REGIONE ABRUZZO
ASL PESCARA
Ospedale "Spirito Santo"
Dipartimento Oncologico-Ematologico
UOSD ISTITUTO DEI TESSUTI E BIOBANCHE
Responsabile Dott.ssa Tiziana Bonfini
Tel 085.4252372 fax 085.4252265
e-mail: pescaraitcse@ausl.pe.it
Organizzazione con Sistema Gestione per la Qualità certificata secondo UNI EN ISO 9001:2015 - Reg. N° 4268 A

SCHEDA TECNICA PRODOTTI PER TERAPIA CELLULARE

1 Informazioni generali 1
2 Descrizione del prodotto 2
3 Forma 3
4 Confezionamento ed etichetta 3
5 Scadenza e conservazione 4
6 Produttore e controllore finale 4
7 Indicazioni terapeutiche 4
8 Dose, modo e tempo di somministrazione 5
9 Farmacocinetica ed azione clinica 6
10 Controindicazioni 6
11 Interazioni 6
12 Avvertenze e precauzioni per l'uso 6
13 Effetti indesiderati 7
14 Bibliografia 10

1 Informazioni generali

Questo documento è un'estensione/ampliamento dell'etichetta che si trova sul prodotto; fornisce esclusivamente informazioni di carattere generale e non può essere considerato o interpretato come una espressione o una tacita garanzia della sicurezza o dell'idoneità dei prodotti descritti, anche quando usati per il loro scopo intenzionale. La giusta attenzione alle specifiche indicazioni per i prodotti in esso descritti è necessaria per prevenirne un uso inappropriato. Per ulteriori informazioni contattare il Laboratorio di Manipolazione e Criobiologia, responsabile della distribuzione del prodotto.

La presente scheda si applica ai prodotti cellulari rilasciati per uso clinico di seguito elencati:

- Cellule Staminali Emopoietiche (CSE) da sangue periferico (HPC-A);
- Cellule Staminali Emopoietiche (CSE) da sangue periferico (HPC-A) immunoselezionate (CD34+; CD34+/ TCR-α/β deplete)
- Cellule Staminali Emopoietiche (CSE) da midollo osseo (HPC-M)
- Cellule Staminali Emopoietiche (CSE) da sangue cordonale (HPC-CB)
- Prodotti cellulari di origine allogenica per immunoterapia (linfociti TC-TC)
- Prodotti cellulari di origine allogenica per immunoterapia immunoselezionati (T-Reg).

La raccolta di CSE per USO AUTOLOGO è effettuata mediante procedura di raccolta aferetica da sangue periferico, previa mobilizzazione del paziente con fattore di crescita, chemioterapia o entrambi, o mediante espianto midollare. La raccolta di CSE per USO ALLOGENICO è effettuata mediante espianto midollare o mediante raccolta aferetica da sangue periferico dopo mobilizzazione esclusivamente con fattore di crescita. In ambedue i casi può essere associato l'uso di fattori potenzianti il rilascio in circolo delle cellule staminali.
Nei trapianti di CSE con HPC-M 'T-replete' da donatore aploidentico, il donatore viene sottoposto a stimolazione con fattore di crescita granulocitario a basse dosi (3-4 μg/Kg) per una settimana, a scopo immunomodulante, prima della raccolta delle HPC-M.
La raccolta di prodotti cellulari per immunoterapia adottiva viene effettuata mediante procedura di linfocitoaferesi.

L'idoneità dei donatori allogenici è rilasciata previa valutazione dello stato di salute del donatore, dei fattori di rischio per malattie infettive trasmissibili, mediante anamnesi, esame obiettivo e test diagnostici prescritti dalla normativa vigente. Il donatore viene preventivamente sottoposto a tipizzazione HLA per la valutazione della compatibilità. Nonostante le procedure di selezione del donatore e l'effettuazione dei test di legge di seguito indicati, tale rischio non può essere eliminato del tutto. In taluni casi, tali prodotti possono essere utilizzati anche in presenza di positività di test infettivologici di legge, in funzione della unicità del prodotto/donatore.
In tal caso possono essere somministrati al paziente solo dopo una sua adeguata informazione del rischio, firma del consenso informato, autorizzazione scritta del medico curante del ricevente e con appropriata etichettatura del prodotto.

Test obbligatori di qualificazione biologica:

- Anti HIV 1,2, Anti HCV Ab, HBsAg, TPHA, HIV NAT, HBV NAT, HCV NAT
- Gruppo AB0-Rh

I prelievi devono essere effettuati il giorno stesso della donazione, altrimenti possono essere validi per il rilascio gli esami effettuati entro 30 gg antecedenti la raccolta del prodotto.

Test aggiuntivi (solo allogenico):

- anti-HBc
- anti-HBs
- anti-CMV IgG e IgM
- anti-TOXO IgG e IgM
- anti-EBV IgG e IgM

Ulteriori test aggiuntivi possono essere effettuati in casi particolari, secondo quanto previsto dalle circolari ministeriali.

2 Descrizione del prodotto

La scheda si applica ai seguenti prodotti cellulari:

- HPC-A, contenente CSE da sangue periferico;
- HPC-A, contenente CSE da sangue periferico selezionate (CD34+);
- HPC-A, contenente CSE da sangue periferico deplete di linfociti TCR α/β
- HPC-M, contenente CSE da midollo osseo;
- HPC-CB, contente CSE da sangue cordonale;
- Linfociti da sangue periferico di origine allogenica (CD3+ freschi o congelati in DMSO 10%) (DLI o TC-Tcons)
- TC-T-Reg: cellule T Regolatorie selezionate.

I prodotti per terapia cellulare possono essere sottoposti alle seguenti lavorazioni minime:

- deplasmazione/abbattimento volume per centrifugazione (HPC-M, HPC-A, HPC-CB, TC);
  per concentrare un prodotto biologico prima della criopreservazione;
  per evitare il sovraccarico circolatorio in caso di riceventi adulti di basso peso o di riceventi pediatrici;
  in caso di incompatibilità minore AB0 fra donatore e ricevente o incompatibilità bidirezionale;
  in caso di compromissione della funzionalità cardiaca o renale del ricevente;
  in caso di documentata allergia alle proteine plasmatiche da parte del ricevente;
- rimozione emazie (HPC-M) per processazione con separatore cellulare, indicata in caso di incompatibilità maggiore AB0 fra donatore e ricevente o in caso incompatibilità bidirezionale;
- criopreservazione (HPC-A, HPC-M, TC) per stoccaggio a lungo termine del prodotto;
- decongelamento con o senza lavaggio per infusione del prodotto (HPC-A, HPC-M, HPC-CB, TC);

- immunoselezione positiva o negativa (HPC-A, TC) indicata nei casi in cui vi è la necessità di somministrare una sottopopolazione cellulare con caratteristiche specifiche; può essere accoppiata una immunoselezione negativa per aumentare la specificità della popolazione cellulare, volta ad eliminare residui di sottopopolazioni che potrebbero risultare clinicamente non desiderate; è indicata in caso di:
  selezione di CD34+
  necessità di ridurre il numero di linfociti T contenuti nel prodotto;
  selezione di una popolazione immunitaria specifica.

Tali prodotti possono contenere sostanze immunizzanti oltre quelle indicate sull'etichetta, come globuli rossi, globuli bianchi, piastrine e proteine del plasma.
Tutti i prodotti per trapianto e per immunoterapia devono essere somministrati dietro prescrizione medica.

3 Forma

I prodotti si presentano come sospensione cellulare da infondere per via endovenosa, a fresco o come prodotti criopreservati e decongelati, pertanto contenenti ancora DMSO, o decongelati e lavati per allontanare il DMSO.

4 Confezionamento ed etichetta

Tutti i prodotti vengono etichettati da etichette di validazione e di rilascio prodotte dal gestionale informatico ELIOT e rispondenti al sistema di codifica norma UNI 10529; per i prodotti allogenici si adotta, inoltre, il codice europeo SEC (Single European Code) prodotto dal gestionale stesso.
I prodotti freschi sono disponibili in sacche in PVC (Polivinil Cloruro) di vario volume nominale (150, 300, 600 ml) e vengono trasportati a temperatura ambiente, in busta di contenimento e contenitore di trasporto rigido, coibentato e resistente agli urti.
I prodotti criopreservati sono disponibili in sacche in EVA (Etilvinil Acetato) e contengono generalmente circa 100 ml di sospensione cellulare diluita volume a volume con soluzione criopreservante, con contenuto finale di DMSO pari al 10%; vengono trasportati in contenitore di trasporto in vapori di azoto; se decongelati o decongelati e lavati vengono confezionati in sacche transfer in PVC e vengono trasportati a temperatura controllata (≤10°C), in busta di contenimento e contenitore di trasporto rigido, coibentato e resistente agli urti.
Se di volumi ≤20 ml, i prodotti sia freschi che decongelati vengono rilasciati in siringa; per volumi superiori si adottano sacche in PVC portate ad un riempimento di almeno 50 ml; se il volume di infusione è ≤100 ml la sacca di infusione è sterilmente collegata ad una sacca satellite di ca. 50 ml contenente una soluzione albumina 2%, per il lavaggio della sacca contenente il prodotto.
Ciascun prodotto è identificato da un'etichetta di rilascio/distribuzione sulla quale sono riportate le seguenti informazioni:

- Identità e indirizzo del produttore
- Codice identificativo univoco del prodotto
- Nome del prodotto
- Volume approssimativo
- Tipo e volume o concentrazione di anticoagulante o altri additivi
- Lavorazioni eseguite *(ove previsto)*
- Risultati dei test infettivologici obbligatori eseguiti
- Gruppo AB0-Rh del ricevente e del donatore *(se applicabile)*
- Data e ora di scadenza
- Temperatura di conservazione raccomandata
- Identificativo del ricevente
- Identificativo del donatore *(se applicabile)*
- Codice SEC *(se applicabile)*

Sull'etichetta sono inoltre riportate le seguenti informazioni aggiuntive:

Warning (avvertimenti) comuni a tutti i prodotti

- non irradiare
- identificare correttamente prodotto e ricevente
- può trasmettere agenti infettivi
- non trasfondere in presenza di emolisi o altra anomalia

- non utilizzare filtri per leucoriduzione
- come da prescrizione medica

Warning (avvertimenti) per i singoli prodotti, a seconda dei contesti

- dopo scongelamento, lavaggio, risospensione trasfondere immediatamente
- risultati dei test di compatibilità
- solo per uso autologo

Warning (avvertimenti) di rischio biologico

- Attenzione! Non valutato per agenti virali
- Attenzione! Non effettuati esami di legge (per i donatori che non hanno eseguito i test virologici nei 30 gg. precedenti la donazione o non siano disponibili i risultati);
- Esito esami di legge positivo (simbolo biohazard). Avvisare il paziente.

Ciascun prodotto è rilasciato con un modulo di accompagnamento che descrive:

- informazioni relative al donatore (se applicabile)
- informazioni relative al ricevente
- caratteristiche del prodotto
- lavorazioni effettuate
- personale che ha eseguito le lavorazioni
- personale che ha eseguito la consegna
- data e orario di consegna

Il modulo riporta apposito spazio per il report di infusione:

- verifica identità prodotto e ricevente (doppio operatore)
- orario di inizio e fine infusione
- reazioni all'infusione
- personale che ha eseguito l'infusione.

5 Scadenza e conservazione

I prodotti devono essere conservati secondo le indicazioni riportate nell'etichetta:

- prodotti freschi a +4± 2°C; scadenza 48h dalla raccolta;
- prodotti criopreservati a temperatura ≤150°C; scadenza 10 anni (o più, secondo richiesta del clinico);
- prodotti criopreservati e decongelati conservati a +4±2°C; scadenza 1 ora dopo il decongelamento; se per motivi diversi non possono essere infusi, dopo mezz'ora devono rientrare in laboratorio per l'allontanamento del DMSO;
- prodotti criopreservati, decongelati e lavati, conservati a +4 ± 2°C; scadenza 6 ore dopo il lavaggio.

6 Produttore e controllore finale

I prodotti HPC-M, HPC-A, HPC-CB e TC sono processati e distribuiti da:
ASL PESCARA - DIPARTIMENTO ONCOLOGICO-EMATOLOGICO
uosd ISITUTO DEI TESSUTI E BIOBANCHE
LABORATORIO DI MANIPOLAZIONE CELLULARE E CRIOBIOLOGIA
Via Fonte Romana, 8 - 65124 Pescara
Direttore e Direttore medico del Laboratorio: Dott.ssa. Tiziana Bonfini.
Tel: 085 4252374 Fax 085 4252265 email: tiziana.bonfini@ausl.pe.it

Per qualsiasi richiesta o informazione relative a tali prodotti contattare l'unità di processazione indicata.

7 Indicazioni terapeutiche

I prodotti contenenti HPC vengono impiegati per ottenere la ricostituzione emo-linfopoietica dopo regimi di terapia mieloablativa o non mieloablativa in numerose patologie oncoematologiche e non.

Secondo i contesti (trapianto identico/aplidentico) possono essere sottoposti a manipolazioni per arricchimento delle popolazione CD34+ o per rimuovere frazioni indesiderate alloreattive (linfociti TCR-α/β) per sopprimere la GvHD e assicurare l'effetto GVL, generalmente nel setting pediatrico.
L'immunoterapia cellulare adottiva mediante l'infusione al ricevente di linfociti prelevati al donatore (DLI, donor lymphocyte infusion) può essere impiegata in caso di:

1. Chimerismo misto, ossia la presenza nel midollo e nel sangue periferico di cellule geneticamente appartenenti sia al ricevente sia al donatore in percentuale variabile, indicativa di rischio di ripresa di malattia;
2. Profilassi (terapia pre-emptive) e/o terapia vera e propria della recidiva della malattia originaria (leucemia, linfoma, mieloma, altro) al fine di indurre un effetto graft-versus-tumor.

In ogni caso il programma di DLI viene effettuato con dosi di linfociti scalari e progressive a seconda che il donatore sia un familiare identico, aploidentico o un non consanguineo. Le varie dosi di linfociti vengono somministrate ad intervalli prestabiliti, di solito 4-6 settimane, dopo accurato monitoraggio clinico e laboratoristico del ricevente al fine di escludere l'instaurarsi della tipica complicanza nota come malattia del trapianto contro l'ospite (graft-versus-host disease, GvHD).
Nel setting del trapianto aplidentico è possibile adottare una strategia di manipolazione dei prodotti da leucaferesi che prevede la selezione di cellule T regolatorie (CD4+/25+/127-) per prevenire la GvHD e potenziare l'attecchimento e l'effetto GvL.

8 Dose, modo e tempi di somministrazione

Linee guida e protocolli nazionali e internazionali stabiliscono per ciascuna tipologia di trapianto (autologo, allogenico da donatore familiare o da donatore non consanguineo, uso di HPC-M, HPC-A, HPC-CB, condizionamento mieloablativo o a intensità ridotta) la dose raccomandata di prodotto cellulare da infondere.
La dose di cellule da infondere al ricevente viene espressa in:

- Cellule $CD34^+$ $x10^6$/Kg di peso del ricevente per HPC-A e prodotti sottoposti a immunoselezione;
- Cellule Nucleate/Mononucleate $x10^8$/Kg di peso del ricevente HPC-M;
- Cellule Nucleate $x10^7$/Kg di peso del ricevente HPC-CB;
- Cellule $CD3^+$/kg o CD4/25+/kg di peso del ricevente per i prodotti contenenti linfociti T (DLI/Tcons) o T-Reg selezionate (l'unità di misura può variare in base alla dose e ai protocolli, 10^5/Kg, 10^6/Kg, 10^7/Kg).

I prodotti cellulari devono essere ispezionati prima della somministrazione e risospesi accuratamente prima dell'uso. La modalità di infusione dei prodotti cellulari (necessità di pre-idratazione, premedicazione, velocità di infusione, necessità di diuretici), preceduta dall'identificazione corretta del ricevente e del prodotto, viene stabilita dal medico trapiantologo mediante una apposita prescrizione scritta che tiene conto del tipo di prodotto cellulare impiegato, del ricevente a cui il prodotto è destinato (adulto, bambino), e delle condizioni cliniche del ricevente stesso. I prodotti cellulari freschi vengono di solito infusi ad una velocità iniziale di 1 ml/Kg/ora e, in caso di mancate reazioni avverse, alla velocità successiva di 3-4 ml/Kg/ora nell'adulto e 5-6 ml/Kg/ora nel bambino. I prodotti cellulari criopreservati vengono infusi entro 15 minuti dallo scongelamento ad una velocità di 5-20 ml/minuto sia nell'adulto che nel bambino.
Per tutto il tempo dell'infusione e nelle ore successive, il ricevente viene tenuto sotto costante osservazione e stretto monitoraggio clinico con rilevamento dei parametri vitali allo scopo di rilevare segni e/o sintomi precoci suggestivi di complicanze immunologiche o infettive.
Se i prodotti decongelati non sono stati lavati per rimuovere il DMSO, occorre prestare particolare attenzione a non superare la dose di 1 gr di DMSO per kg/peso del ricevente/die. Se necessario, sarà possibile effettuare una infusione frazionata in 2 giorni consecutivi o effettuare il lavaggio del prodotto per allontanare il DMSO.
La sacca contenente la sospensione cellulare deve essere manipolata con attenzione ed utilizzando gli appositi dispositivi di protezione individuale. La sospensione deve essere ispezionata per evidenziare eventuale presenza di aggregati.
I prodotti non possono essere somministrati attraverso un filtro indicato per rimuovere i leucociti; può essere utilizzato esclusivamente un filtro > 170-200 μm indicato per rimuovere gli aggregati.

I prodotti devono essere risospesi accuratamente prima dell'uso e NON devono essere irradiati.

9 Farmacocinetica ed azione clinica

I prodotti cellulari contenenti HPC, una volta somministrati per via endovenosa, migrano nel midollo osseo dove avviene il loro attecchimento e la loro proliferazione, dando luogo ad una progenie matura e funzionante che avrà le caratteristiche genetiche del donatore. Le cellule mature vengono rilasciate nel torrente circolatorio ripristinando un normale livello degli elementi cellulari del sangue periferico (leucociti, eritrociti, piastrine). La velocità di attecchimento viene misurata con il rilevamento del numero dei giorni richiesti per raggiungere un livello di polimorfonucleati (PMN) nel sangue periferico di $\geq 0.5 \times 10^9$/L e di piastrine $\geq 0.25 \times 10^9$/L. Molti fattori influiscono sulla velocità di attecchimento dopo trapianto allogenico: fonte di HPC, grado di compatibilità del donatore, tipo di condizionamento, compatibilità AB0, comorbidità. Indicativamente un livello di PMN $\geq 0.5 \times 10^9$/L e di piastrine $\geq 0.25 \times 10^9$/L viene raggiunto nella grande maggioranza dei casi nei primi 30 giorni post-trapianto. La velocità di attecchimento dopo trapianto autologo è certamente più rapida e si completa nei primi 15-20 giorni. Diversa è la cinetica della ricostituzione immunologica che, in particolare dopo trapianto allogenico, richiede alcuni mesi.
I prodotti per immunoterapia, dopo eventuali stimoli specifici, svolgono effetto GvT/GvL nei confronti delle cellule neoplastiche, nelle varie sedi di malattia.
Le Cellule Treg vengono infuse 4 giorni prima delle cellule staminali e dei linfociti T effettori. Ciò consente l'espansione in vivo delle cellule Tregs nell'ambiente pro-infiammatorio del post condizionamento al trapianto. Le cellule Tregs si localizzano negli organi linfoidi secondari dove esercitano un'azione allo-antigene specifica, bloccando l'alloreattività delle cellule effettrice infuse successivamente. Le cellule Tregs non migrano invece nel midollo osseo, dove i linfociti T effettori sono liberi di lisare il target leucemico. La combinazione Tregs/Tcons assicura quindi la tolleranza in periferia con un potente effetto antileucemico a livello midollare.

10 Controindicazioni

La somministrazione di DMSO a dosaggi superiori a quelli indicati o in caso di insufficienza renale o insufficienza epatica o in caso di pregressa o sospetta comparsa di sintomatologia allergica al prodotto criopreservante è controindicata.
L'immunoterapia cellulare adottiva con DLI è controindicata in pazienti con manifestazioni attive di GvHD acuta e cronica.

11 Interazioni

Nessun medicinale o soluzione può essere infusa attraverso la stessa via del prodotto ad eccezione della Soluzione Fisiologica (sodio cloruro 0,9%).

12 Avvertenze e precauzioni per l'uso

I prodotti per la terapia cellulare provenienti da donatori allogenici familiari con test infettivologici risultati positivi o dubbi ed opportunamente etichettati, possono essere somministrati solo nei casi di motivata urgenza clinica (trapianto non differibile) e previo rilascio del consenso informato da parte del paziente e dell'autorizzazione del medico all'uso del prodotto. Opportuna e congrua informazione deve essere data al donatore.
Tali prodotti sono dichiarati non conformi e vengono segregati in spazi riservati e non tenuti a contatto con altri prodotti. Lo stesso trattamento viene riservato ai prodotti criopreservati con riscontro di contaminazione microbica. In caso di prodotti con positività ai test di sterilità viene eseguita l'identificazione dell'agente patogeno con relativo antibiogramma.
In tutti questi casi è responsabilità del clinico valutare l'opportunità dell'utilizzo di tali prodotti in funzione della loro unicità e della indifferibilità del trattamento; sarà sua cura fornire tutte le informazioni necessarie al ricevente circa i rischi connessi all'infusione del prodotto non conforme ed acquisire un consenso specifico per l'uso di tali prodotti.
La restituzione di un prodotto per terapia cellulare all'Unità di Processazione che lo ha distribuito è possibile solo in casi eccezionali e motivati e deve essere considerata come una deviazione dalla procedura standard. La restituzione deve essere effettuata il prima possibile garantendo l'integrità del prodotto che deve essere accompagnato da documentazione che espliciti le cause della restituzione e

le condizioni di conservazione del prodotto per tutto il tempo di permanenza al di fuori dell'Unità di Processazione.

13 Effetti indesiderati

Nel corso o dopo la somministrazione di prodotti cellulari possono verificarsi effetti collaterali dovuti a reazioni immediate o acute, ritardate, intravascolari ed extravascolari.
Ogni evento/reazione avversa deve essere documentata e segnalata al laboratorio di processazione e, ove previsto, alle autorità competenti come previsto nella normativa vigente.
Il clinico dovrà discutere con i responsabili del laboratorio di manipolazione cellulare circa la gravità delle reazioni e le correlazioni con l'infusione; eventuali provvedimenti devono essere documentati.

Complicanza Immunologiche

Reazione emolitica acuta: è una delle più severe complicanze della somministrazione dei prodotti per terapia cellulare ed è causata, generalmente, da incompatibilità ABO maggiore tra donatore e ricevente.
La fase acuta si sviluppa da alcuni minuti ad un'ora dall'inizio della infusione. I segni ed i sintomi della reazione includono: senso di irrequietezza e freddo, malessere generale, dolori retro sternali e lombari, nausea e vomito, cefalea, brividi talvolta scuotenti, iperpiressia**.** Nei casi più gravi si può avere broncospasmo, dispnea, ipotensione, shock fino al coma.
Successivamente compaiono segni di emolisi intravascolare con emoglobinuria; vi può essere coagulopatia intravascolare disseminata (CID) ed insufficienza renale.
La terapia dipende dalla complessità del quadro clinico e consiste nel mantenimento della diuresi con idratazione e diuretici associata a trattamento dei sintomi che si sono manifestati (broncospasmo, edema polmonare, shock, CID, insufficienza renale). Il medico che ha in carico il paziente deve contattare il Direttore Medico del Laboratorio per un'analisi della situazione e per valutare la ripresa dell'infusione del prodotto o qualunque altro intervento.

Reazioni Febbrili Non Emolitiche: sono caratterizzate tipicamente da un aumento della temperatura corporea di almeno 1°C durante, subito dopo o al massimo entro 2 ore dalla somministrazione del prodotto, in assenza di altre cause di febbre. Le reazioni febbrili non emolitiche possono essere causate da anticorpi diretti verso antigeni del sistema HLA dei globuli bianche o dall'azione di citochine, che possono essere presenti nel prodotto infuso o prodotte dal ricevente in seguito alla somministrazione delle cellule. Le reazioni febbrili si verificano con maggior frequenza in pazienti precedentemente allo immunizzati da trasfusioni o gravidanza. I test di laboratorio routinari non sono predittivi o in grado di prevenire queste reazioni. Gli antipiretici utilizzati nella premedicazione producono solo l'attenuazione dei sintomi.

Reazioni Allergiche: si manifestano in genere con una sintomatologia modesta caratterizzata da orticaria , edema, angioedema, cefalea e talora vertigini durante o subito dopo l'infusione. Nei casi più gravi possono comparire dispnea, broncospasmo, ipotensione fino allo shock anafilattico.
Si verificano in risposta alle proteine plasmatiche presenti nel prodotto infuso e rappresentano una tipica risposta di ipersensibilità di tipo 1, ovverosia una reazione allergica (IgE mediata) conseguente ad un secondo o ulteriore contatto con l'allergene, che può essere rappresentata da proteina plasmatiche. In alcuni casi sono dovute ad anticorpi IgE anti-IgA presenti in pazienti con deficit di IgA contenute nel plasma presente nel prodotto cellulare. Reazioni allergiche al DMSO o al HES usati per la criopreservazione delle cellule possono verificarsi in pazienti sensibilizzati (9,10,11,12,13). Non sono disponibili test di laboratorio in gradi di predire o prevenire queste reazioni. I pazienti rispondono solitamente al trattamento con corticosteroidi, antistaminici, adrenalina, supporto circolatorio e respiratorio. In questi casi è necessario sospendere l'infusione. Il medico dell'Unità Clinica che ha in carico il paziente deve contattare il Direttore Medico del laboratorio per un'analisi della situazione e per valutare la ripresa dell'infusione del prodotto o qualunque altro intervento.

***Transfusion-Related Acute Lung Injury (TRALI)*:** è un'edema polmonare acuto non cardiogeno dovuto a danno endoteliale a livello dei capillari polmonari. Il rapido aumento della permeabilità a livello del microcircolo polmonare permette il massivo passaggio dei fluidi e proteine nell'interstizio polmonare e negli spazi alveolari. La patologia è associata alla presenza di anticorpi anti-HLA o neutrofili passivamente trasmessi.
In assenza di edema polmonare cardiogeno, sovraccarico circolatorio o danno polmonare preesistente, i segni e sintomi di TRALI includono:
-dispnea (che inizia a distanza di 1-2 ore dall'inizio della trasfusione e quasi sempre entro 6 ore);
-ipossia (saturazione ossigeno <90%);
-infiltrati polmonari a livello interstiziale e alveolare evidenziati alla radiografia toracica.
Il trattamento prevede assistenza respiratoria in terapia intensiva.

***Reazione emolitica ritardata*:** si verifica quando un paziente con test pre-trasfusionali negativi ma sensibilizzato ad un antigene eritrocitario viene trasfuso con eritrociti che esprimono quell'antigene. A circa 1-2 settimane dalla trasfusione può manifestarsi una risposta anticorpale anamnestica che è in grado di provocare una reazione emolitica trasfusionale tardiva.
La reazione emolitica ritardata è caratterizzata da una caduta dell' HCT , febbre e modesto aumento della bilirubina. Raramente l'emolisi è clinicamente rilevante, spesso il quadro clinico è misconosciuto e generalmente autolimitantesi. L'emolisi riguarda le cellule trasfuse quindi, la caratteristica saliente del quadro clinico può essere rappresentata da un'inspiegabile caduta dell'Hb ai livelli pre –trasfusionali che si manifesta entro 1-2 settimane dopo la trasfusione.

***Alloimmunizzazione*:** può avvenire in maniera non prevedibile verso antigeni dei globuli rossi, globuli bianchi, piastrine o proteine plasmatiche, dopo somministrazione di emocomponenti.
L'immunizzazione primaria generalmente non causa sintomi per giorni o settimane dopo l'evento immunizzante.
Se il prodotto per terapia cellulare che viene somministrato esprime antigeni verso cui il paziente si è immunizzato può verificarsi una rimozione accelerata degli elementi cellulari dal circolo con o senza sintomatologia sistemica.
Anticorpi clinicamente significativi verso antigeni dei globuli rossi possono essere rilevati dalle comuni indagini di laboratorio (TCD-TCI), mentre l'alloimmunizzazione verso antigeni dei globuli bianchi, piastrine o proteine plasmatiche può essere rilevata solo con l'impiego di test specifici.

***GvHD*:** è una condizione clinica di gravità estremamente variabile che può verificarsi con frequenza variabile esclusivamente dopo trapianto allogenico. Tale complicanza è immunomediata in quanto indotta dalle cellule immunocompetenti (T linfociti del donatore) in pazienti fortemente immunodepressi. Bersaglio della reazione sono gli antigeni tissutali del ricevente non riconosciuti come self dai linfociti effettori del donatore. La GvHD si manifesta clinicamente in una forma acuta (primi 30 – 60 giorni dal trapianto) o cronica (mesi o anni dal trapianto).
La GVHD può potenzialmente essere indotta anche dalla somministrazione di un prodotto cellulare contenente un numero esiguo di linfociti allogenici (unità di emazie concentrate o piastrine) che comunque trovano un terreno fertile in cui svilupparsi e agire come quello di un paziente fortemente immunodepresso.

Complicanze non immunologiche

***Tossicità da DMSO*:** si tratta della più comune complicanza non immunologica legata all'infusione di prodotti per terapia cellulare ed è causata dalla presenza di DMSO nei prodotti scongelati. Gran parte dei sintomi sono collegati al rilascio di istamina e possono includere tosse, arrossamenti, eruzioni cutanee, sensazione di oppressione toracica e respirazione superficiale, nausea e vomito, bradicardia o tachicardia, ipertensione e arresto cardiaco.
La diminuzione della velocità del flusso di somministrazione della sospensione cellulare o la rimozione del DMSO mediante lavaggio delle cellule scongelate possono ridurre il rischio della manifestazione degli eventi avversi. La premedicazione con antistaminici generalmente risulta efficace nella prevenzione del rischio o nel ridurre l'intensità delle reazioni.

Sono segnalati rari casi di neurotossicità correlata all'infusione di DMSO quali amnesia globale transitoria, crisi epilettiche e stroke.
Nei pazienti pediatrici la co-somministrazione di morfina sembra aggravare gli effetti neurotossici.

***Contaminazione batterica*:** il processo di preparazione e manipolazione di un prodotto cellulare, qualunque esso sia, può essere fonte di contaminazione batterica che in alcuni casi, una volta che il prodotto cellulare è stato infuso nel ricevente, può causare gravi complicanze al punto da metterne a rischio anche la vita stessa.
La presenza di sintomi quali cute secca ed arrossata, dolore addominale e agli arti, vomito, melena, febbre, brividi, ipotensione o collasso cardiocircolatorio durante o immediatamente dopo la somministrazione di un prodotto cellulare è suggestiva della possibilità di contaminazione batterica e/o della presenza di endotossine.
E' essenziale il riconoscimento precoce di una possibile reazione da contaminazione batterica per mettere in atto tutte le misure volte al controllo dello shock settico (sostegno del circolo, controllo della diuresi, misure rianimatorie in generale) che si manifesta in particolare per la presenza di germi GRAM negativi. Il precoce inizio di una terapia antibiotica ad ampio spettro rappresenta il primo cardine del trattamento. Occorre anche documentare, se possibile, l'instaurarsi nel ricevente della conseguente batteriemia effettuando ripetute e seriate emocolture. L'eventuale prodotto non somministrato deve essere valutato per l'identificazione dell'agente batterico. In caso di positività nota e della assoluta necessità di utilizzo di prodotti cellulari contaminati il medico trapiantologo adotterà tutte le misure al fine di contenere le eventuali reazioni immediate e la possibile evoluzione dell'infezione.

***Trasmissione di malattie infettive*:** si tratta di una possibile evenienza in quanto i prodotti per terapia cellulare vengono raccolti dal sangue e/o da tessuti umani.
I criteri di selezione dei donatori sono in grado di discriminare potenziali donatori a rischio di trasmissione per agenti infettivi quali HIV, HBV, HCV, sifilide.
Tuttavia lo screening che viene effettuato non azzera il rischio di trasmissione di tali agenti infettivi.
Una menzione a parte merita il Citomegalovirus (CMV). Questo virus rimane ad uno stato latente, anche per tutta la vita, negli individui che hanno contratto l'infezione. Per questo motivo, nei riceventi che siano risultati negativi al CMV e che vengono sottoposti a trapianto con HPC di donatore anch'esso risultato CMV negativo è buona norma somministrare, quando possibile, prodotti cellulari CMV negativi.
Per altri agenti infettivi (Babesia, Leishmania, e plasmodium, corona virus associati alla SARS, agenti responsabili della trasmissione delle encefalopatie umane spongiformi) non è previsto l'impiego di test di routine allo scopo di prevenire la possibile trasmissione. Sarà necessario effettuare test aggiuntivi in caso di segnalazione di endemie da parte di particolari agenti infettivi. Nei casi di somministrazione di prodotti cellulari con positività infettivologica occorre monitorare strettamente il ricevente.

***Sovraccarico circolatorio*:** può verificarsi per un eccessivo volume del prodotto cellulare somministrato o per un'infusione troppo rapida. L'edema polmonare che a volte ne consegue deve essere prontamente trattato. In pazienti a rischio, l'infusione di preparati colloidali (inclusi derivati del plasma ed il plasma utilizzato per la sospensione dei preparati utilizzati per terapia cellulare) dovrebbe essere ridotta al minimo. Segni e sintomi possono includere tachipnea, cefalea, tosse, edemi periferici, ipertensione, scompenso cardiocircolatorio.

Ipotermia: può essere causata da un elevato volume di prodotti freddi e comporta un rischio di aritmia cardiaca o arresto cardiaco. L'uso di riscaldatori è controindicato per i prodotti di terapia cellulare.

Emolisi non immunologica: può verificarsi in conseguenza della lisi dei globuli rossi del prodotto, evento possibile in tutte le fasi: criopreservazione, scongelamento e somministrazione. La lisi può essere causata da numerosi fattori, ad es. Lo stress osmotico, stress meccanico da manipolazione, o patologie intrinseche dei globuli rossi, emoglobinopatie o deficit enzimatici**.**

14 Bibliografia

1 *The EBMT Handbook (6th edition). Haematopoietic Stem Cell Transplantation. E. Carreras, C. Dufour, M. Mothy, N. Kröger editors. 2019*

2 *Di Bartolomeo P, Santarone S, De Angelis G, Picardi A, Cudillo L, Cerretti R, Adorno G, Angelini S, Andreani M, De Felice L, Rapanotti MC, Sarmati L, Bavaro P, Papalinetti G, Di Nicola M, Papola F, Montanari M, Nagler A, Arcese W. Haploidentical, unmanipulated, G-CSF-primed bone marrow transplantation for patients with high-risk hematologic malignancies. Blood 2013;121(5):849-57.*

3 *Blin N, Traineau R, Houssin S, Peffault de Latour R, Petropoulou A, Robin M, Larghero J, Ribaud P, Socié G. Impact of donor-recipient major ABO mismatch on allogeneic transplantation outcome according to stem cell source. Biol Blood Marrow Transplant. 2010 Sep;16(9):1315-23*

4 *Di Bartolomeo P, Santarone S, Di Bartolomeo E, Olioso P, Bavaro P, Papalinetti G, Di Carlo P, Papola F, Nicolucci A, Di Nicola M, Iacone A. Long-term results of survival in patients with thalassemia major treated with bone marrow transplantation. Am J Hematol. 2008;83(7):528-30*

5 *Veljković D, Nonković OŠ, Radonjić Z, Kuzmanović M, Zečević Z. Transfus Apher Sci. 2013Bone marrow processing for transplantation using Cobe Spectra cell separator.*

6 *Mazzanti B, Urbani S, Dal Pozzo S, Bufano P, Ballerini L, Gelli A, Sodi I, Donnini I, Di Gioia M, Guidi S, Camisani* J, Saccardi R.Fully automated, clinical-grade bone marrow processing: a single-centre experience. Blood Transfus. *2017 Oct;15(6):577-584.*

7 *Del Fante C, Scudeller L, Recupero S, Viarengo G, Boghen S, Gurrado A, Zecca M, Seghatchian J, Perotti C. Automated red blood cell depletion in ABO incompatible grafts in the pediatric setting.Transfus Apher Sci. 2017 Dec;56(6):895-899.*

8 *Kim-Wanner SZ, Bug G, Steinmann J, Ajib S, Sorg N, Poppe C, Bunos M, Wingenfeld E, Hümmer C, Luxembourg B, Seifried E, Bonig H. Erythrocyte depletion from bone marrow: performance evaluation after 50 clinical-scale depletions with Spectra Optia BMC. J Transl Med. 2017 Aug 11;15(1):174.*

9 *Guttridge MG, Bailey C, Sidders C, Nichols J, Bromham J, Watt SM. Human bone marrow processing using a new continuous-flow cell separation device. Transfusion. 2016 Apr;56(4):899-904.*

10 *Rowley SD, Donato ML, Bhattacharyya P. Red blood cell-incompatible allogeneic hematopoietic progenitor cell transplantation. Bone Marrow Transplant. 2011*

11 *Vanderson Rocha and Eliane Gluckman on behalf of the Eurocord-Netcord registry and European Blood and Marrow Transplant Group. Improving outcomes of cord blood transplantation: HLA matching, cell dose and other graft- and transplantation-related factors. Br J Haematol. 2009 Oct;147(2):262-74.*

12 *Regan DM, Wofford JD, Wall DA. Comparison of cord blood thawing methods on cell recovery, potency and infusion. Transfusion. 2010 Dec;50(12):2670-5.*

13 *Christoph Schmid, Myriam Labopin, Arnon Nagler, Martin Bornhäuser, Jürgen Finke, Athanasios Fassas, Liisa Volin, Günham Gürman, Johan Maertens, Pierre Bordigoni, Ernst Holler, Gerhard Ehninger, Emmanuelle Polge, Norbert-Claude Gorin, Hans-Jochem Kolb and Vanderson Rocha. Donor Lymphocyte Infusion in the Treatment of First Hematological Relapse After Allogeneic Stem-Cell Transplantation in Adults With Acute Myeloid Leukemia: A Retrospective Risk Factors Analysis and Comparison With Other Strategies by the EBMT Acute Leukemia Working Party. JCO November 1, 2007 vol. 25 no. 31, 4938-4945.*

14 *El-Jurdi N, Reljic T, Kumar A, Pidala J, Bazarbachi A, Djulbegovic B, Kharfan-Dabaja MA. Efficacy of adoptive immunotherapy with donor lymphocyte infusion in relapsed lymphoid malignancies. Immunotherapy.2013, May;5(5):457-66.*

15 *Choi SJ, Lee JH, Lee JH, Kim S, Lee YS, Seol M, Ryu SG, Lee JS, Kim WK, Jang S, Park CJ, Chi HS, Lee KH. Treatment of relapsed acute lymphoblastic leukemia after allogeneic bone marrow transplantation with chemotherapy followed by G-CSF-primed donor leukocyte infusion: a prospective study. Bone Marrow Transplant. 2005 Jul;36(2):163-9.*

16 *David L. Porter. Allogeneic Immunotherapy to Optimize the Graft-versus-Tumor Effect: Concepts and Controversies HEMATOPOIETIC STEM CELL TRANSPLANTATION II:CONTROVERSIES ANDCHALLENGES IN HSCT, Hematology 2011*

17 *Niemi TT, Miyashita R, Yamakage M. Colloid solutions: a clinical update. J Anesth. 2010 Dec;24(6):913-25*

18 *Laxenaire MC, Charpenter C, Feldman L. Anaphylactoid reaction to colloid plasma substitutes: incidence risk factors mechanisms. A French multicenter prospective study.Ann Fr Anest Reanim. 1994; 13:301-10*

19 *Cordoba R, Arrieta R, Kerguelen A, Hernandez-Navarro F. The occurrence of adverse events during the infusion of autologous peripheral blood stem cells is related to the number of granulocytes in the leukapheresis product. Bone Marrow Transplant. 2007 Dec;40(11):1063-7*

20 *Martín-Henao GA, Resano PM, Villegas JM, Manero PP, Sánchez JM, Bosch MP, Codins AE, Bruguera MS, Infante LR, Oyarzabal AP, Soldevila RN, Caiz DC, Bosch LM, Barbeta EC, Ronda JR. Adverse reactions during transfusion of thawed haematopoietic progenitor cells from apheresis are closely related to the number of granulocyte cells in the leukapheresis product.Vox Sang. 2010 Oct;99(3):267-73*

21 *Ma RW, Kwan JM, Ma DD, Fay KC. Acute life-threatening cardiovascular toxicity with umbilical cord blood infusion: the role of dextran. Am J Hematol. 2010 Sep;85(9):722-4.*

22 *Kamble R, Pant S, Selby GB, Kharfan-Dabaja MA, Sethi S, Kratochvil K, Kohrt N, Ozer H. Microbial contamination of hematopoietic progenitor cell grafts-incidence, clinical outcome, and cost-effectiveness: an analysis of 735 grafts. Transfusion. 2005 Jun;45(6):874-8.*

23 *Klein MA, Kadidlo D et al. Microbial contamination of hematopoietic stem cell products: incidence and clinical sequelae. Biol Blood Marrow Transplant. 2006 Nov;12(11):1142-9*

24 *Martín-Henao GA, Resano PM, Villegas JM, Manero PP, Sánchez JM, Bosch MP, Codins AE, Bruguera MS, Infante LR, Oyarzabal AP, Soldevila RN, Caiz DC, Bosch LM, Barbeta EC, Ronda JR. Adverse reactions during transfusion of thawed haematopoietic progenitor cells from apheresis are closely related to the number of granulocyte cells in the leukapheresis product. Vox Sang. 2010 Oct;99(3):267-73.*

25 *Di Ianni M, Falzetti F, Carotti A, et al. Adoptive Immunotherapy with Tregs and Tcons Ensures Low TRM and a Low Incidence of Post Transplant Leukaemia Relapse After HLA Haploidentical Transplants for Acute Leukemia. Blood 2011;118:76.*

26 *Di Ianni M, Falzetti F, Carotti A, et al. Tregs prevent GVHD and promote immune reconstitution in HLA-haploidentical transplantation. Blood 2011;117:3921-8*

27 *Roschupkina T, Juliusson G. Cytometry B. Subpopulations of T regulatory cells in blood stem cell harvests influence development of acute graft versus host disease in allogeneic transplant recipients. Clin Cytom. 2016 Aug 1.*

28 *Immunoselection and clinical use of T regulatory cells in HLA-haploidentical stem cell transplantation. Di Ianni M, Falzetti F, Carotti A, Terenzi A, Del Papa B, Perruccio K, Ruggeri L, Sportoletti P, Rosati E, Marconi P, Falini B, Reisner Y, Velardi A, Aversa F, Martelli MF. Best Pract Res Clin Haematol. 2011 Sep;24(3):459-66. doi: 10.1016/j.beha.2011.05.005. Epub 2011 Jun 29*

29 *Schumm M, Lang P, Bethge W, Faul C, Feuchtinger T, Pfeiffer M, Vogel W, Huppert V, Handgretinger R. Depletion of T-cell receptor alpha/beta and CD19 positive cells from apheresis products with the CliniMACS device. Cytotherapy. 2013 Oct;15(10):1253-8*

30 *Maury S, Redjoul R, Cabanne L, Vigouroux S, Legros L, Cohen JL. Br J Haematol. 2014 Mar 25. Regulatory T-cell depletion in donor lymphocyte infusions for haematological malignancies: long-term outcomes from a prospective study.*

31 *Haploidentical related-donor hematopoietic cell transplantation in children using megadoses of CliniMACs-selected CD34(+) cells and a fixed CD3(+) dose. Dvorak CC, Gilman AL, Horn B, Oon CY, Dunn EA, Baxter-Lowe LA, Cowan MJ. Bone Marrow Transplant. 2013 Apr;48(4):508-13.*

32 *Mauro Di Ianni, Franca Falzetti, Alessandra Carotti, Adelmo Terenzi, Flora Castellino, Elisabetta Bonifacio,Beatrice Del Papa,Tiziana Zei,Roberta Iacucci Ostini, Debora Cecchini, Teresa Aloisi, Katia Perruccio, Loredana Ruggeri, Chiara Balucani Antonio Pierini, Paolo Sportoletti, Cynthia Aristei, Brunangelo Falini Yair Reisner, Andrea Velardi, Franco Aversa, and Massimo F. Martelli Tregs prevent GVHD and promote immune reconstitution in HLA-haploidentical transplantation Blood, 7 April 2011 Volume 117, Number 14*

33 *Jorieke H. Peters, Frank W. Preijers, Rob Woestenenk, Luuk B. Hilbrands, Hans J. P. M. Koenen, Irma Joosten. Clinical Grade Treg: GMP Isolation, Improvement of Purity by D127pos Depletion, Treg Expansion, and Treg Cryopreservation*

34 *Di Ianni M, Del Papa B, Cecchini D et al Clinical and Experimental Immunology, 156: 246-253; 2009.Imuno-magnetic isolation of CD4+CD25+FoxP3+ natural T regulatory lymphocytes for clinical applications.*

35 *Melanie Bremm, Claudia Cappel, Stephanie Erben,1 Andrea Jarisch, Michael Schumm, Andreas Arendt, Halvard Bonig, Thomas Klingebiel, Ulrike Koehl, Peter Bader, and Sabine Huene. Generation and Flow Cytometric Quality Control of Clinical-Scale TCRab/CD19-Depleted Grafts cke. Cytometry Part B (Clinical Cytometry) 17 September 2015.*

36 *Schumm M, Lang P, Bethge W et al. Depletion of T cell receptor alpha/beta and CD19 positive cells from apheresis products with the CliniMACS device. Cytotherapy. 2013; 15(10):1253-8.*

37 *Bertaina A, Merli P, Rutella S et al. HLA-haploidentical stem cell transplantation after removal of alpha-beta + T and B cells in children with non malignant disorders. Blood. 2014; 124:822-826.*