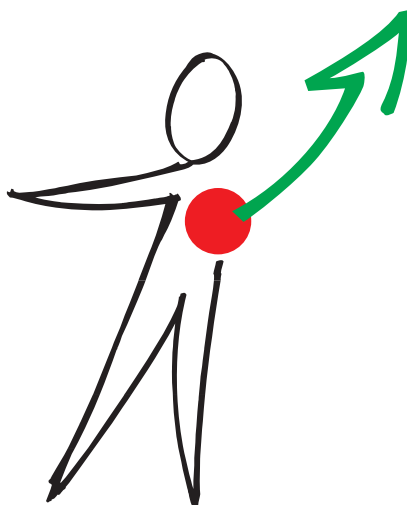


Attività di donazione e trapianto di organi, tessuti e cellule



I Donatori con valori di PSA patologico e con esame rettale negativo non sono stato oggetto di valutazione istologica in quanto la consulenza telefonica con il Prof. Grigioni ("second opinion" per la sicurezza neoplastica per il CNT) ha permesso la donazione con una valutazione di rischio valutata secondo i criteri clinici internazionali in uso corrente nella patologia neoplastica della prostata.

Attività svolta per altri Centri Trapianto Nazionali

L'U.O. è il riferimento nazionale per tutti i Centri di trapianto italiani per condizioni clinico-patologiche particolarmente complesse o richiedenti metodiche di laboratorio specifiche. Il Laboratorio di Patologia Molecolare e dei Trapianti del Prof Grigioni -unica struttura autorizzata sul territorio nazionale-, ha ottimizzato e validato metodiche molecolari in grado di monitorare il rischio specifico di trasmissione neoplastica in pazienti che hanno ricevuto accidentalmente organi da donatori portatori di neoplasie accertate dopo il trapianto. Campioni di sangue prelevati periodicamente a questi pazienti convergono da tutto il territorio nazionale per la determinazione delle cellule tumorali circolanti e del DNA tumorale circolante.

Nel 2010 sono stati effettuati:

1 caso di monitoraggio CTC in paziente trapiantato di fegato con donatore con carcinoma della prostata, 36 casi di HCV RNA in pazienti trapiantati per la valutazione della recidiva di epatite HCV

Il Prof W.F. Grigioni, in qualità di responsabile nazionale della sicurezza in ambito neoplastico, ha effettuato, durante, il 2010, **194 prestazioni di "second opinion" in ambito AIRT, OCST, NITp e CNT.**

Attività svolta per la banca dei segmenti vascolari

L'U.O. svolge attività di valutazione qualitativa prima e dopo criopreservazione dei segmenti vascolari destinati all'allograpianto. Di ogni segmento vascolare vengono eseguite indagini di istochimica (fibre elastiche, Van Gieson, tricromica di Masson). Queste metodiche vengono applicate routinariamente su campioni freschi e criopreservati.

Attività di ricerca finalizzata con applicazione a breve termine

Il Laboratorio di Patologia Molecolare dei Trapianti è impegnato in una serie di progetti di ricerca finalizzati al monitoraggio ed al miglioramento delle procedure diagnostiche dei pazienti trapiantati.

Antonia D'Errico-Grigioni e Walter Franco Grigioni

ATTIVITÀ DI MICROBIOLOGIA

L'U.O. di Microbiologia (Prof.ssa Maria Paola Landini), contribuisce in maniera sostanziale alle attività di trapianto dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria Policlinico S. Orsola-Malpighi, conducendo un'intensa, continuativa e qualificata attività rivolta soprattutto verso:

- 1) Gli accertamenti di laboratorio per certificare l'idoneità "infettivologica" (meglio sarebbe dire "microbiologica") dei potenziali donatori
- 2) Gli accertamenti di laboratorio per l'ottimale gestione dei pazienti trapiantati in tutte le fasi post-operatorie
- 3) La ricerca e la formazione specifica del settore

1) La certificazione di idoneità "infettivologica" dei potenziali donatori

Nel corso del 2010 l'UO ha proseguito nelle attività di valutazione di idoneità "infettivologica" dei potenziali donatori garantendo l'esecuzione di un ampio pannello di indagini sierologiche e virologiche (Tabella 1MI), concordato con i Clinici a partire dal 1999 e che supera le indicazioni di legge.

Test sierologici eseguiti in urgenza	Test molecolari eseguiti in urgenza	Test sierologici e molecolari eseguiti anche dopo trapianto
Lue (CMIA,TPHA, RPR)	HIV –RNA NAT	Anticorpi anti-CMV IgG e IgM
Anticorpi anti-HIV 1 e 2	HCV -RNA NAT	Anticorpi anti-TOXO IgG e IgM
Antigene HIV p24	HBV- DNA NAT	Anticorpi anti-HSV-1 e 2 IgG
Anticorpi anti-HBs	Influenza H1N1-RNA pdm	Anticorpi anti-VZV IgG
Antigene HBs		Anticorpi anti EBV IgG e IgM
Anticorpi anti-HBc totali		Anticorpi anti HHV8 IgG (EIA, IIF)
Anticorpi anti-HBc IgM		Test avidità IgG anti TOXO
Anticorpi anti-HBe		Test avidità IgG anti CMV
Antigene HBe		Anticorpi anti-HCV (RIBA)
Anticorpi anti HCV		Anticorpi anti HTLV I/II (WB)
Anticorpi anti-HDV		HBV-DNA PCR quantitativa
Antigene HDV		HCV-RNA PCR quantitativa
Anticorpi anti HTLV I/II		HCV genotipi
		HERPESVIRUS-DNA PCR RealTime
		TOXO–DNA PCR Real Time
		West Nile Virus-RNA NAT

Tabella 1MI Le indagini effettuate.

Questa attività, svolta in un servizio di pronta disponibilità 24 ore su 24, ha garantito il controllo infettivologico di tutti i potenziali donatori per 365 giorni all'anno. I dati analitici relativi a questa attività sono riportati in Tabella 2MI.

	2009	2010
N. richieste pervenute e soddisfatte	285	330
N. totale indagini eseguite	997	951
<i>RNA-HIV</i>	89	89
<i>RNA-HCV</i>	92	90
<i>RNA-HCV test quantitativo</i>	3	1
<i>RNA-HCV genotipo</i>	2	1
<i>DNA-HBV</i>	89	90
<i>DNA-HBV test quantitativo</i>	5	6
<i>RNA- West Nile Virus</i>	41	53
<i>DNA-HSV1</i>	2	1
<i>DNA-HSV2</i>	2	1
<i>DNA-TOXO</i>	1	1
<i>RNA-Influenza H1N1 pdm</i>	1	0
N. totale indagini molecolari eseguite	327	333
N. test positivi Ab anti HBc tot	30	16
N. test positivi IgM anti HBc	0	0
N. test positivi Ab anti HBe	2	2
N. test positivi HBsAg	3	0
N. test positivi Ab anti HCV	2	2
N. test positivi Ab anti HIV 1 -2 e Ag p24	0	0
N. test positivi Lue (CMIA/TPHA/RPR)	3	0

Tabella 2MI Risultati complessivi dell'attività svolta dall'Unità Operativa di Microbiologia nell'ultimo biennio.

Attività in urgenza

Come si può notare, nel 2010 si è avuto un aumento del 16% del numero di richieste pervenute alla UO di Microbiologia e da essa soddisfatte, una diminuzione invece del 5% è stata registrata per il numero di indagini eseguite rispetto a quelle del 2009 (si vedano anche le Figure 1MI e 2MI). La motivazione di questa apparente incongruenza è legata da una parte alla diminuzione delle valutazioni sierologiche eseguite, in quanto questa tipologia di indagine è stata più frequentemente condotta dalle strutture periferiche e dall'altra alla richiesta da parte del CRT-ER di valutare in urgenza con i test molecolari per HIV-HBV-HCV, tutti i donatori di organi nei quali vengono prelevati anche i tessuti; nel 2010 sono stati valutati in urgenza con i test molecolari 89 donatori. Questa tipologia di indagine non è stata compiuta dai laboratori periferici, ma concentrata presso la UO di Microbiologia di Bologna al fine di ottenere una maggiore sicurezza infettivologica dei donatori. Di fatto, le linee guide del 9 giugno 2008 diffuse dal Centro Nazionale Trapianti (CNT) includono queste indagini supplementari esclusivamente qualora l'anamnesi, l'esame obiettivo e/o i risultati dei primi esami di laboratorio abbiano fatto emergere dubbi sull'idoneità alla donazione.

Nel 2010 sono stati eseguiti per approfondimento diagnostico, 333 test molecolari di cui 96 (28.8%) dedicati alla ricerca del DNA di HBV, 92 (29.6%) alla ricerca dell'RNA di HCV, 89 (26.7%) alla ricerca dell'RNA di HIV e 53 (15.9%) alla ricerca di RNA-West Nile Virus. Quindi un totale complessivo maggiore rispetto a quello del 2009 (Tabella 2MI).

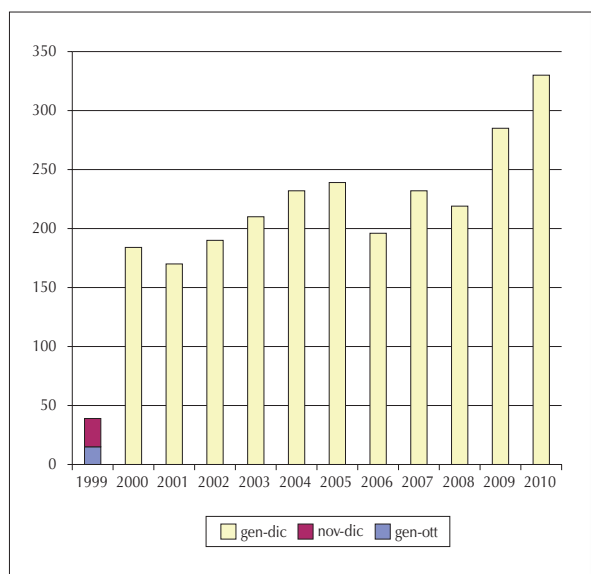


Figura 1MI Numero richieste pervenute e soddisfatte 1999-2010.

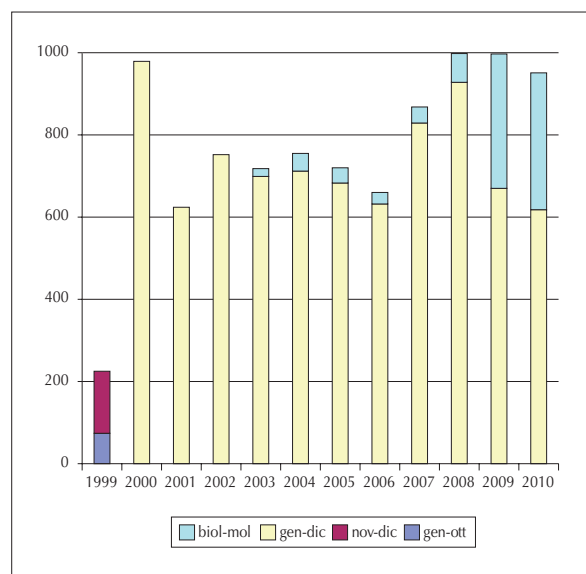


Figura 2MI Numero di analisi eseguite 1999-2010.

Donatori marginali

Se poniamo particolare attenzione ai dati relativi ai donatori positivi per le infezioni da Virus dell'Epatite B (HBV) (vedi Tabella 2MI), notiamo che 16 campioni sono risultati positivi per la ricerca di anticorpi anti HBc e anti HBe.

Due campioni sono risultati positivi per la ricerca di IgG anti Virus dell'Epatite C (HCV).

Questi dati evidenziano l'accettazione di donatori anche in presenza di potenziale o riscontrata positività per HBV e per HCV.

Stabile è risultata la positività unica di anticorpi diretti verso l'antigene di superficie di HBV (HBsAb), confermando la presenza, tra i donatori, di soggetti vaccinati.

Estensione dello screening

Nel 2005 lo screening con test molecolari è stato esteso ai donatori di sole cornee e nel 2008 alle donatrici di cordoni ombelicali. In totale sono state 745 le donazioni controllate per un totale di 2231 test molecolari eseguiti per la ricerca di HIV, HCV, HBV.

209 invece, sono stati i donatori di cornee controllati per il West Nile Virus (WNV) durante il periodo di sorveglianza dell'infezione, 15 luglio-15 novembre 2010.

Al fine di aumentare la sicurezza infettivologica delle donazioni di cordone, oltre alle ricerche sierologiche classiche (anticorpi anti HIV, HCV, HBV, CMV, TOXO etc.) condotte nei campioni di plasma/siero delle donatrici è stata eseguita anche la ricerca di anticorpi anti HTLV I e II e i 258 campioni valutati sono risultati tutti negativi.

Casi particolari

1. Per quanto riguarda gli altri test sierologici rilevatisi positivi, essi si sono mantenuti entro numeri fisiologici e riguardano soprattutto la presenza di anticorpi della classe G (IgG) anti Citomegalovirus (CMV), anti *Toxoplasma gondii* (TOXO) e anti Epstein Barr Virus (EBV). Risultati completamente negativi si sono avuti per la ricerca di anticorpi di classe M (IgM) anti EBV, mentre due campioni sono risultati uno positivo ed uno borderline per la ricerca di IgM anti TOXO. Sono stati eseguiti inoltre test di avidità delle IgG sia per TOXO che per CMV e in tutti i casi sono stati ottenuti risultati di alta avidità accertando così che i donatori al momento della donazione non presentavano un'infezione acuta di tipo primario da TOXO o CMV.
2. Nel corso del periodo di sorveglianza dell'infezione da WNV (15 luglio – 15 novembre 2010) sono stati controllati 53 donatori di organi/tessuti residenti (o che avevano trascorso almeno una notte negli ultimi 28 giorni prima della donazione) nelle regioni Emilia Romagna ed altre indicate a rischio; tutti i campioni sono risultati negativi.

Inoltre, 34 sono stati i donatori di organi/tessuti provenienti dalla regione Toscana e controllati per la ricerca di RNA-WNV dall'UO di Microbiologia come da indicazioni del CNT per l'anno 2010. Il protocollo d'intesa indicava a tutte le regioni non in grado di attuare una sorveglianza dei donatori con metodo molecolare, di fare riferimento ai laboratori di Microbiologia dell'Azienda Ospedaliero-Universitaria di Bologna e dell'Istituto Nazionale Malattie Infettive "L. Spallanzani di Roma sulla base della contiguità geografica. Anche in questo caso nessun donatore è risultato positivo.

Questa attività è stata svolta con tempi di esecuzione entro le 72 ore dalla donazione, in quanto lo stesso CNT ha stabilito che la positività alla viremia WNV non si deve considerare un elemento bloccante la donazione.

Tale regola si basa su un'esperienza pregressa del 2009 che ha dimostrato come una precoce determinazione della viremia di WNV nel ricevente di un organo solido infetto dia indicazioni sufficienti per il monitoraggio post-trapianto del paziente in modo da controllare la fase di disseminazione ematica dell'infezione e il rischio di sviluppo di patologia neuroinvasiva. Questi risultati sono stati oggetto di pubblicazione, *Morelli MC et al. Absence of neuroinvasive disease in a liver transplant recipient who acquired West Nile virus (WNV) infection from the organ donor and who received WNV antibodies prophylactically. Clin Infect Dis 2010, 51:e34-7.*

Infine, l'UO di Microbiologia ha collaborato con il CNT e l'Istituto Nazionale Malattie Infettive "L. Spallanzani" ad uno studio retrospettivo sulla diffusione dell'infezione da WNV nella popolazione nazionale dei donatori d'organo del 2009. Anche questi risultati sono stati oggetto di una pubblicazione, *Capobianchi MR et al. Italian Transplant Network. Retrospective screening of solid organ donors in Italy, 2009, reveals unpredicted circulation of West Nile virus. Euro Surveill 2010, 15 pii: 19648.*

2) La gestione dei pazienti trapiantati in tutte le fasi post-operatorie

Oltre a tutta l'attività condotta per l'accertamento di idoneità infettivologica, l'UO di Microbiologia svolge in routine una continuativa attività diagnostica, che non compare in questo report, che fornisce ai clinici dati fondamentali per prevenire e controllare i due fattori che condizionano fortemente l'evoluzione clinica del trapianto: il rigetto e le infezioni. Essi sono i due principali ostacoli al successo del trapianto, a breve e a lungo termine, e sono due processi intimamente associati e interdipendenti.

3) Ricerca e formazione specifica

Quanto riassunto nei punti precedenti, necessita ed è il risultato di un continuo avanzamento nelle conoscenze scientifiche (documentato da una costante e significativa attività scientifica, ben riconosciuta in campo nazionale ed internazionale), potenziamento delle risorse economiche e umane impegnate in tali compiti, attivazione di progetti di ricerca specifici.

L'UO di Microbiologia partecipa attivamente a due progetti finanziati dalla Regione Emilia-Romagna nell'ambito del Programma di Ricerca Regione-Università 2007-2009/Area 1a – Ricerca Innovativa “Trapianti”:

- Immune status of solid and bone marrow/stem cell transplant patients: application and validation of new tests in a coordinated regional management of the diagnosis and monitoring of post-transplant infectious complications.
- Immunological, virological and oncological follow-up of the liver recipients.

Compito della UO è anche quello formativo. A tale riguardo l'UO si è adoperata affinché si riuscisse, nell'anno accademico 2007-2008, a far sì che presso l'Università di Bologna fosse attivato il Master in “**Medicina e Sicurezza dei Trapianti**”. Il Master è organizzato in forma congiunta con l'Università dell'Insubria (Varese) e in collaborazione con il Centro Nazionale Trapianti e l'Università di Barcellona (Spagna).

Questo Master è il primo percorso di Alta Formazione (Master II livello) che punta a formare dei moderni professionisti sanitari (medici, biologi) che sviluppino importanti e nuove competenze per la gestione di tutto il processo di donazione e trapianto di organi e tessuti. Lo studente ha quindi la possibilità di acquisire i) capacità di stabilire il rischio clinico nel percorso di valutazione di idoneità alla donazione; ii) capacità di coordinare la donazione e il prelievo di organi e tessuti e di selezionare i riceventi; e iii) capacità di gestire tematiche immunologiche, cliniche e di laboratorio prima durante e dopo il trapianto.

Il Master ha concluso il suo ciclo nel marzo 2010 con una serie importante di attività ed ha diplomato dieci partecipanti che hanno dato valutazioni fortemente positive sulle attività organizzate da questo corso.

Maria Paola Landini