

## UBICAZIONE DELLA BANCA CUTE REGIONALE EMILIA ROMAGNA

La **BANCA CUTE**, Regionale Emilia Romagna, è ubicata a Cesena, presso Ospedale “M.Bufalini”, al secondo piano, nell’ultimo locale a sinistra del corridoio antistante la Chiesa.

Denominazione e Indirizzo	Recapiti
<b>BANCA DELLA CUTE</b> Responsabile Medico Sanitario: Dr. <b>Davide Melandri</b> Responsabile Attività di Laboratorio: <b>Dr.ssa Paola Minghetti</b> Presidio Ospedaliero “M.Bufalini” Viale Ghirotti n° 286 - 47023 Cesena	Telefono: 0547/352919 FAX: 0547/394327  e-mail: <a href="mailto:pminghetti@ausl-cesena.emr.it">pminghetti@ausl-cesena.emr.it</a>

## BANCA DELLA CUTE

La **Banca Cute** è un Laboratorio di accettazione, gestione, manipolazione, analisi, conservazione-stoccaggio e distribuzione di **tessuto cutaneo** di donatore cadavere, realizzato secondo criteri validi di qualità per la conservazione di tali tessuti.

Il Laboratorio Banca Cute afferisce al C.G.U. ed è l’unico centro di riferimento regionale.

L’esigenza dell’istituzione di una **Banca Cute** in grado di garantire al Centro Grandi Ustionati di Cesena lembi dermo-epidermici alloplastici per un impiego clinico nasce attorno agli anni 1998/1999, si consoliderà poi nel 2000.

Nella Banca Cute vengono preparati e conservati lotti di tessuto cutaneo, (Cute e Ded), provenienti da donatori multiorgano e multitessuto per poi essere utilizzati anche da altre strutture ospedaliere regionali e nazionali dietro richiesta.

I prelievi di tessuto cutaneo vengono effettuati prevalentemente dai medici del reparto C.G.U e in piccola parte da medici competenti di strutture ospedaliere Regionali preventivamente e adeguatamente addestrati alla tecnica del prelievo cutaneo.

Tutta la fase riguardante l’attività laboratoristica è di competenza del personale specializzato dedicato alla Banca Cute (Biologi e Tecnici).

Sul tessuto cutaneo prelevato sono state messe a punto varie metodologie di conservazione, quali la CRIO-CONSERVAZIONE, per garantire la vitalità e l’integralità del tessuto oltre che grandi scorte di questo materiale biologico da usarsi all’occorrenza. Questo tipo di indagine lavorativa si concentra sulla modalità di congelamento, sulla valutazione della sterilità dei lembi di Tessuto Cutaneo prelevati ed in modo particolare sulla vitalità cellulare dopo crioconservazione.

Pertanto il ruolo del laboratorio è di fondamentale importanza nella corretta gestione della banca della cute in quanto rappresenta il punto nevralgico di controllo e di indirizzo di tutte le procedure da attuarsi.

Dai primi mesi del 2006 la Banca Cute ha incrementato la propria attività mettendo a punto nuove metodologie di ingegneria tessutale e cellulare volte alla produzione di sostituti dermici decellularizzati (scaffold) e gel piastrinico. Inoltre sempre nell’ambito dell’ingegneria tessutale la Banca Cute ha instaurato una collaborazione con la U.O. S.I.M.T. circa il progetto: Gel Piastrinico.

### L’orario di lavoro della Banca è :

- Lun. - Ven. dalle 8 alle 16.
- Sab. dalle 8 alle 14

**Il laboratorio della Banca Cute** dispone di 3 locali:

**Zona Filtro** (zona di accesso alla Banca )

**Zona Manipolazione tessuto**

**Zona stoccaggio** tessuti e studio

Lo **strumentario** in uso è il seguente:

- 1 cappa sterile a flusso laminare
- 2 frigoriferi a +4°C per la conservazione dei terreni di coltura oltre che per la conservazione dei prelievi cute
- 1 piccolo congelatore a -20°C (annesso ad un frigorifero)
- 1 congelatore a -80°C
- 1 incubatore a 37°C (eventualmente a CO<sub>2</sub>)
- 1 crio-congelatore ovvero un sistema per la refrigerazione della cute da temperatura ambiente a -150°C (PLANER)
- 2 contenitori di stoccaggio, MVEXLC500 ed ESPACE 331, per le sacche di cute crio-congelate
- 4 contenitori ad azoto liquido, di cui 2 da 50L, uno da 180L il quarto da 250L.
- 1 microscopio
- 1 bilancia analitica di precisione
- 1 bagnetto termico
- 2 carrelli porta oggetti
- 2 armadi: uno in acciaio in zona manipolazione tessuto contenente strumentario sterile per la processazione del tessuto, quale: pipette sterili, arcelle forbici pinze garze sterili, falcon da 15 e 50ml, sacche in teflon; l'altro in legno in zona filtro contenente tutta la documentazione cartacea relativa alla conservazione del tessuto e dati Donatori-Riceventi.
- Una vasta gamma di reattivi necessari per l'espletamento di questa attività specialistica
- 1 P.C.
- 1 stampante
- 1 fax
- 1 telefono

## **PREMESSE AL PRELIEVO E ALL'UTILIZZO DI CUTE DI DONATORE**

- **Accertamento di morte:** l'accertamento di morte del donatore cadavere è effettuato ai sensi della **Legge 29 dicembre 1993 n. 578** e del decreto del Ministro della Sanità **22 agosto 1994 n. 582**.
- **Autorizzazione al prelievo:** viene seguita e rispettata la legge nazionale e i regolamenti che governano la manifestazione di volontà alla donazione e l'approvvigionamento di tessuti provenienti da donatori cadavere e si fa riferimento alla **Legge 1 aprile 1999 n. 91**: Disposizioni in materia di prelievi e di trapianti di organi e di tessuti.
- Ai donatori viene garantita la riservatezza estrema sull'utilizzo dei loro dati.
- Viene strettamente mantenuto l'anonimato tra il donatore ed il ricevente.
- Tale anonimato è garantito attraverso l'utilizzo di sigle e codici di identificazione per rintracciare i tessuti.
- L'età del donatore è compresa tra i 15 anni e i 75 anni.
- **Valutazione dell'idoneità generale del donatore:** la raccolta di notizie approfondite sulla storia medica/sociale/sexuale del potenziale donatore è svolta da personale competente del nostro centro e dall'equipe medica che stende il verbale di morte.
- Ci sono casi morbosi ed una serie di condizioni patologiche che escludono nel modo più assoluto la donazione di tessuto cutaneo (es. infezioni in atto da HIV, HBV, HCV, setticemie, viremie, micosi, soggetti in emodialisi, presenza di demenza o malattie croniche degenerative centrali ad eziologia sconosciuta quali m. di Alzheimer, sclerosi multipla, sclerosi laterale amiotrofica, panencefalite acuta sclerosante, m. di Parkinson.)

- Vengono effettuati una serie di test sierologici obbligatori, che in caso di positività escludono alla donazione, in tal modo il tessuto non può essere utilizzato per il trapianto
- Il prelievo del tessuto, di idoneo spessore, viene effettuato in aree non visibili, al fine di evitare deturpazioni della salma, in particolare: braccia, cosce anteriori e posteriori, dorso, torace, addome; **sono evitati prelievi al capo, collo, perineo e genitali**
- La Banca della Cute registra tutti i movimenti, sia di entrata che di distribuzione, del tessuto cutaneo prelevato ed importato
- I contenitori per il tessuto cutaneo prelevato sono internamente sterili, appropriati, inerti in condizioni di utilizzo normale e adatti ad essere chiusi ermeticamente per escludere contaminazioni esterne. Immediatamente dopo il prelievo, un operatore posiziona in condizioni di asepsi i lembi di cute e se effettuati anche quelli di Ded, all'interno dei contenitori cui viene aggiunta una idonea soluzione di conservazione. Una volta riempito e chiuso ermeticamente il contenitore rimane chiuso, né verrà rimosso il tessuto in esso contenuto fino ad ulteriori manipolazioni a cura della Banca.
- Ogni contenitore sterile contenente lembi di cute, ed eventualmente anche Ded, riporta un'etichetta con: nominativo o codice di identificazione, data di nascita del donatore, tipo di tessuto e data di prelievo.
- **Trasporto:** Il trasporto del tessuto cutaneo prelevato avviene attraverso l'utilizzo di contenitori o bauletti termostatici dove sono inseriti panetti già refrigerati o più frequentemente il ghiaccio; è stato disposto un sistema di rilevazione cartaceo della temperatura che registra i valori termici interni al contenitore alla partenza dal centro di prelievo e poi all'arrivo presso il C.G.U. In tal modo sono assicurati sia l'integrità del contenitore, sia il mantenimento di una temperatura di 0°C/+10°C, finché non vengono effettuate in Banca tutte le procedure previste
- **Rintracciabilità del donatore:** ad ogni tessuto viene assegnato un **codice** composto da un numero e seguito dalle iniziali del donatore identificativo unico per quel tessuto che servirà per identificare il materiale durante tutti i passaggi, dal prelievo fino alla distribuzione ed utilizzo; questi dati mettono in relazione il tessuto con il donatore.
- Viene mantenuta per 30 anni la documentazione relativa a tessuti non processati, processati, eliminati e distribuiti

## SICUREZZA GENERALE DEL LABORATORIO

L'accesso alla Banca della Cute è esclusivamente limitato al personale regolarmente autorizzato. Tutti i tessuti prelevati sono processati e manipolati sterilmente esclusivamente all'interno del piano di lavoro della cappa, collocata nella zona manipolazione tessuto con filtro assoluto. Al fine di minimizzare eventuali rischi di contaminazione ambientale, il laboratorio della Banca Cute è stato organizzato e diviso in tre locali:

1. zona di stoccaggio (deposito-studio)
2. zona filtro: accesso - archivio
3. zona manipolazione-confezionamento tessuto cutaneo, è una zona con filtro assoluto terminale ad alta classe di efficienza, permette la lavorazione dei tessuti in un ambiente sterile, come previsto e richiesto dalle buone norme pratiche di fabbricazione; è un locale a pressione positiva con una carica microbica particellare molto bassa, in condizioni normali di esercizio garantisce aria in uscita dal filtro con UFC/mc < 10 (UFC= Unità Formante Colonia). Anche nella zona filtro è presente un sistema filtrante con un grado di filtrazione inferiore rispetto a quello della zona manipolazione tessuto, ovvero ad alta efficienza in grado di garantire aria in uscita con UFC/mc < 100

**I valori della UFC vengono controllati e monitorati a seguito di campionamenti effettuati regolarmente sul filtro a cadenza semestrale.**

**Oltre al controllo microbiologico, in questo locale viene effettuato periodicamente anche il controllo particellare.**

Il locale stoccaggio della Banca Cute è dotato di un rilevatore di ossigeno, di sistemi filtranti dell'aria oltre che di un sistema di controllo della temperatura. Ogni qual volta in questo locale vi sia fuoriuscita di azoto, un sensore rileva la bassa concentrazione di ossigeno ed attiva un ricambio di aria pari a 18V/h, ovvero 850 mc/h.

## TESSUTI E METODOLOGIE DI CONSERVAZIONE DELLA BANCA

Scopo della Banca è quello di reperire, accettare conservare e distribuire tessuto cutaneo idoneo di donatore per trapianto. La cute di donatore può essere impiegata per diversi scopi clinici: a tutt'oggi la cute omologa è considerato il miglior sostituto cutaneo esistente. Grazie al rilascio di sostanze biologicamente attive essa agisce non solo come semplice copertura meccanica ma anche come stimolo attivo alla guarigione, promuovendo la riepitelizzazione con riduzione dei tempi di guarigione, come strumento di controllo del dolore e per la protezione di strutture importanti quali tendini, ossa, cartilagini.

I bio-prodotti cutanei d'elezione prelevati, conservati e distribuiti dalla Banca sono la Cute di donatore ed il suo Derma de-epidermizzato (Ded).

Numerosi sono i settori per l'impiego clinico della **Cute** e del **Ded: Derma de-epidermizzato**

- La **Cute Omologa** rappresenta una valida soluzione terapeutica salvavita nel trattamento delle lesioni profonde del paziente gravemente ustionato, il più delle volte applicata come medicazione temporanea, ma in talune circostanze può rappresentare e diventare anche una copertura permanente. Da qui l'importanza e l'esigenza per la Banca di garantire una giacenza permanente di Cute riservata alle emergenze in modo da poter rifornire ed evadere tempestivamente richieste sia interne che esterne provenienti dai centri regionali e nazionali che ne facciano richiesta
- Il **Ded: Derma de-epidermizzato**, è un bioprodotto di derivazione cutanea prelevato in contemporanea con la cute, ottenuto da cute di donatore con uno spessore che varia da 0,6 a 1 mm. Sono piccole lamine di cute disepitelizzate, costituite solo da derma, non garantiscono l'effetto barriera della cute ma trovano ampia applicazione come sostituti dermici e nelle tecniche dei graft compositi. L'impiego del Ded crio-preserved risulta particolarmente efficace nel trattamento delle ulcere croniche recidivanti, in quelle con perdita di sostanza a tutto spessore, e nelle ulcere traumatiche che non rispondono al trattamento medico standard.

La **Banca Cute** nel corso degli anni ha sviluppato e adottato varie metodologie di lavorazione-conservazione sul tessuto cutaneo, fra le quali le più importanti sono:

1. A FRESCO
2. CRIOCONSERVAZIONE
3. IRRAGGIAMENTO (solo su richiesta)
4. AL GLICEROLO (eliminata)

Attualmente la Banca della Cute lavora seguendo solo le prime 3 tecniche di conservazione: a **FRESCO**, per **CRIOCONSERVAZIONE** e per **IRRAGGIAMENTO (solo su richiesta)**

1. **A FRESCO:** è così definita in quanto è una tecnica di conservazione del tessuto a valori di temperatura tra 0°C e 10°C, ideale attorno ai 4°C. Questo protocollo di conservazione si applica sui lembi chirurgici che vengono prelevati dai pazienti ustionati ricoverati presso il nostro reparto C.G.U. di Cesena e che successivamente devono essere reinnestati a riparo delle zone lese.
2. **CRIOCONSERVAZIONE:** è la procedura d'élite di conservazione del tessuto cutaneo in azoto (liquido -190°C, vapore -145°C); tale procedura consente il mantenimento di un elevato grado di vitalità, anche dopo scongelamento, dei lembi di cute allo plastica per l'utilizzo clinico a scopo di trapianto terapeutico garantendone qualità e sicurezza. E' una metodica di conservazione che applichiamo su tutti i lotti di tessuto cutaneo di donatore prelevati, quindi sia su Cute intera che sul Ded (Derma-de-epiermizzato) Scopo di questa metodica è quello di prolungare i tempi di conservazione dei lembi di tessuto cutaneo, da 4,5 fino ad un massimo di 5 anni, garantendone la loro vitalità.
3. **IRRAGGIAMENTO:** è una metodica applicata sui lotti di CUTE **crio-congelata**. Prevede l'applicazione aggiuntiva della tecnica di irraggiamento tramite una irradiazione (Cesio 137) per un tempo ben definito e concordato, diretta sul campione ancora congelato. Scopo di questa metodica è di ottenere dopo irraggiamento un tessuto cutaneo più debole da un punto di vista immunologico, ma integro nella struttura e nella matrice cellulare, infatti è noto che l'esposizione a radiazioni comporta una drastica riduzione numerica delle cellule dendritiche dell'epidermide: ovvero **cellule di Langherans**. Queste sono situate a varia altezza nello strato basale e, più spesso in quello spinoso dell'epidermide, sono i diretti responsabili della risposta immunologica cutanea in condizioni di normalità.

- ❖ L'obiettivo di questa tecnica è l'inattivazione della risposta immunitaria del tessuto cutaneo omologo di donatore lasciando inalterati tutti gli altri i componenti cutanei indispensabili per il buon esito dell'innesto omologo sul paziente ricevente. La CUTE crio-congelata di donatore irraggiata rappresenta una valida medicazione mirata al trattamento di lesioni profonde su pazienti gravemente ustionati, e quindi fortemente immuno-compromessi, ed ha come attesa-risultato finale spesso l'auto-innesto del tessuto omologo trapiantato.

4. GLICEROLO: è stata sottoposta ad una fase iniziale di sperimentazione; visti però i risultati poco soddisfacenti ottenuti da questa metodica si è ritenuto opportuno abbandonarla in quanto la cute trattata con glicerolo, anche se a diverse concentrazioni decrescenti, si è presentata sempre e comunque molto rigida, perdendo in elasticità non consentendo la maneggiabilità richiesta per l'applicazione di tale tessuto sulle sedi di innesto.

Inoltre anche se ben accettata inizialmente perché con il glicerolo la cute era assolutamente esente da patogeni, e quindi sicura da un punto di vista microbiologico, il trattamento con tale prodotto riduceva di molto la vitalità di tale tessuto.

## GLI INDICATORI

CARATTERISTICA	INDICATORE	STANDARD	RESPONSABILE RILEVAZIONE INDICATORE	VERIFICA	PERIODICITÀ
STERILITÀ'	N° COLTURE CELLULARI CON ASSENZA DI PATOGENI/ N° COLTURE TOTALI ESAMINATE	99%	BIOLOGO	REGISTRO RACCOLTA DATI STERILITA'	SU TUTTI I CAMPIONI FRESCI (PRIMA E DOPO TRATTAMENTO TERRENO E ANTIBIOTICI.) E SU LOTTI SCONGELATI
VITALITÀ' CELLULARE MTT	VALORE DENSITA' OTTICA DELLE PUNCH-BIOPSY TRATTATE CON MTT/IL LORO PESO IN GRAMMI (iniziato dal luglio 2005)	INDICE VITALITA' (I.V.)>=50%	BIOLOGO	REGISTRO RACCOLTA DATI VITALITA'	SU TUTTI I CAMPIONI DI TESSUTO SCONGELATO

### Note:

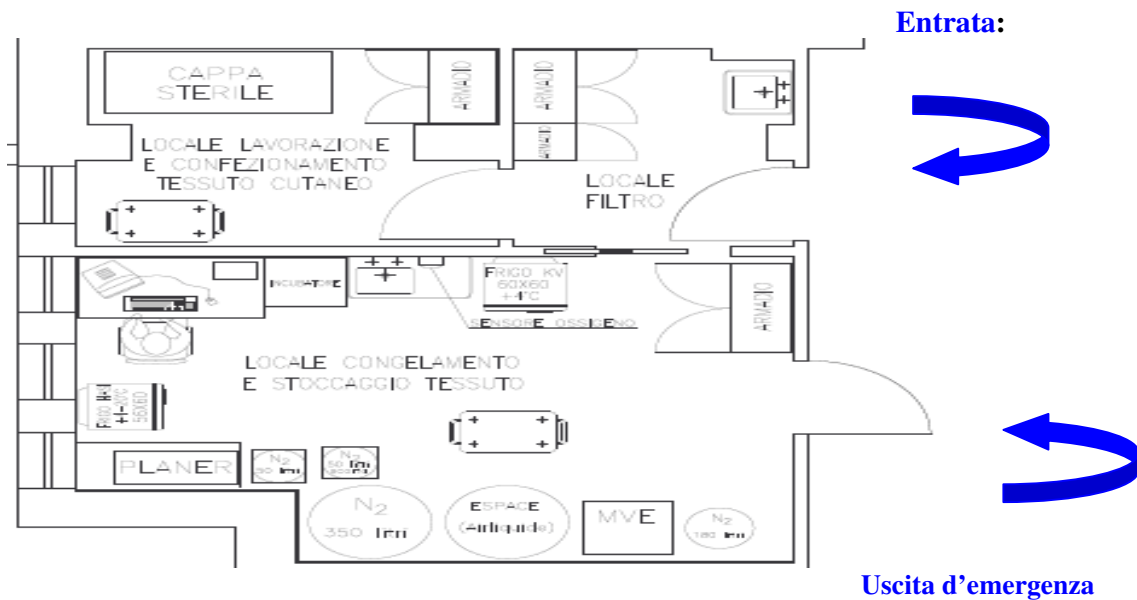
- Il test con colture di fibroblasti si è rivelato un ottimo test di vitalità cellulare in quanto basato essenzialmente su colture cellulari e quindi sulla crescita cellulare nel tempo della biopsia seminata su piastra, ma ha presentato per noi un forte handicap legato alla tempistica di valutazione per la vitalità, in quanto tale test si completa e si esaurisce non prima di un mese, quindi il fattore tempo è stato molto limitante. Pertanto si è deciso di abbandonare al momento tale test e valutarne altri.
- Il test con MTT o sali di tetrazolio viene condotto e completato nell'arco di 5-6 ore al massimo, è un test di attività enzimatica e quindi essenzialmente diverso ma molto interessante per una valutazione immediata della vitalità cellulare del tessuto di interesse. Per tale motivo è stato preso in dovuta considerazione anche se il valore della vitalità in questo caso è espresso in percentuale ed è abbastanza relativo.

## Collaborazione con altre strutture

- U.O. Anatomia Patologica (allestimento di vetrini istologici; utilizzo microscopio)

- U.O. **Laboratorio Analisi** ( utilizzo incubatori, microscopi bilancia analitica; spettrofotometro per lettura test MTT)
- U.O. **Fisica Sanitaria** ( utilizzo irraggiatore )
- U.O. **Tecnologie Biomediche** ( per il controllo della strumentazione )
- U.O. **Ufficio Tecnico Patrimoniale** ( per il controllo microbiologico e particellare dei filtri assoluti )
- U.O. **S.P.P.A. Servizio di Protezione e Prevenzione Aziendale** ( per il controllo della Sicurezza )
- U.O. **Qualità e Accreditamento** ( per il controllo del Sistema Qualità della Banca Cute )

### Piantina della Banca Cute



### I centri Regionali a cui la Banca Cute distribuisce Tessuto Cutaneo:

1. Ospedale Bufalini C.G.Ustionati- Cesena
2. Ospedale S'Orsola-Malpighi D.H. Dermatologia- Bologna
3. Ospedale S.Agostino Est. Baggiovara , Chirurgia Vascolare- Modena
4. Ospedale Maggiore C.G.Ustionati- Parma
5. Casa di Cura Privata Villa Chiara- Dermatologia- Bologna