

# Tissue banking e falsi negativi: i tessuti corneali

*R. Mistò<sup>1</sup>, F. Pateri<sup>1</sup>, C. Gatto<sup>2</sup>, L. Giurgola<sup>2</sup>, J. D'Amato Tothova<sup>2</sup>*

*Un ringraziamento a : Elisabetta Frigerio<sup>1</sup>, Antonia Masin<sup>1</sup>, Elisa Molteni<sup>1</sup>, Simonetta Pescia<sup>1</sup>*

<sup>1</sup> Banca degli Occhi di Monza (MB)

<sup>2</sup> AL.CHI.MI.A SRL, Ponte San Nicolò (PD)

**Linee Guida CNT 19.06.2007 – SEZIONE E  
LAVORAZIONE DEI TESSUTI**

**6.2.2. Conservazione “a caldo” a lungo termine**

La conservazione “a caldo” consente la conservazione a lungo termine della cornea isolata mantenuta a +31 °/+37 °C. Il periodo di conservazione può essere protratto oltre le due settimane. Durante questo periodo è obbligatorio eseguire indagini microbiologiche sul liquido di conservazione ed almeno una valutazione delle cornee al microscopio ottico per accertarne l'idoneità.

**Technical guidelines for ocular tissue – EEBA gennaio 2012**

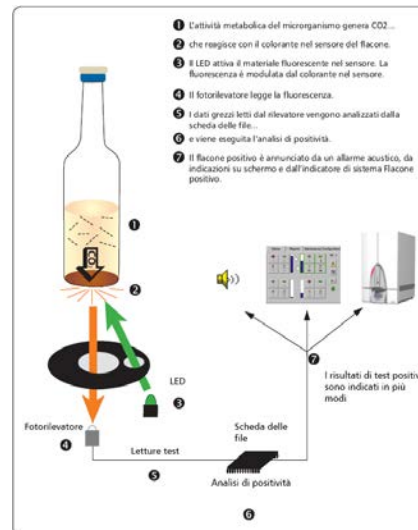
**Hypothermic storage** Instruction for surgery-use with recommendation of microbiological testing of corneal storage medium and/or remaining sclera rim at time of surgery should be added.

**Storage by organ/tissue culture**

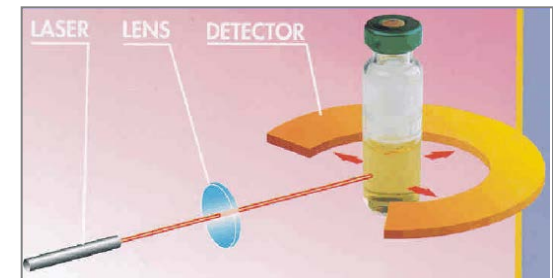
Microbiological testing of media samples is mandatory, sole visual inspection of the medium for a change in colour or transparency is not acceptable.

**LA VALUTAZIONE MICROBIOLOGICA E' REALMENTE AFFIDABILE?**

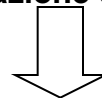
## Tecnologia a fluorescenza



## Tecnologia light scattering



- La presenza degli antibiotici nei liquidi rende più difficile la rilevazione dei microrganismi batterici
- Le resine polimeriche assorbenti e a scambio cationico nei brodi dei flaconi BACTEC assorbono gli antibiotici e favoriscono la crescita e rilevazione dei batteri

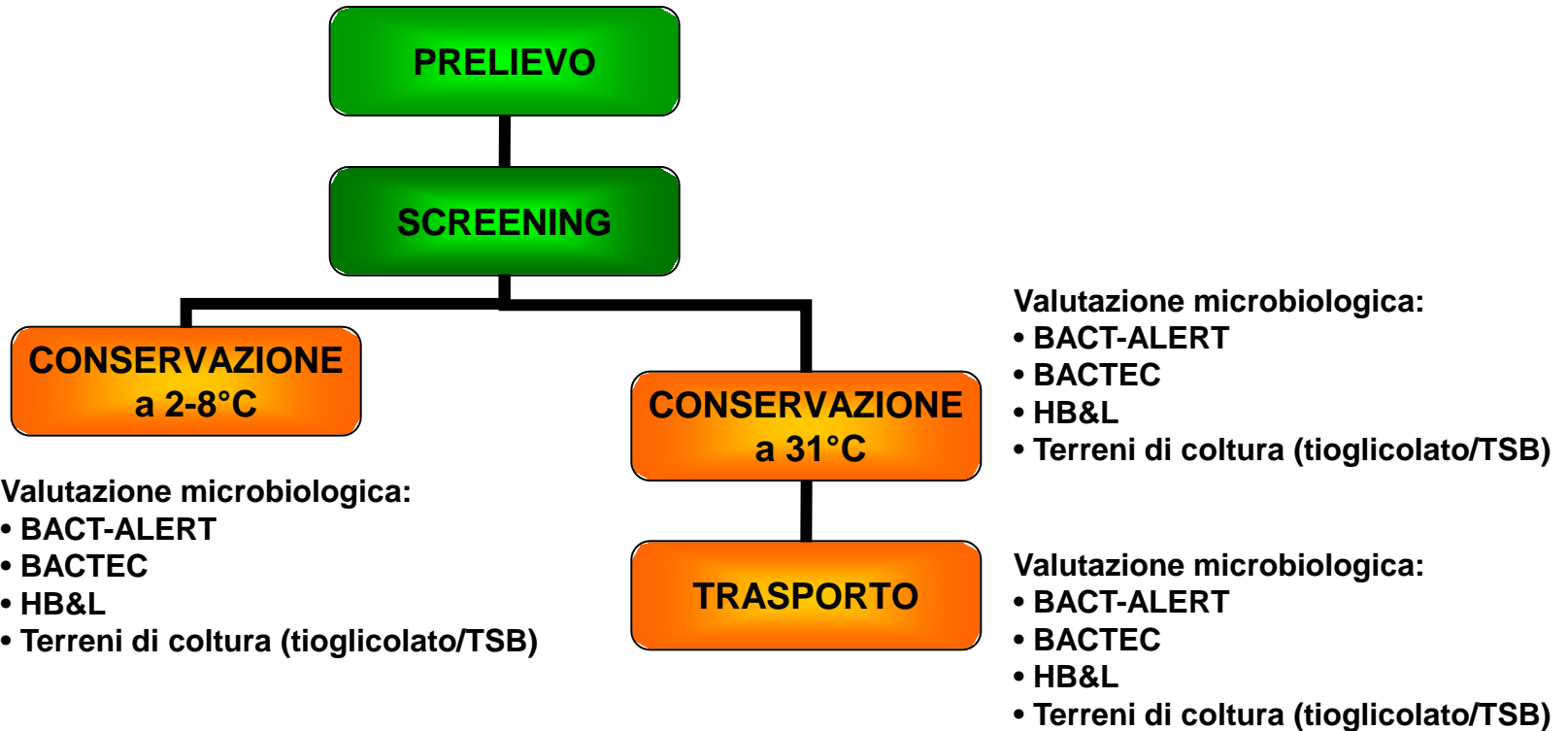


**PROBLEMA: POTENZIALE PRESENZA DI FALSI NEGATIVI**

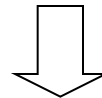
La consapevolezza dei falsi negativi nel tissue banking è sempre più diffusa

Test di sterilità in accordo con Farmacopea Europea (EP 7.0 §2.6.1)				
	<u>NO RIMOZIONE</u> dei residui di antibiotici		<u>RIMOZIONE</u> dei residui di antibiotici	
	positivi	negativi	positivi	negativi
<b>Cardiovascolare *</b> (n=32)	<b>0%</b>	<b>100%</b>	<b>25%</b>	<b>75%</b>
<b>Cute *</b> (n=10)	<b>0%</b>	<b>100%</b>	<b>90%</b>	<b>10%</b>
<b>Membrana amniotica</b> (n=11)	<b>0%</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>0%</b>
<b>Cornea *</b> (n=11)	<b>0%</b>	<b>100%</b>	<b>100%</b>	<b>0%</b>

\* Dati presentati ad European Association of Tissue Banks (EATB) 2011, Barcellona



<b>METODO</b>	<b>PRINCIPIO DI VALUTAZIONE</b>
<b>BACTEC</b>	Produzione di CO <sub>2</sub>
<b>BACTALERT</b>	Produzione di CO <sub>2</sub>
<b>HB&amp;L</b>	Torbidità
<b>tioglicolato/TSB</b>	Torbidità



**Sono tutti metodi basati sulla crescita batterica, ma in caso di batteriostasi?**

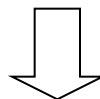


## Considerazione finale

Validazione è un termine italiano per esprimere il concetto anglosassone, peraltro tipico del Total Quality di :

**“FIT FOR USE”**

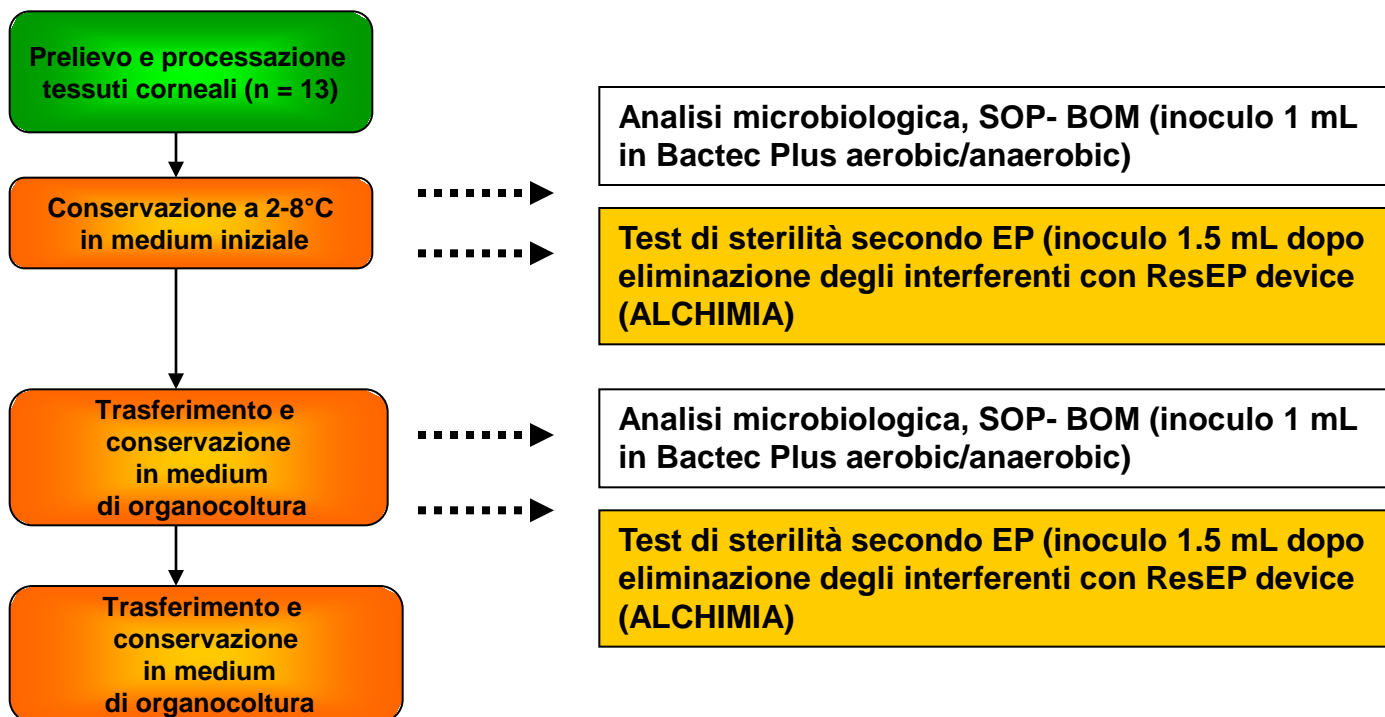
troveremo in molti prodotti disponibili in commercio il termine “Destinazione d’uso” che implica il concetto di validazione per il prodotto commercializzato. Esempi sono “Per uso diagnostico in vitro” oppure “Cell tested” oppure “Per uso umano” ecc.



**NECESSITA' DI VALIDARE I SISTEMI**

Valutazione dei falsi negativi nel percorso di valutazione dell' idoneità dei tessuti corneali nella Banca degli Occhi di Monza in collaborazione con ALCHIMIA

### DISEGNO SPERIMENTALE





**Risultati: medium iniziale per conservazione a 2-8°C**

	Bactec Plus		Test di sterilità dopo rimozione antibiotici	
	positivi	negativi	positivi	negativi
Cornea (n = 13)	<b>38%</b>	<b>62%</b>	<b>53%</b>	<b>47%</b>

**Risultati: medium di conservazione in organocoltura**

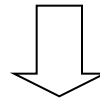
	Bactec Plus		Test di sterilità dopo rimozione antibiotici	
	positivi	negativi	positivi	negativi
Cornea (n = 13)	<b>0%</b>	<b>100%</b>	<b>23%</b>	<b>67%</b>

## **Risultati**

- **I test eseguiti con la metodica standard della banca presentano risultati falsi negativi sia sui campioni del mezzo di conservazione a freddo (15%) che di organocoltura (23%)**
- **La presenza dei residui antibiotici interferisce con la crescita batterica nel test di sterilità**
- **E' fondamentale rimuovere tali interferenti prima di effettuare le analisi microbiologiche**

## Conclusioni

- Il problema dei **falsi negativi** riguarda tutte le banche dei tessuti in percentuali differenti a seconda della tipologia del tessuto, della sua lavorazione, del metodo microbiologico ecc.
- I **sistemi microbiologici** attualmente in uso non garantiscono l'individuazione dei falsi negativi (non sono stati ideati per test di sterilità e non sono stati validati per queste problematiche)
- La **totale rimozione degli interferenti** dai campioni sottoposti a test di sterilità è fondamentale per ottenere un risultato certo
- L'eliminazione dei falsi negativi porta ad individuare un secondo problema: le **soluzioni di decontaminazione/conservazione** dei tessuti non garantiscono un'adeguata decontaminazione



**E' in corso lo sviluppo di una nuova soluzione di decontaminazione delle cornee  
(dati presentati all'EATB di Vienna, 21-23 novembre 2012)**

**È fondamentale che il processo di decontaminazione preservi la qualità del tessuto e garantisca la sicurezza del paziente**