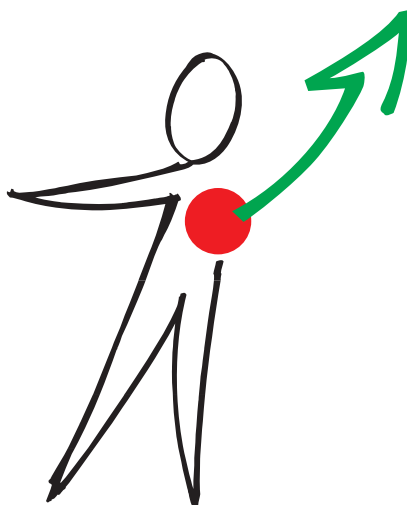


# Attività di donazione e trapianto di organi, tessuti e cellule



## Banca regionale dei Segmenti osteo-tendinei

La Banca delle Cellule e del Tessuto Muscolo-scheletrico (BTM) della Regione Emilia Romagna presso l'Istituto Ortopedico Rizzoli (IOR), nel 2010 ha perseguito i seguenti obiettivi:

1. potenziamento dell'attività di processazione estensiva asettica del tessuto per conto proprio e per altre Banche di tessuto muscolo scheletrico, nei 4 nuovi ambienti sterili in Classe A con background B;
2. progressiva estensione di rapporti convenzionali con Aziende USL ed Ospedaliere della Regione Emilia-Romagna e anche con le Case di Cura accreditate, al fine di adeguare i centri di prelievo ed impianto regionali a quanto previsto dalle Linee guida di riferimento;
3. adeguamento alla Direttiva Europea 2004/23/EC, 2006/17/EC e 2006/86/EC ed ai Decreti Legislativi n°191 del 6 novembre 2007 e 16 del 25 gennaio 2010;
4. conferma della certificazione ISO 9001: 2008;
5. operatività della Banca delle Cellule del Tessuto muscoloscheletrico (condrociti e staminali mesenchimali), con produzione di tessuti e cellule ingegnerizzate in "cell factory" ed estensione anche ai test di rilascio finale dell'autorizzazione GMP già conseguita nel 2009;
6. realizzazione di rapporti convenzionali con Banche del tessuto regionali (Torino, Verona, Milano e Roma) e processo di formazione delle Banche stesse, con particolare impegno, concordato con la Regione Lazio, per lo sviluppo delle attività di prelievo e banking;
7. incremento dell'attività di distribuzione extraregionale;
8. distribuzione di tessuti ad alto contenuto tecnologico di provenienza da Banche dei Tessuti internazionali;
9. prosecuzione del progetto trapianto osteoarticolare fresco di ginocchio, caviglia e spalla;
10. internazionalizzazione della Banca, con produzione di nuovi tessuti umani ingegnerizzati, quali paste d'osso, in collaborazione con privati (Finceramica) ed altri attualmente non prodotti in Europa a base di DBM, come patch, strip o cubetti manipolabili e termoplastici;
11. attivazione della biobanca dei tessuti non idonei al trapianto,
12. attività di ricerca clinica e di sviluppo dei nuovi tessuti ingegnerizzati, con partecipazione ai progetti europei,
13. sviluppo di collaborazioni tecnologiche e scientifiche con altre Banche internazionali, primariamente americane.

### *Prelievi, trapianti ed impianti da donatore cadavere*

Nel 2010, la Banca delle Cellule e del Tessuto Muscolo-scheletrico RER ha partecipato con una propria equipe a 36 prelievi da donatori multiorgano ed a 23 da donatori multitessuto, con una raccolta complessiva di 1014 segmenti osteotendinei (Tabella1OS).

I segmenti ossei, prelevati da donatore cadavere, sono stati utilizzati sia per interventi di trapianto in pazienti oncologici e traumatizzati gravi presso le Divisioni chirurgiche dell'Istituto Rizzoli, l'Ortopedia dell'Azienda Città di Bologna e la Divisione di ortopedia oncologica dell'Ospedale Pini di Milano, del CTO di Torino e dell'Istituto Pascale di Napoli, sia per impianto (segmenti sottoposti a manipolazione minima) presso le divisioni ortopediche della Regione Emilia-Romagna e nazionali e presso le Banche del Tessuto di Treviso, Milano, Torino, Firenze e Verona.

Nel 2010 sono stati anche eseguiti 5 trapianti osteocondrali freschi.

Nel 2010 l'attività di trapianto ha riportato un ulteriore sensibile incremento rispetto al 2009, pari al 73% (Tabella 3OS), così come l'attività di impianto di tessuti, prelevati da donatore cadavere e processati asepticamente, oggi indispensabili per rispondere alle esigenze della moderna chirurgia ortopedica, con un incremento di interventi supportati rispetto al 2009, pari al 15% (Tabella 2OS).

In totale i tessuti da donatore cadavere distribuiti nel 2010 sono stati **5802**.

<b>PRELIEVI DA DONATORE CADAVERE</b>						
<b>Segmenti</b>	<b>2005</b>	<b>2006</b>	<b>2007</b>	<b>2008</b>	<b>2009</b>	<b>2010</b>
Femori	114	90	122	154	131	107
Tibie	115	86	118	151	130	106
Peroni	28	22	5	33	32	84
Omeri	9	11	29	87	51	31
Radi-Ulne-Clavicole-Scapole	2	4	11	22	10	23
Emibacini/Creste	18	18	28	35	123	73
Fasce-Tendini	190	192	254	384	435	525
Osteocondrale Fresco	22	6	31	30	22	12
Segmenti piede	15	4	0	15	8	7
Altro	106	74	80	167	2	46
<b>Totale</b>	<b>619</b>	<b>507</b>	<b>678</b>	<b>1078</b>	<b>944</b>	<b>1014</b>
<b>N° donatori</b>	<b>58</b>	<b>46</b>	<b>65</b>	<b>78</b>	<b>67</b>	<b>59</b>

**Tabella 1OS** Prelievo di segmenti da donatore cadavere

<b>IMPIANTI DA DONATORE CADAVERE</b>							
	<b>2004</b>	<b>2005</b>	<b>2006</b>	<b>2007</b>	<b>2008</b>	<b>2009</b>	<b>2010</b>
IOR	579	685	890	950	786	772	883
Enti regionali	412	606	782	809	1676	1478	1693
Enti extraregione	152	263	190	617	867	1318	1875
Banche	164	263	328	436	383	442	422
Esportati		5	1	5	9	412	216
<b>Totale</b>	<b>1307</b>	<b>1822</b>	<b>2191</b>	<b>2817</b>	<b>3721</b>	<b>4422</b>	<b>5089</b> <b>+ 15%</b>

**Tabella 2OS** Tessuto muscoloscheletrico da donatore cadavere distribuito

<b>INNESTI MASSIVI (TRAPIANTO) DA DONATORE CADAVERE</b>							
	<b>2004</b>	<b>2005</b>	<b>2006</b>	<b>2007</b>	<b>2008</b>	<b>2009</b>	<b>2010</b>
IOR	106	136	126	158	160	206	188
Enti regionali ed extraregione	47	29					
Enti regionali			31	41	45	122	303
Enti extraregione			21	20	22	67	163
Banche				20	17	15	52
Esportati				2	3	3	7
<b>Totale</b>	<b>153</b>	<b>165</b>	<b>178</b>	<b>241</b>	<b>247</b>	<b>413</b>	<b>713</b> <b>+73%</b>

**Tabella 3OS** Trapianti eseguiti con innesti massivi da donatore cadavere

### ***Prelievi da donatore vivente e distribuzione***

Presso gli IOR (Tabella 4OS), nel 2010 sono state prelevate 572 epifisi femorali, 320 epifisi femorali presso le strutture regionali convenzionate e 29 presso strutture sanitarie italiane convenzionate nella Regione Abruzzo.

Per quanto attiene al tessuto congelato da donatore vivente, sono state soddisfatte pienamente le richieste pervenute dal territorio regionale di osso validato e minimamente manipolato per impianto, (Tabella 5OS), per un totale di **827** tessuti utilizzati, pari quanto già distribuito nel 2009.

Sono state anche prelevate, processate e reimpiantate 59 teche craniche autologhe, provenienti da Neurochirurgie di Aziende Ospedaliere Regionali e Nazionali (Bolzano, Genova, Taranto).

	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
IOR	682	608	669	676	524	560	617	572
Enti regionali	488	457	434	423	343	328	328	320
Strutture nazionali							1	29
<b>Totale</b>	<b>1170</b>	<b>1065</b>	<b>1103</b>	<b>1099</b>	<b>867</b>	<b>888</b>	<b>946</b>	<b>921</b>

**Tabella 4OS** Attività di prelievo da donatore vivente

Il dato conferma la progressiva riduzione rispetto all'anno 2002 del prelievo e distribuzione di tessuti da donatore vivente, che si rapporta ad un importante incremento dell'attività di processazione della Banca, con maggiore disponibilità di tessuti processati sterilmente da donatore cadavere, principalmente di osso spongioso morcellizzato e liofilizzato, con sensibile riduzione dei tempi chirurgici persi per la processazione in sala operatoria delle epifisi femorali.

I prelievi da donatore vivente sono supportati dalla collaborazione delle altre strutture ortopediche regionali, grazie al sistema del convenzionamento.

Nel 2010 hanno funzionato come sedi di prelievo di epifisi femorali da donatore vivente le Unità Operative di Ortopedia di Bentivoglio, Cesena, Imola, Ferrara (Cento), Forlì, Ravenna (Faenza, Lugo, Ravenna), Modena (S. Agostino, Vignola, Carpi), Rimini, Riccione, Azienda Ospedaliera di Reggio Emilia e le Case di Cura Villa Laura di Bologna e Salus di Reggio Emilia.

	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010
IOR	394	473	491	410	384	419	417
REGIONE	301	348	346	310	256	310	273
ITALIA	28	67	51	55	73	107	134
ESTERO				2			3
<b>TOTALE</b>	<b>723</b>	<b>888</b>	<b>888</b>	<b>777</b>	<b>713</b>	<b>836</b>	<b>827</b>

**Tabella 5OS** Tessuto muscolo-scheletrico congelato non processato da donatore vivente distribuito

È stata incrementata (+21%) la distribuzione regionale, extraregionale ed internazionale, con l'esclusione degli IOR, di tessuto validato, rispetto all'anno 2009 (Tabella 6OS).

Anno	2006	2007	2008	2009	2010
IOR	1507	1518	1330	1397	1488
RER	1159	1160	1977	1910	2269
Italia	262	692	962	1492	2172
Banche	328	456	400	457	474
Estero	1	9	12	415	226
<b>Totale</b>	<b>3257</b>	<b>3835</b>	<b>4681</b>	<b>5671</b>	<b>6629</b>
<b>totale -IOR</b>	<b>1750</b>	<b>2317</b>	<b>3351</b>	<b>4274</b>	<b>5141</b>
					<b>+ 21%</b>

**Tabella 6OS** Distribuzione regionale, extraregionale ed internazionale di tessuti

## ***Processazione del tessuto muscoloscheletrico***

Nel 2010 la Banca delle Cellule e del Tessuto Muscolo-scheletrico ha eseguito tutte le attuali lavorazioni in due ambienti sterili dedicati in Classe A e più specificamente:

1. taglio,
2. segmentazione,
3. morcellizzazione,
4. liofilizzazione,
5. demineralizzazione (parziale o totale)
6. produzione di paste d'osso,
7. produzione di nuovi tessuti ingegnerizzati,
8. produzione di tessuti per la chirurgia spinale.

La lavorazione asettica dei tessuti consente di evitare la sterilizzazione a raggi gamma, che comporta un decadimento qualitativo del tessuto stesso.

La Banca viene, quindi, ad offrire un prodotto qualitativamente molto superiore, soprattutto per gli interventi che richiedono la resistenza al carico.

Le tipologie di tessuto attualmente disponibili per i chirurghi comprendono tessuti di produzione semplice e tessuti complessi.

Nella prima categoria rientrano i tessuti comunemente producibili dalle Banche come tessuti congelati, tessuti segmentati e tessuti minimamente manipolati, secondo la dizione utilizzata dalle Linee guida approvate dalla Conferenza Stato-Regioni, come liofilizzati e demineralizzati.

Nella seconda categoria rientrano tessuti più manipolati come le paste, che prevedono la combinazione di osso umano demineralizzato con idrossiapatite, gelatine o altri materiali analoghi, di produzione da parte della nostra Banca in collaborazione con aziende produttrici di biomateriali, come Finceramica, e tessuti prodotti con macchine da taglio a controllo alfa-numerico, come viti o inserti spinali.

La nostra Banca nel 2010, nelle Camere Sterili in Classe A, ha prodotto i tessuti della prima categoria ed anche alcuni tipi di paste, in collaborazione con la Ditta Finceramica.

Sono stati complessivamente sottoposti a processazione asettica (Tabella 7OS) **627 segmenti** con produzione di **4088 tessuti (+14,4%)**. È stata incrementata la produzione di osso liofilizzato (**863 tessuti +28%**), di osso morcellizzato (**894 confezioni +22,4%**) e di osso demineralizzato in chips (**1028 tessuti pari a +11,5%**).

Nel 2010 la BTM ha prodotto **852 confezioni di pasta d'osso demineralizzato**, tessuto ingegnerizzato, attualmente prodotto esclusivamente da banche americane.

Tutti i prodotti sono stati sottoposti a rigidi controlli di qualità, sia di processo che di prodotto.

Nel 2010 è continuata la processazione di tessuto proveniente da altre Banche italiane, in particolare dalla BTM di Torino.

<b>anno</b>	<b>2007</b>	<b>2008</b>	<b>2009</b>	<b>2010</b>
tessuti processati	527	441	482	627 +30%
tessuti prodotti	2462	2976	3574	4088 +14,4%
tessuti liofilizzati confezioni	503	741	672	863 +28%
osso morcellizzato confezioni	665	659	730	894 +22,4%
osso demineralizzato confezione	328	290	932	1028 +11,5%

**Tabella 7OS** Tessuti processati e prodotti

Dal 2010 la Banca ha intrapreso un accordo di collaborazione scientifica con una delle più importanti Banche non profit americane, la Lifenet.

L'accordo prevede la ricerca e sviluppo di nuovi tessuti umani principalmente nel campo della chirurgia vertebrale.

Nell'ambito dell'accordo è stato presentato alla Commissione Europea un progetto di ricerca sulla fusione spinale utilizzando una nuova cage osteoinduttiva potenziata con cellule staminali mesenchimali allojeniche da tessuto adiposo.

Il progetto ha superato la prima fase di valutazione.

## ***Medicina Rigenerativa*** ***Attività del laboratorio di manipolazione cellulare estensiva***

Nel 2010 il Laboratorio di Manipolazione Cellulare Estensiva (Cell Factory), già autorizzato alla produzione di terapie cellulari a base di condrociti e cellule mesenchimali (determina n.aM-160/2009), è stato sottoposto con successo a seconda visita ispettiva AIFA/ISS di follow up e per ottenere l'autorizzazione all'esecuzione dei test di rilascio presso il proprio Laboratorio di Microbiologia e Controllo di Qualità. L'autorizzazione è stata ottenuta e verrà formalizzata all'inizio del 2011.

### ***Produzione di condrociti***

I condrociti autologhi espansi e caricati su scaffold (cartilagine ingegnerizzata), prodotti con metodica convalidata per efficacia e sicurezza, in linea con quanto prescritto dalle cGMP e dalle normative vigenti, con i requisiti di qualità farmaceutica dei prodotti per terapia cellulare somatica, anche nel 2010 sono stati utilizzati principalmente nella terapia della necrosi idiopatica dell'epifisi femorale, che, secondo protocollo clinico approvato, prevede, oltre alla rigenerazione della massa ossea, la ricostruzione della cartilagine articolare. Come per i casi degli anni precedenti, l'esito post trapianto è positivo.

Sono stati sottoposti a prelievo di cartilagine, per isolamento ed espansione di condrociti autologhi, 20 pazienti; di questi, 11 sono stati sottoposti ad impianto di cartilagine ingegnerizzata.

Il metodo produttivo parte da una biopsia di cartilagine sana nel paziente candidato, sottoposta a digestione enzimatica per ricavare i condrociti, che vengono espansi per un periodo di circa quattro settimane, fino al raggiungimento della quantità standard idonea alla semina su biomateriale, costituito da uno scaffold tridimensionale di acido ialuronico o collagene. Il prodotto viene sottoposto a controlli di qualità *in process* e *al rilascio*, per confermarne la sterilità e l'assenza di contaminazione (test di sterilità con metodo semiautomatico, dosaggio delle endotossine batteriche mediante LAL test e ricerca dei micoplasmi in *real time pcr*), confezionato sterilmente e rilasciato alla BTM, che provvede alla distribuzione ai chirurghi utilizzatori. Le cellule ottenute dal processo di espansione hanno dimostrato una vitalità intorno al 90%.

Nel follow-up l'esito del trapianto viene valutato mediante parametri soggettivi (scomparsa o attenuazione del dolore, mobilità articolare) ed oggettivi (analisi strumentali: RX, TAC, RM).

I pazienti operati di ricostruzione dell'epifisi femorale, e corrispondente cartilagine articolare, manifestano un immediato beneficio in termini di riduzione del dolore e ripresa funzionale dell'articolazione, a fronte di immagini strumentali non significative o di tardiva risoluzione anatomica della patologia articolare. Pertanto, il criterio clinico è attualmente il più predittivo dell'esito del trattamento e il più accettato per verificarne l'efficacia.

A tutt'oggi non sono state segnalate reazioni e/o eventi avversi, immediati o tardivi, legati all'utilizzo delle cartilagini ingegnerizzate.

Dei 20 lotti manipolati (un lotto/un paziente), oltre agli 11 impiantati, 5 sono stati congelati in attesa di utilizzo clinico; anche 3 dei lotti impiantati hanno subito una fase di congelamento pre-impianto.

Altri 3 lotti non hanno dato origine ad una popolazione cellulare entro i limiti di accettabilità per l'utilizzo clinico, verosimilmente per una scarsa cellularità o sofferenza della cartilagine di partenza: occorre infatti ricordare che il prelievo di cartilagine viene eseguito su un'area di cartilagine apparentemente e macroscopicamente sana, ma comunque nello stesso arto da operare e quindi sottoposto a vizi di carico o sofferenza conseguente alla patologia di base.

Un lotto di cartilagine ingegnerizzata è stato invece eliminato perché il paziente ha rifiutato l'intervento: questo paziente era affetto da condropatia del ginocchio ed era stato trattato con un debridement in sede artroscopica e, nonostante il chirurgo ritenesse necessario l'impianto di cartilagine ingegnerizzata, il paziente godeva di relativo benessere e non si è volontariamente sottoposto all'intervento rigenerativo.

Si sono inoltre presi accordi con la Banca dell'Osso della Regione Piemonte per la produzione di condrociti su scaffold per pazienti candidati a chirurgia rigenerativa della cartilagine del ginocchio: in particolare, è stato sottoposto ai chirurghi ortopedici interessati lo stesso protocollo in uso allo IOR, per valutarne la fattibilità e l'organizzazione generale, mediata dalle rispettive banche dei tessuti.

Invece, non sono stati attualmente testati nuovi biomateriali, sia per una generale soddisfazione di quelli convalidati utilizzati finora, sia per la necessità di implementare complesse prove di convalida e di efficacia su quelli di eventuale nuova introduzione.

La Camera Sterile è stata sottoposta alla riconvalida/riqualifica generale della struttura, della HVAC, delle apparecchiature del processo produttivo, con rispondenza ai criteri di accettabilità rispetto alla norma GMP, e conseguente conferma della funzionalità e della sicurezza dell'intero sistema.

Oltre alla qualifica funzionale, sono stati eseguiti accurati controlli microbiologici di qualifica della contaminazione microbica di aria e superfici, che confermano come gli ambienti assicurino elevati livelli di sicurezza nelle lavorazioni in asepsi di cellule e tessuti.

## ***Cellule staminali mesenchimali***

Nel 2010 sono state prodotte in asepsi 10 colture di cellule staminali mesenchimali (CSM) per la convalida del metodo produttivo e del metodo analitico secondo le norme GMP, a partenza dal midollo osseo, che attualmente è ancora la materia prima più utilizzata.

Sono stati redatti il protocollo clinico e il dossier (IMPD) del prodotto medicinale a base di CSM per la ricostruzione del seno mascellare in chirurgia maxillo-facciale, con lo scopo di permettere l'impianto dentale in pazienti edentuli su tessuto osseo neoformato.

Tale protocollo, presentato all'inizio del 2010 all'Autorità Competente per l'approvazione all'impiego clinico sperimentale, non è stato ancora autorizzato dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS), che ha richiesto ulteriori prove di *safety* del prodotto per uso clinico.

Come per i condrociti, le CSM sono sottoposte ai controlli di qualità necessari per garantirne la sicurezza, l'efficacia, la non tossicità e dimostrarne l'assenza di contaminazione da parte di agenti avventizi (batteri, micoplasmi, miceti, virus, endotossine), la purezza (assenza di contaminanti cellulari diversi dalle mesenchimali), l'identità (DNA profiling) e la caratterizzazione (citofluorimetria) del prodotto cellulare, l'assenza di trasformazioni genetiche in coltura (cariotipo ed espressione genica), in linea con quanto prescritto dalle cGMP e dalle normative vigenti, come requisiti di qualità farmaceutica dei prodotti per terapia cellulare somatica.

In particolare, l'ISS ha richiesto di eseguire diversi altri controlli sul processo di espansione (caratterizzazione fenotipica, numero di duplicazioni cellulari, dose, ecc.) e soprattutto sul cariotipo, i cui dati, in linea con quelli della Letteratura e confrontati con i risultati ottenuti sulla stabilità genomica (normalità dei geni coinvolti nel ciclo cellulare e non espressione di oncogeni), non sono stati accettati come sufficienti a dimostrare l'assenza del rischio di trasformazioni neoplastiche delle cellule in coltura. Sono stati richiesti ulteriori dati su altri tre lotti di convalida, con colture protratte per oltre sei settimane, per verificare se eventuali anomalie cromosomiche siano correlate alla trasformazione o alla senescenza cellulare.

## ***Cellule staminali mesenchimali derivate da tessuto adiposo***

Nel 2010 sono state prodotte in asepsi 8 colture di cellule staminali mesenchimali (ASC) derivate da tessuto adiposo di scarto.

In particolare, sono state eseguite prove per la messa a punto del metodo di isolamento, di espansione, purificazione e tipizzazione di queste cellule mesenchimali, che trovano diversi potenziali impieghi clinici, non solo per le loro capacità di rigenerazione dei tessuti, ma anche grazie alla loro funzione immunomodulatoria.

Si prevede la possibilità di ricavare, da tessuto adiposo di donatore cadavere multi organo, una serie di aliquote di ASC allogene crioconservate, pronte all'uso, destinate a

- rigenerazione ossea in associazione a biomateriali o a allograft;
- riduzione degli effetti del rigetto nel trapianto d'organo;
- riparazione di tessuti danneggiati, grazie alla potenzialità angiogenetica;
- azione coadiuvante nella terapia delle malattie autoimmuni.

Le ASC sembrano avere effetti regolatori sui tessuti, a seconda del microambiente in cui si trovano, stimolando la rigenerazione e la proliferazione di cellule autologhe o modulando il sistema immunitario in senso di riconoscimento del *self*.

Il metodo di isolamento delle ASC si basa sulla digestione enzimatica con collagenasi per un'ora circa e successiva centrifugazione per eliminare grasso e frammenti non digeriti. Le cellule ottenute, previa conta, vengono immediatamente seminate in fiasca, dove le mesenchimali si separano per adesione al substrato, in circa tre giorni. Nei successivi sette giorni si effettuano due cambi di terreno con eliminazione di tutte le cellule non adese o non vitali contaminanti. Quando giunte a confluenza, le cellule si staccano enzimaticamente e si seminano in altre fiasche per incrementarne il numero in coltura (espansione). Le cellule ottenute dopo uno o più passaggi, vengono tipizzate fenotipicamente e congelate in aliquote da  $5 \times 10^5$  o superiori. Lo studio di vitalità e caratterizzazione dopo scongelamento è tuttora in studio, così come l'ottimizzazione del metodo, finalizzato ad ottenere numerose aliquote da singolo donatore.

Attualmente, il fenotipo delle ASC così trattate è perfettamente conforme ai criteri di accettabilità, secondo quanto riportato in Letteratura e sovrapponibile alle CSM da midollo osseo.

Le aliquote congelate saranno inserite in una Biobanca controllata e pronte per essere utilizzate in protocolli clinici sperimentali approvati. In particolare, è in corso l'approvazione di:

- un progetto europeo per la fusione spinale con allograft combinato con ASC, per la terapia delle patologie della colonna vertebrale;
- il trattamento compassionevole di pazienti trapiantati di fegato, portatori di HCV, e intolleranti alla terapia immunosoppressiva antirigetto;
- il trattamento compassionevole di pazienti sottoposti a resezione massiva di fegato per neoplasia, al fine di accelerare la rigenerazione dell'organo residuo.

Lotti di cellule lavorati	Sperimentali	Per uso clinico	Impiantati	Congelati	Eliminati
Condrociti		20	11	8	4
CSM	10				
ASC	8				

**Tabella 1CF** Attività produttiva Cell Factory 2010

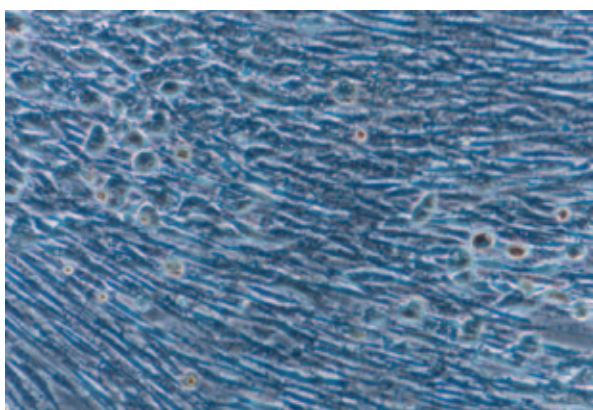
### ***Laboratorio di quality control***

Nel 2009 il laboratorio di Controllo di Qualità e Microbiologia (CQ), già afferente alla BTM, ha ottenuto l'autorizzazione AIFA ai controlli *in process* dei prodotti per terapia cellulare somatica. I nuovi locali, strutturalmente più adeguati, la strumentazione qualificata e la convalida dei metodi analitici sono stati sottoposti a nuova visita ispettiva da parte di AIFA nell'aprile 2010 per l'autorizzazione GMP all'esecuzione di tutti i test di qualità, sia *in process*, sia *al rilascio*. Questo laboratorio è fondamentale per i controlli di qualità dei prodotti cellulari, del tessuto muscoloscheletrico prelevato, processato e impiantato.

### ***Prometeo al tecnopolo***

Nell'ambito del progetto Rizzoli Research Innovation Technology (RIT) presso il Tecnopolo dell'Emilia Romagna, Piattaforma Scienze della Vita, si inserisce il Laboratorio PRO.ME.T.E.O. (Prodotti di Medicina Rigenerativa e Tissue Engineering in Ortopedia), costituito da:

- Cell Factory e Tissue Factory;
- Laboratorio di Controllo Qualità e Microbiologia;
- Laboratorio per lo sviluppo di terapie biomolecolari;
- Laboratorio per l'analisi e la caratterizzazione di tessuti o biomateriali ingegnerizzati.



**Foto 10S** coltura di CSM

PRO.ME.T.E.O. è suddiviso nei settori di ricerca di base, produzione in asepsi e relativi controlli di qualità, si prefigge di realizzare, gestire e coordinare la ricerca e la pratica clinica, l'innovazione, la trasferibilità tecnologica e lo sviluppo della medicina rigenerativa e dell'ingegneria tissutale in campo ortopedico. La produzione è eseguita secondo GMP in asepsi (*clean room*) e riguarda terapie cellulari e tessuti combinati con cellule e biomateriali.

I Laboratori del Dipartimento RIT saranno sottoposti ad accreditamento industriale nel 2011.

### ***Sistema di gestione per la qualità***

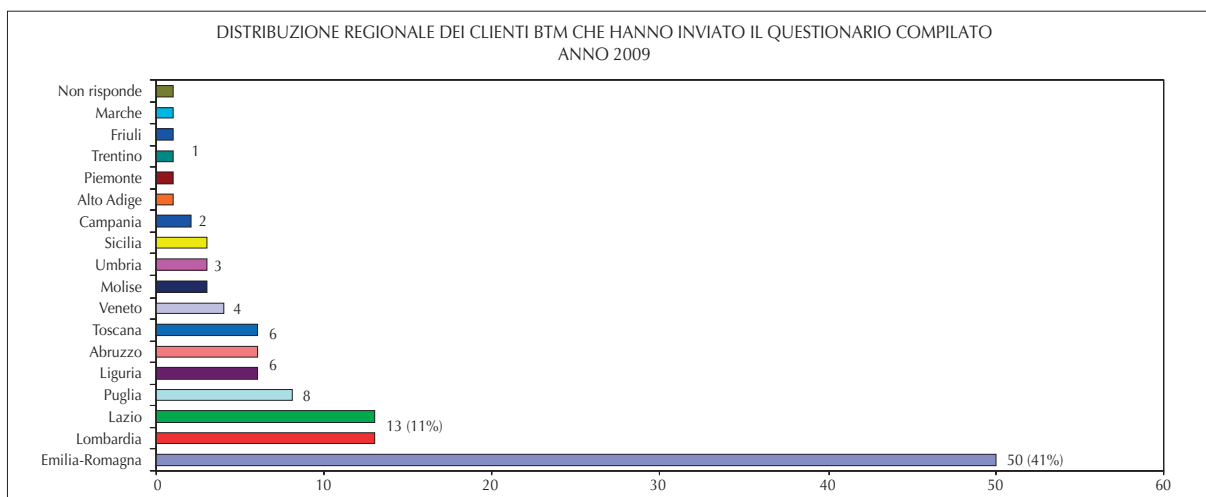
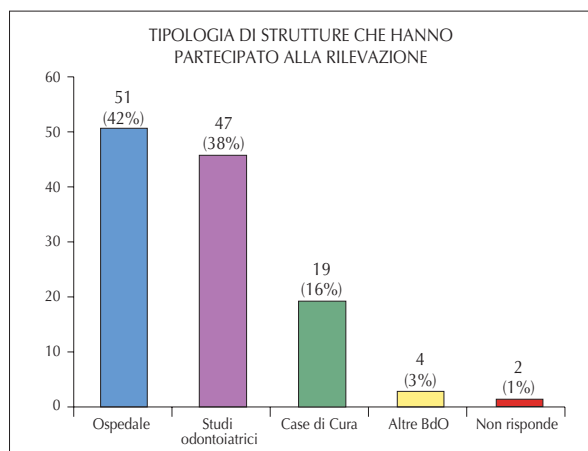
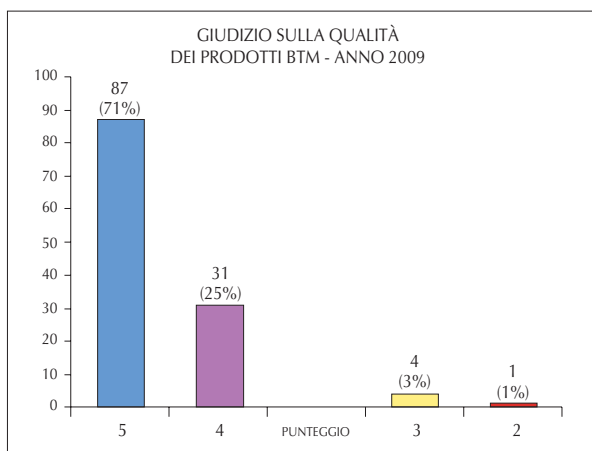
Nel corso dell'anno 2010, la Banca delle Cellule e del Tessuto Muscoloscheletrico ha superato l'audit di sorveglianza della certificazione del proprio sistema qualità, secondo la versione 2008 degli standard UNI EN ISO 9001, rilasciata dall'Istituto Certiquality (accreditato da Accredia) per i processi di:

- selezione, prelievo, processazione, validazione, conservazione e distribuzione di tessuto muscolo-scheletrico da donatore;
- consulenza e processazione di tessuto muscoloscheletrico per conto terzi;
- selezione, raccolta, accettazione, stoccaggio, presa in carico e distribuzione di tessuto destinato a manipolazione cellulare estensiva in Cell Factory;
- isolamento, espansione e rilascio di cellule ingegnerizzate;
- controllo di qualità e microbiologia;
- progettazione e sviluppo di nuovi prodotti / servizi;
- progettazione ed erogazione di eventi formativi, stage, corsi a catalogo, convegni e giornate di studio (settore EA 37).

Tale modello è fondato sui principi di gestione per la qualità che guidano al miglioramento delle prestazioni:

- orientamento al cliente;
- leadership;
- coinvolgimento del personale;
- approccio per processi;
- approccio sistemico alla gestione;
- miglioramento continuo;
- decisioni basate su dati di fatto;
- rapporti di reciproco beneficio con i fornitori.

La soddisfazione del cliente viene verificata attraverso questionari, con giudizio esprimibile attraverso una scala di valori da 1 (minimo) a 5 (massima soddisfazione).



Il sistema qualità è stato esteso anche a tutte le attività di processazione in ambiente sterile, con progressivo adeguamento alle normative di Good Manufacturing Practice ed un controllo globale del processo che comprende:

- evidenze oggettive sulla conformità di classe della cleanroom;
- parametri di temperatura-umidità relativa e pressione differenziale conformi ai range individuati;
- conformità dei controlli microbiologici eseguiti su personale ed ambiente (apparecchiature comprese) ad ogni lotto di processazione;
- convalida delle apparecchiature;
- conformità dei controlli di qualità sul prodotto;
- programma di sanitizzazione, con verifica di efficacia e convalida dei sanitizzanti;
- adeguate procedure per ogni attività eseguita.

Tutti i processi sono controllati anche dal punto di vista gestionale, tramite:

- indicatori;
- sistemi di monitoraggio ed elaborazione statistica;
- programma formativo annuale calibrato sui processi specifici;
- programma di audit interno.

La BTM aveva superato nel 2009 anche l'audit di rinnovo della certificazione obbligatoria rilasciata dal Centro Nazionale Trapianti, per l'inserimento nell'elenco europeo della Banche accreditate e relativa ai processi di:

- raccolta di tessuto muscoloscheletrico (donatore cadavere e vivente);
- processazione (comprensiva di liofilizzazione e demineralizzazione) e deposito di tessuto muscoloscheletrico;
- distribuzione di tessuto muscoloscheletrico.

La Banca delle Cellule e del Tessuto Muscoloscheletrico ha ottenuto nel 2009 e confermato nel 2010, per il Laboratorio di Manipolazione Cellulare Estensiva (Cell Factory) e di Controllo Qualità, l'autorizzazione dall'AIFA, n°aM160/2009, come officina farmaceutica a coronamento dell'impegnativo percorso di applicazione delle norme di buona fabbricazione.

## **Tracciabilità**

Alla Banca delle Cellule e del Tessuto Muscoloscheletrico dell'Istituto Ortopedico Rizzoli è attivo da oltre quattro anni un sistema informatico per la gestione della tracciabilità e del magazzino dei segmenti tissutali costituito da un data base integrato ad un sistema di identificazione a radio-frequenza (RFID).

Il software consente:

- il miglioramento della tracciabilità del tessuto, dal prelievo alla distribuzione;
- la rintracciabilità e registrazione di ogni fase della processazione e della movimentazione di tessuti e cellule;
- la registrazione del follow up del ricevente;
- l'etichettatura identificativa tramite transponder del tessuto e delle sue caratteristiche;
- la gestione della documentazione e dell'archivio;
- la raccolta dei dati di attività;
- la gestione dell'inventario, con controlli randomizzati della congruenza del magazzino con lo stato documentale;
- la registrazione delle segnalazioni dei possibili eventi avversi;
- l'applicazione delle normative sull'import-export di tessuto;
- la fatturazione e l'emissione dei documenti di trasporto.



Uno speciale microchip, detto transponder o tag, è applicato ad ogni confezione di tessuto e contiene una serie di informazioni preziose utili sia alla gestione del magazzino in tempo reale che alla ricostruzione della “storia” del tessuto.

Alle Ortopedie della Regione Emilia-Romagna sono stati distribuiti nel 2008 i kit RFID – lettore di transponder e relativo programma di lettura e scrittura – che oggi consentono ai chirurghi ortopedici che ricevono i tessuti di sapere il codice univoco del donatore, la storia clinico-anamnestica

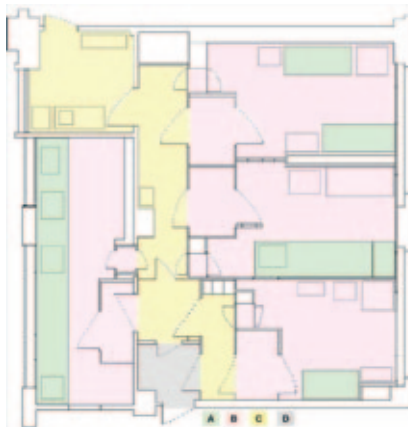
e gli esami a cui è stato sottoposto il tessuto nonché il percorso di processazione che ha subito.

Le sedi che hanno ricevuto il kit di tracciabilità con la tecnologia RFID hanno provveduto all’installazione e utilizzo dello stesso, facilitando in questo modo la conoscenza immediata da parte del chirurgo utilizzatore dei dati rilevanti del tessuto ricevuto e l’invio in tempo reale via posta elettronica dei dati necessari alla tracciabilità, completando il ciclo come descritto nello scopo del presente progetto.

Il tal modo, si completa il ciclo della rintracciabilità relativa ad ogni fase di movimentazione del tessuto, con una registrazione elettronica, permanente ed inviolabile, che consente non solo risparmio di tempo e carta ma, soprattutto, diminuzione della probabilità di errori di registrazione e maggior tutela nel trattamento dei dati sanitari sensibili.

## Infrastrutture

Nel corso del 2010 sono state consolidate, anche per gli aspetti gestionali, le realizzazioni implementate nel 2009; in particolare, è stata migliorata la classe di pulizia dell’aria di alcune aree della cleanroom: l’ingresso, originariamente non classificato, è stato portato ad un livello D mentre l’area di disimpegno, originariamente D, è stata riclassificata C, grazie al buon livello di ricambi dell’aria ed agli ottimi esiti del monitoraggio particellare e microbiologico.



La BTM ha acquisito una nuova apparecchiatura a controllo alfa-numeric per ottimizzare il taglio del tessuto muscoloscheletrico.

È stato messo in uso l’isolatore (glove box) e monitorato il nuovo locale a contaminazione controllata, di classe D. È stata completata l’area di crio-conservazione in azoto liquido, con ossimetro, sistema di monitoraggio e gestione degli allarmi.

Sono stati convalidati sia gli impianti HVAC che le apparecchiature critiche di produzione e di controllo qualità.

Sono stati convalidati sia gli impianti HVAC che le apparecchiature critiche di produzione e di controllo qualità.

## Comunicazione ed assistenza ai clienti

Il sito web della BTM ([www.btm.ior.it](http://www.btm.ior.it)), arricchito con un’area didattica, viene mantenuto aggiornato e costituisce un importante elemento di trasferimento di informazioni e cultura nel campo del banking di tessuto muscoloscheletrico.

Sono presenti: un'area destinata ai fornitori di epifisi femorali; un'area destinata ai clienti utilizzatori di tessuto muscoloscheletrico; un'area destinata alla gestione della qualità ed ai principali riferimenti normativi del settore.

Nel 2010 i visitatori (extra Rizzoli) del nostro sito web sono stati ben 31000 (dalla maggior parte delle Nazioni), con 85 visite medie al giorno, 2584 medie mensili.

È in corso il rinnovamento grafico del sito web, con miglioramento della parte dedicata alla didattica e di quella riservata alla Cell Factory ed alla Medicina Rigenerativa.

È allo studio anche la realizzazione di corsi FAD sul banking di tessuto muscoloscheletrico e sulle camere sterili nonché la realizzazione di un catalogo dei tessuti e di brochure dedicate.

## Obiettivi di qualità 2011

- Continuazione del percorso di armonizzazione del sistema qualità gestionale ISO con i requisiti previsti dalle Good Manufacturing Practice europee;
- superamento degli audit di sorveglianza;
- percorso di accreditamento industriale di PRO.ME.TEO;
- continuazione del supporto formativo e di consulenza al processo di sviluppo della Banca del Tessuto Muscoloscheletrico della Regione Lazio;
- messa a punto di metodologie analitiche per la determinazione delle BMP nel tessuto sottoposto a demineralizzazione;
- messa a punto di nuove e più standardizzate metodologie di taglio.

*Piermaria Fornasari e Alessandra Bassi*

## Segmenti osteo-tendinei attività di trapianto

Nella chirurgia ortopedica e soprattutto oncologica, è fondamentale il contributo di una Banca del Tessuto Muscolo-Scheletrico che fornisce un supporto in interventi demolitivi in cui ampi segmenti osteoarticolari vengono sacrificati ed in cui si pone la necessità di una ricostruzione al fine di ripristinare il più possibile la funzionalità dell'arto.

Nell'anno 2010, presso l'Istituto Ortopedico Rizzoli, sono stati utilizzati circa 1487 innesti muscoloscheletrici, comprendendo i più semplici innesti di osso morcellizzato fino ai più complessi segmenti osteoarticolari. Alcuni di questi sono stati utilizzati nella chirurgia ortopedica oncologica, che in alcuni casi diventa, di necessità, demolitiva. Infatti in 8 casi sono stati utilizzati innesti osteoarticolari sia di tibia prossimale che di omero prossimale ed in 3 casi emibacini interi.

Il contributo della Banca del Tessuto Muscolo-Scheletrico è importante anche nelle lesioni benigne o pseudotumorali, dove è possibile eseguire interventi meno aggressivi ma che comunque alterano le caratteristiche strutturali dell'osso: a tal proposito ha trovato grande utilizzo l'osso morcellizzato, che è stato utilizzato in più di 70 casi.

Infine, il supporto della Banca del Tessuto Muscolo-Scheletrico è fondamentale anche in traumatologia e per artropatie degenerative, soprattutto in pazienti di giovane età con artrosi secondaria post-traumatica, utilizzando innesti osteocondrali freschi, prelevati sterilmente e mantenuti in soluzione fisiologica a 4° C. Nel 2010 sono stati effettuati 4 innesti osteocondrali in pazienti con artropatia degenerativa, comprendendo spalla, ginocchio e caviglia.