

L'ESPERIENZA DI UNA BANCA NELLA TRANSIZIONE DALLE PIASTRE AI FLACONI

Piera Santoro Banca delle Cornee della Regione Piemonte



Dati bibliografici riportano che la contaminazione iniziale di tutte le cornee prelevate varia tra il 52 e il 77%.

L'impiego di appropriate procedure di decontaminazione al momento del prelievo e l'utilizzo di antibiotici nei terreni di conservazione hanno contribuito ad abbassare il rischio di endoftalmite dopo il trapianto di cornea

Nel sistema della coltura d'organo, il test della sterilità del terreno fa parte del protocollo standard

Dati bibliografici riportano che la percentuale di contaminazione delle cornee conservate a 31° C varia tra 0,53% e 11%



Dal 1 gennaio 2006 al 31 agosto 2009 la Banca delle Cornee della Regione Piemonte ha raccolto 4317 cornee

1729 cornee sono state conservate a 31° C e sottoposte al test di sterilità.

122 cornee sono risultate positive; nel 50% circa dei casi (62 cornee) la contaminazione era bilaterale

La percentuale di contaminazione è del 7,1 %



I test microbiologici utilizzati nelle varie banche degli occhi non sono uniformi; si registra però una tendenza positiva verso l'impiego di sistemi di rilevazione automatici

Inizialmente abbiamo valutato l'importanza di gestire in modo più semplice (rispetto ai test convenzionali) i controlli microbiologici dei terreni di coltura.

Da agosto 2008 la Banca delle Cornee della Regione Piemonte utilizza il sistema BacT/ALERT di bioMerieux in collaborazione con il Laboratorio della Microbiologia dell' A.O.U. San Giovanni Battista





1045 cornee sono state sottoposte al test di sterilità secondo il metodo convenzionale:

- 2 piastre di agar sangue
- 1 brodo di tioglicolato

(dopo 7 giorni dall'inizio coltura, in osservazione per 7 giorni)





67 cornee sono risultate positive; nel 54% dei casi (36 cornee) la contaminazione era bilaterale

La percentuale di contaminazione è 6,4 %



contaminazioni	Tipo di microrganismo	Tempo Rilev.
12	Staphylococcus haemolyticus	2-3 gg
7	Staphylococcus aureus	1 gg
7	Staphylococcus epidermidis	2-5 gg
7	Enterococcus faecium	1-4 gg
4	Stenotrophomonas maltophilia	1-3 gg
3	Proteus mirabilis	1 gg
3	Pseudomonas aeruginosa	1-4 gg
3	Flora microbica Gram positiva	2-3 gg
2	Pseudomonas aeruginosa + Enterococcus faecium	2 gg
2	Staphylococcus capitis	7 gg
1	Pseudomonas stutzerii	6 gg
1	Streptococcus viridans	D.n.d.
1	Flora microbica Gram positiva + Candida	7 gg
1	Flora microbica Gram negativa	D.n.d.
1	Neisseria polysaccharea	2 gg
1	Alcaligenes xylosidans	2 gg
1	Corynebacterium spp.	D.n.d.
9	D.n.d.	134
66	The state of the s	541

TOTALE

!!! 1 muffa nel terreno di conservazione, non rilevata dal test



100 campioni sono stati sottoposti sia al test di sterilità convenzionale (piastre + tioglicolato) che la sistema automatizzato BacT/ALERT bioMerieux



9 cornee sono risultate contaminate



13 cornee sono risultate contaminate

!!! 2 contaminazioni da muffa nei terreni di conservazione, non rilevate da nessuno dei 2 sistemi; isolato direttamente dai terreni di coltura Aspergillus fumigatus.



SISTEMA CONVENZIONALE	BacT/ALERT bioMerieux	Tipo di microrganismo
NEGATIVO	POSITIVO	Corynebacterium spp.
NEGATIVO	POSITIVO	Corynebacterium spp.
POSITIVO	POSITIVO	Enterococcus faecalis
POSITIVO	POSITIVO	Enterococcus faecalis
NEGATIVO	POSITIVO	Corynebacterium spp.
POSITIVO	POSITIVO	Staphylococcus haemolyticus
POSITIVO	POSITIVO	Staphylococcus haemolyticus
NEGATIVO	POSITIVO	Staphylococcus haemolyticus
POSITIVO	POSITIVO	Enterococcus faecium
POSITIVO	POSITIVO	Enterococcus faecium
NEGATIVO	NEGATIVO	Aspergillus fumigatus
NEGATIVO	NEGATIVO	Aspergillus fumigatus
POSITIVO	POSITIVO	Staphylococcus epidermidis
POSITIVO	POSITIVO	Staphylococcus haemolyticus
POSITIVO	POSITIVO	Enterococcus faecium
	CONVENZIONALE NEGATIVO NEGATIVO POSITIVO POSITIVO POSITIVO POSITIVO NEGATIVO POSITIVO POSITIVO POSITIVO POSITIVO POSITIVO POSITIVO NEGATIVO NEGATIVO NEGATIVO POSITIVO POSITIVO POSITIVO	NEGATIVO POSITIVO NEGATIVO POSITIVO POSITIVO POSITIVO POSITIVO POSITIVO POSITIVO POSITIVO NEGATIVO POSITIVO POSITIVO POSITIVO POSITIVO POSITIVO POSITIVO POSITIVO NEGATIVO POSITIVO POSITIVO POSITIVO POSITIVO POSITIVO POSITIVO POSITIVO NEGATIVO NEGATIVO NEGATIVO NEGATIVO POSITIVO



Il tempo ottimale per il test di sterilità non è noto.

Da una parte ci si aspetta una pre-incubazione più lunga per permettere la crescita microbica, aumentando in tal senso la sicurezza microbiologica del trapianto di cornea.

Dall'altra parte, è stato ormai assodato che la perdita cellulare endoteliale durante la coltura della cornea continua, per cui una rapida assegnazione delle cornee può migliorare il risultato clinico.

217 campioni sono stati sottoposti a 2 test di sterilità: il 1° dopo 4 giorni dall'inizio coltura, il 2°, sullo stesso campione, dopo 7 giorni. Nel 1° caso la percentuale di contaminazione era 2,3 %; nel secondo caso la percentuale di contaminazione era 4,6 % circa.

In uno studio in collaborazione con la Dr.ssa Gaido del Laboratorio di Microbiologia dell'A.O.U. San Giovanni Battista abbiamo analizzato i dati ottenuti



Campione	4 giorni post-coltura	Tipo di microrganismo	Tempo di rilevazione	7 giorni post-coltura	Tipo di microrganismo	Tempo di rilevazione
A39245	NEGATIVO	1	1	POSITIVO	Staphylococcus aureus	8,4 ore
A39838	POSITIVO	F.L. (Torulopsis glabrata)	3,9 giorni	POSITIVO	F.L. (Torulopsis glabrata)	7,4 ore
A41758	NEGATIVO	1	/	POSITIVO	Staphylococcus aureus	2 ore
A42458	POSITIVO	Corynebacterium. spp	3,4 giorni	NEGATIVO	1	1
A42671	POSITIVO	Acinetobacter spp.	6,6 ore	POSITIVO	Acinetobacter spp.	14,6 ore
A43652	POSITIVO	Enterococus faecium	2,1 ore	D.n.d.	/	/
A44305	POSITIVO	Corynebacterium. spp	34 ore	POSITIVO	Corynebacterium. spp	11,9 ore
A44434-1	NEGATIVO	1	1	POSITIVO	Stenotrophomonas maltophilia	11,9 ore
A44434-2	NEGATIVO	1	1	POSITIVO	Stenotrophomonas maltophilia	4,5
A44591	NEGATIVO		1	POSITIVO	Staphylococcus haemolyticus	4,6
A44932	NEGATIVO	1	1	POSITIVO	Torulopsis glabrata	2,1
A45073	NEGATIVO	1	/	POSITIVO	Pseudomonas aeruginosa	3,8



I prelievi eseguiti dopo 7 giorni dall'inizio della coltura hanno portato alla rilevazione di crescita microbica in 6 ore (min. 2 ore, max 14,6 ore).

I prelievi eseguiti dopo 4 giorni dall'inizio della coltura hanno portato alla rilevazione di crescita microbica in 44 ore (min.2,1 max 3,9 giorni).

conclusioni

- Sistema rapido ed efficiente
- Permette una migliore gestione del lavoro degli operatori
- Permette una riduzione dei tempi di coltura e di conseguenza una più rapida assegnazione dei tessuti nell'ottica di un miglioramento dei risultati clinici del trapianto

