

**XI CORSO NAZIONALE**

**SOCIETA' ITALIANA BANCHE DEGLI OCCHI**

Imola, 1 Aprile 2017



**Sessione 3**

**Epitelio-Stroma- Descemet- Endotelio  
corneale**

Moderatori

Dott. R. Ceccuzzi, Dott.ssa A. Franch

# **Valutazione dell'epitelio e dello stroma in una banca occhi**

Maria Teresa Vicentini

## Caratteristiche cliniche e biologiche della cornea idonea al trapianto

- 1) Idoneità anamnestica e sierologica del donatore
- 2) Anamnesi oculistica negativa
- 3) Buona trasparenza dell'epitelio e dello stroma
- 4) Idoneità dell'endotelio

	<b>LINEE GUIDA PER IL PRELIEVO, LA PROCESSAZIONE E LA DISTRIBUZIONE DI TESSUTI A SCOPO DI TRAPIANTO</b>		Codifica	LG.Tessuti
			Revisione	01
			Data	10/07/2013
			Pagina	35 di 61

Qualora ai tessuti venga applicato un procedimento d'inattivazione microbica, questo deve essere specificato, documentato e convalidato.

Le procedure devono essere documentate nelle POS e tutti i procedimenti devono essere

	<b>LINEE GUIDA PER IL PRELIEVO, LA PROCESSAZIONE E LA DISTRIBUZIONE DI TESSUTI A SCOPO DI TRAPIANTO</b>		Codifica	LG.Tessuti
			Revisione	01
			Data	10/07/2013
			Pagina	34 di 61

## **SEZIONE E**

### **E.0 LAVORAZIONE DEI TESSUTI**

reagenti prodotti presso la Banca devono essere registrati il numero di lotto, la data di produzione e di scadenza, la sigla, la validazione.

#### **E.6 Tessuto Oculare**

##### **E.6.1 Valutazione dell'idoneità del tessuto**

La caratteristica di idoneità del tessuto oculare per trapianto deve essere relativa al suo impiego chirurgico. I criteri di valutazione e le metodiche di esame utilizzate per la verifica dell'idoneità del tessuto dovranno essere conformi agli standard applicabili alla specifica valutazione e preparazione del tessuto in relazione alle finalità del suo impiego chirurgico.

E' compito del chirurgo specificare alla Banca la tipologia del tessuto richiesto in relazione all'utilizzo che ne intende fare.

Le caratteristiche delle cornee per trapianto devono essere valutate con almeno una delle seguenti modalità:

- lampada a fessura;
- microscopio speculare;
- microscopio ottico.

Nel caso di cornee conservate in coltura è necessario valutare la mortalità delle cellule endoteliali.

L'idoneità al trapianto del tessuto esaminato, è comunque subordinata alla valutazione del donatore e dei risultati delle indagini sierologiche in accordo con quanto previsto dalle presenti Linee Guida.

**E.6.1.1 Criteri di idoneità per cornee da utilizzarsi per cheratoplastica perforante a scopo ottico**





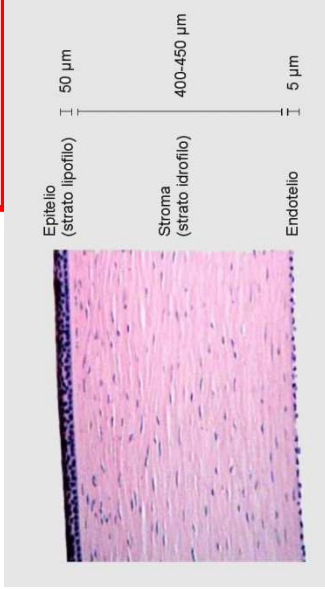
Document	Technical Guidelines for Ocular Tissue (TGOT)
Revision	8
Page	1 of 11
Operative from	01/02/2017

### TECHNICAL GUIDELINES FOR OCULAR TISSUE

GENERAL.

Technical Guidelines for Ocular Tissue (TGOT)	8
	5 of 11
	01/02/2017

### 3 CORNEAL TISSUE EVALUATION AND SELECTION FOR TRANSPLANTATION<sup>1</sup>.



General.  
 The findings of the specific layers may relate to contraindications if tissue is planned to be used for full-thickness graft (PKP). Due to the variety of different and new surgical techniques such tissues can be also used for transplantation of only specific and intact layers. Therefore communication between surgeon and eye bank is very important in order to release tissue for specific purposes with the necessary recommendation from the eye bank. Nevertheless, the final decision of usage and suitability always remains at the responsibility of the transplanting surgeon.

To be able to select the tissue for the specific purpose for which it is intended, it is necessary to check and document the conditions of:

- The epithelium (full-thickness graft, superficial or deep anterior lamellar graft, limbal graft) taking into account that the epithelium may slash out/fall off, the duration of storage is crucial.
- The corneal stroma (full-thickness graft, superficial or deep anterior lamellar graft, transparency is crucial).
- The endothelium (full-thickness graft, posterior lamellar graft) - cell density is crucial (see 3.6)
- The corneal thickness may give additional information and therefore an evaluation is recommended before and after storage/deswelling – taking into account that thickness below 400µm may indicate unusual thinning (e.g. keratoconus, refractive surgery, wearing of hard contact lenses); thickness beyond 700µm may indicate unusual swelling within corneal layers.





Document	Technical Guidelines for Ocular Tissue (TGOT)
Revision	8
Page	5 of 11
Operative from	01/02/2017

### 3 CORNEAL TISSUE EVALUATION AND SELECTION FOR TRANSPLANTATION<sup>1</sup>.

#### 3.1 General.

The findings of the specific layers may relate to contraindications if tissue is planned to be used for full-thickness graft (PKP). Due to the variety of different and new surgical techniques such tissues can be also used for transplantation of only specific and intact layers. Therefore communication between surgeon and eye bank is very important in order to release tissue for specific purposes with the necessary recommendation from the eye bank. Nevertheless, the final decision of usage and suitability always remains at the responsibility of the transplanting surgeon.

To be able to select the tissue for the specific purpose for which it is intended, it is necessary to check and document the conditions of:

- The epithelium (full-thickness graft, superficial or deep anterior lamellar graft, limbal graft) – taking into account that the epithelium may slash out/fall off, the duration of storage is crucial.
- The corneal stroma (full-thickness graft, superficial or deep anterior lamellar graft); transparency is crucial.
- The endothelium (full-thickness graft, posterior lamellar graft) - cell density is crucial (see 3.6).
- The corneal thickness may give additional information and therefore an evaluation is recommended before and after storage/deswelling – taking into account that thickness below 400µm may indicate unusual thinning (e.g. keratoconus, refractive surgery, wearing of hard contact lenses); thickness beyond 700µm may indicate unusual swelling within corneal layers.

#### 3.2 Macroscopic inspection.

Without optical aid inspect the donor eye for corneal transparency and document corneal pathology such as:

- Abnormalities of the external globe (e.g. hypotonic globe/phthisis bulbi, suspicious signs of conjunctiva tumour)
- Signs of previous surgery of the anterior segment.
- Epithelial abrasions, retention of excessive orbital tissue, laceration of the globe.
- Epithelial defects.
- Stromal opacities (size, location) and arcus lipoides/senilis (Gerontoxon) should be documented including size of diameter of clear zone. The minimal diameter of the clear zone is at the discretion of the Responsible Person and/or the surgeon's requirements.
- Abnormal corneal shape (keratoconus, micro- or megalocornea).
- Condition of the anterior chamber (shape, evidence of gross blood).
- Abnormalities such as pterygium extending to the optical zone.

**Valutazione  
Macroscopica:**  
✓ **Trasparenza**  
✓ **Patologie corneali**



Document	Technical Guidelines for Ocular Tissue (TGOT)
Revision	8
Page	6 of 11
Operative from	01/02/2017

## Valutazione alla Lampada a fessura

## Valutazione Microscopica

3.3 Slit lamp examination, performed when whole eyes are enucleated or when corneoscleral buttons are excised, is recommended because it provides additional and/or crucial information.

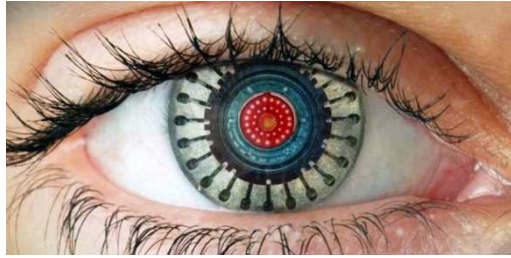
Inspect the cornea and limbal area for features which may preclude use of tissue e.g. signs of corneal pathology or post mortem artefacts, taking into account:

- The state of the epithelium and epithelial irregularities.
- The presence of stromal opacities (e.g. macula, nebula or signs of dystrophies).
- The presence of folds in the Descemet's membrane (increasing with post mortem time, e.g. categorize into mild/medium or moderate/severe).
- Endothelial precipitates.
- Corneal guttae.
- Abnormal corneal shape (keratoconus, micro- or megalocornea).
- Attention should be paid to the following items (in case of corneoscleral button excision, this is difficult to detect):
  - Condition of the anterior chamber (shape, evidence of gross blood).
  - Signs of prior surgery in the anterior segment (e.g. glaucoma, cataract extraction).
  - Signs of any refractive surgery (PRK, Lasik etc.) [see also EEBA Minimum Medical Standards].
  - The presence of synechiae (anteriores, posteriores).
  - Signs of tumours or metastasis in the anterior ocular segment (especially at donors with diagnosis of cancer), [see also EEBA Minimum Medical Standards].

These may only be detected by slit lamp examination.

3.4 Other microscopic examinations are mandatory by one of the following methods:

- **Specular microscopy**  
The appearance of endothelial cells with specular microscopy varies with temperature, type and time of preservation and media. Evaluation of corneas at room temperature would be recommended.
- **Transmitted light microscopy** (bright field, phase-contrast).  
For light microscopy, it is necessary to make the endothelial cells visible by induction of swelling of the intercellular space with a hypotonic solution. The induction of the swelling and the swelling pattern is dependent on the type of medium and time of preservation. The use of a vital stain (e.g. trypan blue) may help to recognize severely damaged cells (necrotic / apoptotic) and denuded Descemet's membrane.



Document	Technical Guidelines for Ocular Tissue (TGOT)
Revision	8
Page	1 of 11
Operative from	01/02/2017

TECHNICAL GUIDELINES FOR OCULAR TISSUE\*

GENERAL

# Valutazione macroscopica

## 1) Valutazione della TRASPARENZA

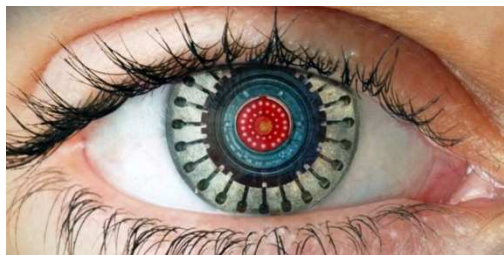
### 2) Esclusione di patologie del bulbo:

- ✓ ipotonia /phthisis bulbi /forme tumorali della congiuntiva)
- ✓ segni di chirurgia pregressa del segmento anteriore
- ✓ evidenza di emorragia in camera anteriore

### 3) Esclusione di patologie corneali

- ✓ Anomalie corneali: cheratocono, micro- o megalocornea

4) Segnalazione di eventuali OPACITÀ visibili ad occhio nudo (ptterigio, degenerazione grassa....) che siano sfuggite al medico prelevatore che si estendano in zona ottica.



Document	Technical Guidelines for Ocular Tissue (TGOT)
Revision	8
Page	1 of 11
Operative from	01/02/2017

TECHNICAL GUIDELINES FOR OCULAR TISSUE

# Valutazione macroscopica

## 5) Valutazione dell' EPITELIO :

- *Presente*
- *Assente*
- *Alterato* (degenerazioni:abrasioni e altri difetti epiteliali )
- Esposizione eccessiva all'ambiente esterno (occhio rimasto aperto dopo la morte del donatore)
- Eventuali traumi causati dalla stimolazione del riflesso corneale (in caso di donatori multiorgano)

## 6) Valutazione STROMA:

- ✓ *Opacità* (dimensioni, localizzazione)
- ✓ *Arco senile o gerontoxon*
- ✓ Misurazione del *diametro di trasparenza*







Document	Technical Guidelines for Ocular Tissue (TGOT)
Revision	8
Page	1 of 11
Operative from	01/02/2017

TECHNICAL GUIDELINES FOR OCULAR TISSUE\*

GENERAL

# Valutazione alla Lampada a Fessura

- ✓ Fornisce in maniera non invasiva l'equivalente di una sezione istologica: epitelio, stroma ed endotelio.
- ✓ Conferma o smentisce la valutazione eseguita ad occhio nudo
- ✓ Valutazione della cornea in tutto il suo spessore per individuare eventuali degenerazioni sfuggite all'anamnesi, al medico prelevatore, alla nostra prima valutazione.

**Technical Guidelines for Ocular Tissue (EEBA): “[...] slit lamp examination, performed when whole eye are enucleated or when corneoscleral buttons are excised, is recommended because it provides additional information [...]”**



Document	Technical Guidelines for Ocular Tissue (TGOT)
Revision	8
Page	1 of 11
Operative from	01/02/2017

TECHNICAL GUIDELINES FOR OCULAR TISSUE\*

GENERAL

# Valutazione alla Lampada a Fessura

- 1) Valutazione dell'EPITELIO: stato / difetti epiteliali
- 2) Valutazione dello STROMA: Opacità ( macula, nebula o segni di distrofia)
- 3) Anomalie corneali: cheratocono, micro- o megalocornea
- 4) Segni di chirurgia pregressa in camera anteriore (glaucoma, cataratta)
- 5) Postumi di chirurgia refrattiva
- 6) Sinechie (anteriori, posteriori)
- 7) Forme tumorali/metastasi nel segmento anteriore (raccomandato soprattutto per i donatori oncologici)

# Valutazione Microscopica

TECHNICAL GUIDELINES FOR OCULAR TISSUE\*

GENERAL

## Microscopio SPECULARE



➤ ENDOTELIO

## Microscopio OTTICO



- ✓ Bright-field
- ✓ Contrasto di fase

➤ EPITELIO

➤ STROMA

➤ ENDOTELIO



Document	Technical Guidelines for Ocular Tissue (TGOT)
Revision	8
Page	1 of 11
Operative from	01/02/2017

TECHNICAL GUIDELINES FOR OCULAR TISSUE\*

GENERAL

# Valutazione al microscopio ottico

## Osservazione a ingrandimento 40-50 X – 100X:

- ✓ Si osservano tutto il perimetro corneale al limbus e tutta la superficie corneale (prima di mettere a fuoco l'endotelio)
- ✓ A questo ingrandimento è facile rilevare alterazioni periferiche e/o grossolane dell'epitelio, dello stroma, dell'endotelio:

### 1) Valutazione dello STROMA:

- Opacità
- Depositi
- Alterazioni morfologiche dei CHERATOCITI

### 2) Valutazione dell'EPITELIO:

- Integrità
- Erosioni parziali (orizzontali o verticali)
- Assenza



-----Messaggio originale-----

From: Banca occhi

Sent: Friday, February 10, 2017 10:50 AM

To: banca.occhi@ausl.imola.bo.it ; Russo Alessandra ; Banca Occhi

Banca Occhi Fabriano ; Banca Occhi Cosenza ; Banca Occhi Bologna

Occhi Mestre ; Banca Cornee Mestre ; Patrizia Indemini ; Banca Oc

Banca Occhi Palermo ; Banca Occhi Pavia ; Banca Occhi Roma ; Banc

Torino ; Banca Occhi Napoli ; Banca Occhi Bari ; Franca Sprega ;

Amici ; Augusto Pocobelli ; luigi mininno ; gabriella parente ;

boncipaola@libero.it ; pb affaticati ; raimondomarceno@gmail.com ; Raffaella

Mistò ; Presidente Davide Camposampiero ; Federico Genzano Besso ;

Vicepresidente Germano Genitti ; Luca Avoni ; Roberro Ceccuzzi ;

g.gilichiarini@ausl2.rosarno.ba.it ; Massimo Milani ; Corrado ; Paola Pagani

Subject: XI corso SIBO - Valutazione epitelio e stroma in banca occhi

Cari colleghi SIBO,

nell'ambito del programma dell'XI Corso SIBO che si terrà ad Imola il

prossimo 1 aprile 2017 è prevista anche una relazione - review dal titolo

"Valutazione dell'epitelio e dello stroma in una banca occhi", la cui

redazione ed esposizione sono state a me affidate.

Vorrei chiedere il vostro contributo generale:

1) le metodiche eventualmente in uso presso la vostra banca per la

valutazione dell'epitelio e dello stroma e

2) l'elenco dei parametri di valutazione (es: epitelio

presente/assente/alterato etc,... ).

Questo approccio mi permetterebbe di raccogliere il maggior numero di

informazioni, rendendomi portavoce per tutti di eventuali recenti sviluppi

sull'analisi di tali sezioni corneali.

Ringrazio anticipatamente coloro che vorranno contribuire e aspetto un

vostro cortese riscontro entro il 4 marzo 2017.

Un caro saluto ed un riposante week-wend a tutti.

Maria Teresa Vicentini

U.O.S. Dip. Banca degli Occhi di L'Aquila-Microchirurgia Oculare DO -

CRR per le donazioni e i trapianti di cornea e per le membrane amniotiche

Regioni Abruzzo e Molise

# Le Banche



- **Domanda 1: Metodiche in uso presso la vostra Banca per la valutazione dell'epitelio e dello stroma**

- **Domanda 2: Elenco dei parametri di valutazione**

# Le Banche



Hanno risposto N° 9/13 banche.

**Domanda 1: Metodiche in uso presso la vostra Banca per la valutazione dell'epitelio e dello stroma**

- N° 6/9 Banche utilizzano LAF e M.O.
- N° 3/9 Banche utilizzano soltanto M.O.

## Domanda 2. PARAMETRI DI VALUTAZIONE

### EPITELIO

<b>Epitelio</b> →	Normale	Alterato	Asportato (Parz./Tot.)	Assente	Irregolare	Presente	Edematoso	Disidratato	Difetto Epiteliale	Al
<b>Banca</b> ↓										
1	X		X					X		X
2	X	X		X						
3	X	X					X			
4	X	X	X							
5	X				X				X	
6			X	X	X	X				
7	X	X	X							
8	X	X	X	X						
9	X	X	X							

## Domanda 2. PARAMETRI DI VALUTAZIONE

### EPITELIO

- N° 1 Banca: NORMALE – ASPORTATO – DISIDRATATO - ALTRO
- N° 1 Banca: NORMALE – ALTERATO – ASSENTE
- N° 1 Banca: NORMALE – ALTERATO – EDEMATOSO
- N° 1 Banca: NORMALE – ALTERATO – ASPORTATO
- N° 1 Banca: NORMALE – IRREGOLARE – DIFETTO EPITELIALE (Edema Disidratazione Staccato Rimosso)
- N° 3 Banche: NORMALE – ALTERATO – ASPORTATO
- N° 1 Banca: PRESENTE – PARZIALMENTE ASPORTATO – TOTALMENTE ASPORTATO – IRREGOLARE



## Domanda 2. PARAMETRI DI VALUTAZIONE

### STROMA

<b>STROMA</b> →	Diametro trasparenza	Normale	Gerontoxon	Arco Senile	Opacità	Edema	Alterato	Sclerocornea	Cheratinociti attivati	Note
Banca↓										
1	X	X	X	X						X
2	X	X	X		X	X				
3	X	X	X	X	X				X	
4	X	X	X		X		X			
5	X	X	X	X	X	X				X
6	X	X	X	X	X	X				
7	X	X	X	X	X	X				
8	X	X	X	X	X	X		X		
9	X	X	X	X	X	X				

## Domanda 2. PARAMETRI DI VALUTAZIONE

### **STROMA**

**N° 9/9 Banche:**     **DIAMETRO DI TRASPARENZA**  
                          **NORMALE / ALTERATO**  
                          **GERONTOXON**  
                          **ARCO SENILE**  
                          **EDEMA**  
                          **OPACITA'**

**N° 1/9 Banca: CHERATINOCITI ATTIVATI**

**N° 1/9 Banca: SCLEROCORNEA**

## Domanda 2. PARAMETRI DI VALUTAZIONE

# Le Banche



- **Diametro di trasparenza** (n° 6/9 Banche hanno fornito i valori)
  - N° 3/6 banche:  $\geq 8,5$  mm,  $< 8,5$  mm
  - N° 3/6 banche:  $> 9$  mm, 8-9 mm,  $< 8$  mm
- **Gerontoxon:** Assente – Lieve/Debole – Moderato – Marcato/Severo

### ➤ **Opacita':**

- ✓ Leucoma
- ✓ Nubecola
- ✓ Impronta da stampo
- ✓ Infiltrato
- ✓ Deposito
- ✓ Corpo estraneo
- ✓ Danno Iatrogeno
- ✓ Cheratopatia da esposizione
- ✓ Cicatrici da chirurgia pregressa
- ✓ Cicatrici da chirurgia refrattiva
- ✓ Punti di sutura
- ✓ Opacità endoteliale

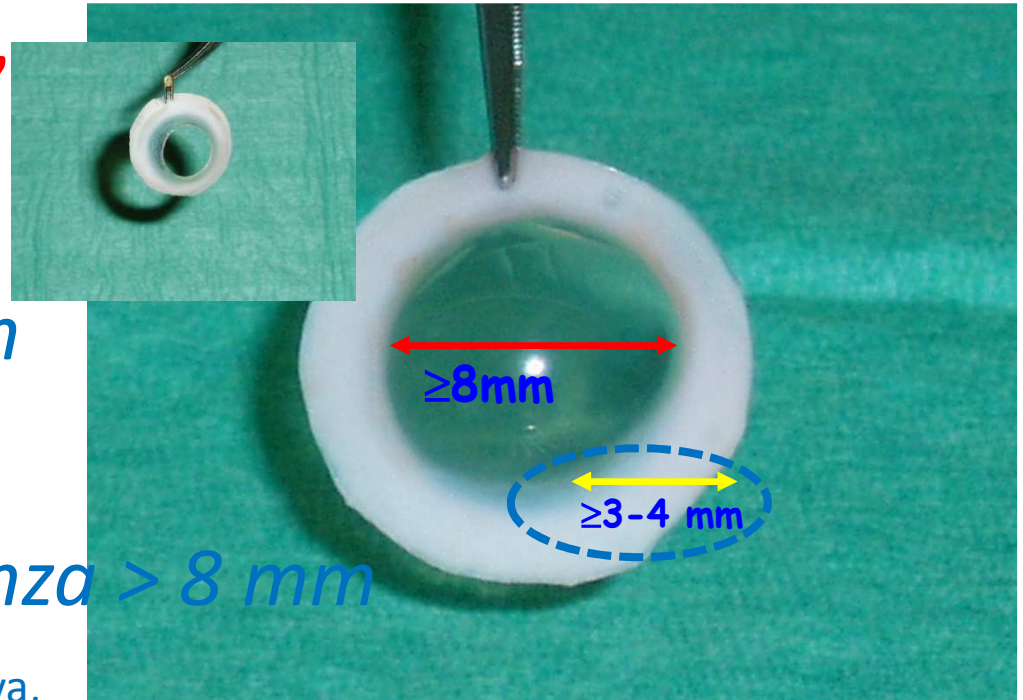
### Localizzazione Opacità

- ✓ Centrale
- ✓ Paracentrale
- ✓ Periferica

- ✓ Zona ottica
- ✓ Esterno

# La cornea “ideale” in Banca

- *Rim sclerale > 3-4 mm*
- *Assenza pieghe*
- *Diametro di trasparenza > 8 mm*
- *Trasparenza* ✓ Barriera passiva,  
✓ Pompa endoteliale attiva
- *Endotelio idoneo*
- *Spessore 450-600 μm*



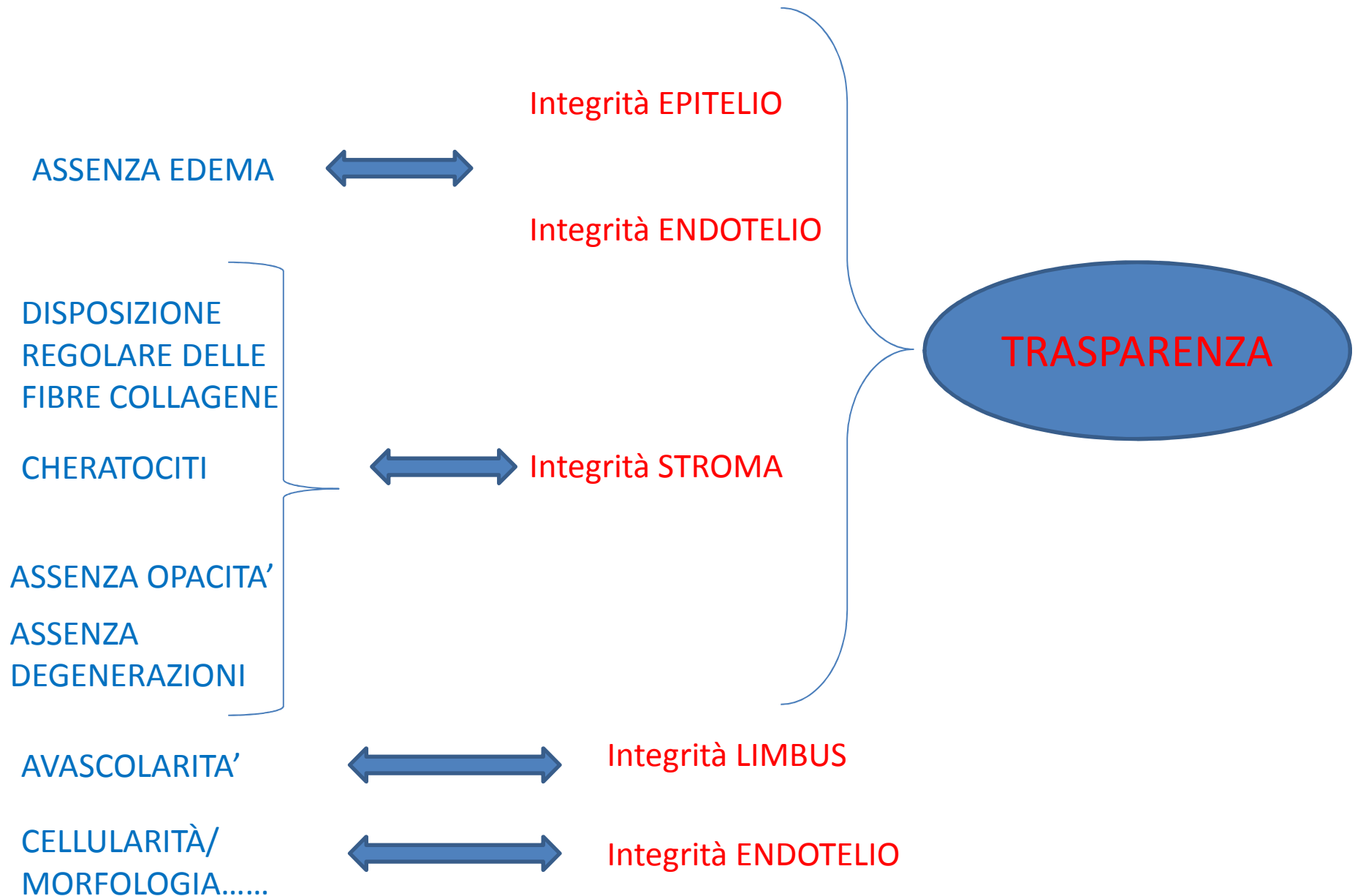
Document	Technical Guidelines for Ocular Tissue (TGOT)
Revision	8
Page	1 of 11
Operative from	01/02/2017

## TECHNICAL GUIDELINES FOR OCULAR TISSUE\*

- Stromal opacities (size, location) and arcus lipoides/senilis (Gerontoxon) should be documented including size of diameter of clear zone. The minimal diameter of the clear zone is at the discretion of the Responsible Person and/or the surgeon's requirements.
- Abnormal corneal shape (keratoconus, micro- or megalocornea)



# La cornea "ideale" in Banca



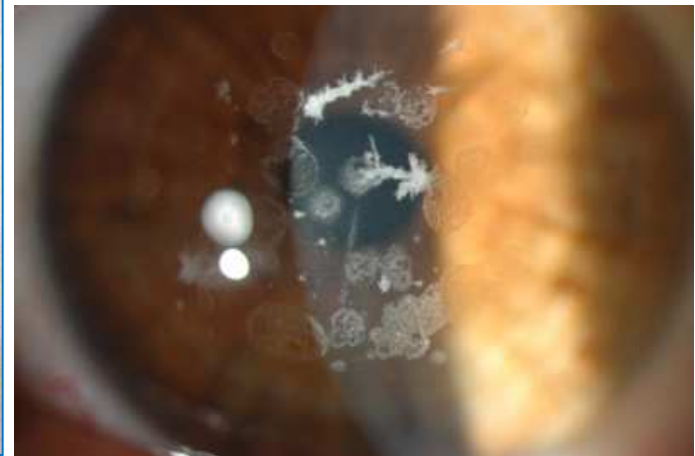
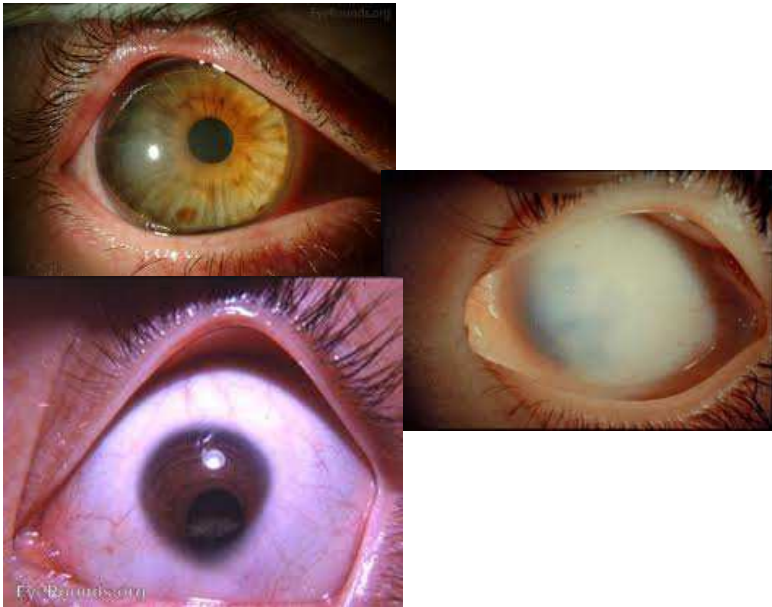
# La Cornea Patologica in Banca

Alterazioni congenite:

Anomalie di sviluppo

Distrofie

Solitamente hanno una espressione clinica, per cui la loro osservazione in banca degli occhi rappresenta un evento raro (non prelevate)



# La Cornea Patologica in Banca

## Alterazioni acquisite:

### ➤ Fenomeni post-mortem:

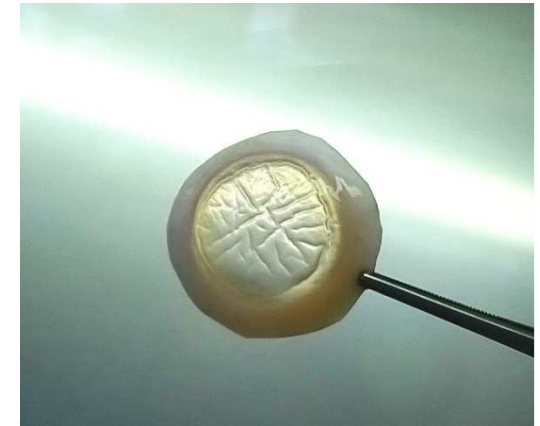
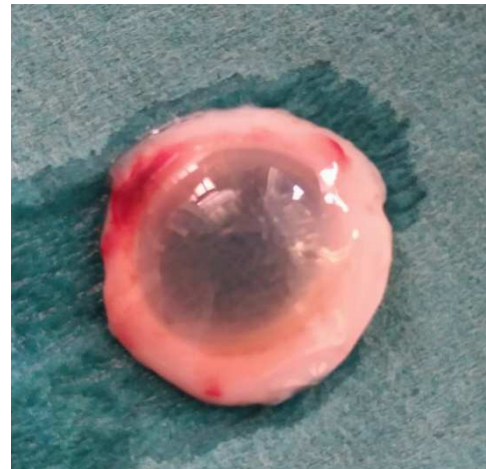
- degenerazioni epiteliali, stromali, endoteliali
- pieghe da ipotono e da trazione
- Edema Stromale

### ➤ Esiti di interventi chirurgici:

- Pregressa chirurgia della cornea
- Estrazione della cataratta

### ➤ Esiti di traumi:

- trauma cranio-facciale
- Leucoma traumatico
- Esiti di traumi corneali non perforanti
- Corpi estranei



# La Cornea Patologica in Banca: *Edema stromale*

Si evidenzia con l'aumento di spessore e con la formazione di pieghe della membrana di Descemet

1) Scarsa qualità biologica della cornea donatrice:

- Cornea opalescente
- Età avanzata del donatore
- Tempo post-mortem elevato
- Morte particolarmente travagliata
- Scadenti condizioni generali del donatore

2) Blocco della pompa endoteliale che si manifesta dopo il decesso:

- Aumento spessore
- Pieghe grossolane della M. di Descemet

# La Cornea Patologica in Banca

## Alterazioni acquisite:

### ➤ Infiammazioni

-Infiltrato settico corneale

-Esito di cheratite

-Esito di cherato-uveite

### ➤ Lesioni

-traumi fisici, chimici, meccanici (stimolazione riflesso corneale in corso di accertamento di morte, lesioni provocate in corso di prelievo)

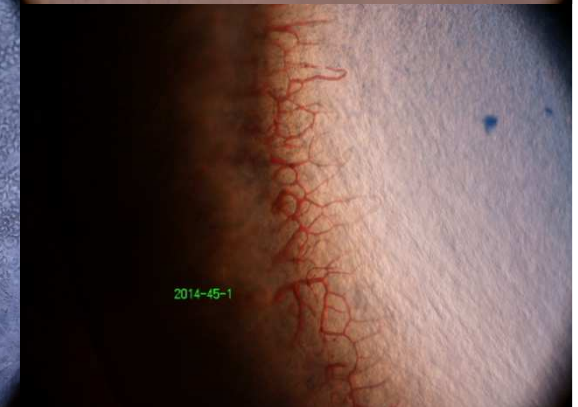




# La Cornea Patologica

## Alterazioni acquisite:

- Degenerazioni
  - alterazioni senili
  - alterazioni metaboliche
- Pigmentazioni
  - pigmentazioni corneali da corpi estranei ferrosi
- Vascolarizzazione
  - attiva, vasi fantasma
- Altro: reperti bizzarri, lesioni di natura sconosciuta



# CRITERI DI IDONEITA'



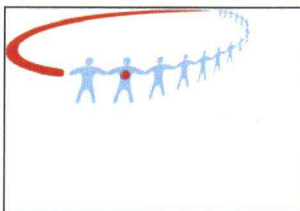
Document	Technical Guidelines for Ocular Tissue (TGOT)
Revision	8
Page	5 of 11
Operative from	01/02/2017

## 3 CORNEAL TISSUE EVALUATION AND SELECTION FOR TRANSPLANTATION<sup>1</sup>.

### 3.1 General.

The findings of the specific layers may relate to contraindications if tissue is planned to be used for full-thickness graft (PKP). Due to the variety of different and new surgical techniques such tissues can be also used for transplantation of only specific and intact layers. Therefore communication between surgeon and eye bank is very important in order to release tissue for specific purposes with the necessary recommendation from the eye bank. Nevertheless, the final decision of usage and suitability always remains at the responsibility of the transplanting surgeon.

To be able to select the tissue for the specific purpose for which it is intended, it is

	<b>LINEE GUIDA PER IL PRELIEVO, LA PROCESSAZIONE E LA DISTRIBUZIONE DI TESSUTI A SCOPO DI TRAPIANTO</b>	Codifica	LG.Tessuti
		Revisione	01
		Data	10/07/2013
		Pagina	35 di 61

# CRITERI DI IDONEITA'

## E.6 Tessuto Oculare

### E.6.1 Valutazione dell'idoneità del tessuto

Le caratteristiche di idoneità del tessuto oculare per trapianto sono relative al suo impiego chirurgico. I criteri di valutazione e le metodiche di esame utilizzate per la verifica dell'idoneità del tessuto dovranno essere conformi agli standard applicabili alla specifica valutazione e preparazione del tessuto in relazione alle finalità del suo impiego chirurgico.

E' compito del chirurgo specificare alla Banca la tipologia del tessuto richiesto in relazione all'utilizzo che ne intende fare.

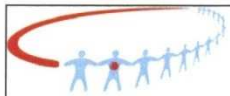
Le caratteristiche delle cornee per trapianto devono essere valutate con almeno una delle seguenti modalità:

- lampada a fessura;
- microscopio speculare;
- microscopio ottico.

Nel caso di cornee conservate in coltura è necessario valutare la mortalità delle cellule endoteliali.

L'idoneità al trapianto del tessuto esaminato, è comunque subordinata alla valutazione del donatore e dei risultati delle indagini sierologiche in accordo con quanto previsto dalle presenti Linee Guida.





**LINEE GUIDA PER IL PRELIEVO, LA  
PROCESSAZIONE E LA DISTRIBUZIONE  
DI TESSUTI A SCOPO DI TRAPIANTO**

Codifica	LG.Tessuti
Revisione	01
Data	10/07/2013
Pagina	35 di 61

# CRITERI DI IDONEITA'

## **E.6.1.1 Criteri di idoneità per cornee da utilizzarsi per cheratoplastica perforante a scopo ottico**

- Densità cellulare endoteliale uguale o superiore a 2.000 cellule/mm<sup>2</sup>.
- Mosaico cellulare endoteliale monomorfo senza marcato pleiomorfismo né polimegatismo.
- Segni di distrofia o degenerazione endoteliale (depositi pigmentati, gutte) assenti o estremamente ridotti.
- Stroma corneale esente da opacità significative che ne compromettano la trasparenza.

**PK**

## **E.6.1.2 Criteri di idoneità per cornee da utilizzarsi per cheratoplastica lamellare anteriore**

E' considerato idoneo lo stroma corneale esente da opacità significative che ne compromettano la trasparenza.

**DALK**

## **E.6.1.3 Criteri di idoneità per cornee da utilizzarsi per cheratoplastica endoteliale**

- Densità cellulare endoteliale uguale o superiore a 2.000 cellule/mm<sup>2</sup>.
- Mosaico cellulare endoteliale monomorfo senza marcato pleiomorfismo né polimegatismo.
- Segni di distrofia o degenerazione endoteliale (depositi pigmentati, gutte) assenti o estremamente ridotti.

**EK**

## **E.6.1.4 Criteri di idoneità per tessuto sclerale o corneale da utilizzarsi per scopo tettonico**

E' considerato idoneo il tessuto sclerale o corneale esente da alterazioni o esiti di patologie infiammatorie o degenerative (aree malaciche o iperpigmentate).

**Tettonica**

# L'EPITELIO ?



Document	Technical Guidelines for Ocular Tissue (TGOT)
Revision	8
Page	5 of 11
Operative from	01/02/2017

## 3 CORNEAL TISSUE EVALUATION AND SELECTION FOR TRANSPLANTATION<sup>1</sup>.

### 3.1 General.

The findings of the specific layers may relate to contraindications if tissue is planned to be used for full-thickness graft (PKP). Due to the variety of different and new surgical techniques such tissues can be also used for transplantation of only specific and intact layers. Therefore communication between surgeon and eye bank is very important in order to release tissue for specific purposes with the necessary recommendation from the eye bank. Nevertheless, the final decision of usage and suitability always remains at the responsibility of the transplanting surgeon.

To be able to select the tissue for the specific purpose for which it is intended, it is necessary to check and document the conditions of:

- The epithelium (full-thickness graft, superficial or deep anterior lamellar graft, limbal graft) – taking into account that the epithelium may slash out/fall off, the duration of storage is crucial.
- ~~The corneal stroma (full-thickness graft, superficial or deep anterior lamellar graft); transparency is crucial.~~
- The endothelium (full-thickness graft, posterior lamellar graft) - cell density is crucial (see 3.6).
- The corneal thickness may give additional information and therefore an evaluation is recommended before and after storage/deswelling – taking into account that thickness below 400µm may indicate unusual thinning (e.g. keratoconus, refractive surgery, wearing of hard contact lenses); thickness beyond 700µm may indicate unusual swelling within corneal layers.

### 3.2 Macroscopic inspection.

Without optical aid inspect the donor eye for corneal transparency and document corneal pathology such as:

- Abnormalities of the external globe (e.g. hypotonic globe/phthisis bulbi, suspicious signs of conjunctiva tumour)
- Signs of previous surgery of the anterior segment.
- Epithelial abrasions, retention of excessive orbital tissue, laceration of the globe.
- Epithelial defects.
- Stromal opacities (size, location) and arcus lipoides/senilis (Gerontoxon) should be documented including size of diameter of clear zone. The minimal diameter of the clear zone is at the discretion of the Responsible Person and/or the surgeon's requirements.
- Abnormal corneal shape (keratoconus, micro- or megalocornea).
- Condition of the anterior chamber (shape, evidence of gross blood).
- Abnormalities such as pterygium extending to the optical zone.

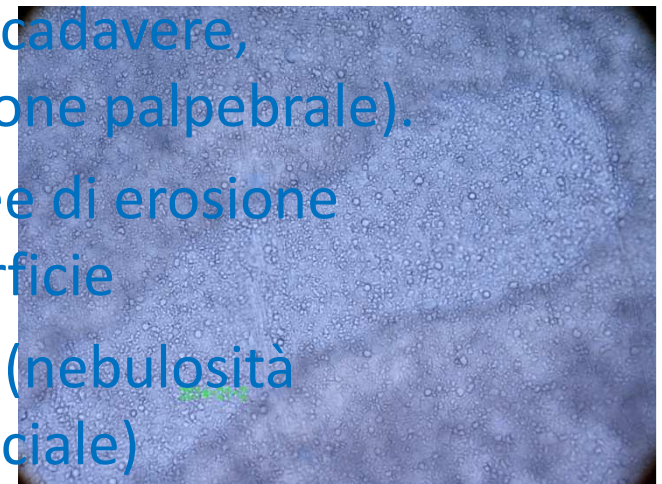
## 3.5 Areas of interest during microscopic examination:

- ~~Endothelium.~~
  - Appearance of swelling pattern of the intercellular space if applicable.
  - Quantity and extent of Descemet's folds.
  - Presence and distribution of dead cells resulting for example from trauma or post-mortem cell decay etc.
  - Density, size and shape of endothelial cells.
    - The endothelial cell density should be assessed according to a validated and regularly checked method, either counting directly with help of a graticule or afterwards on a photograph or with a calibrated software program.
    - Caution is warranted for automatically obtained cell counts as in most cases interactive manipulation of the image is required for a reliable cell count and reliable results of the morphometric analysis for cell size, variation in cell size, % hexagonals and other shape parameters.
    - Cell counting should be done in different areas, centrally and peri-centrally up to 2-3 mm from the centre being aware that cell density varies from center to periphery.
    - Polymegathism refers to variation in cell sizes; it could be graded from trace, mild, moderate to severe – a common nomenclature and valuation procedure within each facility is recommended.
    - Pleomorphism refers to variation in cell shape and the deviation from the normal hexagonal shape.
    - Signs of significant cell loss.
    - Presence of corneal guttae.
    - Intracellular morphological characteristics of endothelial cells (e.g. granulation, vacuolation).
- Stroma:
  - presence of stromal opacities, stromal deposits, abnormal morphology of keratocytes. The assessment of stromal condition has to be considered on the basis of final usage and patients diagnosis (e.g. patient with stromal defects/scarring etc.).
- Epithelium:
  - Check integrity of the epithelium, the presence of partial (vertical or horizontal) erosions, or the absence of epithelium. The valuation of epithelium condition has to be considered on the basis of final usage and patient diagnosis (e.g. patient with limbal defects etc.).



# L'EPITELIO

- Entro 30-60 minuti dal decesso: Aree puntiformi di degenerazione corneale
- Dopo circa 3-4 ore dal decesso: Edema epiteliale (età del donatore, temperatura di conservazione del cadavere, umidificazione della cornea, grado di occlusione palpebrale).
- Dopo l'edema: sfaldamento dell'epitelio, aree di erosione alternate a zone di opacità /rilievi sulla superficie
- Difficoltà nella valutazione della trasparenza (nebulosità dell'epitelio si confonde con leucoma superficiale)
- Rimozione dell'epitelio con un asciughino, lavaggio, nuova osservazione.



# L'epitelio va rimosso?

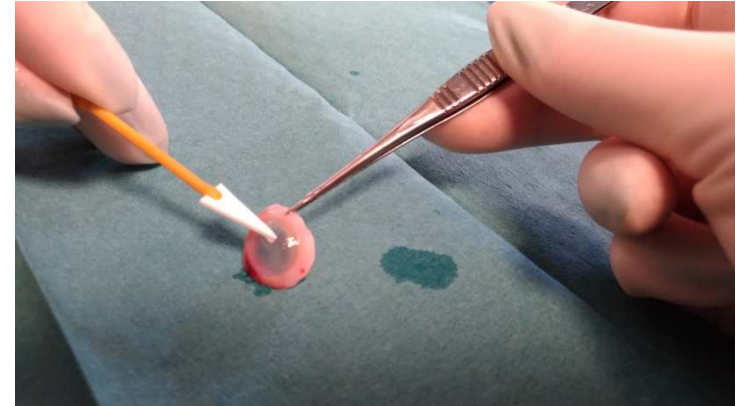
**SI'** se l'epitelio è sfaldato

- 1) Migliore valutazione della cornea
- 2) Evitare contaminazione del liquido di conservazione
- 3) Residui di epitelio malacico del donatore possono ritardare la riepitelizzazione dopo il trapianto

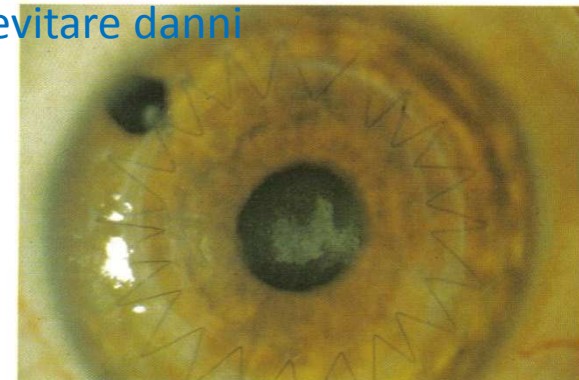
➤ La manovra di rimozione deve essere delicata

➤ Non si deve insistere quando l'epitelio è ben adeso per evitare danni alla membrana di Bowman :

- ✓ Displasia epiteliale
- ✓ Ritardi di riepitelizzazione
- ✓ Deficit epiteliali per difetti di ancoraggio.



P. RAMA ■ G. RAMA



**Fig. 1** - Opacità superficiale in un trapianto di cornea: l'epitelio malacico del donatore può stimolare una reazione fibroblastica che si manifesta con delle opacità sottoepiteliali; la semplice rimozione meccanica permette una normale riepitelizzazione.

# L'epitelio va rimosso?

**NO** se l'epitelio è ben adeso

- Il venir meno della funzione barriera del foglietto epiteliale causa edema della cornea per diffusione passiva.
- Lembo edematoso dopo il trapianto.

# Criteri di idoneità epitelio e stroma

- **PK:** trasparenza (stroma trasparente - epitelio integro/rimosso) e diametro utile - endotelio
- **DALK:** trasparenza (stroma trasparente - epitelio integro/rimosso) e diametro utile
- **DSAEK:** trasparenza e diametro utile non determinante – spessore determinante - **endotelio**
- **DMEK:** trasparenza e diametro utile non determinante – spessore non determinante – **endotelio - età**
- **Tettonica:** assenza di alterazioni o esiti di patologie infiammatorie o degenerative (aree malaciche o iperpigmentate)

# L'epitelio

*nel paziente-ricevente con sospetto deficit limbare....*

- ***Citologia ad impressione***
- Valutazione espressione CK 3/CK 19 per la definizione del danno limbare:
  - Epitelio CK 3 positivo: limbus funzionante
  - Epitelio misto CK 3/CK19: limbus parzialmente danneggiato
  - Epitelio CK 19: limbus totalmente danneggiato
- Isolamento ed espansione delle cellule staminali prima del trapianto



- ✓ Integrazioni ?
- ✓ Approfondimenti ?
- ✓ Osservazioni ?

**GRAZIE**



**A**TLANTE  
PER LA VALUTAZIONE  
DELLE CORNEE

*.....coming  
soon.....*