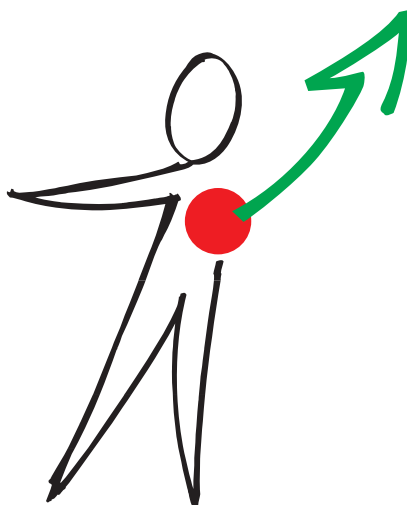


Attività di donazione e trapianto di organi, tessuti e cellule



IMMUNOGENETICA DI RIFERIMENTO REGIONALE PER IL TRAPIANTO DI CELLULE STAMINALI EMOPOIETICHE E PER IL TRAPIANTO D'ORGANO SOLIDO NON RENALE

ATTIVITÀ DI IMMUNOGENETICA

L'attività di Immunogenetica del Policlinico S.Orsola-Malpighi viene svolta presso la Struttura Semplice di Immunogenetica accreditata dal 1997 dalla Federazione Europea di Immunogenetica (EFI) ed è Centro di Riferimento Regionale per le attività connesse al trapianto di cellule staminali emopoietiche e al trapianto d'organo solido non renale.

È inoltre sede del Registro Regionale dei Donatori di Midollo Osseo per il coordinamento dei Centri Donatori di Ravenna, Ferrara, Modena, Reggio Emilia, Parma e Piacenza e collabora attivamente con l'Associazione Donatori di Midollo Osseo (ADMO) e il Centro Regionale Trapianti nel perseguire gli obiettivi del Registro Regionale.

Svolge le proprie prestazioni per:

- Centro Trapianti di Cuore, Policlinico S.Orsola Malpighi
- Centro Trapianti di Fegato e Multiorgano, Policlinico S.Orsola Malpighi
- Centro Trapianti di Polmone, Policlinico S.Orsola Malpighi
- Centro Trapianti di Fegato, Policlinico Modena
- Centro Trapianti di Rene, Policlinico S.Orsola-Malpighi
- Centro Trapianti di Midollo Osseo, Istituto di Ematologia, Policlinico S.Orsola Malpighi
- Centro Trapianti di Midollo Osseo, Ematologia, Policlinico di Modena
- Centro Trapianti di Midollo Osseo, Ematologia, Reggio Emilia
- Centro Trapianti di Midollo Osseo, Oncoematologia Pediatrica, Policlinico S.Orsola Malpighi
- Banca del Sangue Cordonale della Regione Emilia-Romagna.

Attività primaria dell'Immunogenetica è quella di identificare il donatore più compatibile per i pazienti candidati al trapianto di cellule staminali emopoietiche e d'organo solido.

Il laboratorio si è specializzato nella selezione del donatore familiare e da Registro per il trapianto di cellule staminali emopoietiche con indagini genomiche di terzo livello mediante sequenza; per il trapianto d'organo solido impiega protocolli di selezione del donatore e di monitoraggio per il trapianto di fegato-intestino, cuore-polmone, rene da donatore vivente mediante indagini di terzo livello in citofluorimetria Luminex.

Il Laboratorio di Immunogenetica, come richiesto per l'Accreditamento EFI, partecipa ai controlli di qualità organizzati dall'Istituto Superiore di Sanità (ISS) per la tipizzazione genomica in bassa e alta risoluzione, per la ricerca degli anticorpi anti-HLA con le tecniche di linfocitotossicità, citometria Luminex e per il cross-match in linfocitotossicità.

Centro Trapianti di Cuore, Bologna

Inserimento in lista

Nel corso del 2010 sono stati tipizzati per il sistema HLA 65 pazienti con tecniche in biologia molecolare per il Sistema HLA di classe I e II.

Per ogni paziente è stata inoltre eseguita la ricerca degli anticorpi anti-HLA per un totale di 1096 test di linfocitotossicità e 1096 test in citometria a flusso con metodica Luminex.

Nei pazienti in assistenza ventricolare che richiedono un inserimento in lista di trapianto in urgenza vengono garantiti i test di immunogenetica (tipizzazione HLA Classe I e II, ricerca anticorpi anti-HLA) in 24 ore.

Al momento della segnalazione del donatore sono stati eseguiti 19 cross-match donatore-paziente tra adulti e pediatrici verificando la compatibilità sia con il siero storico che con quello prelevato prima del trapianto.

Attività nei pazienti in lista

Dal 2010 in accordo con i Colleghi dell'Istituto di Cardiologia e dell'Istituto di Cardiocirurgia i pazienti in attesa di trapianto di cuore vengono studiati semestralmente per la ricerca degli anticorpi anti-HLA al fine di garantire una migliore gestione dell'assegnazione dell'organo nel momento della segnalazione di un donatore.

I pazienti che nel monitoraggio pre-trapianto presentano anticorpi anti-HLA evidenziabili solo con metodica Luminex vengono studiati mediamente ogni 3 mesi in citotossicità e in Luminex per monitorare nel tempo l'attività biologica dell'anticorpo.

Monitoraggio Post-trapianto

Nel 2010 l'attività di monitoraggio nei pazienti trapiantati si è andata consolidando ed estendendo per la prevenzione del rigetto acuto e cronico o su indicazione clinica. Vengono studiati inizialmente per la ricerca degli anticorpi anti-HLA in Luminex e successivamente per identificare la specificità anticorpale se diretta verso antigeni dell'organo trapiantato. Questo test fornisce un importante supporto al clinico per la decisione di iniziare un trattamento terapeutico con plasma-exchange.

Nel corso del 2010 sono stati effettuati 760 test sia come monitoraggio post-trapianto che per valutare l'efficacia del plasma-exchange.

Centro Trapianti di Fegato e Multiorgano, Bologna

Nel corso del 2010 sono stati tipizzati per il sistema HLA 142 candidati a trapianto di fegato e 7 candidati a trapianto d'intestino con tecniche in biologia molecolare per il Sistema HLA di classe I e II.

Per ogni paziente è stata inoltre eseguita la ricerca degli anticorpi anti-HLA per un totale di 1464 test di linfocitotossicità e 1464 test in citometria a flusso con metodica Luminex.

Sono stati eseguiti complessivamente 62 cross-match per il trapianto di fegato tra donatore-paziente verificandone la compatibilità.

Centro Trapianti di Polmone, Bologna

Nel corso del 2010 sono stati tipizzati per il sistema HLA 7 pazienti con tecniche in biologia molecolare per il Sistema HLA di classe I e II.

Per ogni paziente è stata inoltre eseguita la ricerca degli anticorpi anti-HLA per un totale di 104 test di linfocitotossicità e 140 test in citometria a flusso con metodica Luminex.

È stato eseguito 1 cross-match donatore-paziente verificando la compatibilità sia con il siero storico che con quello prelevato prima del trapianto.

Centro Trapianti di Rene, Bologna

Nel corso del 2010 sono stati tipizzati per il sistema HLA 159 candidati a trapianto di rene con tecniche in biologia molecolare per il Sistema HLA di classe I e II per l'inserimento nella lista unica regionale per il trapianto di rene da cadavere.

I pazienti con segni clinici di rigetto sono stati studiati per la ricerca degli anticorpi anti-HLA in citometria a flusso con metodica Luminex per un totale di 336 test.

Per il programma di trapianto renale da donatore vivente sono state effettuate 39 tipizzazioni tra pazienti e relativi donatori. Per questo programma sono state inoltre eseguite 344 ricerche di anticorpi anti-HLA in citofluorimetria e 24 cross-match in citotossicità.

Per migliorare l'accesso allo studio immunogenetico pre-trapianto è stato sviluppato un nuovo protocollo che sfrutta l'alta sensibilità della ricerca anticorpale per singolo antigene rispetto al cross-match in citofluorimetria. L'ottica del protocollo è indirizzata verso un cross-match virtuale che rappresenta una recente scelta nella politica trapiantologica internazionale.

Centro Trapianti di Fegato, Modena

Nel corso del 2010 sono stati tipizzati per il sistema HLA 41 candidati a trapianto di fegato con tecniche in biologia molecolare per il Sistema HLA di classe I e II.

Per ogni paziente è stata inoltre eseguita la ricerca degli anticorpi anti-HLA per un totale di 448 test di linfocitotossicità e 448 test in citometria a flusso con metodica Luminex.

Sono stati eseguiti 37 cross-match donatore-paziente verificandone la compatibilità.

Trapianti Combinati, Bologna e Modena

Nel corso del 2010 sono stati tipizzati 11 candidati a trapianto combinato con tecniche in biologia molecolare per il Sistema HLA di classe I e II e precisamente: a Bologna 4 cuore-fegato, 1 cuore-rene, 5 fegato-rene e a Modena 1 fegato-rene.

Per ogni paziente è stata inoltre eseguita la ricerca degli anticorpi anti-HLA per un totale di 88 test di linfocitotossicità e 88 test in citometria a flusso con metodica Luminex.

Sono stati inoltre eseguiti 5 cross-match trapianti combinati.

Registro regionale dei Donatori di Midollo Osseo, Bologna

La sede del Registro Regionale dei Donatori di Midollo Osseo della Regione Emilia-Romagna è presso la Struttura Semplice di Immunogenetica del Policlinico S.Orsola-Malpighi al quale sono collegati i 6 Centri Donatori Periferici (Ravenna, Ferrara, Modena, Reggio-Emilia, Parma e Piacenza).

Oltre alle sue funzioni organizzative e di coordinamento regionale svolge attività di immunogenetica (tipizzazioni molecolari di conferma e in alta risoluzione) per i Centri Donatori di Modena, Reggio-Emilia, Piacenza e Ravenna.

Il 29 aprile 2010 è stato siglato l'Accordo Stato Regione per la definizione del funzionamento del Registro Nazionale dei Donatori di Midollo Osseo (IBMDR) e la identificazione delle attività specifiche dei Registri Regionali, dei Centri Donatori e dei Poli di Reclutamento che coinvolti nella ricerca di donatori di Cellule Staminali Emopoietiche non consanguinee, sono disciplinati dagli Standard di funzionamento IBMDR, annualmente aggiornati ed adeguati agli avanzamenti tecnologici e scientifici del Registro Nazionale.

La necessità di mantenere l'Accreditamento BMDW da parte dell'IBMDR ha richiesto una conferma delle attività legate ai donatori nei diversi centri della Regione e l'ufficializzazione dei Poli di Reclutamento di Forlì, Cesena, Rimini che si aggiungono ai Centri Donatori di Bologna, Ravenna, Ferrara, Modena, Reggio Emilia, Parma, Piacenza.

Dal giugno 2007 è stata allargata la fascia di età per l'iscrizione dai 35 ai 40 anni e questo ha permesso di mantenere in attivo le nuove iscrizioni rispetto alle dimissioni per raggiunti limiti di età, motivi clinici o irrimediabilità del donatore.

L'obiettivo condiviso con ADMO e CRT di nuovi 1000 donatori nel 2001 in Regione è stato superato alla fine di ottobre raggiungendo complessivamente i 40.004.

Soddisfazione anche nella distribuzione per età dei nuovi iscritti che sono rappresentati mediamente da un 33% per la fascia dai 18 ai 25, un 40% dai 26 ai 35 e un 27% dai 36 ai 40 anni.

Il Registro Regionale mantiene quindi una percentuale di circa il 73% di nuovi donatori con età inferiore ai 35 anni e un 27% dai 36 ai 40 che rappresentano un pool di donatori che rimarranno comunque

iscritti nel Registro per almeno 15-19 anni e la possibilità di mantenere numericamente in attivo il Registro rispetto alle dimissioni.

Inoltre dal 1° luglio la tipizzazione HLA dei nuovi iscritti è stata rivista aggiungendo il locus HLA-C in bassa risoluzione e il Locus DRB1 in alta risoluzione: questo passaggio si è reso necessario perché una tipizzazione più approfondita potrà agevolare la ricerca del donatore per il paziente ematologico. Le tipizzazioni senza questi nuovi requisiti non possono più essere inserite nel software gestionale dell'IBMDR.

Pertanto in attesa che i centri già Accreditati EFI abbiano anche il riconoscimento per la tipizzazione in alta risoluzione del locus DRB1, i CD di Bologna e Parma hanno compensato rispettivamente i CD di Modena/Piacenza e Reggio-Emilia fino al 31 dicembre 2010.

Dopo 6 mesi dalla decisione della Consulta Nazionale di inserire dati tipizzati con questa nuova definizione, più del 70% dei donatori iscritti nel corso dell'anno presenta queste caratteristiche a conferma che la rete Regionale ha prontamente risposto a quanto richiesto.

È comunque necessario che per continuare l'attività di Immunogenetica i laboratori dei Centri Donatori abbiano l'accreditamento EFI per la tipologia di prestazioni richieste dal Registro per l'inserimento dei nuovi iscritti.

A tal riguardo la Consulta Nazionale, su Richiesta del Centro Nazionale Trapianti, ha approvato che dal 2010 i Laboratori che tipizzano per il Registro dovranno documentare una attività di 100 campioni/anno finalizzati al trapianto di cellule staminali emopoietiche. Per tale motivo il Registro Regionale censirà annualmente le attività dei Laboratori per certificarle al Registro Nazionale sia come numero di campioni che per tipologia.

I donatori attivi nel Registro Regionale dell'Emilia-Romagna sono in totale 40.004 di cui 1250 iscritti nel 2010 ed introdotti con la tipizzazione di classe I e II.

L'attività complessiva delle tipizzazioni del 2010 suddivisa per Centri di tipizzazione è riassunta nella seguente tabella per un totale di 2857 tipizzazioni.

	BO	FE	MO	PC	PR	RA	RE
Classe I	276	105	236	202	223	103	105
Classe II	324	111	266	244	239	113	122
Tipizzazioni ALTA RISOLUZIONE	141	11	-	-	36	-	-
Totale/CD	741	227	502	446	498	216	227

Nel corso del 2010 la Struttura Semplice di Immunogenetica del Policlinico S.Orsola-Malpighi ha eseguito le tipizzazioni molecolari in alta risoluzione di Classe I e II per Modena, Piacenza, Ravenna e di classe I per Ferrara e Parma.

Dal 1989 al 2010 hanno donato le cellule staminali emopoietiche o da midollo o da sangue periferico 218 donatori per 91 pazienti esteri e 127 italiani di cui 15 nel 2010 per 10 pazienti italiani e 5 esteri. In particolare nel 2010 i donatori sono stati 4 a Bologna, 6 a Reggio Emilia, 1 a Modena, 1 a Parma, 2 a Piacenza e 1 a Ravenna.

Riqualificazione genetica del Registro Regionale

La strategia utilizzata per facilitare e ridurre i tempi della ricerca di un donatore potenzialmente compatibile inizia dal confronto della tipizzazione HLA del paziente con quella dei donatori più estesamente tipizzati.

In collaborazione con ADMO è stato presentato alla Fondazione Cassa di Risparmio in Bologna un progetto di riqualificazione genetica che è stato oggetto di finanziamento per il 2010 con la finalità di

migliorare i dati genetici della tipizzazione di 350 donatori iscritti negli anni precedenti con l'aggiunta del locus C in bassa e del DRB1 in alta risoluzione.

Trapianto di Cellule Staminali Emopoietiche

La Struttura Semplice di Immunogenetica esegue i test per la compatibilità per il trapianto di midollo osseo in biologia molecolare in alta risoluzione dei loci HLA di Classe I e Classe II per tutti i Centri Trapianti della Regione. Nel corso del 2010 sono stati tipizzati 290 campioni per HLA classe I e II per pazienti ematologici e familiari per la ricerca del donatore compatibile.

Per i pazienti ematologici senza un donatore compatibile familiare sono state eseguite n. 110 tipizzazioni per attivare la ricerca di un donatore compatibile volontario da registro secondo gli standard richiesti dal Registro Nazionale (IBMDR) che richiede una alta risoluzione per Classe I e II per velocizzare la ricerca del donatore più compatibile nei Registri Internazionali.

Sono stati eseguiti 235 test di compatibilità finale pre-trapianto della coppia paziente-donatore sia per trapianto correlato che non correlato, in particolare per 169 pazienti del Centro Trapianti dell'Ematologia di Bologna, per 20 pazienti del Centro Trapianti dell'Ematologia di Modena, per 35 dell'Oncoematologia Pediatrica di Bologna e per 11 dell'Ematologia di Reggio Emilia.

Come Centro di Riferimento Regionale per la tipizzazione, lo studio finale del test di compatibilità finale viene eseguito mediante la tecnica del sequenziamento del DNA che permette una valutazione complessiva della sequenza nucleotidica dei loci genetici HLA sia di Classe I che di Classe II coinvolti nella valutazione della compatibilità trapiantologica.

Inoltre lo studio dell'attecchimento midollare nei trapianti mediante la tecnica dei microsatelliti si è sempre più consolidato e ha visto un aumento del 100% delle richieste nel 2010 con l'esecuzione di 334 esami studiando almeno 10 loci differenti in ogni campione esaminato.

Le unità di sangue cordonale della Banca del Sangue Cordonale della Regione Emilia-Romagna e tipizzate in biologia molecolare per classe I in bassa risoluzione e classe II in alta risoluzione sono state 767, mentre 70 unità, su richiesta dell'IBMDR, sono state tipizzate in alta risoluzione per i loci di Classe I e/o di Classe II.

Controllo di qualità di Immunogenetica dei donatori di midollo

Nel 2010 è stato effettuato con coordinamento del Centro di Riferimento della Regione Toscana il controllo di qualità interregionale della tipizzazione del sistema HLA. La Regione Toscana si è fatta carico dell'invio dei campioni ed è in corso l'elaborazione dei risultati nel 2010, mentre dal 2011 sarà il Centro di Riferimento dell'Emilia-Romagna a gestire l'organizzazione.

Il controllo di qualità per la tipizzazione del sistema HLA è stato organizzato secondo gli standard previsti dalla Fondazione Europea di Immunogenetica per consentire ai Laboratori interessati di richiedere l'Accreditamento alle Società Scientifiche.

Al controllo hanno partecipato tutti i laboratori della Regione ai quali sono state inviati complessivamente 10 campioni per la tipizzazione in biologia molecolare in bassa risoluzione per i loci HLA-A, HLA-B, HLA-C di classe I e HLA-DRB1 e HLA-DQB1 di classe II.

Fiorenza Fruet, Sandra Iannelli, Andrea Bontadini

Plasma-exchange nel trapianto cardiaco e renale

Nel corso del 2010 nei pazienti trapiantati di cuore e rene con evidenza di rigetto umorale clinico e laboratoristico è stato introdotto il trattamento terapeutico con plasma-exchange in aggiunta alla terapia immunosoppressiva per la rimozione degli anticorpi anti-HLA. Sono state effettuate 18 procedure in 4 pazienti trapiantati di cuore e 22 trattamenti in 5 pazienti trapiantati di rene.

Valeria Giudice e Pasqualepaolo Pagliaro