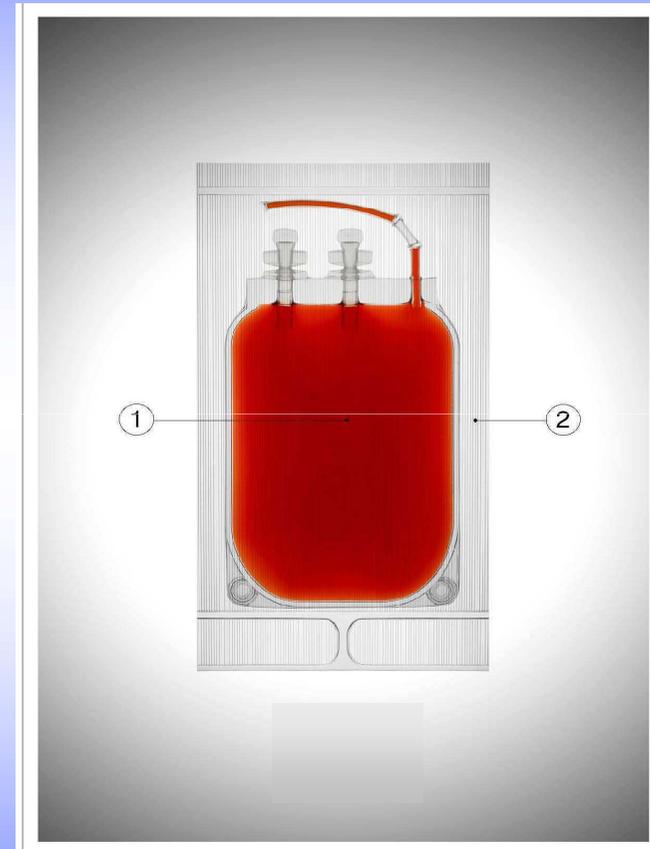
La scelta cade tra sacche che possono contenere volumi variabili tra 50 e 250 ml ciascuna.

I materiali più utilizzati:

Etil Vinil Acetato (EVA), teflon, PVC, poliolefine.

Inoltre, per assicurare una uniforme distribuzione della temperatura nel corso del congelamento le sacche vengono schiacciate in apposite scatole di metallo preraffreddate in frigo.

Criopreservazione cellule staminali ematopoietiche



Conservazione

La temperatura di stoccaggio influenza il tempo per cui il materiale può essere conservato: minore è la temperatura più lungo è il periodo di stoccaggio.

Conservazione

Al di sotto di -130°C esistono due stati:

cristallino

vetroso

Non ci sono reazioni chimiche perché la viscosità non permette fenomeni di diffusione.

Pertanto lo stoccaggio del materiale criopreservato viene effettuato in appositi contenitori in azoto liquido (-196°C) o in vapori di azoto.

Conservazione

STOCCAGGIO IN AZOTO LIQUIDO:

Lo stoccaggio in azoto liquido garantisce una temperatura di conservazione stabile, ma può generare problemi di cross contaminazione tra i campioni qualora l'azoto avesse la possibilità di entrare all'interno delle sacche di stoccaggio.

La penetrazione dell'azoto all'interno delle sacche può causare rottura delle sacche durante il riscaldamento a seguito dell'espansione associata alla trasformazione in fase gassosa.

Conservazione

STOCCAGGIO IN VAPORI AZOTO:

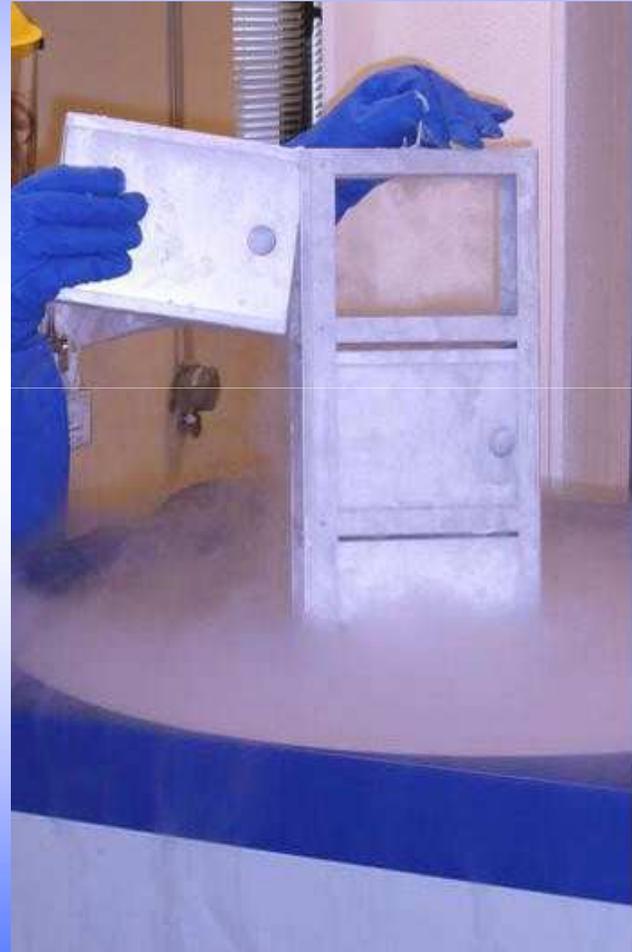
Lo stoccaggio in fase vapore, invece non garantisce una temperatura stabile di stoccaggio soprattutto per quei campioni che si trovano nella parte alta del contenitore di stoccaggio.

Conservazione

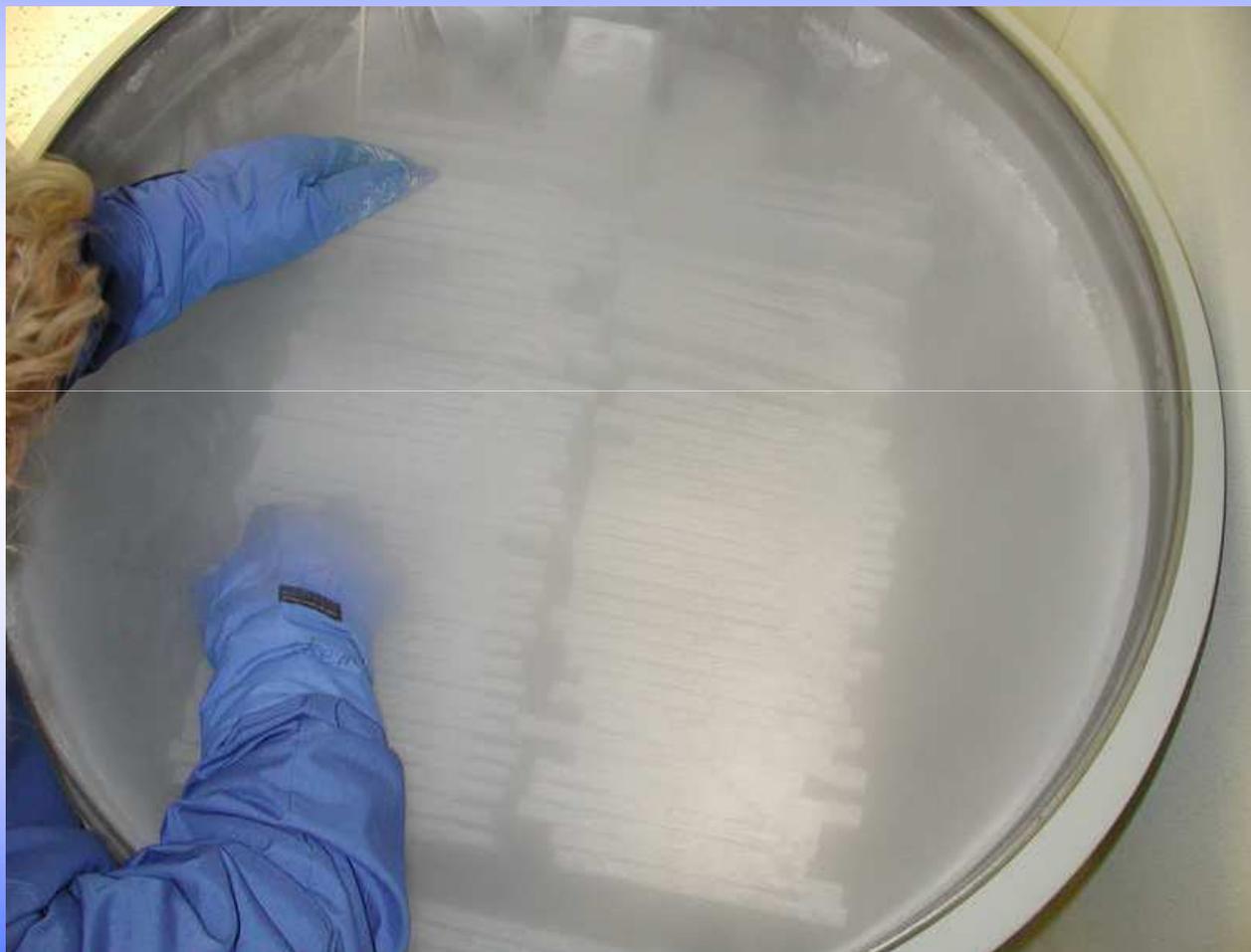
Al fine di ridurre al minimo le possibilità di cross contaminazione tra HPC criopreservate sono state prese le seguenti precauzioni:

- criopreservazione in sacca doppia
- quarantena in contenitori in vapori di azoto
- dopo l'arrivo dei controlli microbiologici effettuati nel corso del processamento:
 - in assenza di contaminazione il materiale criopreservato viene trasferito in contenitori in azoto liquido
 - in presenza di contaminazione il materiale viene trasferito in un contenitore in vapori di azoto.

Conservazione



Conservazione



Conservazione



Conservazione



Controlli di qualità

Non esiste un consenso assoluto sul metodo ottimale per stimare la capacità funzionale di ricostituzione ematopoietica di HPC congelate pertanto vengono valutati parametri diversi della raccolta.

I più utilizzati a questo scopo sono:

- conta WBC
- conta delle cellule CD34+
- vitalità cellulare
- test clonogenico
- valutazione dei parametri suddetti dopo scongelamento di vial contenenti aliquote di HPC criopreservate
- controllo microbiologico

Controlli di qualità

Conta cellulare

Per ciascuna HPC deve essere determinata la quantità totale di WBC mediante l'utilizzo contaglobuli automatizzati.

Questo parametro è importante per:

- controllare la concentrazione cellulare per un eventuale over night sia per il congelamento;
- valutare l'efficacia del trapianto poiché dalla letteratura risulta che i trapianti con alte dosi di cellule midollari sono associate ad outcome migliori, nel trapianto di midollo, al contrario delle aferesi, la valutazione della dose efficace per la ricostituzione ematopoietica viene effettuata in base alle WBC/Kg e non come CD34/Kg. Si ritiene che una dose di WBC/Kg pari a **2×10^8 /Kg** sia efficace per una efficiente ricostituzione ematopoietica dopo terapia mieloablativa .

Controlli di qualità

Conta delle cellule CD34+

- Le cellule staminali emopoietiche esprimono sulla superficie l'antigene CD34, pertanto la determinazione delle cellule CD34+ nella raccolta cellulare costituisce ad oggi l'elemento fondamentale per valutare l'efficienza del trapianto di HPC-A. A seconda del tipo di trapianto esiste una dose minima "efficace" al di sotto della quale le probabilità di attecchimento risultano ridotte.
- Per identificare le cellule CD34+ si utilizza la citofluorimetria e il protocollo ISHAGE . Tale metodica prevede l'utilizzo di un colorante vitale 7-Amino-actinomycin D (7-AAD) che permette di valutare oltre che la vitalità delle cellule CD34+ la vitalità totale delle cellule.

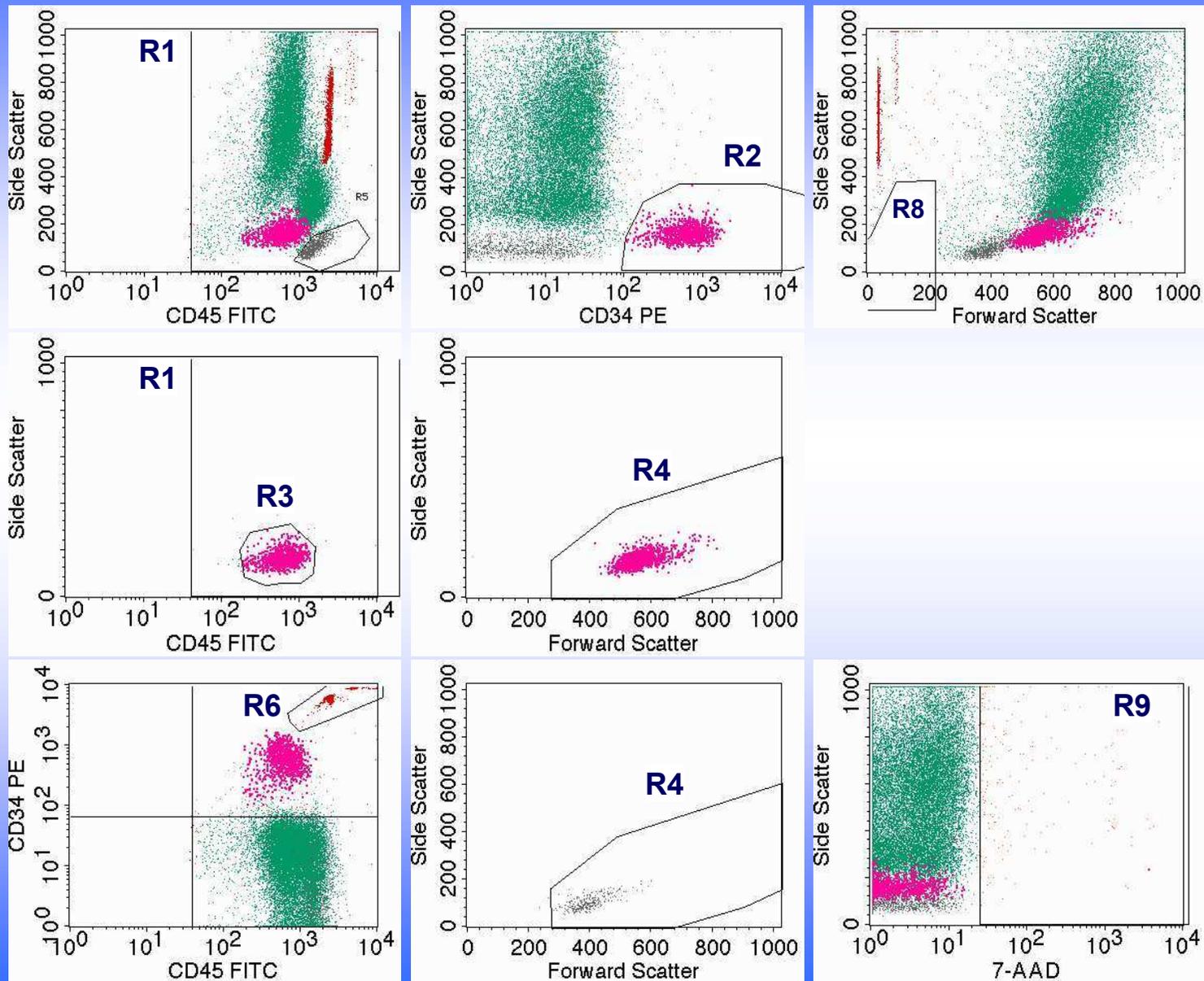
Controlli di qualità

Vitalità cellulare

Determinare sempre la vitalità delle cellule CD34+ e delle cellule nucleate totali prima e dopo congelamento.

Si può utilizzare il citofluorimetro o il microscopio dopo colorazione delle cellule con opportuni coloranti vitali.

HPC-Aferesi – campione fresco



Controlli di qualità

Test di clonogenicità

- Cellule progenitrici *committed* (CFU-GEMM, CFU-GM, BFU-E) possono essere quantificate in vitro mediante un sistema di colture a breve termine che valuti il contenuto in cellule clonogeniche (CFU) dopo un intervallo di due settimane dalla semina.
- Il test può essere effettuato sia su campioni di materiale fresco che su campioni di materiale scongelato.
- Yang et al. hanno effettuato una valutazione utilizzando due diverse prove funzionali, il conteggio delle cellule CD 34+ e le CFU-GM, correlando i risultati dei test pre e post scongelamento con l'attecchimento in 52 pazienti. Il dosaggio pre e dopo scongelamento correlano bene l'uno con l'altro e con l'effettivo l'attecchimento in clinica.

Controlli di qualità

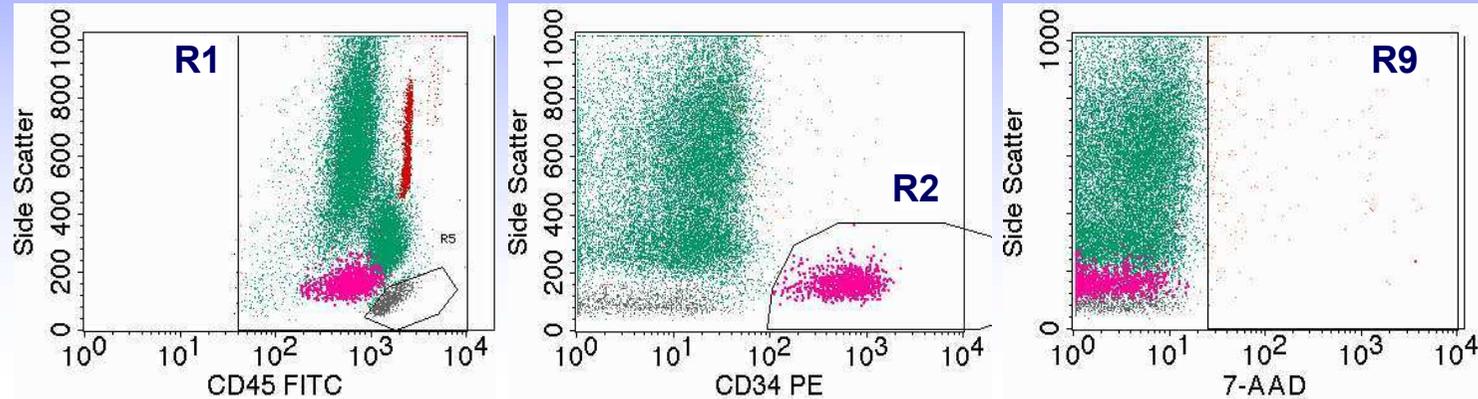
Valutazione dei parametri suddetti dopo scongelamento di vial contenenti aliquote di HPC criopreservate

Contestualmente all'unità di HPC vengono criopreservate, in condizioni identiche, 2 aliquote di HPC, da utilizzarsi sia come controllo di qualità al momento della richiesta di una sacca sia per altri controlli. Nel caso in cui non sia possibile prelevare aliquote per non ridurre il quantitativo del materiale per il trapianto, è buona norma conservare aliquote di altro materiale prelevato nel corso della lavorazione da usare per eventuali controlli di altra natura.

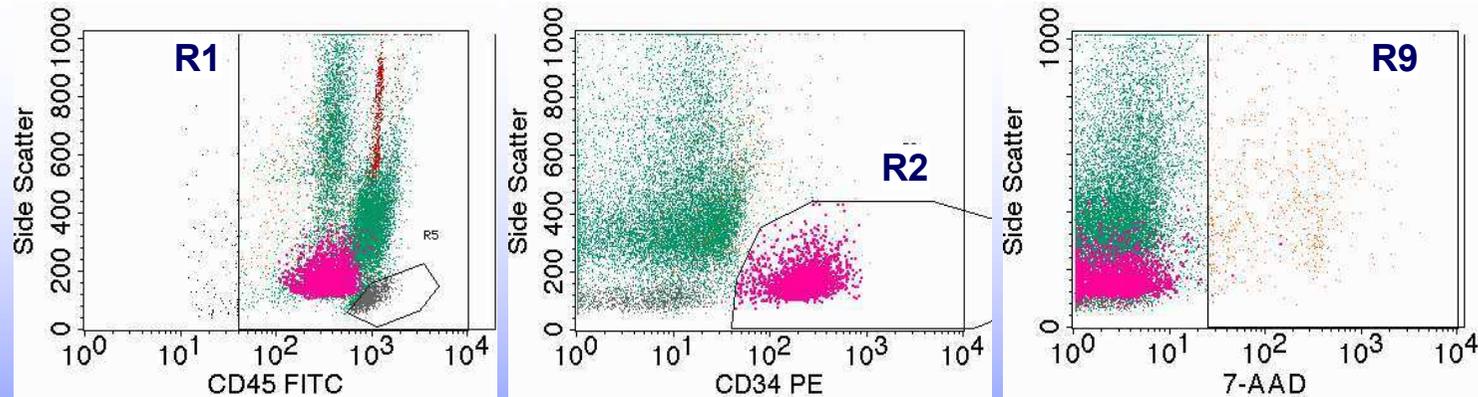
HPC-Aferesi

- confronto campione fresco vs. scongelato -

fresco



scongelato



- Perdita granulociti
- ↑ % CD34⁺
- CD34⁺/μL con microsfere ± invariato

Controlli di qualità

Controllo microbiologico

La contaminazione microbica delle HPC rappresenta un rischio significativo per il grave stato di immunosoppressione in cui si trova il ricevente, pertanto nel corso di ogni processamento occorre sempre valutare la contaminazione microbica del materiale processato mediante emocolture per batteri aerobi e anaerobi .

Controlli di qualità

In caso di contaminazione l'unità viene immediatamente segnalata al medico responsabile del trapianto che ne decide l'utilizzo.

- Dalla letteratura risulta che il tasso complessivo di contaminazione microbiologica delle HPC varia tra 0-4,5%;
- I ceppi batterici principalmente coinvolti sono **batteri della flora cutanea e batteri commensali**. Il resto è costituito principalmente di **batteri enterici**.
- Si osserva una maggiore frequenza di contaminazione da agenti patogeni nelle sacche di cellule staminali da midollo osseo, ciò si spiega considerando le diverse caratteristiche del processo di raccolta.

Controlli di qualità

Per evitare **complicazioni infettive** dovrebbero essere impiegate le seguenti misure:

- processare il materiale in aree pulite ed effettuare un accurato controllo microbiologico di tutte le fasi della procedura di conservazione delle cellule staminali;
- controllare la contaminazione microbiologica prima dell'infusione;
- effettuare uno screening anche sui donatori autologhi;
- qualora venga rilevata una sacca infetta stoccarla separatamente o in vapori di azoto.

Controlli di qualità

Decreto legislativo

n.16/2010

(Direttive 2007/17 e 86 /CE)

.....

3. Fatte salve le disposizioni indicate al punto 4, se i tessuti o le cellule vengono a contatto con **l'ambiente durante la lavorazione** senza essere poi sottoposti a procedimento di inattivazione microbica, per la qualità dell'aria è prescritto quale requisito un numero di particelle e un numero di colonie microbiche equivalente a quelli di **grado A** di cui all'allegato 1 della guida europea alle buone pratiche di fabbricazione (Good Manufacturing Practice: GMP), e al decreto legislativo 24 aprile 2006, n. 219, recante "Attuazione della direttiva 2001/83/CE (e successive direttive di modifica) relativa ad un codice comunitario concernente i medicinali per uso umano, nonché delladirettiva 2003/94/CE", **con un ambiente di fondo** adeguato alla lavorazione dei tessuti/cellule interessati, ma almeno equivalente a GMP di **grado D** in termini di numero di particelle e di colonie microbiche.

Controlli di qualità

- Sono necessarie delle procedure di convalida dettagliate per assicurare, in ogni passaggio, la validità dei processi in atto.
- Materiali, strumenti, apparecchiature e sostanze che vengono a contatto o che possono influire sullo stato del materiale biologico devono essere progettati, valutati ed eventualmente sottoposti a manutenzione in modo da risultare idonei allo scopo cui sono destinati e non comportare rischi per i prodotti finali.
- A questo scopo ed in particolare per queste strutture si ritiene necessario aderire ad un programma di controllo della qualità che stabilisca i principi generali cui conformarsi durante l'attività di convalida e la pianificazione di tutte le attività di convalida.

INTERNATIONAL STANDARDS FOR CELLULAR THERAPY PRODUCT COLLECTION, PROCESSING, AND ADMINISTRATION **ACCREDITATION MANUAL**



Guidance to Accompany the FACT-JACIE International Standards for Cellular Therapy Product Collection, Processing, and Administration, Fifth Edition

**Fifth Edition
March 2012**

NOTICE

These Standards are designed to provide minimum guidelines for programs, facilities, and individuals performing cell transplantation and therapy or providing support services for such procedures. These Standards are not intended to establish best practices or include all procedures and practices that a program, facility, or individual should implement if the standard of practice in the community or applicable governmental laws or regulations establish additional requirements. Each program, facility, and individual should analyze its practices and procedures to determine whether additional standards apply. Compliance with these Standards is not an exclusive means of complying with the standard of care in the industry or community or with local, national, or international laws or regulations.

The Foundation for the Accreditation of Cellular Therapy and the Joint Accreditation Committee – ISCT and EBMT expressly disclaim any responsibility for setting maximum standards and further expressly disclaim any responsibility, liability, or duty to member programs, directors, staff, or program donors or patients for any such liability arising out of injury or loss to any person by the failure of member programs, directors, or staff to adhere to the Standards or related guidance.

COPYRIGHT © 2012
FOUNDATION FOR THE ACCREDITATION
OF CELLULAR THERAPY (FACT)

COPYRIGHT © 2012
JOINT ACCREDITATION COMMITTEE -
ISCT and EBMT (JACIE)