



**17°** *Corso Nazionale di Aggiornamento SIdEM*

*Palermo 18-20 ottobre 2012*

**Manipolazione cellulare minima:  
la gestione delle unità non conformi**

*Marco Risso - Servizio Trasfusionale - IRCCS G. Gaslini - Genova*

Quando parliamo di...

## **Manipolazioni**

ci riferiamo alle cellule staminali

Quando parliamo di...

## **Lavorazioni**

ci riferiamo al sangue e suoi derivati

*17° Corso Nazionale di Aggiornamento SidEM - Palermo 18-20 ottobre 2012*

*Manipolazione cellulare minima: la gestione delle unità non conformi*

**Allegato A). Requisiti strutturali, tecnologici e organizzativi minimi per l'esercizio delle attività sanitarie dei servizi trasfusionali e delle unità di raccolta del sangue e degli emocomponenti, ai sensi dell'articolo 6, comma 1, lettera a) e dell'articolo 19, comma 1, della legge 21 ottobre 2005, n. 219.**

**S.3.7 un'area destinata esclusivamente alla lavorazione del sangue e degli emocomponenti in circuito chiuso, accessibile solo a personale autorizzato; in tale area deve essere periodicamente monitorata la contaminazione microbica delle attrezzature, delle superfici e dell'ambiente;**

**DECRETO  
LEGISLATIVO 6  
novembre 2007, n.191**

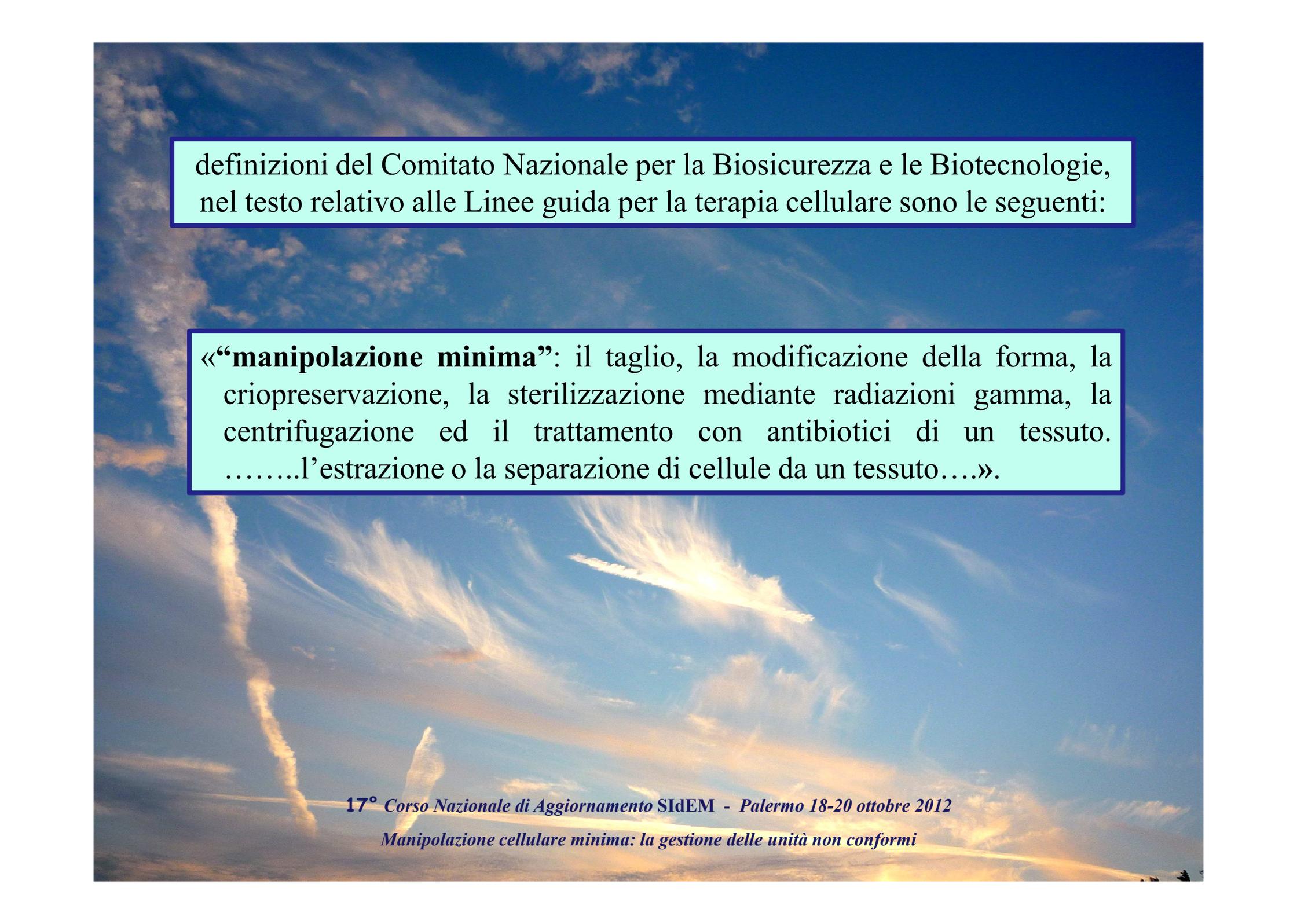
Attuazione della direttiva 2004/23/CE sulla definizione delle norme di qualità e di sicurezza per la donazione, l'approvvigionamento, il controllo, la lavorazione, la conservazione, lo stoccaggio e la distribuzione di tessuti e cellule umani.  
(GU n. 261 del 9-11-2007 - Suppl. Ordinario n.228)

**Art. 3.  
Definizioni**

g) «lavorazione»: tutte le operazioni connesse con la preparazione, la manipolazione, la conservazione e l'imballaggio dei tessuti o delle cellule destinati ad applicazioni sull'uomo;

Manipolazione: un procedimento che interviene su un prodotto con o senza modificazione delle proprietà biologiche delle cellule

- **manipolazione minima** quei procedimenti che non determinano una attivazione/proliferazione cellulare
- **manipolazione estensiva** rientrano quei processi che agiscono sulle capacità biologiche della cellula



definizioni del Comitato Nazionale per la Biosicurezza e le Biotecnologie, nel testo relativo alle Linee guida per la terapia cellulare sono le seguenti:

«**“manipolazione minima”**: il taglio, la modificazione della forma, la criopreservazione, la sterilizzazione mediante radiazioni gamma, la centrifugazione ed il trattamento con antibiotici di un tessuto. ....l'estrazione o la separazione di cellule da un tessuto....».

*17° Corso Nazionale di Aggiornamento SIdEM - Palermo 18-20 ottobre 2012*

*Manipolazione cellulare minima: la gestione delle unità non conformi*

Accordo tra Ministro della salute, le Regioni e le Province autonome di Trento e Bolzano del 10 luglio 2003  
”Linee-guida in tema di raccolta, manipolazione e impiego clinico delle cellule staminali emopoietiche (CSE).”

## **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...

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

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.

Accordo tra Ministro della salute, le Regioni e le Province autonome di Trento e Bolzano del 10 luglio 2003  
”Linee-guida in tema di raccolta, manipolazione e impiego clinico delle cellule staminali emopoietiche (CSE).”

**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).**

Prodotto non conforme:  
mancato soddisfacimento di uno o più requisiti specifici

Le non conformità riguardante il prodotto possono essere:

- Relative al contenitore

Integrità e Identificazione dell'unità

- Relative al contenuto

Cellularità Positività test virologici

Contaminazione microbiologica



Potremmo trovarci a gestire

Unità non conforme che deve subire una manipolazione

Unità che diventa non conforme durante manipolazione

*17° Corso Nazionale di Aggiornamento SIDEM - Palermo 18-20 ottobre 2012*

*Manipolazione cellulare minima: la gestione delle unità non conformi*

Prodotto non conforme NON comporta necessariamente  
eliminazione

Prodotto non conforme SEMPRE comporta  
documentazione

Una non conformità del prodotto deve essere  
documentata e tracciata la sua gestione



Importante che esistano procedure dove siano state individuate le non conformità e la loro gestione con le relative responsabilità decisionali per l'eventuale rilascio o eliminazione

In genere se si procede alla manipolazione di un prodotto non conforme questo implica un rilascio straordinario

M

Segnalaz

laboratoristica

|  |  |   |
|--|--|---|
| <br><b>IRCCS</b><br><b>GIANNINA GASLINI</b> | <i>Modulo</i>  | <i>Mod.</i><br><i>Rev. 0</i><br><i>del 15.10.2007</i>         |
|  | <i>Dipartimento di</i><br><i>Ematologia-Oncologia</i><br><i>Programma Trapianto</i><br><i>Cellule</i><br><i>Staminali Emopoietiche</i> | <b>SEGNALAZIONE EIEA</b><br>(Errore Incidente Evento Avverso) |

|   |  |   |                 |
|---|--|---|-----------------|
| <b>TIPO:</b> <input type="checkbox"/> Errore <input type="checkbox"/> Incidente <input type="checkbox"/> Evento Avverso |  | <b>Data Rilevazione</b><br>____/____/____ |                 |
| Relativa al<br>Ricevente/Prodotto   | Cognome Nome                                 | Data di nascita<br>____/____/____         | Codice paziente |
|   | Codice identificativo e/o tipologia prodotto |   |                 |

**Descrizione EIEA e destinatari della segnalazione**

.....

.....

.....

.....

.....

|                    |              |             |
|--------------------|--------------|-------------|
| <b>Segnalatore</b> | <b>Firma</b> | <b>Data</b> |
|--------------------|--------------|-------------|

**Provvedimenti adottati**

.....

.....

.....

.....

.....

| Personale | Firme | Firme per approvazione      |
|-----------|-------|-----------------------------|
| _____     | ..... | Direttore Programma .....   |
| _____     | ..... | Direttore Clinico .....     |
| _____     | ..... | Direttore Aferesi .....     |
| _____     | ..... | Direttore Espianto .....    |
| _____     | ..... | Direttore Laboratorio ..... |

|                    |                  |       |
|--------------------|------------------|-------|
| Data registrazione | N° registrazione | Firma |
|--------------------|------------------|-------|

*Questo documento è di proprietà dell'IRCCS "GIANNINA GASLINI", ogni riproduzione non autorizzata dallo stesso è vietata.*

Tra le principali non conformità



*17° Corso Nazionale di Aggiornamento SIdEM - Palermo 18-20 ottobre 2012*

*Manipolazione cellulare minima: la gestione delle unità non conformi*

## Problematica che il legislatore ha posto in evidenza

**DIRETTIVA 2004/23/CE DEL PARLAMENTO EUROPEO E DEL CONSIGLIO  
del 31 marzo 2004**

sulla definizione di norme di qualità e di sicurezza per la donazione, l'approvvigionamento, il controllo, la lavorazione, la conservazione, lo stoccaggio e la distribuzione di tessuti e cellule umani

**DECRETO  
LEGISLATIVO 6  
novembre 2007, n.191**

Attuazione della direttiva 2004/23/CE sulla definizione delle norme di qualità e di sicurezza per la donazione, l'approvvigionamento, il controllo, la lavorazione, la conservazione, lo stoccaggio e la distribuzione di tessuti e cellule umani.  
(GU n. 261 del 9-11-2007 - Suppl. Ordinario n.228)

**17° Corso Nazionale di Aggiornamento SIdEM - Palermo 18-20 ottobre 2012**

*Manipolazione cellulare minima: la gestione delle unità non conformi*

(2) La disponibilità di tessuti e cellule umani utilizzati a fini terapeutici dipende dai cittadini della Comunità che sono disposti a farne dono. Al fine di salvaguardare la salute pubblica e prevenire la trasmissione di malattie infettive per mezzo di tali tessuti e cellule, occorre adottare tutte le misure di sicurezza durante la donazione, l'approvvigionamento, il controllo, la lavorazione, la conservazione, lo stoccaggio e la distribuzione degli stessi.

#### *Articolo 20*

#### **Lavorazione dei tessuti e delle cellule**

3. Nelle proprie procedure operative standard gli istituti dei tessuti adottano speciali disposizioni per la manipolazione dei tessuti e delle cellule da scartare, al fine di impedire la contaminazione di altri tessuti o cellule, dell'ambiente in cui avviene la lavorazione o del personale.

DIRETTIVA 2006/17/CE DE

## DECRETO LEGISLATIVO 25 gennaio 2010, n. 16

Attuazione delle direttive 2006/17/CE e 2006/86/CE, che attuano la direttiva 2004/23/CE per quanto riguarda le prescrizioni tecniche per la donazione, l'approvvigionamento e il controllo di tessuti e cellule umani, nonché per quanto riguarda le prescrizioni in tema di rintracciabilità, la notifica di reazioni ed eventi avversi gravi e determinate prescrizioni tecniche per la codifica, la lavorazione, la conservazione, lo stoccaggio e la distribuzione di tessuti e cellule umani. (10G0030)

17° Corso Nazionale di Aggiornamento SIdEM - Palermo 18-20 ottobre 2012

*Manipolazione cellulare minima: la gestione delle unità non conformi*

# DIRETTIVA 2006/17/CE

## ALLEGATO I

### 2. Donatori vivi

#### 2.1. Donatori vivi autologhi

- 2.1.1. Se i tessuti e le cellule asportati sono destinati ad essere conservati o coltivati, occorre effettuare la stessa quantità minima di test biologici prescritta per i donatori vivi allogenici. I risultati positivi degli esami non comportano necessariamente il divieto di conservare, trattare e reimpiantare tessuti, cellule o qualsiasi prodotto derivato, purché vi sia la possibilità di conservarli isolatamente, al fine di evitare qualsiasi rischio di contaminazione incrociata con altri innesti o di contaminazione con agenti avventizi, ovvero di confusione.

## ALLEGATO IV

### 2. Ricevimento dei tessuti e delle cellule presso l'istituto dei tessuti

- 2.3. Ciascun istituto dei tessuti deve disporre di linee di condotta e di specifiche documentate in base alle quali verifica ogni partita di tessuti e di cellule, inclusi i campioni. Tale documentazione comprende le prescrizioni tecniche citate e altri criteri che l'istituto dei tessuti ritiene essenziale ai fini della salvaguardia di un'adeguata qualità. L'istituto dei tessuti deve disporre di procedure documentate per la gestione e la separazione delle partite non conformi o con risultati delle analisi incompleti, al fine di garantire che non sussistono rischi di contaminazione per altri tessuti e cellule lavorati, conservati o stoccati.

## DIRETTIVA 2006/86/CE DELLA COMMISSIONE

### D. SERVIZI/LOCALI

8. Occorre predisporre servizi di stoccaggio che separino e distinguano nettamente i tessuti e le cellule precedenti al rilascio/in quarantena da quelli rilasciati e da quelli scartati, al fine di prevenirne la confusione e la contaminazione incrociata. Nei locali di stoccaggio di tessuti e cellule sia in quarantena che rilasciati occorre predisporre zone o dispositivi di stoccaggio fisicamente separati o isolamenti di sicurezza all'interno del dispositivo per la tenuta di determinati tessuti e cellule prelevati conformemente a criteri speciali.

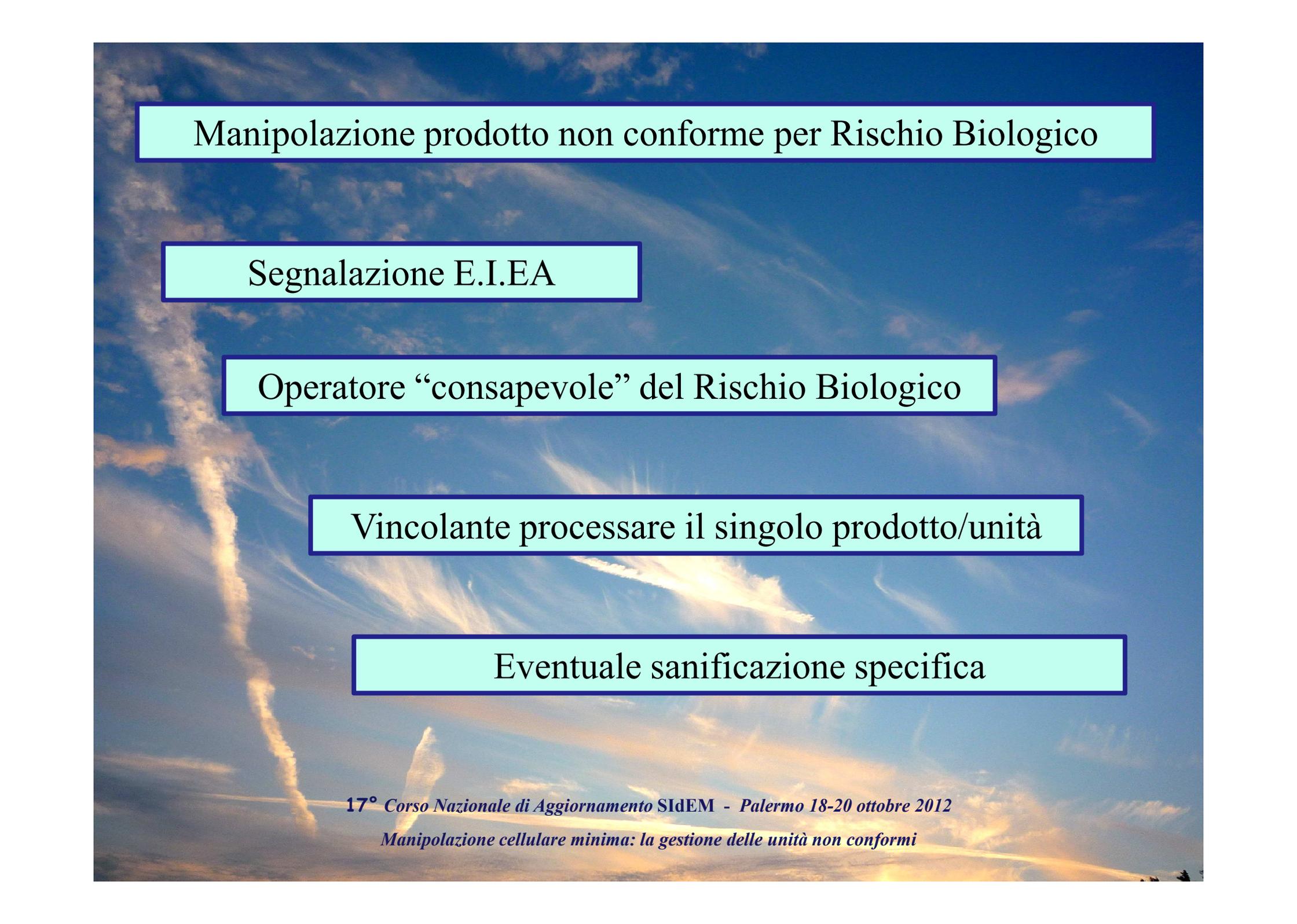


Considerare ogni manipolazione come procedura a rischio

Processare un solo prodotto

*17° Corso Nazionale di Aggiornamento SIDEM - Palermo 18-20 ottobre 2012*

*Manipolazione cellulare minima: la gestione delle unità non conformi*



Manipolazione prodotto non conforme per Rischio Biologico

Segnalazione E.I.EA

Operatore “consapevole” del Rischio Biologico

Vincolante processare il singolo prodotto/unità

Eventuale sanificazione specifica

*17° Corso Nazionale di Aggiornamento SIdEM - Palermo 18-20 ottobre 2012*

*Manipolazione cellulare minima: la gestione delle unità non conformi*

Unita HPC-C con coltura positiva al congelamento per  
anaerobio Bacteroides

Compilato modulo E.I.EA all'acquisizione

Procedura di scongelamento secondo modalità allegate

Esame batteriologico del prodotto post lavorazione

Prodotto infuso – coltura positiva – paziente non complicanze

**lavoro pubblicato su *Biology of Blood and Marrow Transplantation***

**da Mark A. Klein, et al nel 2006 dal titolo:**

**“Microbial Contamination of Hematopoietic Stem Cell Products: Incidence and Clinical Sequelae”**

“....Serious clinical sequelae from contaminated stem cell products are rare..” e che “..Although the incidence of contaminated HSC products is low, steps to prevent contamination should continue to be employed at all times.... When possible, only closed collection systems should be used, the number of manipulation steps should be kept to an absolute minimum, and personnel should undergo routine training in the aseptic techniques of collection and processing of HSC products.”

*17° Corso Nazionale di Aggiornamento SIdEM - Palermo 18-20 ottobre 2012*

*Manipolazione cellulare minima: la gestione delle unità non conformi*



*Grazie per la vostra attenzione*

*17° Corso Nazionale di Aggiornamento SIDEM - Palermo 18-20 ottobre 2012*

*Manipolazione cellulare minima: la gestione delle unità non conformi*