

Relazione tra controlli congiuntivali e contaminazione in cornee conservate a 31°C.



10° Corso Sibo

Palazzo delle Arti Napoli

23 Aprile 2016

Elisa Zanetti



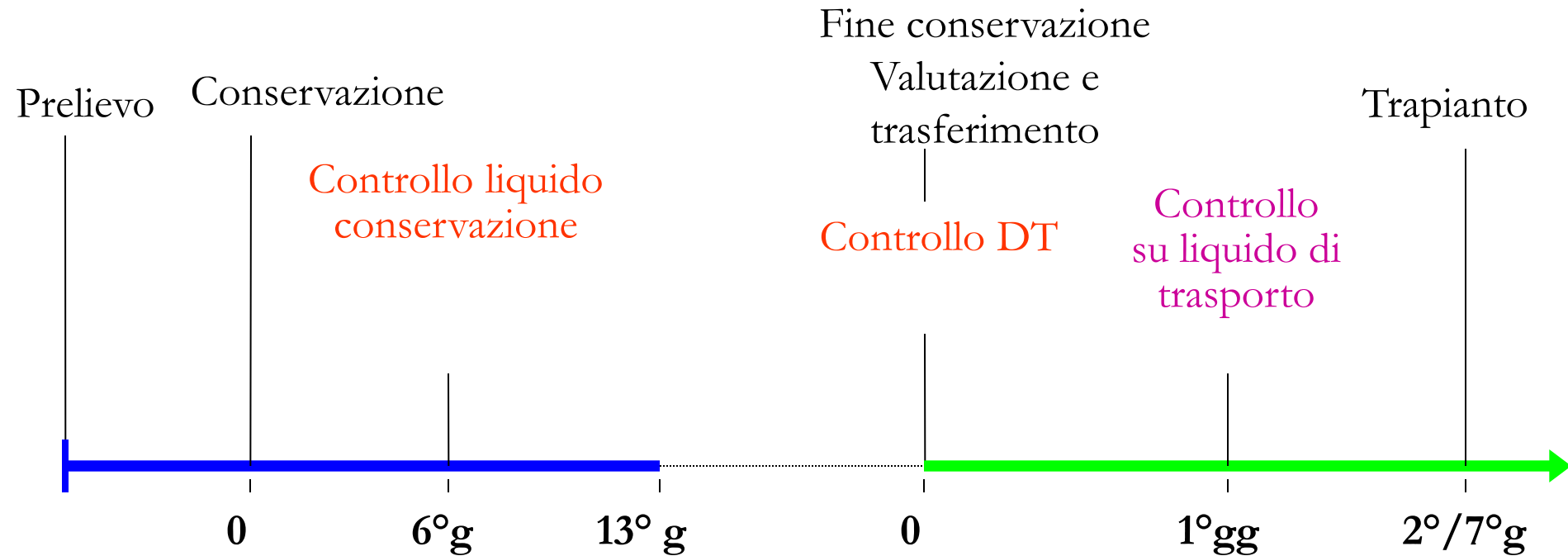
Fondazione esegue controlli microbiologici nel corso della conservazione della cornea in coltura.



Nessuna cornea conservata in coltura può essere distribuita per trapianto senza essere stata sottoposta a controlli microbiologici.



Controlli Microbiologici



Controllo su liquido di conservazione:

Bactec Peds Plus Aerobic a 37°C

Bactec Anaerobic a 37°C

HB&L a 37°C

Controllo su liquido di conservazione (alla fine della coltura) e su liquido di trasporto:

Bactec Peds Plus Aerobic a 37°C

HB&L a 37°C

Controlli microbiologici su congiuntiva limbare dopo decontaminazione dei bulbi oculari.

(SOP G1.210 : Controlli microbiologici)

Il controllo microbiologico viene effettuato su un frammento di congiuntiva limbare al termine della decontaminazione dei bulbi oculari effettuata in laboratorio prima dell'isolamento della cornea.

Predisporre per ciascun bulbo un flacone di tioglicollato.

Al termine della procedura di decontaminazione del bulbo, rimuovere con forbici sterili un frammento di congiuntiva limbare ed introdurlo nel flacone di tioglicollato.

Collocare la provetta di tioglicollato nell'incubatore a 37°C per sette giorni.

Fluid Thyoglicolate Medium

(FTM)

Raccomandato per test di sterilità.

Utilizzato per la crescita di batteri e miceti aerobi, microaerofili e anaerobi.

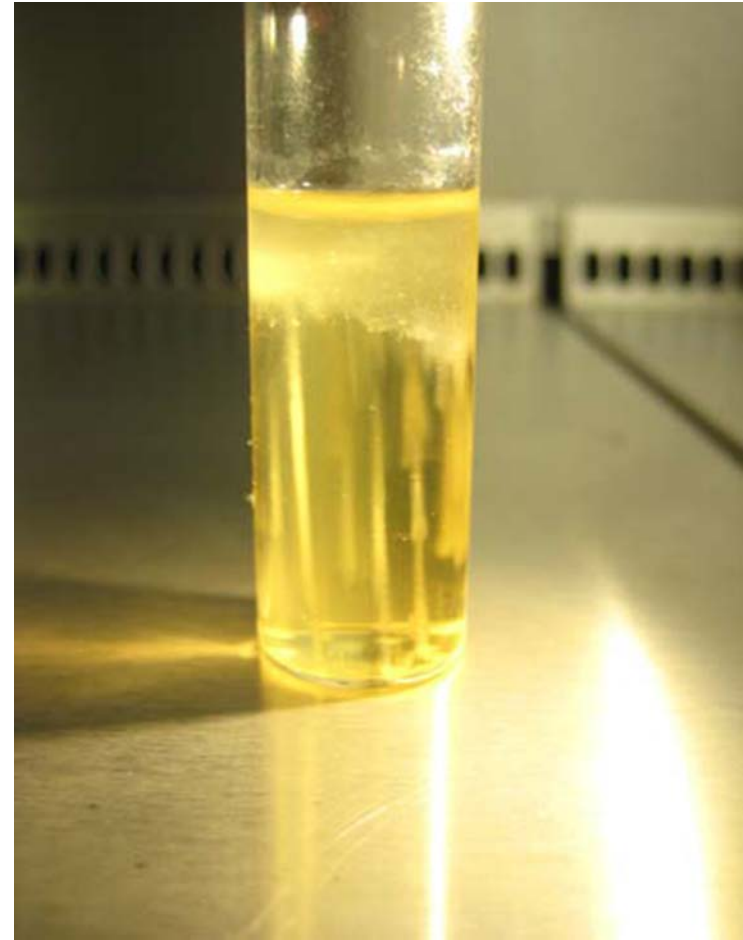
Fonti di aminoacidi e peptidi:
idrolizzato di caseina, estratto di lievito.

Equilibratore osmotico: NaCl.

Fonte di energia: glucosio.

Anti diffusione di CO₂ e O₂: agar
(minima concentrazione).

Riduzione potenziale redox dell'O₂:
gruppi -SH di L-Cisteina e sodio tioglicolato.



Decontaminazione del bulbo oculare

- Clorexidina 0,02% sterile denominata Clorex (30 s.)
- Soluzione salina sterile (1 min.)
- I-PVP 1% sterile (2 min.)
- Tiosolfato 0,1% sterile (1 min.)
- Soluzione salina sterile

Combined chlorhexidine and PVP-I decontamination of human donor eyes prior to corneal preservation.

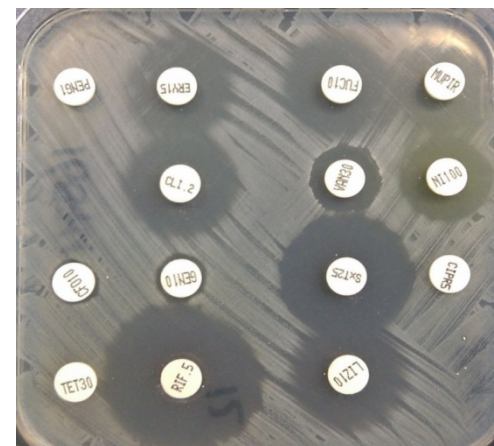
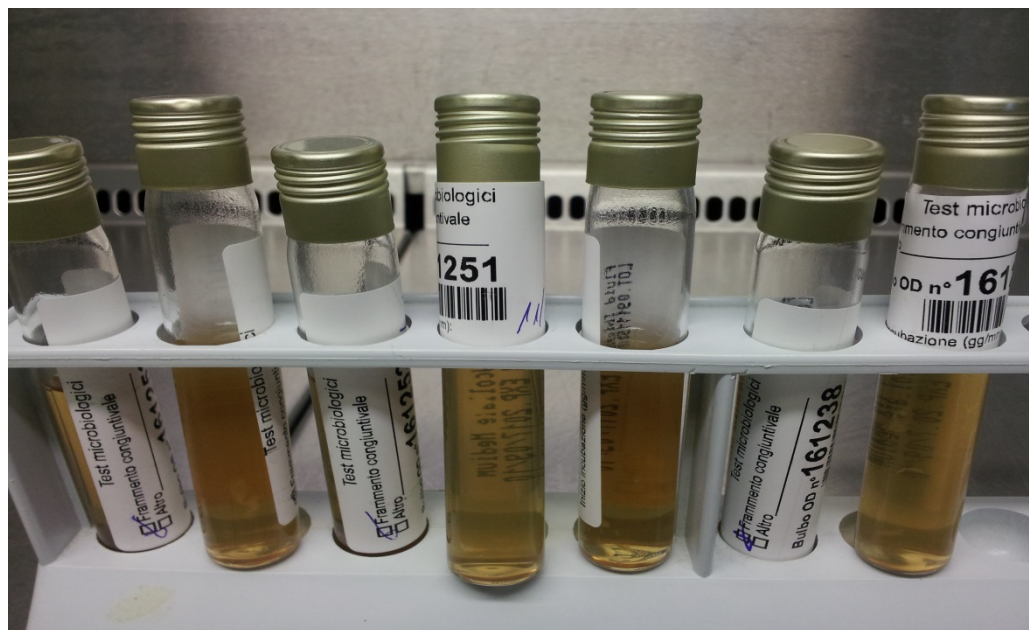
Chantal M. van Luijk , Marieke Bruinsma , Jacqueline van der Wees, Jessica T. Lie , Lisanne Ham, Gerrit R. J. Melles.

(Cell Tissue Bank. 2012 Jun; 13(2):333-9.)

Adeguamento ai requisiti per la distribuzione dei tessuti oculari in Germania (SOP G1.210 revisione 12 operativa da 09/02/15)

Le cornee per le quali si è evidenziata crescita microbica nella coltura del frammento congiuntivale non devono essere eliminate, ma vanno poste in quarantena fino all'identificazione del microrganismo contaminante.

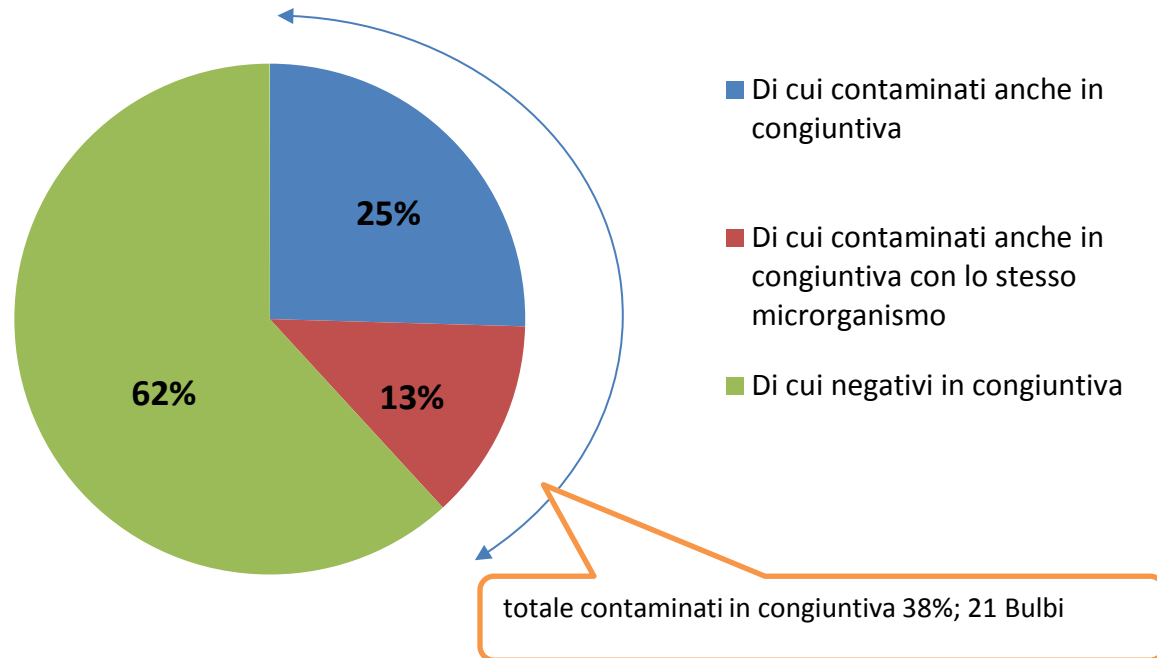
La cornea non può essere rilasciata per trapianto prima del ricevimento del referto di identificazione del microrganismo e del relativo antibiogramma.



<u>Anno 2015</u>	Raccolta	Coltura	Congiuntiva contaminazioni	Conservazione contaminazioni	Overlap (contaminati in entrambi)
N° Bulbi	1266	877	176	55	21
Inc %		<i>Coltura / Raccolta</i>	<i>Congiuntiva Contaminazioni / Coltura</i>	<i>Conservazioni Contaminazioni / Coltura</i>	
		69,3%	20,1%	6,3%	

Contaminazioni Conservazione	Di cui contaminati anche in congiuntiva	Di cui contaminati anche in congiuntiva con lo stesso microrganismo	Di cui negativi in congiuntiva
55	14	7	34

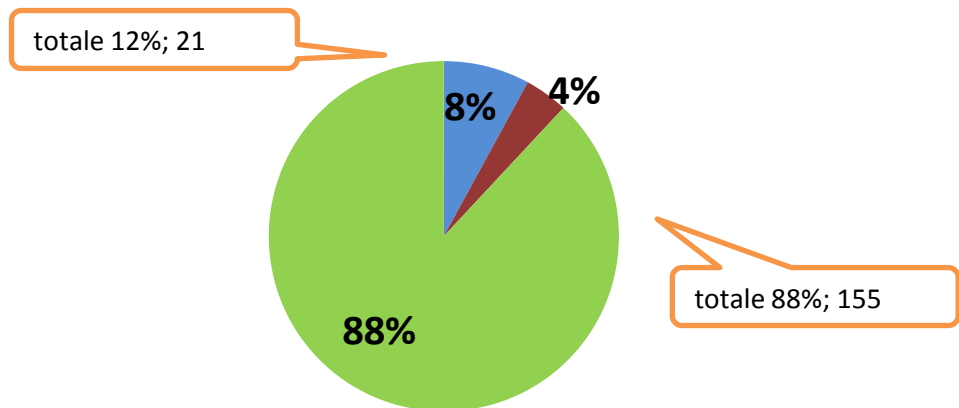
Conservazione contaminati vs congiuntiva



Contaminazioni congiuntiva	Di cui contaminati anche in conservazione	Di cui contaminati anche in conservazione con lo stesso microorganismo	Non contaminati in conservazione
176	14	7	155

Contaminazione predittiva congiuntiva

- Di cui contaminati anche in conservazione
- Di cui contaminati anche in conservazione con lo stesso microorganismo
- Non contaminati in conservazione

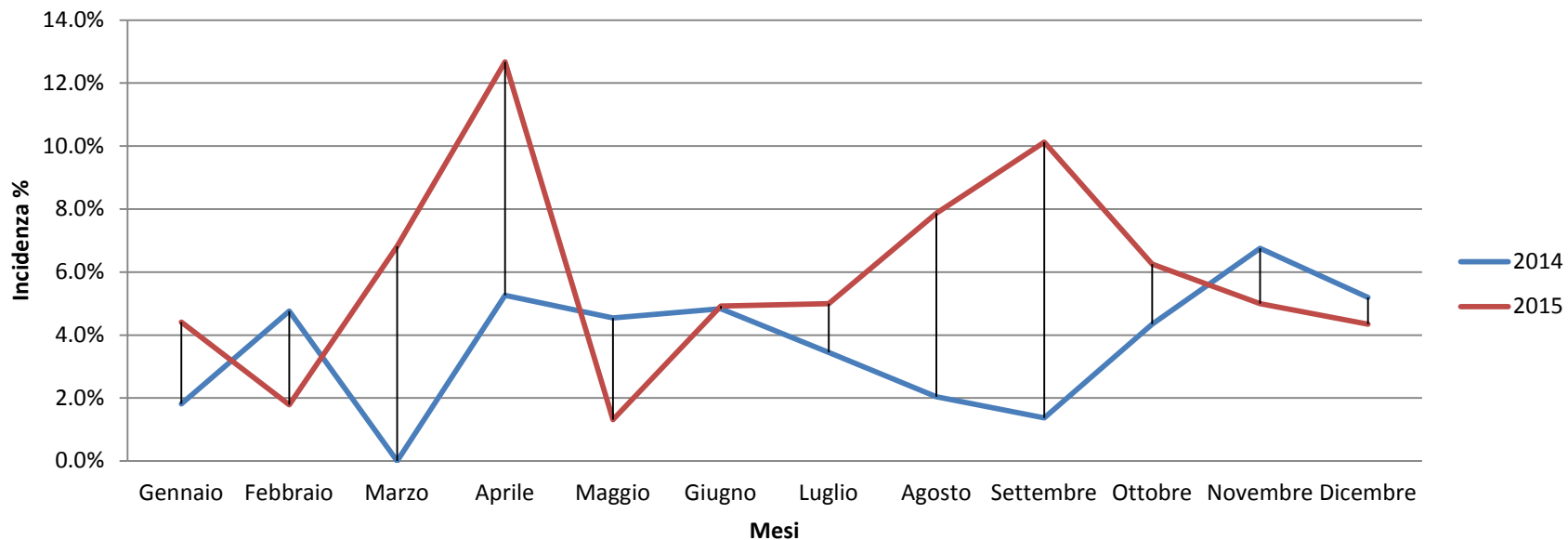


Overlap

Occhio DX/SX	Microrganismo contaminante in congiuntiva	Microrganismo contaminante in conservazione	Causa di morte	Stato settico
SX	<i>Negativo</i>	<i>Negativo</i>	Tumore	Settico
SX	<i>Klebsiella ornilytolica</i>	<i>Candida albicans</i>	Trauma	Settico
DX	<i>Bacillus spp.</i>	<i>Exophiala spp.</i>	Trauma	Settico
SX	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Exophiala spp.</i>	Trauma	Settico
DX	<i>Escherichia coli</i>	<i>Negativo</i>	Morte violenta	Non settico
DX	<i>Staphylococcus hominis</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	Patologia cerebrovascolare	Settico
SX	<i>Enterococcus faecalis</i>	<i>Enterococcus faecalis</i>	Tumore	Non settico
DX	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	Tumore	Non settico
SX	<i>Escherichia coli</i>	<i>Escherichia coli</i>	Tumore	Non settico
DX	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	Trauma	Settico
SX	<i>Escherichia coli</i>	<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	Trauma	Settico
DX	<i>Candida glabrata</i>	<i>Candida glabrata</i>	Tumore	Non settico
DX	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Negativo</i>	Tumore	Settico
SX	<i>Enterobacter amnigenus</i> <i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Morte violenta	Non settico
DX	<i>Staphylococcus epidermidis</i>	<i>Alternaria sp.</i>	Morte violenta	Non settico
SX	<i>Kocuria Kristinae</i>	<i>Bacilli G+ non identificati</i>	Tumore	Non settico
DX	<i>Proteus mirabilis</i>	<i>Proteus mirabilis</i>	Patologia cerebrovascolare	Non settico
DX	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	Tumore	Non settico
SX	<i>Negativo</i>	<i>Enterococcus faecium</i>	Tumore	Non settico
DX	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	Tumore	Non settico
DX	<i>Negativo</i>	<i>Fusarium equiseti</i>	Morte violenta	Settico

	2015	2014
Raccolta	1266	1117
Conservati	877	836
Contaminati	55	31
Inc% contaminati su Conservati	6,3%	3,7%

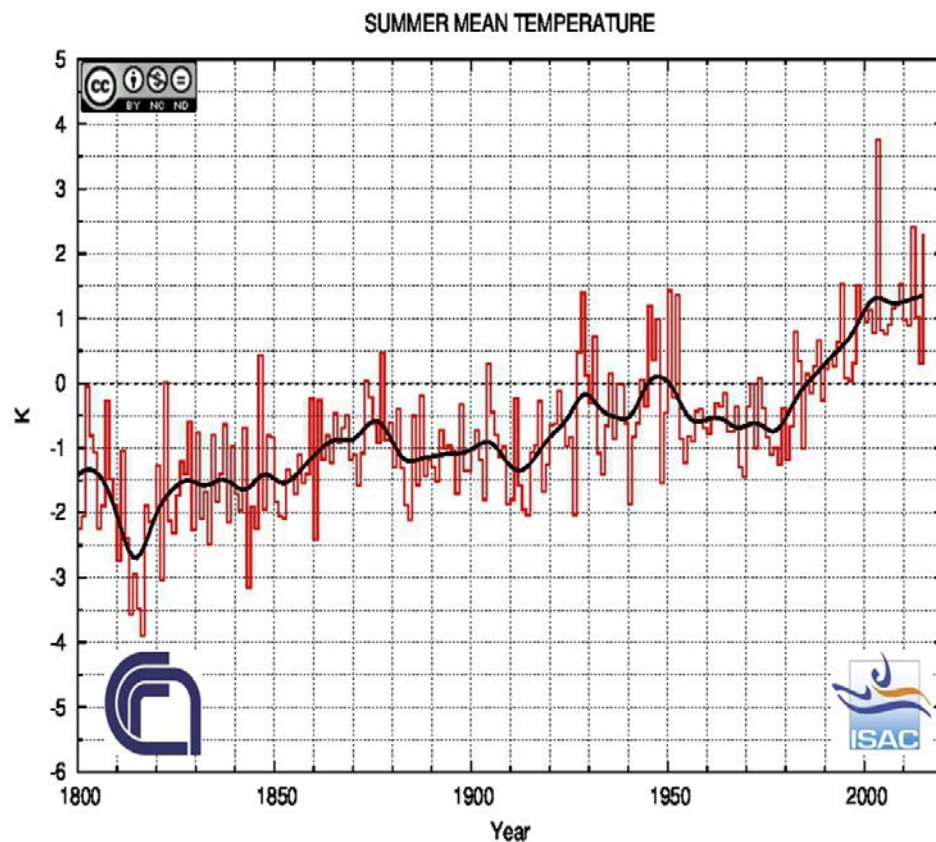
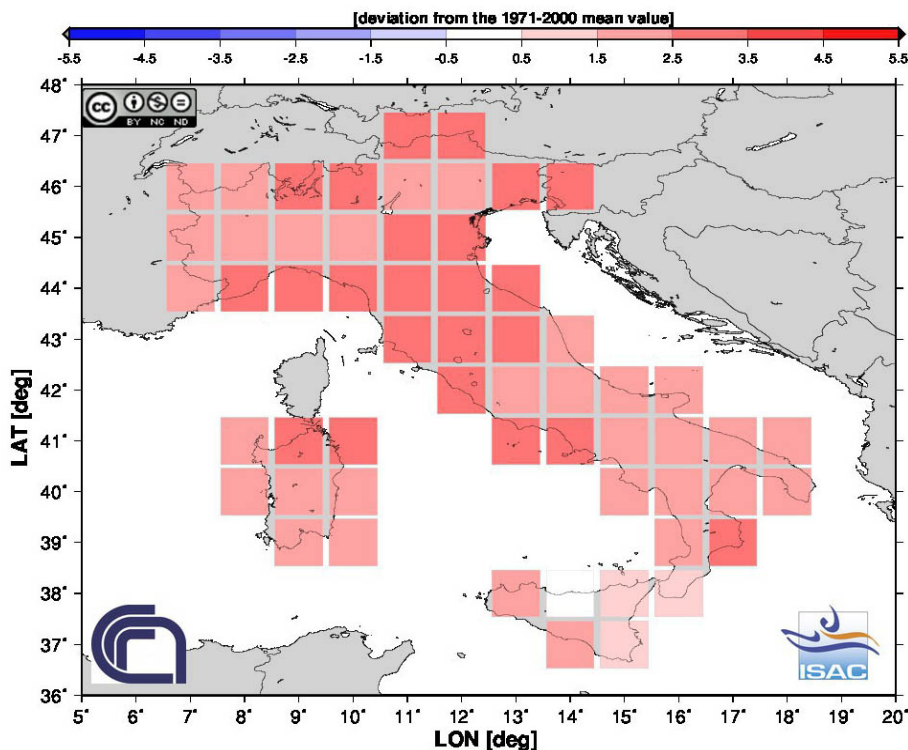
Andamento mensile incidenza contaminati su conservati



ESTATE 2015 IN ITALIA: TRA LE PIU' CALDE DA SECOLI.

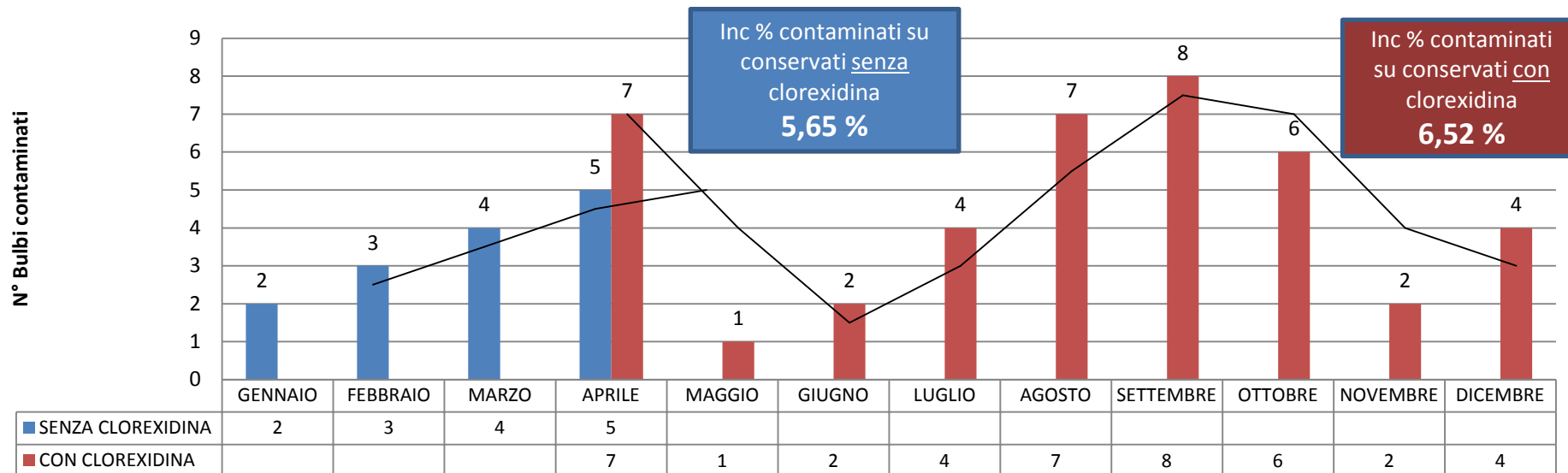
Temperature: seconda estate più calda al Nord, terza a livello italiano.

- Anomalie termiche dell'estate 2015 in Italia. A livello nazionale è risultata la terza più calda dal 1800 dopo i casi del 2003 e 2012, con scarti dai valori normali più marcati al Centro-Nord (oltre 2 °C). Fonte: [CNR-ISAC](#).

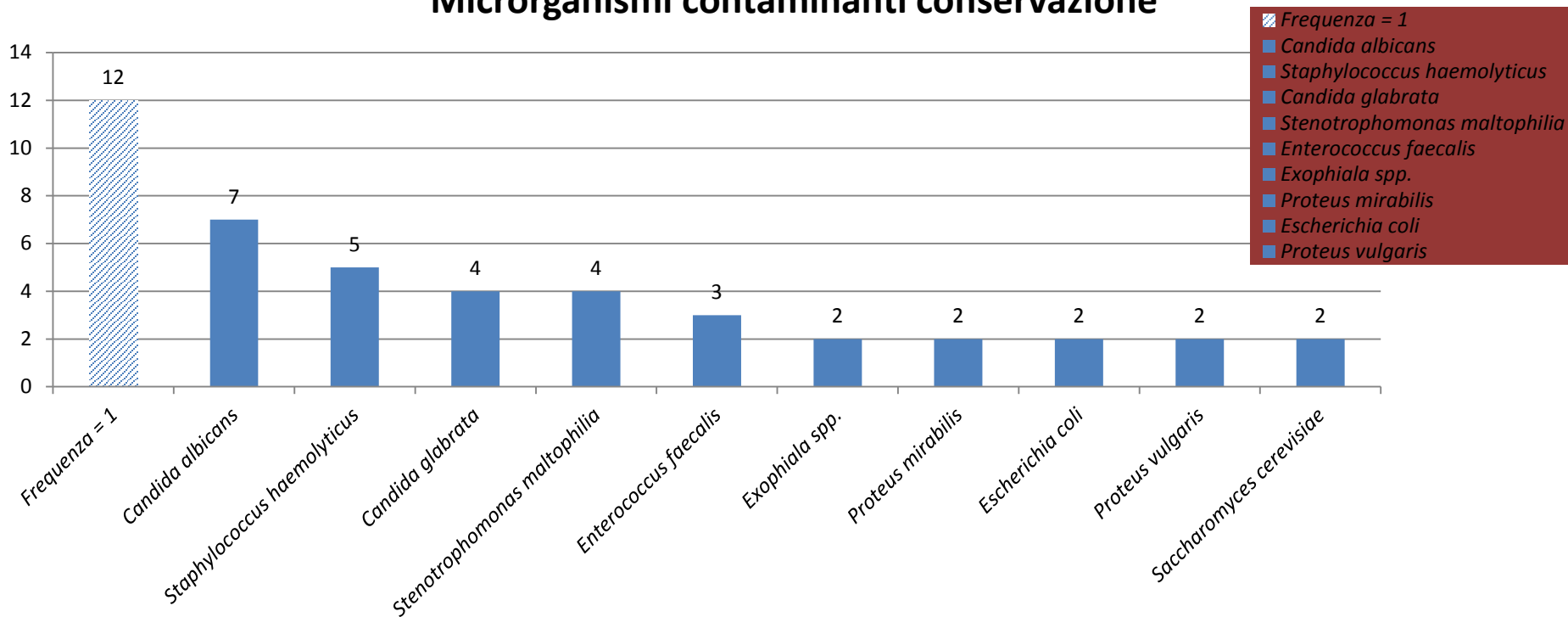


	Inc % Contaminazioni Gennaio-Aprile	Inc % Contaminazioni Maggio-Dicembre	Aumento Inc %
Anno 2014	3,1	4,1	33
Anno 2015	5,65	6,52	15

Andamento mensile 2015 contaminazioni con o senza CLOREXIDINA

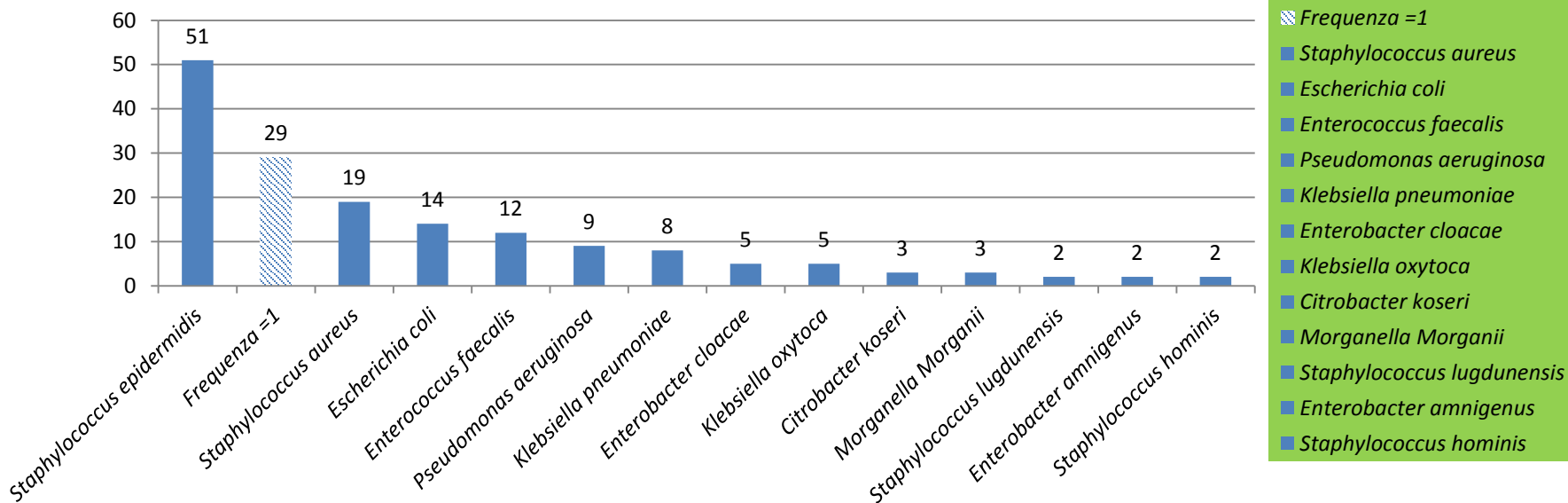


Microrganismi contaminanti conservazione



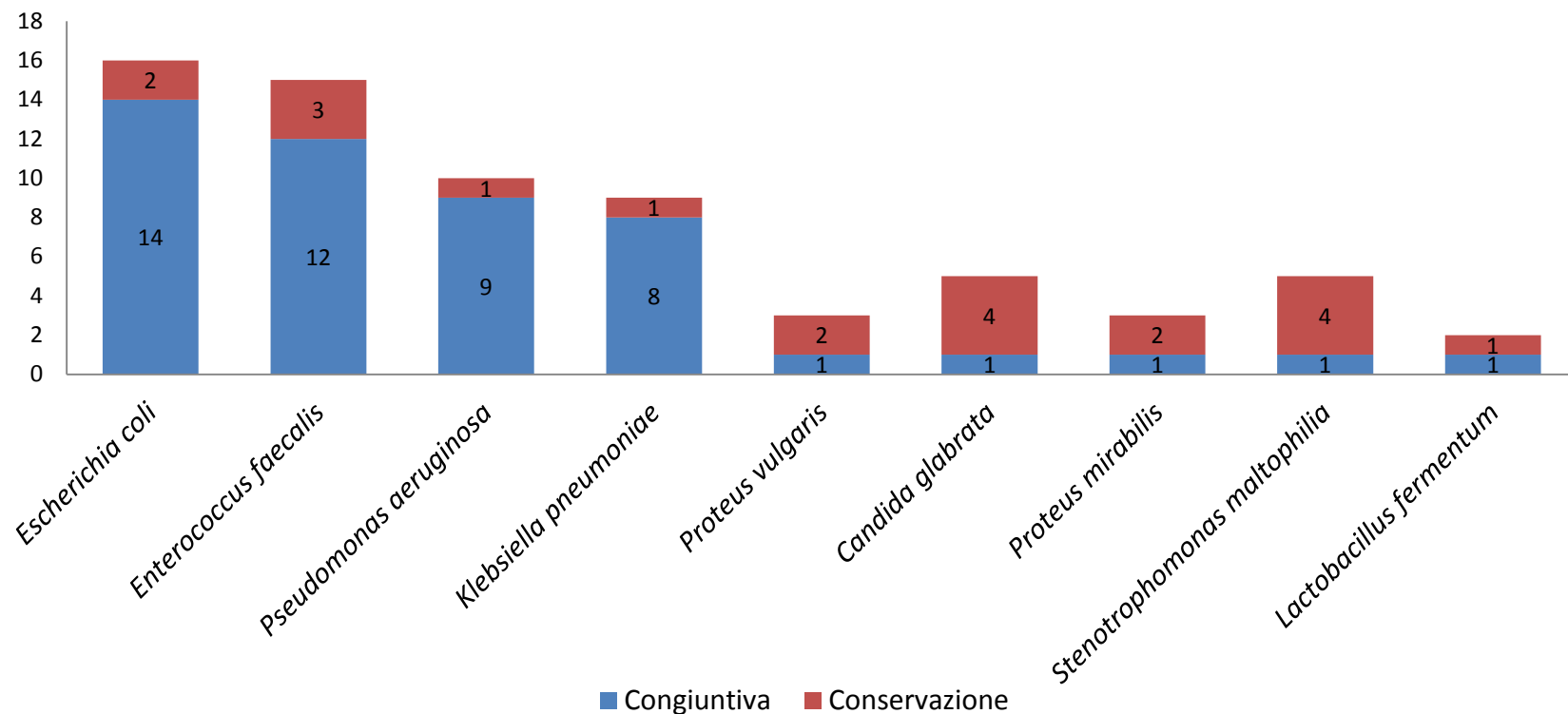
Specie microbica	N° microrganismi isolati in conservazione	Inc%
Frequenza = 1	12	27%
<i>Candida albicans</i>	7	16%
<i>Staphylococcus haemolyticus</i>	5	11%
<i>Candida glabrata</i>	4	9%
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	4	9%
<i>Enterococcus faecalis</i>	3	7%
<i>Exophiala spp.</i>	2	4%
<i>Proteus mirabilis</i>	2	4%
<i>Escherichia coli</i>	2	4%
<i>Proteus vulgaris</i>	2	4%
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	2	4%
Totale complessivo	45	100%

Microrganismi contaminanti congiuntiva

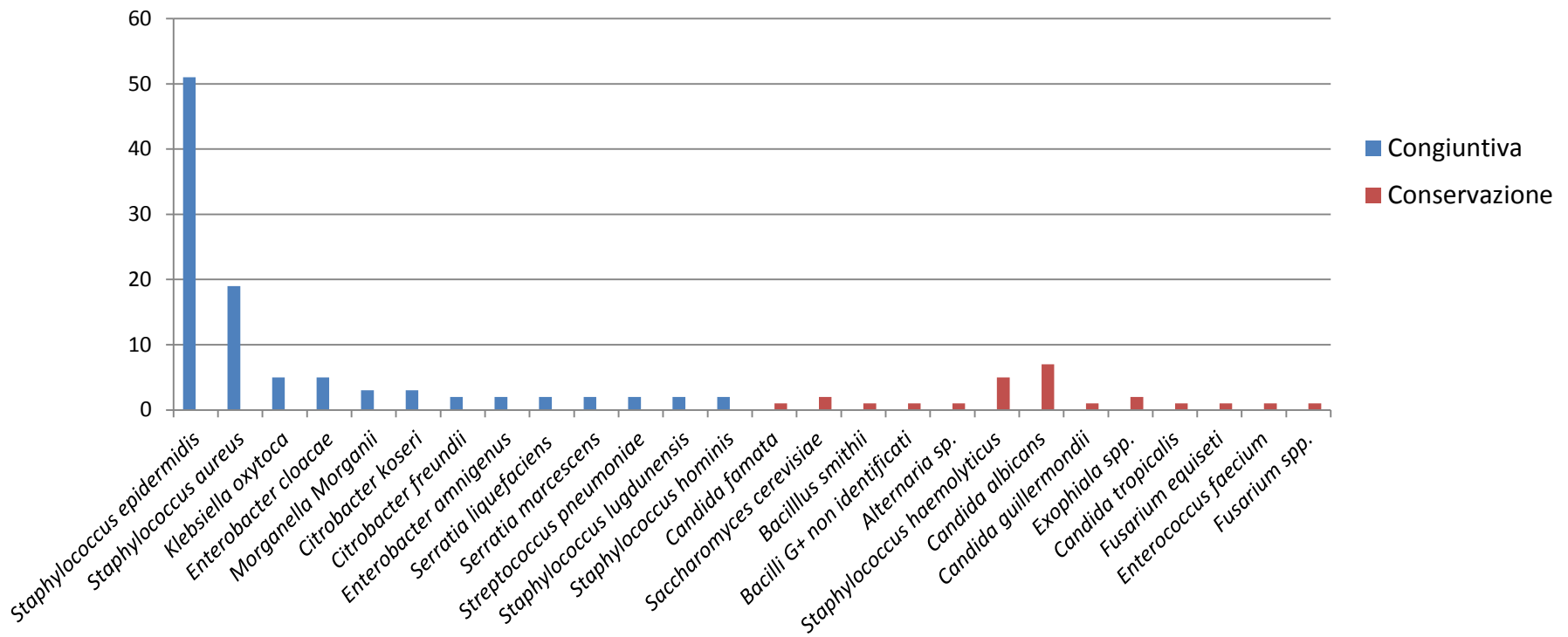


Specie microbica	N° microrganismi isolati congiuntiva	Inc%
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	51	31%
Frequenza =1	29	18%
<i>Staphylococcus aureus</i>	19	12%
<i>Escherichia coli</i>	14	9%
<i>Enterococcus faecalis</i>	12	7%
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	9	5%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8	5%
<i>Enterobacter cloacae</i>	5	3%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	5	3%
<i>Citrobacter koseri</i>	3	2%
<i>Morganella Morganii</i>	3	2%
<i>Staphylococcus lugdunensis</i>	2	1%
<i>Enterobacter amnigenus</i>	2	1%
<i>Staphylococcus hominis</i>	2	1%
Totale complessivo	164	100%

	Totale	Congiuntiva	Conservazione	Sovrapposizione
Specie microbiche	51	38	22	9
Primi Microrganismi per frequenza >5		10	5	
Incidenza su n° microrganismi		26%	23%	
Totale incidenza		79%	51%	
Microrganismi solo in una tipologia	42	29	13	
Incidenza sul totale conteggio microrganismi	84%	76%	59%	
Microrganismi in entrambi	9			
Incidenza sul totale conteggio microrganismi	18%			



	Totale	Congiuntiva	Conservazione	Sovrapposizione
Specie microbiche	51	38	22	9
Primi Microrganismi per frequenza >5		10	5	
Incidenza su n° microrganismi		26%	23%	
Totale incidenza		79%	51%	
Microrganismi solo in una tipologia	42	29	13	
Incidenza sul totale conteggio microrganismi	84%	76%	59%	
Microrganismi in entrambi	9			
Incidenza sul totale conteggio microrganismi	18%			



Anno 2015

- Analizzati 877 frammenti congiuntivali, tasso di contaminazione pari a 20,1%
- Conservate 877 cornee isolate da bulbi, tasso di contaminazione 6,3%
- Nei controlli microbiologici congiuntivali risultano più rappresentati *Staphylococcus epidermidis* 31% e *Staphylococcus aureus* 12%
- Nei controlli microbiologici corneali risultano più rappresentati *Candida albicans* 16% e *Staphylococcus haemolyticus* 11%.
- 38% delle cornee isolate da bulbi con controllo microbiologico positivo in conservazione presentano anche contaminazione in controllo congiuntivale, di cui 13% con lo stesso microrganismo e 25% con microrganismo diverso.
- 62% delle cornee isolate da bulbi con controllo microbiologico positivo in conservazione non presentano controllo congiuntivale positivo.
- I risultati sui controlli congiuntivali non forniscono un valore predittivo sulla contaminazione in conservazione anche se una relazione è trovata.

Grazie per l'attenzione!

elisa.zanetti@fbov.it

