

# **PROTOCOLLO PER IL TRAPIANTO ABO-INCOMPATIBILE**

**(versione 04 Marzo 2010)**

**Stesura:**

**Dott Umberto Maggiore**

***Reparto Trapianti***

***UO Complessa di Nefrologia (Direttore Prof Carlo Buzio)***

***Azienda-Ospedaliero Universitaria di Parma***

***Parma***

## **VALUTAZIONE DONATORE E RICEVENTE**

La valutazione del donatore e ricevente ricalca quella che seguiamo normalmente per i comuni trapianti ABO compatibili.

Le principali differenze sono le seguenti:

- 1) Occorre verificare se il donatore di gruppo A è di gruppo A<sub>1</sub> o A<sub>2</sub> (il dato è necessario per determinare il titolo IgG e IgM anti-A/B nel ricevente, quando si usano le preparazioni "standard" di emazie invece delle emazie del donatore).
- 2) Al momento in cui si esegue il primo Crossmatch (CM) occorre anche determinare il titolo delle IgG e IgM rivolte contro l'emogruppo del donatore (anti-A e/o anti-B).

I gruppi A<sub>1</sub> e A<sub>2</sub> ed il titolo anticorpale del ricevente hanno implicazioni prognostiche sulle chance di successo della terapia desensibilizzante pre-trapianto.

La tecnica di titolazione preferibile è la metodica in gel (DIAMED) usando una preparazione di emazie del donatore piuttosto che una preparazione commerciale di emazie standard (vedi **ALLEGATO 1**)

## RIASSUNTO DEL PROTOCOLLO

L'obiettivo generale del protocollo terapeutico è di ridurre stabilmente il titolo anticorpale delle IgG contro il gruppo sanguigno del donatore (anti-A o anti-B) in maniera tale da giungere al momento del trapianto con un basso rischio di rigetto anticorpale.

Per realizzare questo obiettivo si rimuovono gli anticorpi tramite immunoassorbimento selettivo e se ne previene la nuova formazione ("rebound") tramite la terapia farmacologica. Il trattamento viene iniziato prima della data prevista per il trapianto e poi proseguito sino a che il titolo anticorpale IgG è <1:8. Solo se questa condizione viene raggiunta si può sottoporre il paziente a trapianto.

Il vantaggio dell'immunoassorbimento selettivo rispetto alla plasmaferesi è legato alla maggiore efficienza e al fatto che il plasma (che contiene i fattori coagulativi e le immunoglobuline) non viene rimosso ma invece restituito *in toto* al paziente. L'immunoassorbimento viene effettuato usando colonne Glycosorb (Glycorex, Lund, Svezia) costituite da una matrice di safariosio su cui sono legati i trisaccaridi che rappresentano la parte terminale della struttura molecolare del gruppo sanguigno. Le colonne sono gruppo-specifiche: per il trattamento di un paziente di gruppo 0 che riceve un rene da un donatore di gruppo A si dovranno usare colonne Glycosorb-A. In ciascuna sessione di immunoassorbimento vengono trattati almeno 2 volumi plasmatici ma si può arrivare sino a 3 volumi plasmatici (PV), qualora il paziente parta da un titolo anticorpale elevato (>1:128). I dettagli tecnici riguardanti l'immunoassorbimento, incluso il controllo dell'emostasi e delle alterazioni elettrolitiche che si possono associare al trattamento stesso sono descritti nell'**ALLEGATO 2**. Le sessioni di Immunoassorbimento pre-intervento verranno eseguite al Centro Trasfusionale. Quelle post-intervento e tutte le sessioni di emodialisi verranno eseguite nel Reparto Trapianti.

Le sessioni di immunoassorbimento sono previste per i giorni pre-intervento -6,-5,-2,-1 e nel, post-intervento, nei giorni +2,+5 e +8. Il trapianto viene eseguito di solito il mercoledì. Se dopo la sessione "-1", il titolo è superiore a 1:4 il trapianto viene rimandato al mercoledì successivo e programmate 4 ulteriori sessioni di immunoassorbimento pre-operatorie. Se malgrado queste sessioni aggiuntive, il titolo anticorpale rimane superiore al target desiderato, si considera la possibilità di rinunciare definitivamente ad eseguire il trapianto.

Nel post-operatorio le sessioni di immunoassorbimento aggiuntive (rispetto a quelle previste ai giorni +2,+5 e +8) vengono eseguite solo se il titolo aumenta di due step di diluizione o più, se il titolo è superiore a 1:8 nella prima settimana o a 1:16 nella seconda settimana e/o se vi è evidenza di rigetto acuto e/o ritardata ripresa funzionale.

Il monitoraggio del titolo anticorpale verrà effettuato tutti i giorni; la domenica solo su richiesta.

La terapia farmacologica consiste nella somministrazione di Rituximab (una singola dose di 375 mg/m<sup>2</sup> secondo le modalità indicate all'**ALLEGATO 3**) 30 giorni prima del trapianto. Ciò determina una transitoria ma completa deplezione delle cellule B (i precursori delle plasmacellule), con nadir entro 3 settimane. La terapia orale consiste nella somministrazione di tacrolimus (target 15 ng/mL), micofenolato-mofetile (MMF) 2g/die e metilprednisolone. Essa viene cominciata 10 giorni prima del trapianto. La sera del giorno "-1" si somministrano Ig ev 0.5 g/Kg (Ig vena 5%) per inibire ulteriormente la produzione anticorpale e proteggere il trapianto dal danno complemento-mediato provocato dagli anticorpi residui. E' inoltre utile ricordare che le Ig ev esercitano un'azione sinergica col Rituximab nella prevenzione del rigetto anticorpale. I boli di metilprednisolone ev vengono somministrati al momento del trapianto e nei due giorni successivi, come per abitudine del reparto. L' **ALLEGATO 4** riassume il protocollo di trattamento appena descritto.

La profilassi antimicrobica si fonda sul TMP-SMX 80-400 (una dose la sera per 6 mesi); Nistatina gel 4 mL ogni 6 ore per 1 mese (opzionale); Se il donatore è IgG CMV positivo e il ricevente IgG CMV negativo si somministra valganciclovir per 3 mesi e valaciclovir per i successivi 9 mesi. Altrimenti si somministra valaciclovir per 12 mesi. La posologia è dei due farmaci è illustrata nell' **ALLEGATO 5**. La profilassi tromboembolica, gastroprotettiva, e per l'osteoporosi ricalca quella per un trapianto standard. E' sconsigliata la vaccinazione anti-pneumococcica e anti-meningococcica. Al momento noi non consigliamo la vaccinazione anti-influenzale. In caso di diarrea, inviare sempre tre campioni di feci (tre giorni consecutivi) per la ricerca di Cl. Difficile.

Il trattamento aferetico e l'intervento chirurgico pongono il paziente a rischio di dover ricevere trasfusioni di emazie, plasma o piastrine. La strategia trasfusionale è volta ad evitare di somministrare plasma non compatibile con l'emogruppo del *donatore*. Essa è riassunta all'**ALLEGATO 6**. E' da ricordare che, nel caso il ricevente sia sottoposto ad emotrasfusione prima del trapianto, deve essere ripetuto un crossmatch pre-intervento.

Successivamente al trapianto può accadere che il paziente sviluppi Rigetto Acuto Anticorpale o Cellulare. Il trattamento del Rigetto Acuto Anticorpale è dettagliato all'**ALLEGATO 7**.

# **PROTOCOLLO DETTAGLIATO SECONDO I GIORNI DALL'INTERVENTO**

**Togliere il riferimento che fai peraltro a solo due allegati. Gli allegati sono già citati nel riassunto**

## **GIORNO – 30**

2° titolazione IgM e IgG verso l'emogruppo del donatore; 2° crossmatch (CM), esame fisico, emocromo ed esami ematochimici

- Rituximab 375 mg/m<sup>2</sup> (per la modalità di somministrazione vedi **ALLEGATO 3**)

Verificare che il paziente *non* sia in trattamento con ACE-inibitori (ACEI). Avvisare il paziente che i farmaci ACEI sono assolutamente controindicati quando si è sottoposti ad immunoadsorbimento con Glycosorb.

## **GIORNO – 11**

Ricovero: ECG, Rx Torace, emocromo ed esami standard, 3° CM; Conta CD19 e CD20. Verificare che il paziente che non sia in trattamento con ACEI.

## **GIORNO -10**

Inizia terapia con Tacrolimus, MMF e MP e inizia parte della profilassi antimicrobica.

-Il Tacrolimus ha come target livelli ematici di 15 ng/mL. La posologia iniziale oscilla pertanto da un massimo di 0.20 mg/Kg (se Hct < 35% e Alb < 3.5 g/dL) sino ad un minimo di 0.15 mg/Kg (se Hct ≥ 35% o Alb ≥ 3.5 g/dL). Essa viene ridotta del 10-25% se il paziente è rispettivamente in trattamento con diltiazem o verapamil. Il livelli ematici del tacrolimus verranno controllati giornalmente; la domenica vengono effettuati su specifica richiesta. Gli aggiustamenti posologici vengono guidati dalla regola "Dose Attuale\*(Target/Livello Attuale)" ricontrollando il livello del farmaco non prima di 4-5 giorni dall'ultima modifica. Dopo 6 settimane dal trapianto il target diviene 10-12 ng/mL.

- Il micofenolato-mofetile (MMF) viene somministrato alla dose di 1g mattino e sera. L'AUC<sub>0-24</sub> del micofenolato verrà controllata dopo il trapianto una volta ogni 1-2 settimane usando il metodo EMIT e la "limited-sampling-strategy" :

$7.75+6.49* C_0+0.76* C_{0.5}+2.43* C_2$  (target: 40-80 mg/L hr). E' consentita la riduzione posologica dopo 6 settimane dal trapianto. In caso si manifesti intolleranza gastroenterica, è anche consentito il frazionamento della dose giornaliera in 4 somministrazioni.

- Il metilprednisolone (MP) viene somministrato alla dose orale di 16 mg. Al giorno 0 si somministra bolo ev di 500 mg, giorno 1 di 250 mg e giorno 2 di 50 mg ev. Successivamente si segue un tapering progressivo sino a raggiungere 4 mg/die a tre mesi dal trapianto.

- Profilassi antimicrobica dal giorno -10 al giorno 0: TMP-SMX 80-400 mg, Nistatina gel 4 mL x 4 (opzionale), Valaciclovir da 500 mg g.a. a 1500 mg/die.

### **GIORNO – 8**

Se il paziente è in trattamento Dialitico Peritoneale o il trapianto è "pre-emptive", viene posizionato un CVC da dialisi in giugulare dx sotto eco-guida. In caso contrario si può usare la fistola artero-venosa come accesso vascolare per le sessioni di immunoadsorbimento. Prima del posizionamento del CVC viene somministrata profilassi con Vancomicina 1 g ev e con Ceftriaxone 1 g ev (se non allergico).

### **GIORNO -6**

Comincia la titolazione giornaliera delle IgG e IgM rivolte contro il gruppo sanguigno del donatore. La titolazione verrà da ora in poi eseguita tutte le mattine e la domenica su richiesta (altrimenti il campione della domenica viene conservato per essere esaminato il lunedì). I giorni in cui il paziente viene sottoposto ad immunoadsorbimento verrà eseguita anche una titolazione dopo la fine della sessione. Ciò fornirà un titolo "pre-" ed un titolo "post-".

A partire da questo giorno verranno inoltre controllati giornalmente emocromo, albumina, fibrinogeno, Na, K, HCO<sub>3</sub>, calcio totale e ionizzato. Verrà anche inviato un tracciato elettroforetico e un dosaggio delle immunoglobuline e delle loro sottoclassi da ripetere almeno una volta durante ed una volta alla fine del ciclo del trattamento aferetico.

Sessione di Immunoadsorbimento al mattino. Vengono trattati 2 PV (volumi plasmatici) a meno che il titolo IgG non sia superiore a 1:128, nel qual caso vengono trattati sino a 3 PV. Per il controllo del citrato e delle alterazioni elettrolitiche vedi **ALLEGATO 2**.

Emodialisi al pomeriggio

### **GIORNO -5**

Sessione di Immunoadsorbimento

Emodialisi al pomeriggio

#### **GIORNO -4**

Sessione aggiuntiva di immunoadsorbimento se il titolo iniziale (quello del giorno -6) è > 1:128  
Emodialisi al pomeriggio

#### **GIORNO -2**

Sessione di Immunoadsorbimento  
Emodialisi al pomeriggio

#### **GIORNO -1**

Ripetere ultimo CM.

Sessione di Immunoadsorbimento al mattino  
Emodialisi al pomeriggio

Somministrazione di Ig ev (Ig vena 5%) 0.5 g/Kg cominciando un'ora prima della dialisi. Somministrare eparina non frazionata (2000-5000 U). Cominciare la somministrazione delle Ig ev a 0.08 mL/kg/ora, aumentando la velocità di infusione del doppio ogni 15 min sino ad una velocità max di 16 mL/kg/ora. In dialisi le immunoglobuline vengono somministrate nel gocciolatore venoso, fuori della dialisi somministrarle nel CVC.

E' utile ottenere una scorta di emazie della donatrice per eseguire le titolazioni nel post-trapianto. La donatrice potrebbe essere infatti sottoposta a emotrasfusione come conseguenza di eventuali sanguinamenti peri-operatori. In tal caso le emazie della donatrice, miscelandosi con emazie estranee, diverrebbero inutilizzabili per la titolazione.

Confermare la sala operatoria per il giorno dopo se il titolo IgG è < 1:8.

Effettuare i controlli pre-operatori standard: Rx torace, ECG, coagulazione ed esami ematochimici.

Eseguire la prova crociata per 4 sacche di emazie deleucocitate e LAVATE. Una sacca sarà disponibile per l'ora alla quale è previsto l'intervento. La procedura di lavaggio dal plasma richiede infatti 2 ore dal momento della richiesta. Una volta lavate, le emazie devono essere o trasfuse o eliminate.

#### **GIORNO 0**

Profilassi antibiotica pre-operatoria: Vancomicina 1 g ev e Ceftriaxone 2 g ev (o altrimenti se allergico)

Continuare la terapia immunospressiva per os come prima del trapianto. Se il paziente non avesse peristalsi o avesse segni di ileo, somministrare il tacrolimus per via buccale (capsule aperte tra guancia e gengiva), riducendo la posologia del 25%. Se questo non è possibile somministrare per ev come indicato all'**APPENDICE 8**.

#### **GIORNO +1**

Lo schema di controlli ematochimici, microbiologici e strumentali è quello di un trapianto standard. Le differenze sono  
1) La titolazione degli anticorpi contro il gruppo sanguigno del donatore, l'albuminemia, e il fibrinogenemia vengono determinati tutti i giorni. L'Eco-Doppler viene eseguito tutti i giorni. Un valore normale degli indici di resistenza non esclude comunque un rigetto acuto.

**GIORNO +2**

Sessione di Immunoassorbimento

**GIORNO +5**

Sessione di Immunoassorbimento

**GIORNO +8**

Sessione di Immunoassorbimento

**GIORNO +15**

Cessa la determinazione giornaliera del titolo anticorpale

Prosegue con i controlli ematochimici, strumentali, e microbiologici come per un nostro trapianto abituale. Deve continuare ad essere seguito dal nostro Ambulatorio anche nel lungo termine. Continua con controlli del titolo degli anticorpi contro il gruppo sanguigno del donatore a ritmo settimanale e poi mensile dopo il 3° mese. Deve seguire controlli dell' Ag CMV pp65 come da abitudine per il reparto. Controlli periodici di PCR per poliomavirus BK/JC su sangue e urine. Controlli periodici PCR EBV.



# **ALLEGATO 1**

## **TECNICA DI TITOLAZIONE**

### **PROTOCOLLO TITOLAZIONE IgG ANTI-A o ANTI-B (dette "IMMUNI")**

Il plasma/siero del paziente in esame, viene inizialmente neutralizzato con DTT (ditiotreitolo), per neutralizzare gli anticorpi IgM rompendone i ponti sulfidrilici che in tal modo non interferiscono con le IgG che andremo a valutare mediante titolazione .

Per la titolazione vera e propria viene seguita la **METODICA con gel card DIAMED**

#### ***Materiali:***

- 1 campione ematico in EDTA del donatore
- 1 campione ematico in EDTA o da siero del ricevente
- provette di plastica contrassegnate con le diverse diluizioni (1:2,1:4,1:8,1:16,1:32 , 1:64,1:128,1:512,1:1024,1:2048)
- SCHEDINA DIAMED con siero di Coombs con anticorpo monoclonale anti-IgG rabbit (DiaMed -ID, Coombs anti-IgG) ogni colonnina va contrassegnata con la diluizione corrispondente alle provette
- Soluzione DTT 0,01M pronta all'uso

#### ***Preparazione emazie donatore:***

Lavare le emazie in "Diluyente 2".

Prendere 10ul dalle cellule "paccate" e aggiungere 1 ml di Diluyente 2 (diluizione all' 1%)

Si ottiene così una sospensione di emazie del donatore all'1%

Durata delle emazie in Diluyente 2: 24h a 4°C

Il campione ematico di base della paziente può essere conservato a 4 °C per 14 giorni

### ***Per la preparazione della diluizione:***

Per ottenere il plasma/siero centrifugare 5 minuti a 3000g il campione ematico raccolto

NB: Qualora vi sia difficoltà nel far sierare il campione di sangue del paziente prelevato nel post-adsorbimento (per incompleta formazione del coagulo causa prelievo appena eseguito) mettere il campione di sangue in stufetta a 37°C per 20 minuti prima di centrifugare. In tal modo si accelera la corretta formazione del coagulo per la separazione del siero.

La neutralizzazione con DTT avviene miscelando DTT e plasma in rapporto 1:1 (esempio: 500ul di plasma+ 500ul di DTT) per 20 min a bagnomaria a 37°C..

Questa provetta diluita 1:1 viene utilizzata come base per le diluizioni da eseguire.

Pipettare 100ul di Diluente 2 in ciascuna provettina precedentemente titolata 1:2, 1:4, 1:8.. ecc, quindi aggiungere 100ul di siero/plasma neutralizzato nella 1° provetta, e da questa prelevare 100ul e metterli nella 2° provetta da cui verranno prelevati altri 100ul da mettere nella 3° e così via progressivamente fino all'ultima provetta. Poi gettare gli ultimi 100ul che restano nel puntale. In tal modo si sono ottenute delle diluizioni progressive.

### ***Procedura :***

In ciascuna microcolonna della schedina Diamed già precedentemente titolata, porre 50ul di sospensione di emazie donatore all'1% + 25ul del siero /plasma diluito con stessa titolazione della corrispondente provetta.

Incubare la schedina per 15 minuti a 37°C e successivamente centrifugare per 10 minuti a 85g e leggere.

### ***Stoccaggio sieri paziente:***

Ad ogni titolazione stoccare a -20° C un campione di siero del paziente (non neutralizzato) utilizzato per la titolazione.

## ALLEGATO 2

### PROCEDURA DELL'IMMUNOADSORBIMENTO, CITRATO E CONTROLLO DELLE ALTERAZIONI ELETTROLITICHE

#### IMMUNOADSORBIMENTO

Il separatore cellulare utilizzato : **FRESENIUS COM-TEC**

Per l'allestimento utilizzato. Set: P1R. Programma: Plasmatrattamento. Anticoagulante usato: ACD-A

Il montaggio del separatore e il priming (utilizzando NaCl 0,9 %) viene effettuato secondo le istruzioni operative del Manuale fornito della Ditta Fresenius.

Per l'immunoadsorbimento viene utilizzata l'immunocolonna Glycosorb-A/B (Glycorex, Lund, Svezia) "single use" (monouso).

Il priming della Immunocolonna viene effettuato con 500 mL NaCl 09%.

- la linea di ingresso alla colonna è raccordata mediante overlock alla linea di uscita plasma dalla pompa plasma del separatore
- la linea di uscita della colonna è raccordata mediante overlock alla linea di reinfusione plasma del separatore e diretta nel pozzetto di reinfusione.

Poi si procede all'impostazione dei parametri:

sesso, peso, altezza, ematocrito del paziente, ACD-A ratio 1:14, volumi plasmatici da trattare: 2-2,5. Il flusso prelievo del plasma non deve superare 50ml/min..

Per l'avvio ed esecuzione della procedura si provvede a:

- connettere gli accessi venosi in prelievo e reinfusione con le rispettive linee del CVC
- aprire le clamp di collegamento filtro- separatore e chiudere quella del tubo di collegamento tra le 2 linee inlet e outlet della linea plasma del separatore
- premere START.

Al termine del trattamento si procede ad escludere il filtro dal circuito con il separatore chiudendo alcune clamp ed aprendone altre. Successivamente, si procede alla REINFUSIONE del sangue contenuto nel separatore ed al reintegro della quantità di liquido rimasto nel filtro.

### **CONTROLLI EMATOCHIMICI**

Vengono eseguiti controlli all'emogasanalizzatore di Ca ionizzato, K, HCO<sub>3</sub> prima, durante e dopo la procedura. L'emogasanalizzatore deve essere immediatamente disponibile così da poter avere i risultati a 2-5 minuti dal prelievo.

### **CITRATO e CALCIO GLUCONATO PER L'IMMUNOADSORBIMENTO**

Le colonne Glycosorb possono essere sottoposte a flussi plasmatici non superiori a 50 mL/min.

La preparazione di citrato usata per l'aferesi è l'"ACD-A" 113 mmol/L

Il Ca ionizzato da somministrare = 1/3 delle mmol di citrato somministrate.

1 fiala di Ca-gluconato contiene circa 93 mg Ca elementare (1 g di Ca-gluconato).

Pertanto:  $93\text{mg} \div 40 \text{ mmol} = 2.35 \text{ mmol}$  di Ca elementare per fiala

Ad un flusso di **50 mL/min** e con ACD-A **1:14** (il Citrato viene somministrato con un rapporto compreso tra 1:14 e 1:17) il Citrato somministrato è pertanto pari a  $50 \text{ mL/min} \div 14 = 3.6 \text{ mL/min}$  che, in L/hr, equivalgono a  $3.6 \text{ mL/min} = 3.6/1000 \times 60 = 0.22 \text{ L/hr}$ .

Le moli somministrate sono: Citrato  $0.22 \text{ L/hr} \times 113 \text{ mmol/L} = 25 \text{ mmol/h}$

Il Ca elementare da somministrare è pertanto  $25 \text{ mmol/hr} \div 3 = 8.3$ , il che equivale a  $8.3 \text{ mmol/hr} \div 2.35 \text{ mmol per fiala} = \text{circa } 3.5 \text{ fiale all'ora}$

Pertanto 5 fiale di Ca-gluconato possono essere poste in siringa elettrica da 50 cc (10 cc/ora = 1 fl/ora) e infuse a 35 cc/ora.

Il target del Ca ionizzato (mmol/L) del paziente è tra 1.0 e 1.25 mmol/L (il circuito è scoagulato con 0.25-0.4 mmol/L).

Mantenere un Ca ionizzato del paziente  $>0.90 \text{ mmol/L}$  è generalmente sufficiente a non causare problemi clinici.

Nota: il Ca.gluconato è preferibile al CaCl poiché può essere somministrato non diluito in vena periferica.

### **ALTRE ALTERAZIONI ELETTROLITICHE**

Il citrato viene metabolizzato a bicarbonato causando alcalosi metabolica. Ciò può determinare anche shift intracellulare di K con conseguente ipopotassemia.

Se il K è < 3.7 mmol/L prima della procedura, somministrare prima della procedura KCl compresse ritardo 1200 mg per os e Acqua Distillata 500 mL + 30 mmol KCl per ev a 150 mL/ora.

Alla fine della procedura il citrato viene metabolizzato e libera il Ca chelato in precedenza. Ciò può causare un' ipercalcemia da rebound. L'emodialisi della sera corregge questa alterazione.

### **EMODIALISI DOPO L'IMMUNOADSORBIMENTO**

Dopo ogni sessione di immunoadsorbimento viene eseguita Emodialisi Standard. Sino al giorno dell'intervento l'emodialisi viene eseguita tutti i giorni.

Se il paziente è in trattamento dialitico peritoneale passa comunque ad essere trattato con la sola emodialisi. L'emodialisi viene eseguita con dalteparina come trattamento anticoagulante (1250-2500 U) escluso il giorno pre-operatorio quando si usa eparina non frazionata. Per consentire una maggiore tolleranza all'alcalosi metabolica legata al citrato, il HCO<sub>3</sub> nel liquido di dialisi viene regolato a 25 mmol/L e il K a 4 mmol/L. L'obiettivo è di cominciare la sessione di immunoadsorbimento successiva con una bicarbonatemia compresa tra 20 e 22 mmol/L, ed un potassiemia tra 4.5 e 5.3 mmol/L. L'emodialisi dopo la sessione di immunoadsorbimento ha anche il vantaggio aggiuntivo di correggere l'ipercalcemia da rebound. Se il paziente assume CaCO<sub>3</sub>, calcitriolo, vitamina D o altri derivati, può rendersi necessario aggiustarne la posologia di questi farmaci.

La dialisi pre-intervento (giorno -1) deve essere eseguita regolando il HCO<sub>3</sub> a 28 mmol/L e il K a 3 mmol/L.

# ALLEGATO 3

## SOMMINISTRAZIONE RITUXIMAB "MABTHERA"

Nota: Per il calcolo della superficie corporea (ad es con Excel):  $71.84 * (\text{Altezza}^{0.725}) * (\text{Peso}^{0.425}) / 10000$   
dove l'altezza è in cm e il peso in Kg

**PREMEDICAZIONE** ( 1 ora prima dell'inizio dell'infusione )

- PARACETAMOLO "TACHIPIRINA" 500 mg 2 cp
- DEFLAZACORT "DEFLAN" 30 mg 2 cp
- DESCLORFENIDRAMINA "POLARAMIN" 1 cp
- Secondo accesso venoso periferico da mantenere con fisiologica

## SCHEMA DI SOMMINISTRAZIONE

Rituximab in infusione lenta 375 mg/m<sup>2</sup> :

Ad es. Mabthera 650 mg = 1 flacone 500 mg + 1 flacone 100 mg + ½ flacone 100 mg

Diluire in 500 cc di glucosata al 5%

1 ml di soluzione = 1,3 mg di principio attivo

<b>Tempo di infusione</b>	<b>Velocità</b>
0-30 minuti	35 cc/h
30-60 minuti	70 cc/h
1- 1,30 ore	105 cc/h
1,30-2 ore	140 cc/h

2 ora – al termine	175 cc/h
--------------------	----------

## MONITORAGGIO

Applicare monitoraggio ECG all'inizio dell'infusione

Valutare i parametri vitali come da schema:

	<b>Inizio</b>	<b>15'</b>	<b>30'</b>	<b>45'</b>	<b>1° ora</b>	<b>2° ora</b>	<b>3° ora</b>	<b>4° ora</b>	<b>5° ora</b>
PA									
FC									
F resp									
T °C									
Sintomi									
Ora									

DIMEZZARE LA VELOCITA' DI INFUSIONE SE:

- Temperatura > 37,5 °C
- Brividi (avvisare medico)
- Edema delle mucose (avvisare medico)
- Riduzione della PA sistolica > 20 mmHg

SOSPENDERE TRATTAMENTO SE:

- Temperatura > 38,5 °C
- Riduzione della PA sistolica > 30 mmHg

# ALLEGATO 4

	-30	-10	-9	-8	-7	-6	-5	-4	-3	-2	-1	0	1	2	3	4	5	6	7	8	9	
<b>Tac/MMF/GC</b>																						
<b>GlycosorbABO</b>																						
<b>Rituximab</b>																						
<b>Ig IV</b>																						



## ALLEGATO 5

**Posologia del Valganciclovir (somministrare se donatore positivo ricevente negativo per 90 giorni dal trapianto)**

***Somministrare a stomaco pieno!***

**Creatinina                      Posologia (mg)**

---

Dialisi dipendente	450 mg 2 cp a settimana
> 2.5	450 mg giorni alterni
1.8 -2.5	450 mg
< 1.8	900 mg

---

Nota: le capsule sono da 450 mg

**Posologia del Valaciclovir (somministrare se donatore positivo ricevente negativo dal 4° al 12° mese dopo il trapianto e se donatore positivo ricevente positivo per i primi 12 mesi dal trapianto)**

**Creatinina                      Posologia (mg)**

---

Dialisi dipendente	1500 x 1
> 2.5	1500 x 3
1.8 -2.5	1500 x 4
< 1.8	2000 x 4

---

Nota le compresse sono da 500 e da 1000 mg

## ALLEGATO 6

### STRATEGIA TRASFUSIONALE

#### TRASFUSIONI DI SANGUE, PIASTRINE E PLASMA DEL RICEVENTE

Le trasfusioni devono essere tali da non contenere plasma incompatibile con l'emogruppo del *donatore*

Ad esempio, se il donatore è di gruppo A viene e il ricevente di gruppo O, quest'ultimo non deve ricevere plasma di gruppo O perché questo contiene anticorpi anti-A. Il ricevente può pertanto ricevere:

- 1) Sacche di emazie: emazie deleucocitate di gruppo O LAVATE (non è invece necessario che siano irradiate).
- 2) Plasma: Plasma di gruppo A
- 3) Piastrine: Piastrine di gruppo A, o di gruppo O, ma in questo ultimo caso devono essere LAVATE.

In caso di trasfusione ripetere comunque un cross-match pre-trapianto.

# ALLEGATO 7

## TERAPIA DEL RIGETTO ACUTO ANTICORPO-MEDIATO

Quanto segue riguarda la terapia del rigetto acuto mediato da anticorpi. La terapia del rigetto acuto mediato da cellule T è stabilita secondo il risultato della biopsia come segue:

- 1) T-cellulare Tipo I (cioè tubulite): boli di metilprednisolone 3-10 mg/Kg per almeno 3 giorni (tipicamente 3-5 giorni) e per un minimo di 750 mg di dose cumulativa
- 2) T-cellulare Tipo II (cioè arterite intimale): in aggiunta ai boli di metilprednisolone, Thymoglobuline 1.5 mg/Kg al giorno per almeno 5 giorni e per un totale di 6-10 mg/Kg di dose cumulativa.
- 3) I casi clinicamente resistenti di rigetto T-cellulare di Tipo I si trattano con Thymoglobuline come sopra. Per rigetto clinicamente resistente si intende una mancata discesa della creatinina del 33% (o comunque una creatinemia > 5.5 mg/dL) entro 7 giorni dall'inizio dei boli, oppure un ulteriore progressivo aumento della creatinina dopo 48 ore dall'inizio dei boli.

Nota 2: Razionale dei diversi provvedimenti terapeutici

**BOLI DI METILPREDNISOLONE:** riducono il danno infiammatorio legato all'attivazione (complemento-mediata) dei neutrofili, bloccano temporaneamente il metabolismo linfocitario (e pertanto anche la loro risposta pro-infiammatoria). Non hanno invece alcun rilevante effetto sulla produzione anticorpale.

**IMMUNOGLOBULINE:** inibiscono la produzione degli anticorpi da parte delle plasmacellule. Inibiscono l'azione del complemento.

**PLASMAFERESI:** Rapida riduzione degli alloanticorpi circolanti. Riduce la capacità lesiva degli alloanticorpi circolanti (rimuovendo il complemento circolante, effetto aggiuntivo rispetto a quello dell'immunoassorbimento). Effetto transitorio.

**IMMUNOASSORBIMENTO SELETTIVO:** Rimuove gli anticorpi contro il gruppo sanguigno del donatore.

**RITUXIMAB:** abbattimento del compartimento B-cellulare: cellule B memoria precursori delle plasmacellule, cellule B presentanti l'antigene. Nessun effetto sulle plasmacellule. Effetto rapido e duraturo (inizia in 1-3 giorni, nadir a un mese e durata per un anno circa dopo una singola somministrazione)

**SPLENECTOMIA:** riduce le plasmacellule, i precursori delle plasmacellule, e la capacità di sorveglianza delle cellule B (la milza è la "centrale" delle attività effettrici anticorpo-mediate). L'effetto sul sistema immunitario è permanente. L'effetto della splenectomia è sinergico con la somministrazione delle immunoglobuline.

## DIAGNOSI DEL RIGETTO ACUTO ANTICORPO MEDIATO:

1) disfunzione renale +

2) C4d con positività diffusa su oltre il 50% dei capillari peritubulari all'esame in immunofluorescenza del campione bioptico

3) aumento di oltre due step del titolo delle IgG contro il gruppo sanguigno e presenza di alloanticorpi anti-HLA con specificità contro il donatore (DSA+) alla citofluorimetria luminex del siero

L'approccio terapeutico dipenderà dal grado di deterioramento funzionale.

**A)** E' presente **grave deterioramento funzionale**: oliguria e/o rapido aumento della creatinina ( ad es. > 1 mg/die)? Oppure: il paziente ha una **ritardata ripresa funzionale con oliguria e dialisi-dipendenza** (la ragione per cui è stata eseguita la biopsia)? Se si, procedi come segue:

-**Boli di metiprednisolone** 10 mg/kg ev per almeno tre giorni

- **A ritmo giornaliero: Immunoassorbimento selettivo (2-3 PV) alternando eventualmente con alcune sessioni di Plasmaferesi (1 PV)** sino al controllo del titolo anticorpale e comunque per non meno di 7 giorni. Ciascuna sessione viene seguita dalla somministrazione di **IG ev 100mg/Kg** per. Raggiungere una dose cumulativa di non meno di 1 g/Kg. E' comunque preferibile raggiungere una dose cumulativa di 2g/Kg. Questo obiettivo può essere raggiunto continuando a somministrare la dose che rimane da somministrare solo una volta che è stato completato il ciclo di trattamenti aferetici

Se il quadro della microscopia ottica mostra arterite intimale (rigetto **acuto T-cellulare Tipo II**), aggiungere

**Thymoglobuline** 1.5 mg/Kg sino a 7.5 mg/Kg di dose cumulativa massima. Se si sta eseguendo un trattamento con plasmaferesi, somministrare a giorni alterni le Thymoglobuline e le immunoglobuline ev dopo ogni plasmaferesi giornaliera: un giorno la plasmaferesi è seguita dalle Thymoglobuline, il giorno successivo dalle immunoglobuline. Dopo aver finito il ciclo con le Thymoglobuline, continuare con le immunoglobuline sino a raggiungere una dose cumulativa di almeno 1 g/Kg

**Valutare la risposta** non prima di 7 giorni dall'inizio della terapia. In caso di ritardata ripresa funzionale, il miglioramento si valuta istologicamente, ripetendo la biopsia ogni 7 giorni. Se dopo 7-14 giorni non c'è stato miglioramento:

-**Rituximab** 375 mg/m<sup>2</sup> alla settimana sino ad un massimo di 4 volte. Se è in corso un trattamento con plasmaferesi, la somministrazione di Rituximab viene iniziata dopo aver ultimato il ciclo delle plasmaferesi, in ogni caso mai prima della 7a plasmaferesi..

- Considerare la **Splenectomia** come la terapia standard "di salvataggio" .

**B)** Non è presente rilevante deterioramento funzionale definito in base ai criteri sopra descritti: ad es. aumento della creatinemia < 0.5 mg/dL, oppure aumento non progressivo.

- **IG ev 2g/Kg** (+ eparina non frazionata 500 U se non controindicato) + **boli di metilprednisolone ev** (5-10 mg/Kg)

- **Continuare l'Immunoassorbimento sino a che il titolo anticorpale è stabilmente < 1:32**

-Se all'esame bioptico in microscopia ottica è presente Tubulite (rigetto **acuto T-cellulare Tipo I**) e/o capillarite (rigetto **acuto anticorpale Tipo II** <sup>(\*)</sup>), aggiungere

**metilprednisolone** 5-10 mg/Kg al giorno per almeno tre giorni.

-Nelle forme più severe di capillarite o glomerulite (rigetto **anticorpale acuto Tipo II** <sup>(\*)</sup>) procedere come al punto A, anche in assenza di un rilevante deterioramento funzionale. Le forme più severe di capillarite sono definite dal coinvolgimento di almeno il 10% dei capillari peritubulari e dalla presenza di almeno un capillare con oltre 10 cellule infiammatorie. Le forme più gravi di glomerulite sono definite dalla presenza di trombosi nei capillari peirtubulari oppure dalla presenza di glomerulite in tutte le anse glomerulari in almeno i ¾ dei glomeruli.

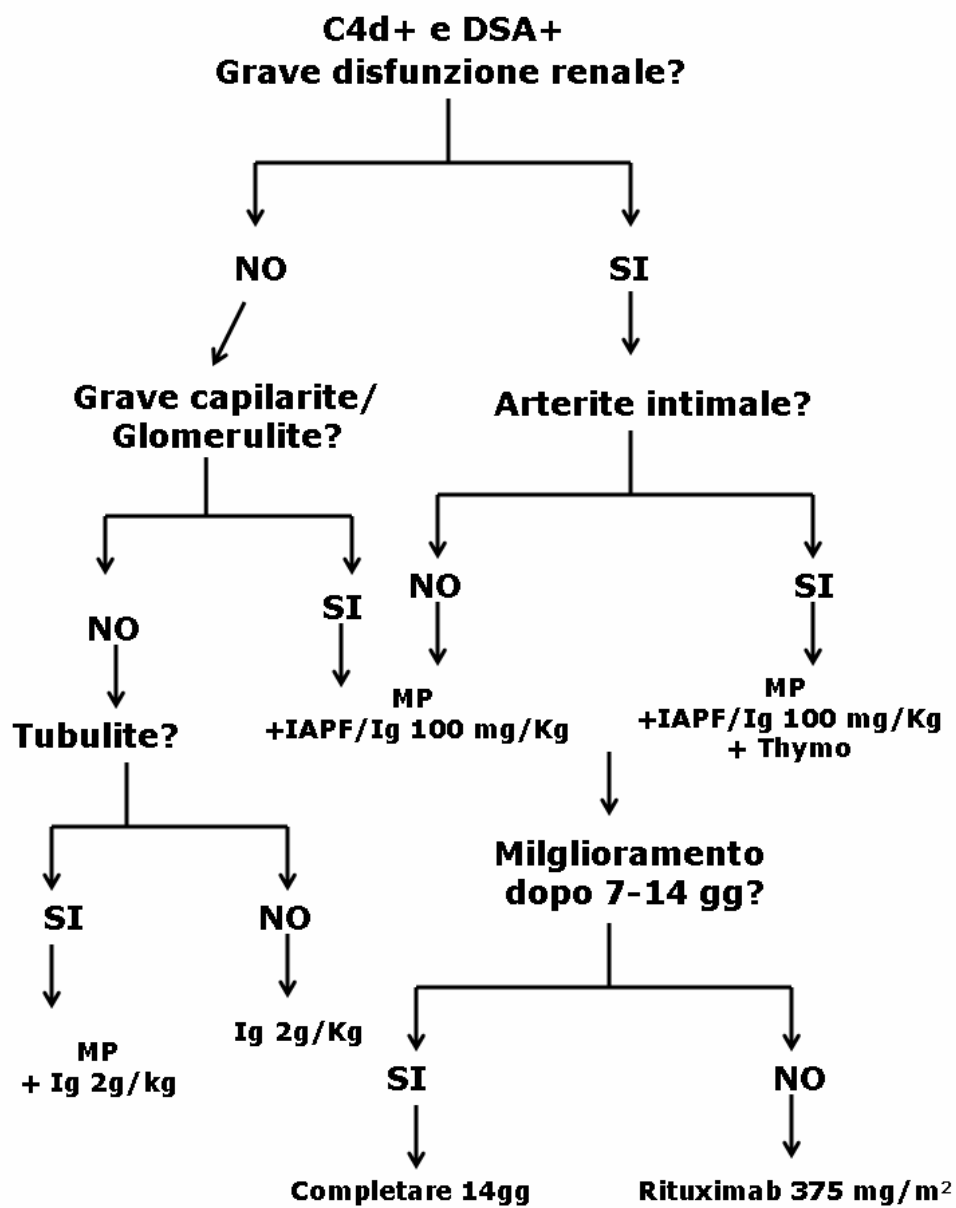
---

<sup>(\*)</sup>Alla microscopia ottica il rigetto anticorpale acuto si distingue in:

Tipo I: necrosi tubulare acuta con minima infiammazione;

Tipo II: capillarite peirtubulare (neutrofili/monociti nei capillari peritubulari) e/o glomerulite (neutrofili/monociti nei capillari glomerulari) con/senza trombosi capillari;

Tipo III: vasculite con necrosi fibrinoide e/o trombosi.



## ALLEGATO 8

### MODALITA' DI PREPARAZIONE DEL TACROLIMUS (PROGRAF) PER EV FIALE 5 mg/ 1 mL

- 1) LA DOSE DEVE ESSERE CIRCA 1/6 (tra 1/5 e 1/10) DELLA DOSE ASSUNTA PER OS  
Più alta (1/5) in chi deve interrompere CellCept (non disponibile in Italia per ev) e/o entro 6 mesi dal trapianto. Più bassa (1/7-1/10) in chi non deve sospendere farmaci immunosoppressori perché non disponibili per ev e/o a distanza dal trapianto e con funzione renale stabile.
- 2) L'INFUSIONE DEVE ESSERE PREFERIBILMENTE CONTINUA (24 ORE)
- 3) LA SOLUZIONE DEVE ESSERE FISIOLOGICA O GLUCOSATA AL 5%
- 4) NON SI DEVONO USARE SOLUZIONI ALCALINE NE' CONTENENTI GANCICLOVIR/ACICLOVIR
- 5) LA DILUIZIONE DEVE ESSERE DI 2 MG OGNI 500-100 ML (0.004-0.02 mg/ml)
- 6) IL FLACONE E LE LINEE DEVONO ESSERE PROTETTE DALLA LUCE
- 7) LA SOLUZIONE NON DEVE ESSERE CONSERVATA PER OLTRE 24 ORE
- 8) LE LINEE USATE PER L' INFUSIONE NON DEVONO CONTENERE PVC (VERIFICARE IL SIMBOLO PVC BARRATO SULLA CONFEZIONE)

#### *Esempio:*

*Paziente che assume Prograf 5 mg x 2 per os.*

*10 mg/5=2 mg 10 mg/10=1 mg. La dose deve essere tra 1 e 2 mg/die.*

*Si sceglie 1.5 mg/die. Ciò corrisponde a 1.5 mg / 5mg (il contenuto di una fiala)= 3/10 di fiala*

*Il contenuto viene diluito in 250 ml di fisiologica.*

*La soluzione risultante contiene 1.5 mg/100 ml= 0.006 mg/ml (entro il range di diluizione consentita 0.004-0.02).*

*La soluzione viene infusa in siringa elettrica a 10 cc/ ora*

## RIFERIMENTI BIBLIOGRAFICI PRINCIPALI

1. Kumlien G, et al. *Clinical experience with a new apheresis filter that specifically depletes ABO blood group antibodies*. Transfusion. 2006; 46:1568
2. Kumlien G et al *Comparing the Tube and Gel Techniques for ABO Antibody Titration, as Performed in Three European Centers*. Transplantation 2007; 84:S17-S20
3. Donauer J et al. ABO-incompatible kidney transplantation using antigen-specific immunoadsorption and rituximab: a single center experience. Xenotransplantation. 2006;13:108-110
4. Geyer M. Transplantation. Preemptive Postoperative Antigen-Specific Immunoadsorption in ABO-Incompatible Kidney Transplantation: Necessary or Not? 2007; 84:S40-S43
5. Tyden G, et al. *ABO-incompatibile kidney transplantation without splenectomy, using antigen-specific immunoadsorption and rituximab*. Am J Transplant. 2005;5:145
6. Tyden G, et al. *Implementation of a protocol for ABO-incompatible kidney transplantation: a three-center experience with 60 consecutive transplantations*. Transplantation 2007; 83:1153
7. Genberg H, et al ABO-incompatible kidney transplantation using antigen-specific-specific immunoadsorption and rituximab: a 3-year follow-up. Transplantation. 2008;85:1745-1745