

Raccomandazioni per lo smaltimento delle unità di sangue cordonale criopreservate a scopo solidaristico

Gruppo di Redazione

Tiziana Bonfini (CBB Pescara); Daniela Bovo (CBB Padova); Marina Buzzi (CBB Bologna); Antonella Dragonetti (CBB Torino); Lucilla Lecchi (CBB Milano); Maria Screnci (CBB Roma La Sapienza) Luciana Teofili (CBB Roma UNICATT); Benedetta Mazzanti (CNT); Maria Bianchi (CNS); Maria Pia Mariani (CNT); Simonetta Pupella (CNS); Letizia Lombardini (CNT)

Sommario

Sommario	1
1. Definizioni	2
2. Premessa	3
3. Scopo e ambito di applicazione	5
4. Modalità operative per lo smaltimento delle Unità SCO	5
5. Flow-chart.....	6
6. Informativa paziente e consenso informato	7
7. Bibliografia.....	7
8. Riferimenti normativi	8
9. Allegati.....	9

1. Definizioni

ALLOGENICO: appartenente ad un altro individuo. Nell'ambito del trapianto si definisce come trapianto allogenico, la procedura attraverso la quale ad un paziente vengono infuse CSE prelevate ad un donatore HLA compatibile o parzialmente compatibile familiare o non familiare.

ATTECCHIMENTO: e' la ricostituzione dell'emopoiesi nel ricevente da parte delle CSE trapiantate. E' documentato dall'aumento progressivo del numero di granulociti nel sangue oltre 500/ μ L in tre controlli giornalieri consecutivi. Il primo di questi tre giorni è registrato come la data dell'attecchimento. L'attecchimento per la serie piastrinica è documentato dalla presenza di una conta superiore a 20.000/ μ L per 7 giorni consecutivi, senza supporto trasfusionale. Il primo dei 7 giorni è quello dell'attecchimento.

Cellule CD34+: è riferito all'antigene glicoproteico di 115 kD espresso dall'1-2% delle cellule mononucleate normali del midollo osseo riconosciuto da uno specifico anticorpo monoclonale (anti-CD34) secondo la terminologia convenzionale dei cluster di differenziazione (CD).

CELLULE STAMINALI EMOPOIETICHE (CSE): cellule staminali adulte in grado di autorigenerarsi e di differenziarsi negli elementi cellulari del sangue (globuli rossi, globuli bianchi e piastrine).

CRIOCONSERVAZIONE: procedura attraverso la quale un'unità di CSE viene mantenuta per un tempo variabile a basse temperature in contenitori in presenza di vapori o azoto liquido (contenitori criogenici), dopo essere stata sottoposta a manipolazione e congelamento.

CRIOPRESERVAZIONE: è il processo di congelamento dell'unità contenente le CSE mediante l'impiego di apparecchiature, materiali e tecniche validate a questo scopo e finalizzate a garantire il mantenimento delle proprietà biologiche e funzionali delle CSE stesse a breve e/o lungo termine.

DONATORE: persona che volontariamente decide di mettere a disposizione le proprie cellule per effettuare un trapianto. Il donatore può essere familiare ("related"), ovvero un consanguineo, o non familiare ("unrelated" o "MUD, Matched Unrelated Donor"), ovvero un donatore volontario iscritto ad un Registro donatori.

HLA: Human Leukocyte Antigen, complesso di molecole glicoproteiche presenti sulla superficie di leucociti e altre cellule, chiamate anche antigeni di istocompatibilità perché responsabili della compatibilità tissutale, cioè della accettazione di organi/cellule provenienti da un altro organismo. Il complesso maggiore di istocompatibilità (Major Histocompatibility Complex -MHC) è un gruppo di geni polimorfici, localizzato sul cromosoma 6.

TRAPIANTO: intervento terapeutico che prevede la sostituzione di CSE danneggiate o malfunzionanti, con altre funzionanti, provenienti da un donatore sano. Il trapianto può essere distinto in trapianto autologo, allogenico e singenico. Nel trapianto autologo al paziente vengono reinfuse le sue stesse cellule mentre nel trapianto allogenico il paziente riceve cellule da un donatore geneticamente compatibile (familiare o non familiare). Nel trapianto singenico vengono infuse cellule da un gemello geneticamente identico.

IBMDR: Italian Bone Marrow Donor Registry

ITCBN: Italian Cord Blood Network

SCO: Sangue di Cordone Ombelicale

SOP: Procedura Operativa Standard

TNC: Total Nucleated Cells

2. Premessa

La rete italiana delle Banche del sangue di cordone ombelicale (SCO), denominata ITCBN – Italian Cord Blood Network, presenta un inventario di oltre 40.000 unità allogene conservate a scopo solidaristico, di cui l'85% rese disponibili attraverso il Registro Italiano Donatori di Midollo Osseo (IBMDR – Italian Bone Marrow Registry) quali sorgenti di cellule staminali emopoietiche (CSE) per i Programmi Trapianto italiani ed esteri.

I risultati del trapianto da cordone in ambito pediatrico e adulto hanno ampiamente dimostrato la correlazione fra dose cellulare delle unità SCO e miglior risultato del trapianto. In particolare sia il numero di cellule nucleate totali (TNC) che quello delle cellule CD34+ hanno un impatto significativo sulla velocità di attecchimento e sulla ricostituzione immunologica post trapianto (1-5). Sulla base di queste osservazioni è stata tentata la strategia del trapianto con due unità SCO (6). Tale approccio, tuttavia, non si è rivelato superiore al trapianto di singola unità né in termini di più rapido attecchimento né in termini di controllo di malattia (7). Per tale motivo, la cellularità della unità è tuttora un criterio sostanziale su cui si basa la scelta dei centri trapianto (8).

L'analisi delle caratteristiche delle unità SCO utilizzate per trapianto (Report IBMDR 2015-2018, <http://ibmdr.galliera.it>) conferma la bassissima probabilità di utilizzo di quelle con TNC $<120 \times 10^7$. Pertanto queste unità rappresentano un inventario sostanzialmente immobilizzato, con costi di conservazione (in modo particolare legati all'azoto liquido, al mantenimento della catena del freddo e alla gestione delle aree criogeniche) non ammortizzabili dal rilascio delle stesse (9-10).

La scelta di unità con elevato contenuto cellulare è dettata anche dalla constatazione che il processo di congelamento comporta la riduzione della vitalità di TNC e di cellule CD34+, indipendentemente dal periodo di conservazione dell'unità (11-12).

La rete ITCBN ha adottato negli anni una strategia che ha progressivamente innalzato la soglia di cellularità per la conservazione delle unità SCO donate a scopo solidaristico, fino a raggiungere attualmente una quantità minima di TNC al bancaggio di 160×10^7 , oppure di 120×10^7 se contenenti almeno 2×10^6 cellule CD34+ (standard IBMDR 2016 e successivi).

Malgrado il numero dei trapianti di CSE da donatore non familiare adulto sia in costante crescita, nel corso dell'ultimo decennio è stata osservata in tutto il mondo una drastica diminuzione dell'impiego di unità SCO: l'indice di rilascio (numero di unità SCO rilasciate rispetto all'inventario) è infatti passato dall'1,24 % del 2007 allo 0,44 % nel 2016 (dati del World Marrow Donor Association). Lo stesso trend negativo è stato osservato in Italia, dove l'indice medio di rilascio si attesta intorno allo 0,10% (<http://ibmdr.galliera.it>). Questa riduzione è verosimilmente dovuta all'introduzione di nuovi protocolli di trapianto da donatori familiari aploidentici o parzialmente compatibili, nonché alla maggiore complessità e maggior costo assistenziale dei trapianti da SCO, che comportano un più lento recupero ematopoietico e maggiori tempi di ricovero e cura.

Questo nuovo scenario ha portato la rete ITCBN, gli organismi di coordinamento nazionali (CNS, CNT), le autorità competenti regionali ed il Ministero della Salute a rivedere l'organizzazione della rete stessa e la gestione dell'inventario, in termini di riqualificazione sulla base delle indicazioni emerse dall'utilizzo clinico delle unità cordonali. La rete ha convenuto che tale processo dovesse prevedere strategie di riorganizzazione



ed interventi per la sostenibilità, inclusa la definizione di criteri omogenei e condivisi a livello nazionale per lo smaltimento dell'inventario immobilizzato.

Metodologia adottata per redigere le presenti raccomandazioni

Al fine di tutelare l'inventario nazionale esistente ed identificare le unità non utilizzabili a scopo trapiantologico, è stata condotta un'analisi delle caratteristiche delle unità con $TNC \leq 100 \times 10^7$, soglia di riferimento per il bancaggio definito nell'Accordo Stato-Regioni del 2011 (Rep. Atti n. 75/CRS del 20 aprile 2011). Sono stati richiesti ad ogni banca i dati relativi al contenuto in TNC e cellule CD34+, e lo stato di esposizione o meno al registro (**allegato 1**). Poiché un ulteriore parametro che può influire sull'utilizzo clinico delle unità SCO è il fatto che esse presentino fenotipi HLA rari o poco frequenti, è stata inoltre richiesta ad IBMDR un'analisi delle frequenze aplotipiche dell'inventario nazionale, al fine di identificare e mantenere in inventario le unità SCO con aplotipo poco rappresentato.

Analisi dei dati raccolti.

Complessivamente, 16 delle 18 banche afferenti alla rete ITCBN hanno inviato i dati richiesti: i risultati ottenuti e la relativa analisi è illustrata nell'allegato 1.

Dai dati inviati è emersa la presenza di oltre 9.500 unità con $TNC \leq 100 \times 10^7$ e contenuto medio di cellule CD34+ pari a $2.55 \pm 1.49 \times 10^6$. Queste unità rappresentano il 20% circa dell'inventario nazionale e includono 1.035 unità (13%) non esposte al registro IBMDR (Tabelle 1 e 2, Grafico 1, Allegato 1). Il tempo di conservazione (stimato al 31 dicembre 2017) delle unità con $TNC \leq 100 \times 10^7$ era maggiore di 10 anni nel 70% circa dei casi, e maggiore di 20 anni nel 30% (Grafico 2 – Allegato 1), con costi di mantenimento in inventario di oltre 3 milioni di euro (punto e – Allegato 1).

Se si limita l'analisi alle unità SCO con $TNC < 50 \times 10^7$ (soglia per il bancaggio in accordo agli standard FACT Netcord, Appendix V), emerge un sottogruppo di 97 unità (1% circa dell'inventario analizzato) con contenuto medio di cellule CD34+ inferiore a 2×10^6 (media \pm DS: 1.72 ± 1.13). Il tempo di conservazione di queste unità è maggiore di 20 anni in circa 80% dei casi (Tabella 3 e 4, Grafico 3 – Allegato 1).

Le unità SCO con $TNC \leq 100 \times 10^7$ rilasciate da IBMDR dal 2007 ad oggi rappresentano il 4,5% di tutte le unità rilasciate. Esse sono state utilizzate tutte dal 2007 al 2015, mentre nessuna di unità con $TNC \leq 100 \times 10^7$ è stata richiesta dal 2016 ad oggi (Grafico 4 – Allegato 1).

Relativamente alle unità con fenotipo HLA raro, sulla base delle informazioni fornite da IBMR, su 9.014 unità con $TNC \leq 100 \times 10^7$ sono state identificate 2.700 unità (30%) con frequenze HLA poco rappresentate. Inoltre, sono state identificate circa 200 unità con fenotipo HLA molto comune (punto f. – Allegato 1).

Conclusioni raggiunte.

Sulla base delle evidenze raccolte e della revisione dei dati presenti in letteratura, sono state raggiunte le seguenti conclusioni:

- è stabilita una soglia di $TNC \leq 50 \times 10^7$ al di sotto della quale è possibile procedere allo smaltimento dell'unità. Questo cut-off è identificato anche dagli Standard FACT ed. 6 (Appendix V) ed una cellularità inferiore non garantisce l'efficacia terapeutica della unità in termini di attecchimento (1,2).
- si decide di non adottare alcun criterio temporale per lo smaltimento delle unità. Infatti, i dati disponibili in letteratura dimostrano che il tempo di conservazione delle unità crioconservate non ha alcun impatto sulle caratteristiche qualitative e funzionali delle CSE, in termini di vitalità e capacità di attecchimento (13-17).



E' stato quindi disegnato un algoritmo decisionale che guidi la procedura di smaltimento delle unità in inventario.

3. Scopo e ambito di applicazione

Lo scopo delle presenti raccomandazioni è definire i criteri e le modalità da adottare da parte delle banche afferenti all'ITCBN per lo smaltimento delle unità SCO conservate a scopo solidaristico e non idonee all'utilizzo per trapianto.

4. Modalità operative per lo smaltimento delle Unità SCO

Le Banche SCO definiscono la politica adottata per lo smaltimento delle unità allogene conservate per finalità solidaristiche. Tale politica deve essere conforme alle indicazioni riportate nella presente raccomandazione.

Le unità presenti in inventario sono smaltite in base all'algoritmo sotto riportato (Flow chart). Questo si basa sia sulla cellularità che sulle caratteristiche HLA delle unità, oltre alla presenza di criteri, identificati come maggiori e minori, che rendono le unità non utilizzabili per scopo clinico. Questi criteri sono correlabili sia a problemi tecnici e/o sanitari inerenti il donatore e/o il processo di raccolta/conservazione.

Criteri maggiori:

- danno grave all'etichetta che rende impossibile l'identificazione dell'unità SCO;
- danno grave alla unità, tale da determinare una perdita consistente del prodotto cellulare o da mettere a rischio la sterilità del prodotto;
- non idoneità clinica del donatore riscontrata dopo il congelamento;
- presenza di contaminazione microbiologica;
- assenza di consenso informato, non recuperabile.

Criteri minori:

- Assenza di campione satellite e/o segmento e/o DNA dell'unità;
- Assenza di anamnesi materna, non recuperabile.

La presenza di un solo criterio maggiore consente lo smaltimento dell'Unità SCO indipendentemente dalla cellularità. I criteri minori si applicano solo alle unità con $TNC < 100 \times 10^7$.

Sulla base dei parametri sopra indicati si procederà come illustrato nel diagramma seguente. In particolare:

- In presenza di **uno o più criteri maggiori** vengono smaltite tutte le unità, indipendentemente dal contenuto di TNC.
- Le unità con $TNC < 50 \times 10^7$ vengono smaltite indipendentemente da ogni altro criterio. Tale soglia, infatti, non garantisce l'efficacia terapeutica in termini di attecchimento (1,2).
- Le unità con $TNC \leq 100 \times 10^7$ e cellule $CD34+ \geq 2 \times 10^6$ vengono smaltite in presenza di uno o più criteri minori.
- Le unità con $TNC \leq 100 \times 10^7$ e cellule $CD34+ < 2 \times 10^6$ vengono smaltite se esprimono un **fenotipo HLA frequente**.
- Le unità con $TNC \leq 100 \times 10^7$ e cellule $CD34+ < 2 \times 10^6$ che esprimono un **fenotipo HLA raro** vengono smaltite in presenza di uno o più criteri minori.

5. Flow-chart

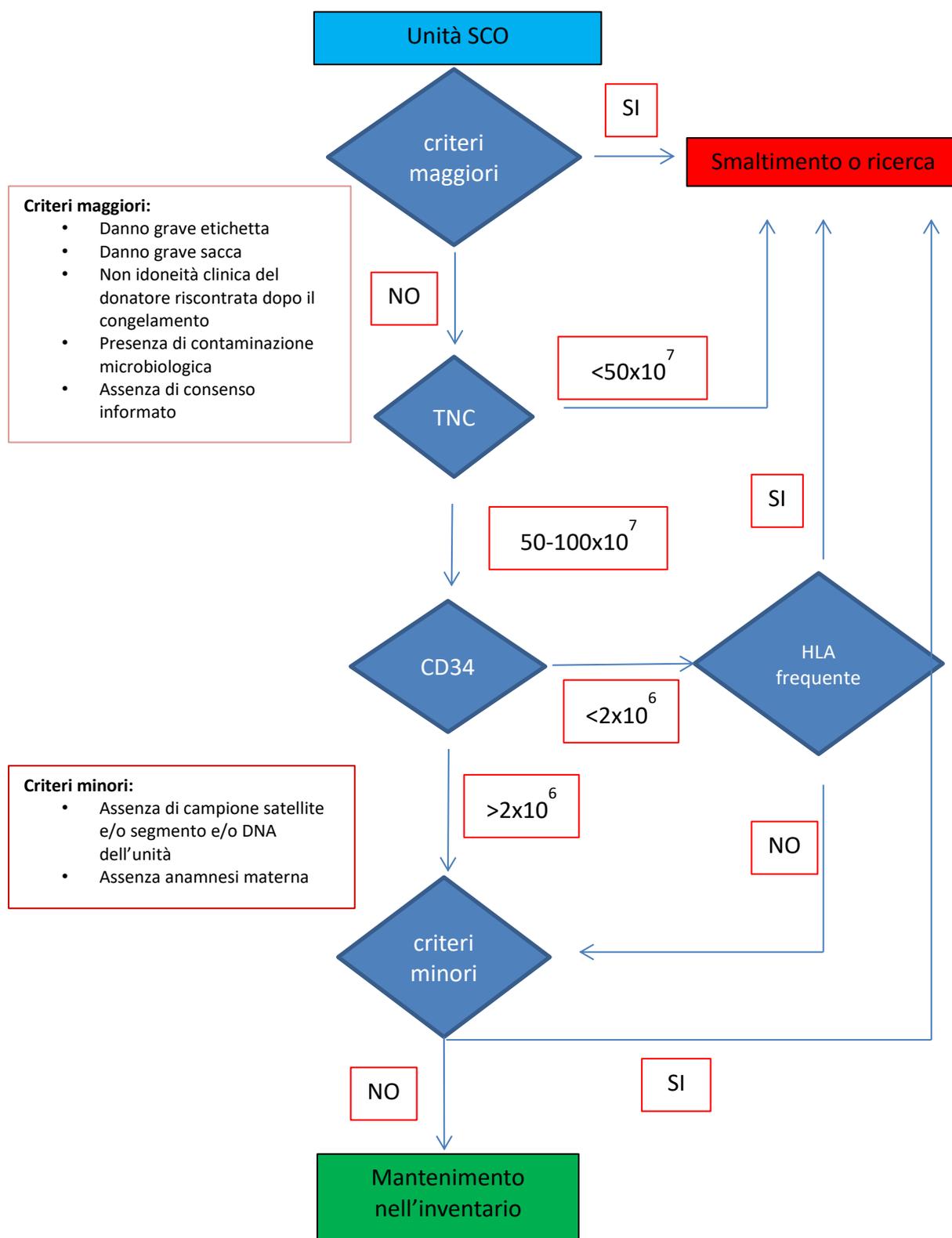


Fig. 1 - ALGORITMO DECISIONALE PER SMALTIMENTO UNITÀ SCO SOLIDARISTICHE

Gli scostamenti dall'algoritmo devono essere definiti all'interno della politica di smaltimento adottata da ciascuna banca.

6. Informativa e consenso informato allo smaltimento

- 1) Ogni Banca del sangue cordonale deve predisporre una specifica informativa ed un modulo di consenso informato per lo smaltimento delle unità da sottoporre all'attenzione della coppia donatrice al momento della valutazione dell'idoneità alla donazione.
- 2) L'informativa deve riportare il razionale dello smaltimento, i criteri e le modalità con cui questo sarà applicato. Deve inoltre essere descritto il destino di unità non più utilizzabili per uso clinico, che potranno essere eliminate o utilizzate per scopo di ricerca.
- 3) In caso di assenza di consenso informato allo smaltimento per unità SCO già criopreservate, ciascuna Banca può procedere con lo smaltimento se le unità SCO rispondono ai criteri individuati dalle presenti raccomandazioni, che ne attestano la non idoneità all'utilizzo trapiantologico.
- 4) Le unità che soddisfano i criteri per lo smaltimento possono in alternativa essere utilizzate per finalità di ricerca purché sia documentato lo specifico consenso rilasciato dalla madre/coppia in qualunque momento del percorso della donazione, anche successivo alla raccolta. In assenza di tale consenso, la Banca può comunque impiegare le unità SCO destinate allo smaltimento per controlli di qualità del processo di manipolazione.

7. Bibliografia

- 1) Migliaccio AR, Adamson JW, Stevens CE, Dobrila L, Carrier MC, Rubinstein P. Cell dose and speed of engraftment in placental/umbilical cord blood transplantation: graft progenitor cell content is a better predictor than nucleated cell quantity. *Blood* (2000) 96(8):2717–22.
- 2) Barker JN1, Rocha V, Scaradavou A. Optimizing unrelated donor cord blood transplantation. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2009 Jan;15(1 Suppl):154-61. doi: 10.1016/j.bbmt.2008.10.020.
- 3) Wagner JE, Barker JN, DeFor TE, et al. Transplantation of unrelated donor umbilical cord blood in 102 patients with malignant and nonmalignant diseases: influence of CD34 cell dose and HLA disparity on treatment-related mortality and survival. *Blood*. 2002;100(5):1611-1618
- 4) Page KM, Zhang L, Mendizabal A, et al. Total colony-forming units are a strong, independent predictor of neutrophil and platelet engraftment after unrelated umbilical cord blood transplantation: a single-center analysis of 435 cord blood transplants. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2011;17(9):1362-1374.
- 5) Barker JN, Kempenich J, Kurtzberg J, Brunstein CG, Delaney C, Milano F, Politikos I, Shpall EJ, Scaradavou A, Dehn J. CD34+ cell content of 126 341 cord blood units in the US inventory: implications for transplantation and banking. *Blood Adv*. 2019 Apr 23;3(8):1267-1271. doi: 10.1182/bloodadvances.2018029157.
- 6) Barker, JN, Weisdorf DJ, DeFor TE, et al. Transplantation of 2 partially HLA-matched umbilical cord blood units to enhance engraftment in adults with hematologic malignancy. *Blood*, 2005.105: p. 1343-7.



- 7) Baron, F and Nagler A. Novel strategies for improving hematopoietic reconstruction after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation or intensive chemotherapy. *Expert Opin Biol Ther*, 2017;17: p. 163-74)
- 8) Barker JN, Byam C, Scaradavou A. How I treat: the selection and acquisition of unrelated cord blood grafts. *Blood*. 2011;117:2332-9.

- 9) Pupella S, Bianchi M, Ceccarelli A, Calteri D, Lombardini L, Giornetti A, Marano G, Franchini M, Grazzini G, Liunbruno GM. A cost analysis of public cord blood banks belonging to the Italian Cord Blood Network. *Blood Transfus*. 2018 May;16(3):313-320. doi: 10.2450/2017.0251-16. Epub 2017 Apr 13
- 10) Sacchi N. Is it time to re-think a sustainable banking model for the Italian Cord Blood Network? *Blood Transfus*. 2018 May;16(3):221-223. doi: 10.2450/2017.0040-17. Epub 2017 Apr 13.
- 11) Yamamoto S, Ikeda H, Toyama D, et al. Quality of long-term cryopreserved umbilical cord blood units for hematopoietic cell transplantation. *Int J Hematol* 2011;93:99-105
- 12) Lee HR, Song EY, Shin S, Roh EY, Yoon JH, Kim BJ. Quality of cord blood cryopreserved for up to 5 years. *Blood Res*. 2014 Mar;49(1):54-60
- 13) Broxmeyer HE, Cooper S. High-efficiency recovery of immature haematopoietic progenitor cells with extensive proliferative capacity from human cord blood cryopreserved for 10 years. *Clin Exp Immunol* 1997;107(Suppl 1):45-53
- 14) Broxmeyer HE, Srour EF, Hangoc G, Cooper S, Anderson SA, Bodine DM. High-efficiency recovery of functional hematopoietic progenitor and stem cells from human cord blood cryopreserved for 15 years. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:645-50
- 15) Kurita N, Frassoni F, Chiba S, Podestà M. Impact of length of cryopreservation and origin of cord blood units on hematologic recovery following cord blood transplantation *Bone Marrow Transplant*. 2015 Jun;50(6):818-21. doi: 10.1038/bmt.2015.56. Epub 2015 Mar 23..
- 16) Mitchell R, Wagner JE, Brunstein CG, Cao Q, McKenna DH, Lund TC, Verneris MR. Impact of long-term cryopreservation on single umbilical cord blood transplantation outcomes. *Biol Blood Marrow Transplant*. 2015 Jan;21(1):50-4. doi: 10.1016/j.bbmt.2014.09.002. Epub 2014 Sep 28.
- 17) Jaing TH, Chen SH, Wen YC, Chang TY, Yang YC, Tsay PK. Effects of Cryopreservation Duration on the Outcome of Single-Unit Cord Blood Transplantation. *Cell Transplant*. 2018 Mar;27(3):515-519.

8. Riferimenti normativi

1. Accordo 29 ottobre 2009: Requisiti organizzativi, strutturali e tecnologici minimi per l'esercizio delle attività sanitarie delle banche di sangue da cordone ombelicale.
2. Decreto Ministeriale 18 novembre 2009 "Disposizioni in materia di conservazione di cellule staminali da sangue del cordone ombelicale per uso autologo – dedicato" *Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana*, Serie Generale - n. 303 del 31.12.2009 e relativi aggiornamenti.
3. Accordo Stato Regione n.75 del 20 Aprile 2011 "Linee guida per l'accreditamento delle Banche di sangue di cordone ombelicale"
4. 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,
5. 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" *Gazzetta Ufficiale della Repubblica Italiana*, n. 40 del 18.02.2010
6. Standards di funzionamento IBMDR versione corrente e successive versioni.
7. FACT/Netcord-International Standards for Cord Blood Collection, Processing, Testing, Banking,



Centro Nazionale Trapianti

Rev 0 del 18/11/2019



8. Selection and Release” versione corrente e successive versioni.

9. Allegati

Allegato 1. Risultati della analisi condotta sull' inventario nazionale

Analisi inventario nazionale delle unità SCO

a. UNITA' CON TNC $\leq 100 \times 10^7$

Un'analisi qualitativa dell'inventario nazionale in termini di contenuto di TNC (Total Nucleated Cells) ha rilevato (dati forniti da 16 su 18 banche della rete ITCBN) la presenza al 31 dicembre 2017 di 9.540 unità con contenuto di TNC $\leq 100 \times 10^7$ (Tabella 1/Grafico 1).

	TOTALE
Milano CBB	4211
Pavia CBB	1672
BaSCO Campania	992
Emilia Romagna CBB	517
Pescara CBB	456
Puglia CBB	368
Sciacca CBB	296
Firenze CBB	253
Liguria CBB	206
Padova CBB	203
Banca del Lazio	117
Pisa CBB	101
Calabria CBB	64
Torino CBB	49
UNICATT CBB	35
Cagliari CBB	0
TOTALE	9.540

Tabella 1. Inventario unità con TNC $\leq 100 \times 10^7$ suddiviso per banca

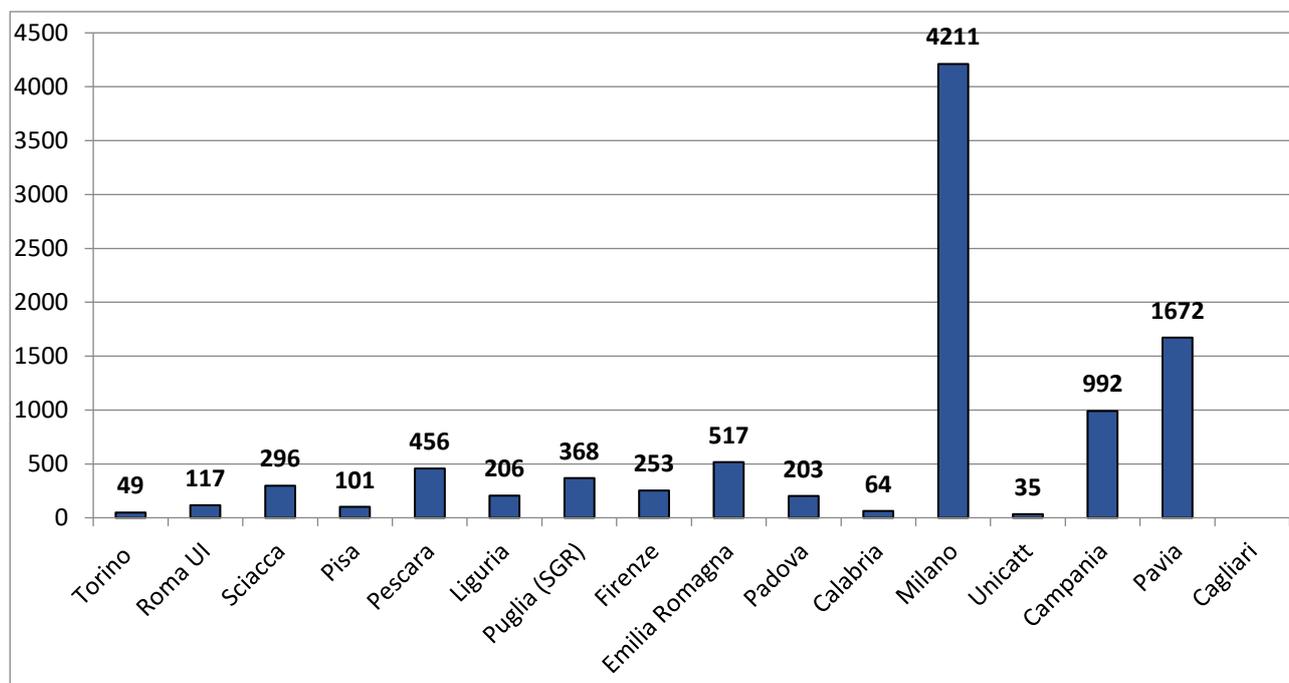


Grafico 1: Inventario unità con TNC $\leq 100 \times 10^7$ suddiviso per banca

Di queste 9.540 unità SCO, 6.833 (87%) sono esposte all'IBMDR mentre 1.035 (13%) non lo sono. Nella tabella 2 è illustrato il numero di unità esposte e non esposte, suddivise per Banca.

Tabella 2. Inventario unità con TNC 100×10^7 suddiviso per banca e per esposizione al Registro.

	TOTALE	Esposte	Non esposte
Milano CBB	4211	4211	0
Pavia CBB	1672	nd	nd
BaSCO Campania	992	457	535
Emilia Romagna CBB	517	517	0
Pescara CBB	456	375	81
Puglia CBB	368	294	74
Sciaca CBB	296	0	296
Firenze CBB	253	251	2
Liguria CBB	206	204	2
Padova CBB	203	192	11
Banca del Lazio	117	117	0
Pisa CBB	101	101	0
Calabria CBB	64	60	4
Torino CBB	49	49	0
UNICATT CBB	35	5	30
TOTALE	9.540	6.833	1.035

La suddivisione delle unità per anno di bancaggio (dati disponibili per 6.876 unità, periodo 1993-2017) ha evidenziato che la maggior parte (n. 4579, 67%) delle unità SCO con $TNC \leq 100 \times 10^7$ sono conservate da più di 10 anni e di queste il 29% (n. 1320) da più di 20 anni. Da notare che, in accordo alla entrata in vigore del cut-off di 120×10^7 TNC al bancaggio, le unità con queste caratteristiche non vengono più conservate dopo il 2012.

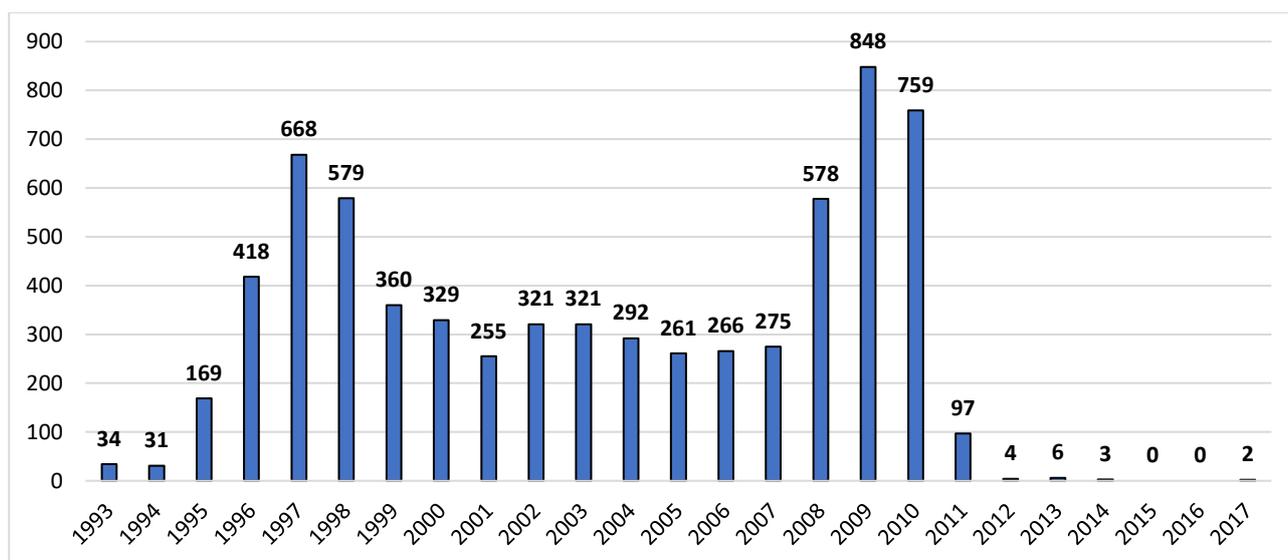


Grafico 2: Inventario unità con TNC 100×10^7 suddiviso per anno di bancaggio

b. UNITA' CON TNC <50x10⁷

Se si considera il limite di cellularità al bancaggio presente negli standard FACT Netcord (Appendix V), e si restringe ulteriormente l'analisi alle unità con contenuto di TNC<50x10⁷, risulta un gruppo di 97 unità che rappresenta l'1% dell'inventario con TNC<100x10⁷. Come precedentemente illustrato, le unità SCO con questa cellularità sono state suddivise per Banca (tabella 3), per esposizione all'IBMDR (tabella 4) e per anno di bancaggio (grafico 3). Il 95.2% di queste unità sono conservate da più di 10 anni, il 77% da più di 20 anni.

	TOTALE	Esposte	Non esposte
Milano CBB	81	81	0
BaSCO Campania	5	2	3
Emilia Romagna CBB	1	1	0
Puglia CBB	3	1	2
Firenze CBB	6	5	1
Calabria CBB	1	1	0
TOTALE	97	91	6

Tabella 3. Inventario unità con TNC <50x10⁷ suddiviso per banca e per esposizione all'IBMDR

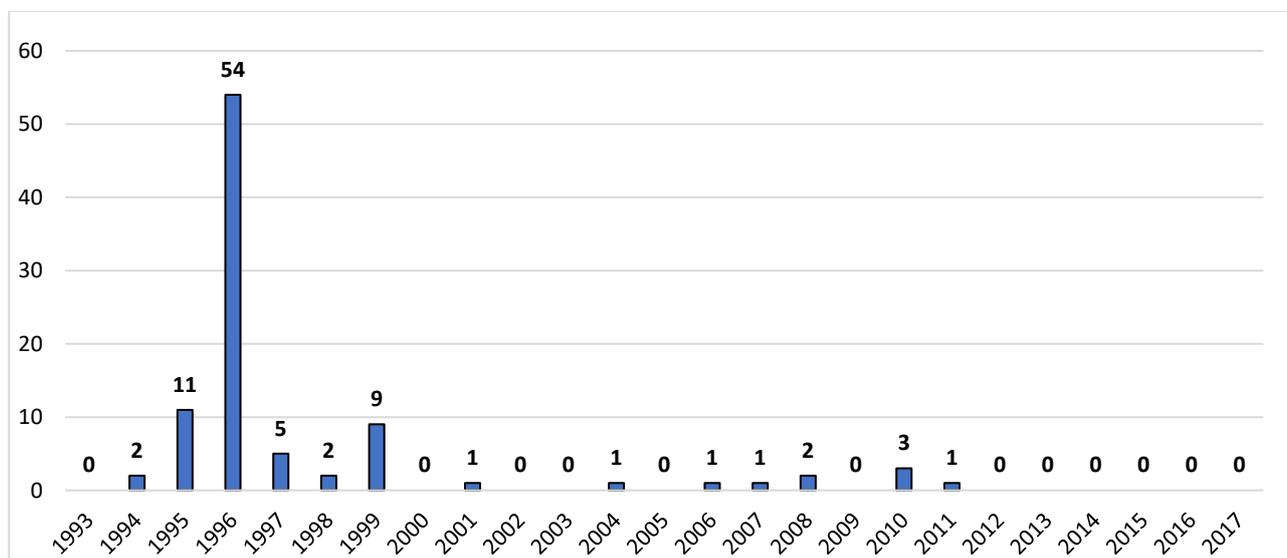


Grafico 3: Inventario unità con TNC <50x10⁷ suddiviso per anno di bancaggio.

L'analisi è stata condotta su 93 unità

c. Caratterizzazione dell'inventario in termini di TNC e contenuto di cellule CD34+

Al fine di caratterizzare ulteriormente le unità SCO con TNC $<50 \times 10^7$ e $\leq 100 \times 10^7$, queste sono state analizzate anche in base al contenuto di cellule CD34+ (**tabella 4**). Il contenuto medio di cellule CD34+ delle unità con TNC $<50 \times 10^7$ è inferiore a 2×10^6 (media \pm DS: 1.72 ± 1.13)

Tabella 4

	TNC $<50 \times 10^7$		$50 \leq \text{TNC} \leq 100 \times 10^7$	
	TNC $\times 10^7$ (n=97)	CD34 $\times 10^6$ (n=64)	TNC $\times 10^7$ (n=7430)	CD34 $\times 10^6$ (n=6189)
Media \pm Dev Std	4.20 \pm 0.77	1.72 \pm 1.13	8.50 \pm 2.03	2.55 \pm 1.49
Mediana	4.47	1.36	8.72	2.21
Minimo	0.78	0.27	5	0.07
Massimo	4.99	5.27	10	9.80

d. Unità con TNC $\leq 100 \times 10^7$ richieste, rilasciate ed utilizzate per trapianto.

Dall'inizio delle attività di rilascio delle unità cordonali da parte delle banche afferenti all'ITCBN al 31 dicembre 2018 sono state selezionate per trapianto 48 unità con TNC $\leq 100 \times 10^7$ e, di queste, 43 sono state rilasciate (pari al 4.5%, su un totale di 953 unità). Delle unità rilasciate, 41 (95%) sono state effettivamente trapiantate (36 per uso pediatrico e 5 nell'adulto). Nel grafico 4 sono riportate le unità con TNC $\leq 100 \times 10^7$ richieste, rilasciate ed utilizzate per anno.

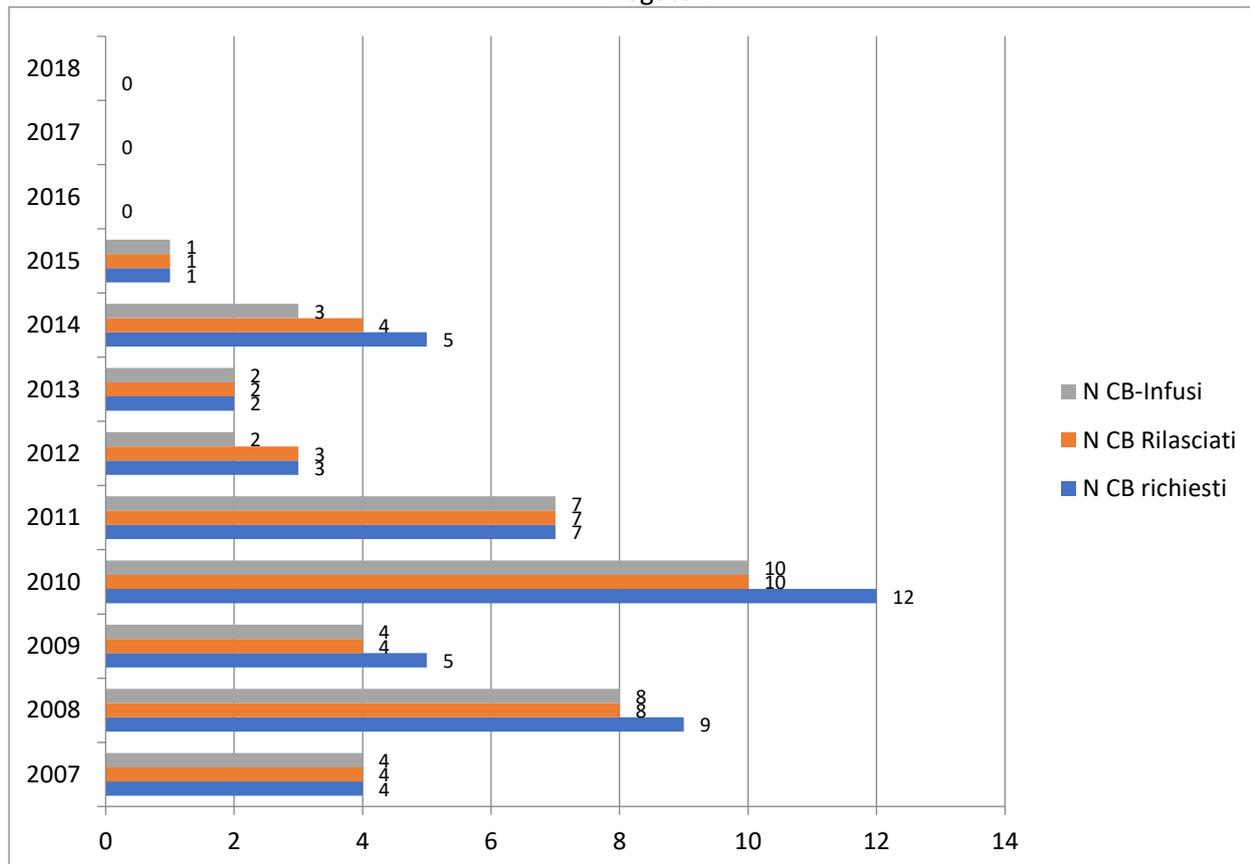


Grafico 4: unità con $TNC \leq 100 \times 10^7$ richieste, rilasciate ed utilizzate/anno.

e. Analisi dei costi di crioconservazione

Rispetto al tempo di conservazione, il 66.6% (4579/6876) delle unità con TNC comprese tra 50×10^7 e 100×10^7 e il 92.5% delle unità con $TNC < 50 \times 10^7$ risultano conservate da più di 10 anni. Tali unità, la cui possibilità di rilascio per finalità terapeutiche è del tutto remota, producono per le Banche un costo di mantenimento negli spazi freddi stimato rispettivamente di oltre 3 milioni di euro per le prime e di circa 57.000 euro per le seconde.

f. Analisi aplotipo

L'analisi delle frequenze aplotipiche, effettuata da IBMDR al fine di identificare le unità con aplotipo poco rappresentato sull'inventario delle unità con $TNC < 100 \times 10^7$ esposte al 31 dicembre 2018, dimostra la presenza di circa 2.700 unità (su un totale di 9.014, 30%) con frequenze poco rappresentate e di circa 200 unità con fenotipo molto comune.

Approccio metodologico per analisi aplotipi

Poichè le unità SCO con scarsa cellularità sono state bancate molti anni fa, la tipizzazione era prevalentemente eseguita con tecniche sierologiche o, se su DNA, parziale e/o a bassa risoluzione. Per rendere i dati HLA più omogenei possibili, è stato pertanto necessario riconvertire tutte le tipizzazioni nei



Allegato 1

corrispondenti aplotipi, in accordo alla metodologia raccomandata dal Word Marrow Donor Association (Hurley CK et al. Hematopoietic stem cell donor registry strategies for assigning search determinants and matching relationships. Bone Marrow Transplant. 2004;33:443), in modo da poter paragonare la frequenza degli aplotipi nell'ambito delle 35.944 unità SCO presenti nell'inventario ITCBN esposto al Registro al 31/12/2018. I dati di frequenza degli aplotipi sono stati elaborati con il programma Arlequin 3.5 e sono state definite le soglie di frequenza sulla base dei percentili 5° e 10° e del 1° quartile.

Partendo dal fenotipo delle unità SCO con TNC $<100 \times 10^7$ oppure con TNC "missing" (N=9014), attraverso specifico algoritmo, sono stati generati tutti i possibili aplotipi, ai quali è stata abbinata la frequenza calcolata. Agli aplotipi che non rientrano nell'elenco di quelli con frequenza > 0 , è stato imposto "frequenza = 0".

Tutte le unità con almeno un aplotipo con frequenza inferiore alla soglia stabilita sono state identificate come unità "RARE" e listate nel file CB_aplotipi rari.xls, divise a seconda dei diversi percentili, generando rispettivamente:

- Aplotipi Freq < 0.000008 (p05) **2.763** unità con almeno un aplotipo "raro"
- Aplotipi Freq < 0.000013 (p10) **2.946** unità con almeno un aplotipo "raro"
- Aplotipi Freq < 0.000026 (q25) **3.293** unità con almeno un aplotipo "raro"

Ci sono 200 unità SCO con almeno un allele HLA comune che non sono state inserite nel calcolo.