

**DOCUMENTO TECNICO
DELLA CONSULTA PERMANENTE
E DEL
CENTRO NAZIONALE PER I TRAPIANTI**

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

19/06/2007

SEZIONE A OBIETTIVI E ATTIVITA'

1. Premessa
2. Definizione delle Strutture coinvolte nel Processo
 - 2.1. Definizione di Banca dei Tessuti
 - 2.2. Definizione di Struttura di Prelievo
 - 2.3. Definizione di Struttura per il Trapianto/Innesto
3. Glossario

SEZIONE B REQUISITI ORGANIZZATIVI GENERALI DELLA BANCA DEI TESSUTI

1. Identità istituzionale
2. Organizzazione della Banca
 - 2.1. Responsabile
 - 2.2. Personale
 - 2.2.1. Addestramento del personale
3. Gestione della Qualità
4. Documentazione
 - 4.1. Generalità
 - 4.2. Rintracciabilità
 - 4.3. Protezione dati e riservatezza
 - 4.4. Archivio
5. Tutela della sicurezza e della salute del personale
6. Strutture ed equipaggiamento
 - 6.1. Strutture
 - 6.1.1. Locali per la processazione
 - 6.1.2. Locali per lo stoccaggio
 - 6.2. Attrezzature
7. Raccolta dei rifiuti
8. Collaborazioni esterne
 - 8.1. Idoneità delle strutture in rapporto di collaborazione
 - 8.2. Controllo
 - 8.3. Collaborazioni con altre Banche

SEZIONE C SELEZIONE DEL DONATORE

1. Premesse
2. Manifestazione di volontà alla donazione
 - 2.1. Manifestazione di volontà per il prelievo da donatore cadavere
 - 2.2. Consenso per il prelievo da donatore vivente
 - 2.2.1. Documentazione di consenso
3. Anonimato
4. Accertamento di morte
5. Idoneità generale del donatore
 - 5.1. Valutazione dell'idoneità generale del donatore
 - 5.2. Cause di esclusione assoluta dalla donazione

- 5.3. Valutazione del donatore pediatrico
- 5.4. Criteri di esclusione specifici per i diversi tessuti:
 - 5.4.1. cornea
 - 5.4.2. tessuto muscoloscheletrico
 - 5.4.3. valvole
 - 5.4.4. vasi
 - 5.4.5. cute
 - 5.4.6. membrana amniotica
- 6. Ispezione fisica del donatore
- 7. Esame autoptico
- 8. Test sierologici
 - 8.1. Laboratori di analisi
 - 8.2. Archivio dei sieri
 - 8.3. Test sierologici obbligatori
 - 8.4. Controlli successivi per il donatore vivente

SEZIONE D PRELIEVO

- 1. Personale che esegue il prelievo
- 2. Strutture e qualità degli ambienti di prelievo
- 3. Donatore
- 4. Limiti temporali per il prelievo
- 5. Modalità di prelievo per il tessuto muscoloscheletrico
 - 5.1. Operazione di prelievo
 - 5.2. Prelievi per esame colturale
 - 5.3. Prelievo da donatore vivente
- 6. Modalità di prelievo per i tessuti oculari
 - 6.1. Prelievo di cornea
 - 6.2. Prelievo di bulbo oculare
- 7. Modalità di prelievo per le valvole
 - 7.1. Operazione di prelievo
 - 7.2. Donatore vivente
- 8. Modalità di prelievo per i segmenti vascolari
 - 8.1. Operazione di prelievo
 - 8.2. Donatore cadavere
 - 8.3. Donatore vivente
- 9. Modalità di prelievo per la cute
 - 9.1. Operazioni di prelievo
 - 9.2. Sedi di prelievo
- 10. Modalità di prelievo per il tessuto placentare
 - 10.1. Operazioni di prelievo
- 11. Conservazione dei tessuti immediatamente dopo il prelievo
- 12. Etichettatura dei contenitori
- 13. Ricomposizione della salma
- 14. Procedure finali
- 15. Documentazione di accompagnamento
- 16. Trasporto

SEZIONE E LAVORAZIONE DEI TESSUTI

- 1. Ricevimento dei tessuti presso la Banca

2. Registrazione documentazione
3. Distinzione dei tessuti
4. Modalità di lavorazione
5. Terreni, reagenti, materiali

6. Tessuto Oculare
 - 6.1. Valutazione dell'idoneità del tessuto
 - 6.1.1. Criteri di idoneità per cornee da utilizzarsi per cheratoplastica perforante a scopo ottico
 - 6.1.2. Criteri di idoneità per cornee da utilizzarsi per cheratoplastica lamellare
 - 6.1.3. Criteri di idoneità per cornee da utilizzarsi per cheratoplastica endoteliale
 - 6.1.4. Criteri di idoneità per tessuto sclerale o corneale da utilizzarsi per scopo tettonico
 - 6.2. Metodi di conservazione delle cornee
 - 6.2.1. Conservazione "a freddo" a breve termine
 - 6.2.2. Conservazione "a caldo" a lungo termine
 - 6.2.3. Liofilizzazione
 - 6.2.4. Conservazione in etanolo
 - 6.2.5. Disidratazione
7. Tessuto Muscoloscheletrico
 - 7.1. Dimensionamento dei campioni
 - 7.2. Generalità
 - 7.3. Allograft osteocondrali di piccoli frammenti freschi (cartilagine articolare)
 - 7.4. Tessuti crioconservati prelevati asetticamente e non sterilizzati
 - 7.4.1. Allograft osteocondrali crioconservati
 - 7.4.2. Osso crioconservato e tessuto connettivo
 - 7.4.3. Data di scadenza dei tessuti crioconservati
 - 7.5. Tessuti liofilizzati : metodi, controlli, scadenza
 - 7.6. Tessuti semplicemente disidratati: metodi, controlli ,scadenza
 - 7.7. Tessuti irradiati: metodi, controlli, scadenza
 - 7.8. Tessuti sterilizzati con ossido di etilene: metodi, controlli, scadenza
 - 7.9. Altri metodi di inattivazione
 - 7.10. Demineralizzazione dell'osso
8. Vasi e Valvole
 - 8.1. Valutazione del campione
 - 8.2. Controlli microbiologici
 - 8.3. Disinfezione
 - 8.4. Procedure di congelamento
 - 8.5. Stoccaggio
9. Cute
 - 9.1. Controlli microbiologici e di mantenimento della vitalità
 - 9.2. Processazione
 - 9.3. Conservazione della cute
 - 9.3.1. Cute vitale
 - 9.3.2. Cute non vitale
10. Membrana Amniotica
 - 10.1. Estrazione della membrana amniotica
 - 10.2. Disinfezione
 - 10.3. Controlli di qualità microbiologici e di mantenimento della vitalità

- 10.4. Controllo di qualità anatomico-morfologico
- 10.5. Metodi di conservazione della membrana amniotica
 - 10.5.1. Crioconservazione membrana amniotica vitale
 - 10.5.2. Congelamento
- 11. Smaltimento dei tessuti non idonei
- 12. Variazioni delle procedure

SEZIONE F DISTRIBUZIONE DI TESSUTI AI CENTRI DI TRAPIANTO

- 1. Generalità
- 2. Preparazione del tessuto per l'invio al Centro Trapianto
 - 2.1. Controllo documentazione
 - 2.2. Ispezione dei contenitori
 - 2.3. Imballaggio e trasporto
 - 2.4. Etichettatura
 - 2.5. Documentazione di accompagnamento
 - 2.5.1. Generalità
 - 2.5.2. Requisiti della documentazione di accompagnamento
- 3. Documentazione di ricevimento del tessuto
- 4. Deposito dopo la distribuzione
- 5. Riconsegna di un tessuto alla banca

SEZIONE G REGISTRAZIONI SUCCESSIVE AL TRAPIANTO

- 1. Documentazione per il follow-up
 - 1.1. Documentazione relativa al ricevente
- 2. Riservatezza nell'utilizzo delle informazioni inviate

SEZIONE H GESTIONE DI REAZIONI ED EVENTI AVVERSI GRAVI

- 1. Generalità
- 2. Responsabilità delle Banche dei tessuti
 - 2.1. Procedure
 - 2.2. Notifica
 - 2.3. Azioni
- 3. Responsabilità dei Centri Regionali di Riferimento
- 4. Modulistica

- Allegato I GRADING TESSUTI CARDIACI
- Allegato II GRADING TESSUTI VASCOLARI ARTERIOSI
 GRADING TESSUTI VASCOLARI VENOSI
- Allegato III NOTIFICA DI REAZIONI AVVERSE GRAVI
- Allegato IV NOTIFICA DI EVENTI AVVERSI GRAVI
- Allegato V CONCLUSIONE DELLE INDAGINI SULLE REAZIONI AVVERSE
 GRAVI
- Allegato VI CONCLUSIONE DELLE INDAGINI SUGLI EVENTI AVVERSI
 GRAVI

SEZIONE A

OBIETTIVI E ATTIVITA'

1. Premessa

Le presenti linee guida si applicano al reperimento, donazione, prelievo, controllo, trattamento, conservazione e distribuzione di tessuti prelevati da donatore cadavere o vivente a scopo di trapianto.

Esse tengono conto delle disposizioni nazionali, europee e internazionali e delle conoscenze scientifiche riguardanti gli standard di sicurezza e di qualità per l'utilizzo di tessuti a scopo di trapianto.

Le presenti linee guida sono sottoposte a revisione periodicamente ed in occasione di modifiche legislative, di standard e di nuove conoscenze mediche e scientifiche.

2. Definizione delle Strutture coinvolte nel Processo

2.1. Definizione di Banca dei Tessuti

Si definisce Banca dei tessuti ogni struttura sanitaria pubblica o accreditata, senza attività di lucro, individuata dalla Regione di competenza, che ha il compito di conservare e distribuire i tessuti e le cellule prelevate, certificandone la tracciabilità, l'idoneità e la sicurezza, come definito nell'Accordo Stato-Regioni del 23 settembre 2004, in attuazione dell'articolo 15, comma 1, della Legge 91/99 e che opera in conformità alle presenti linee guida e alla normativa europea vigente. L'utilizzo di tessuti umani per trapianto è consentito solo previa valutazione della loro idoneità e sicurezza da parte delle strutture definite nel precedente paragrafo o da struttura estera riportata negli elenchi predisposti dal Centro Nazionale Trapianti.

Non è consentito il trapianto di tessuti non provvisti della documentazione rilasciata da una Banca, che certifichi la sicurezza e la qualità del tessuto fornito.

2.2. Definizione di Struttura di Prelievo

Viene definita tale la struttura in cui, in accordo con una Banca, si effettuino prelievi di tessuti da donatore cadavere o da donatore vivente per trasferirli alla Banca competente per la processazione, conservazione, certificazione, e distribuzione.

2.3. Definizione di Struttura per il Trapianto/Innesto

Viene definita tale la struttura identificata dalla Regione come idonea ad effettuare trapianti /innesti di tessuti, rilasciati da parte della Banca competente, come definito nell'Accordo Stato – Regioni del 14 febbraio 2002.

3. Glossario

Allotrapianto: trapianto di organo, cellule o tessuti da un individuo all'altro della stessa specie.

Approvvigionamento: processo che rende disponibili i tessuti per trapianto: inizia con l'identificazione del potenziale donatore e si completa con il prelievo del tessuto da donatore vivente o cadavere.

Coltura: fase della processazione nella quale il tessuto è mantenuto in condizioni adatte a preservarne intatta l'integrità biologica

Conservazione: combinazione appropriata di condizioni che mantiene la qualità dei tessuti durante periodi di deposito specificati

- **Crioconservazione:** congelamento con l'utilizzo di un crioprotettore, mediante un raffreddamento controllato e conservazione a temperature validate per mantenere le proprietà del tessuto richieste
- **Crioprotettore:** sostanza, prodotto chimico, che protegge la cellula durante la fase di congelamento, minimizzando gli effetti negativi dell'aumento della concentrazione di soluto e della formazione di cristalli di ghiaccio (es. dimetilsolfossido DMSO, glicerolo)
- **Raffreddamento controllato:** i tessuti e le cellule sono poste in un congelatore a raffreddamento programmato che garantisce un congelamento progressivo, regolare e riproducibile
- **Contenitori criogenici:** sistemi di stoccaggio a vapori (-150°C) e ad azoto liquido (-196°C), che conservano nel tempo tessuti e cellule
- **Congelamento:** trattamento e mantenimento dei tessuti e cellule a temperature non criogeniche per assicurare la loro conservazione nel tempo
- **Liofilizzazione:** consiste nella rimozione dell'acqua sottovuoto dal tessuto precedentemente congelato mediante un processo di sublimazione che comporta il passaggio diretto dalla fase solida (ghiaccio) alla fase gassosa (vapore) senza passare dalla fase liquida (acqua). La disidratazione del tessuto provoca un arresto delle attività enzimatiche e delle reazioni di degradazione permettendone la conservazione per lunghi periodi
- **Glicerolizzazione:** procedura di conservazione in glicerolo all'85-87% in frigorifero a +2/+10°C, non consente il mantenimento della vitalità dopo la lavorazione.
- **Disidratazione :** conservazione dei tessuti corneali in presenza di *gel di silice*;
- **Conservazione in etanolo:** conservazione in etanolo 70% della sclera umana

Distribuzione: trasporto e consegna dei tessuti per l'utilizzo clinico.

Donatore cadavere: donatore per il quale la morte è stata accertata ai sensi della Legge 29 dicembre 1993, n.578 o del Decreto del Ministero della Sanità 22 agosto 1994, n.582.

Donatore vivente: soggetto vivente che acconsente alla donazione di tessuti.

Evento avverso grave: qualunque evento negativo collegato con l'approvvigionamento, il controllo, la lavorazione, lo stoccaggio e la distribuzione di tessuti che possa provocare la trasmissione di patologie, la morte o condizioni di pericolo di vita, di invalidità o incapacità dei pazienti, o ne possa produrre o prolungare l'ospedalizzazione o lo stato di malattia.

Processazione: tutte le operazioni connesse con la preparazione, la manipolazione, la conservazione e il confezionamento dei tessuti destinati ad applicazioni sull'uomo

Quarantena: Stato dei tessuti prelevati o di un tessuto isolato nell'attesa dei dati necessari a rendere idoneo il tessuto per il trapianto/innesto

Reazione avversa grave: una risposta non voluta nel donatore o nel ricevente, compresa una malattia trasmissibile, connessa con l'approvvigionamento o l'applicazione sull'uomo di tessuti che provochi la morte, metta in pericolo di vita invalidità o incapacità dell'interessato, o ne produca o prolunghi l'ospedalizzazione o lo stato di malattia.

Rintracciabilità: la facoltà di localizzare e individuare i tessuti in ogni fase dell'approvvigionamento, della lavorazione, del controllo e dello stoccaggio fino alla distribuzione al ricevente o al luogo di smaltimento, compresa la capacità di individuare il donatore e la Banca che riceve, lavora o conserva i tessuti e, a livello di strutture mediche, la capacità di individuare i responsabili che effettuano la applicazione dei tessuti sui riceventi; la rintracciabilità comporta inoltre la facoltà di reperire e individuare tutti i dati pertinenti relativi ai prodotti e ai materiali che entrano in contatto con tali tessuti

Sistema di Qualità: La struttura organizzativa, le responsabilità, le procedure, i procedimenti e le risorse destinati ad attuare la gestione della qualità, comprese tutte le attività che direttamente o indirettamente contribuiscono alla qualità;

Procedura operativa standard (POS): documento che descrive in un ordine stabilito, logico, dettagliato e riproducibile le modalità operative finalizzate al corretto svolgimento di un processo

Stoccaggio: mantenimento del prodotto in condizioni adeguate e controllate fino alla sua distribuzione

Validazione ('convalida' o , nel caso di attrezzature o ambienti 'qualifica'): la produzione di prove documentate, in grado di garantire con un elevato livello di certezza che determinati procedimenti, attrezzature o ambienti diano luogo a un prodotto conforme alle specifiche e alle caratteristiche qualitative prestabilite; un procedimento è convalidato al fine di valutare se un sistema funziona efficacemente in rapporto all'impiego previsto.

SEZIONE B

REQUISITI ORGANIZZATIVI GENERALI DELLA BANCA DEI TESSUTI

1. Identità istituzionale

Lo scopo della Banca deve essere chiaramente stabilito e documentato.

Deve avere organizzazione, strutture e procedure operative adeguate alle attività per cui è stata identificata.

2. Organizzazione della Banca

2.1. Responsabile

Ciascuna Banca designa un responsabile che soddisfi le seguenti condizioni e possieda le seguenti qualifiche minime:

- possesso di un diploma di laurea nel settore delle scienze mediche o biologiche rilasciato al termine di un corso di studi universitari
- esperienza pratica di almeno tre anni nei settori pertinenti.

Procedure e regolamenti della Banca devono essere prodotti sotto la sua supervisione.

Il Responsabile:

- assicura che il prelievo, la processazione, i controlli di qualità, lo stoccaggio e la distribuzione dei tessuti vengano eseguiti nel rispetto della legislazione vigente e delle presenti linee guida.
- è garante della validazione dei tessuti e dell'avviamento delle procedure in caso di reazioni ed eventi avversi.

Se il Responsabile non è un medico, dovrà essere identificato un laureato in medicina quale responsabile dell'idoneità medica del tessuto, delle attività cliniche della banca e la valutazione clinica dei risultati dei tessuti utilizzati.

Nel caso delle Banche degli occhi è necessaria la presenza come responsabile di un medico oculista, oppure nel caso in cui il Responsabile non sia oculista, come consulente.

2.2. Personale

Il personale operante nella Banca deve essere di numero sufficiente e qualificato per i compiti da svolgere. Il mantenimento dei livelli di competenza del personale deve essere valutato ad intervalli adeguati specificati nel sistema di qualità.

I mansionari di tutto il personale devono essere chiari, documentati e aggiornati. I relativi compiti, competenze e responsabilità devono essere ben documentati e compresi.

Deve essere definito un organigramma che indichi chiaramente i rapporti in materia di responsabilità.

2.2.1. Addestramento del personale

Tutti i membri del personale devono possedere un adeguato addestramento iniziale e devono adeguare la propria competenza al progresso scientifico e tecnico attraverso la partecipazione a corsi di aggiornamento, ad incontri tecnici o ad altri programmi formativi. Tutto il personale deve conoscere ed aggiornarsi periodicamente sulla normativa di riferimento e sulle procedure applicative.

Il programma di addestramento deve assicurare e documentare:

- che ogni soggetto sia competente per i compiti che gli sono affidati;
- che abbia una conoscenza e comprensione adeguata del processo tecnico-scientifico inerente i propri compiti;
- che abbia compreso l'organizzazione, il sistema di qualità e le norme di sicurezza della struttura in cui lavora;
- che sia adeguatamente informato sul contesto etico e legale del proprio lavoro.

3. Gestione della Qualità

La Banca deve applicare e mantenere un sistema documentato di gestione della qualità, per il quale deve essere nominato un responsabile, non direttamente coinvolto nelle attività di lavorazione dei tessuti effettuati dalla banca.

Il Responsabile della Banca deve assicurare che l'attività complessiva sia conforme ai requisiti di legge, alle presenti linee guida, ai manuali tecnici e alle procedure operative dell'istituzione.

Il sistema di gestione della qualità deve comprendere un manuale e/o procedure operative standard (POS) che descrivano tutte le attività critiche, comprese le politiche per la qualità, i manuali di formazione del personale, schede per la gestione della strumentazione/attrezzature, e deve prevedere inoltre documenti, moduli, schede e registrazioni. La documentazione e le procedure devono essere periodicamente verificate e aggiornate dal responsabile qualità, per l'adeguamento alle modifiche dell'attività o ai requisiti di leggi e norme. Deve esserci una procedura di controllo dei documenti che garantisca che venga utilizzata solo la versione in corso. Copie del manuale e delle procedure devono essere disponibili per tutto il personale e, dietro richiesta, per tutti coloro che sono autorizzati ad ispezionare la Banca. Una copia di riferimento deve essere conservata a cura del Responsabile della Banca.

Le procedure devono garantire la standardizzazione dell'attività svolta e la rintracciabilità in tutte le sue fasi.

Tutte le registrazioni critiche per la sicurezza e la qualità dei prodotti devono essere conservate per almeno 30 anni, e l'accesso deve essere regolamentato e ottemperare alle prescrizioni di riservatezza.

Deve essere predisposta una procedura che garantisca che, in caso di cessazione dell'attività della Banca, gli eventuali tessuti stoccati siano trasferiti ad altra banca identificata, compresi i dati sulla rintracciabilità ad essi collegati e quelli relativi alla qualità e sicurezza.

4. Documentazione

4.1. Generalità

La documentazione deve essere riservata, accurata e completa.

Tutti gli atti devono essere leggibili ed indelebili. Possono essere manoscritti o avvalersi di altro sistema convalidato, compreso supporto elettronico. In questo caso devono essere prese tutte le misure di sicurezza contro gli accessi esterni e gli attacchi di eventuali virus e deve essere prevista una procedura di back up giornaliera e comunque tale da evitare la perdita dei dati.

L'esecuzione di ogni fase del processo: prelievo, preparazione, test di laboratorio, deposito, distribuzione e trapianto del tessuto deve essere documentata, in maniera tale che ogni passaggio possa essere chiaramente rintracciato e sia

identificata la persona che ha svolto il lavoro, inclusi i dati di diverse unità operative, e mostrare i risultati dei test così come l'interpretazione dei risultati, i dati relativi ai prodotti o materiali che vengono a contatto con i tessuti.

La documentazione deve essere dettagliata in modo che sia possibile una chiara comprensione di ogni passaggio eseguito e deve essere disponibile per ispezioni da parte di soggetti autorizzati su richiesta entro i limiti di riservatezza medico-legale. L'accesso alla documentazione e ai dati deve essere limitato ai soggetti autorizzati dalla persona responsabile, nonché all'autorità competente a fini di applicazione di misure di ispezione e di controllo. Tutta la documentazione concernente la storia del donatore e le informazioni di processazione del tessuto deve essere messa a disposizione, su richiesta, del chirurgo che effettua il trapianto, ad eccezione di quelle informazioni che infrangono la riservatezza relativa al donatore. La documentazione attestante la conformità del tessuto (in termini di sicurezza e qualità) rispetto ai requisiti fissati deve accompagnare i tessuti distribuiti ai Centri di Trapianto.

Devono essere definite procedure volte a risolvere le discordanze tra dati tra loro contrastanti.

4.2. Rintracciabilità

Ad ogni tessuto deve essere assegnata una sigla ed un numero identificativo unico per quel tessuto che servirà per identificare il materiale durante tutti i passaggi, dal prelievo fino alla distribuzione ed utilizzo; questi sigla e numero unico devono mettere in relazione il tessuto con il donatore.

4.3. Protezione dati e riservatezza

Devono essere adottate tutte le misure necessarie per assicurare che tutti i dati raccolti, comprese le informazioni genetiche, e a cui abbiano accesso terzi siano resi anonimi in modo tale che né il donatore né il ricevente siano identificabili.

Devono quindi essere adottate misure di protezione dei dati e misure di salvaguardia per prevenire aggiunte, soppressioni o modifiche non autorizzate dei dati negli archivi riguardanti i donatori e qualunque trasferimento di informazioni.

Non deve esservi alcuna divulgazione non autorizzata di informazioni garantendo al tempo stesso la rintracciabilità delle donazioni.

L'identità del o dei riceventi non deve essere rivelata al donatore o alla sua famiglia e viceversa.

4.4. Archivio

Deve essere tenuta per 30 anni la documentazione relativa a tessuti non processati, processati, eliminati e distribuiti.

5. Tutela della sicurezza e della salute del personale

E' compito del Responsabile della Banca assicurare l'attuazione degli adempimenti previsti dal D.Lgs. 626/94 e norme collegate, ai fini della tutela della sicurezza e della salute del personale.

Nel manuale devono essere incluse le procedure e le precauzioni per mantenere un ambiente di lavoro sicuro che devono uniformarsi alla normativa europea, nazionale e locale.

E' necessario assicurare che il rischio inerente l'uso e la manipolazione del materiale biologico sia identificato e ridotto al minimo, pur mantenendo un livello di qualità e sicurezza dei tessuti adeguato allo scopo prefissato.

6. Strutture ed equipaggiamento

6.1. Strutture

Le Banche dei Tessuti devono avere strutture adeguate allo svolgimento della propria attività in conformità dei parametri di cui alla presente Linea Guida.

L'accesso alle Banche dei Tessuti deve essere limitato al personale regolarmente autorizzato.

La Banca deve disporre di politiche e procedure scritte per l'accesso, la pulizia, la manutenzione e lo smaltimento dei rifiuti, nonché per garantire la riorganizzazione della prestazione dei servizi.

6.1.1. Locali per la processazione

Quando tali attività comprendono la lavorazione di tessuti e cellule a contatto con l'ambiente, essa deve svolgersi in un ambiente che garantisca una specifica qualità e pulizia dell'aria al fine di minimizzare i rischi di contaminazione, compresa la contaminazione incrociata tra donazioni. L'efficacia di questi provvedimenti dev'essere convalidata e controllata.

Se i tessuti o le cellule vengono a contatto con l'ambiente durante la lavorazione senza essere poi sottoposti a un procedimento di inattivazione microbica, occorre una qualità dell'aria con numeri di particelle e numeri di colonie microbiche equivalenti a quelli di grado A di cui alla Guida europea alle buone pratiche di fabbricazione (Good Manufacturing Practice: GMP), allegato 1 e alla direttiva 2003/94/CE della Commissione¹, con un ambiente di fondo adeguato alla lavorazione dei tessuti/cellule interessati:

- per la cornea o la membrana amniotica che venga utilizzata analogamente alla cornea è richiesto un ambiente di fondo almeno di grado D ,
- per la cute e per i tessuti che vengono applicati all'interno dell'organismo (ad es. vasi, valvole, tessuto muscoloscheletrico non sottoposto a sterilizzazione) l'ambiente di fondo deve essere almeno di grado B a riposo.

I tessuti che vengono sottoposti ad un procedimento di inattivazione microbica finale possono essere manipolati in un ambiente di almeno classe C a riposo.

Occorre dimostrare e documentare che l'ambiente prescelto corrisponda alla qualità e sicurezza richieste

L'ingresso ai locali di produzione deve essere rigorosamente limitato alle sole persone direttamente coinvolte nel processo o a visitatori, autorizzati dal Responsabile, accompagnati da personale interno. L'accesso deve prevedere una vestizione specifica, che permetta di minimizzare le possibili contaminazioni dall'esterno e che salvaguardi la sicurezza personale.

Le procedure per l'ingresso dei materiali e del personale devono essere accuratamente riportate nelle POS e facilmente consultabili da tutti.

6.1.2. Locali per lo stoccaggio

Se le attività comportano lo stoccaggio di tessuti e cellule, occorre definire le condizioni di stoccaggio necessarie per mantenere le proprietà richieste per i tessuti e cellule, eventuali parametri critici devono essere controllati e monitorati. Occorre predisporre zone per lo stoccaggio che separino e distinguano nettamente i tessuti in quarantena da quelli idonei alla distribuzione e da quelli scartati. Se tessuti in quarantena e tessuti idonei alla distribuzione sono stoccati nello stesso locale/ambiente, è necessario utilizzare dispositivi di stoccaggio fisicamente separati o isolamenti di sicurezza all'interno di questi .

6.2. Attrezzature

La progettazione e la manutenzione di tutte le attrezzature e i materiali devono corrispondere alle destinazioni previste e minimizzare ogni rischio per i riceventi e/o il personale.

Tutte le attrezzature e i dispositivi tecnici critici devono essere identificati e validati periodicamente ispezionati e preventivamente sottoposti a manutenzione conformemente alle istruzioni del fabbricante. Le attrezzature o i materiali che incidono su parametri critici di lavorazione o stoccaggio (ad esempio temperatura, pressione, numero di particelle, livello di contaminazione microbica) devono essere identificati ed eventualmente sottoposti a osservazioni, vigilanza, allarmi e interventi correttivi adeguati per individuarne le disfunzioni e i difetti e per garantire che i parametri critici rimangano costantemente al di sotto dei limiti accettabili. Tutte le attrezzature che dispongono di una funzione di misurazione critica devono essere tarate su un determinato parametro di riferimento, se disponibile.

Le attrezzature nuove e riparate devono essere controllate al momento dell'installazione e convalidate prima dell'uso. I risultati dei controlli devono essere documentati.

E' necessario procedere periodicamente alla manutenzione, alla pulizia, alla disinfezione e all'igienizzazione di tutte le attrezzature critiche e alle relative registrazioni.

Occorre disporre di norme di funzionamento per ogni attrezzatura critica, con indicazioni dettagliate di come intervenire in caso di disfunzioni o guasti.

Le Procedure Operative devono indicare dettagliatamente le specifiche di tutti i materiali e i reagenti critici. Devono essere in particolare definite le specifiche per gli additivi (ad esempio soluzioni) e i materiali d'imbballaggio. I reagenti e i materiali critici devono corrispondere alle prescrizioni e alle specifiche documentate e, se del caso, alle prescrizioni della direttiva 93/42/CEE del 14 giugno 1993 concernente i dispositivi medici e della direttiva 98/79/CE del 27 ottobre 1998 relativa ai dispositivi medico-diagnostici in vitro.

7. Raccolta dei rifiuti

I tessuti umani a rischio biologico devono essere raccolti in modo tale da minimizzare i rischi per il personale della Banca o l'ambiente e devono uniformarsi alla regolamentazione europea, nazionale e locale.

8. Collaborazioni esterne

8.1. Idoneità delle strutture in rapporto di collaborazione

Qualora la Banca non disponga di tutte le attrezzature organizzative e di laboratorio necessarie ad una ottimale processazione, confezionamento o

distribuzione del tessuto, che ne consentano il migliore utilizzo clinico, potrà avvalersi per le procedure mancanti, ma non per l'intero processo, di strutture pubbliche o private nel rispetto delle norme vigenti. Il ricorso a strutture esterne potrà avvenire anche nel caso di impossibilità temporanea, strutturale e/o organizzativa, da parte della Banca di condurre tutte le operazioni previste. Tale collaborazione sarà regolamentata da apposite convenzioni o accordi scritti o mediante contratti che specifichino le responsabilità che spettano alla struttura esterna e dettagliino le relative procedure.

Le banche valutano e selezionano le strutture esterne in base alla loro capacità di ottemperare alle presenti linee guida.

Il Responsabile della Banca deve garantire che tutto il personale delle strutture terze coinvolto nelle attività effettuate per conto della Banca, sia a conoscenza della normativa di riferimento e del contenuto delle presenti linee guida, e che operi in ottemperanza ad esse.

8.2. Controllo

Il Responsabile deve poter controllare l'attività delle strutture organizzative e/o dei laboratori esterni, acquisire e conservare la certificazione sulla perfetta corrispondenza delle attività svolte alle disposizioni contenute nelle presenti linee guida, al manuale delle procedure e al manuale di qualità della Banca.

8.3. Collaborazioni con altre Banche

La Banca può distribuire tessuti di altre Banche nazionali e delle Banche estere individuate dal Centro Nazionale Trapianti. La Banca italiana deve comunque assicurare il rispetto di tutti i requisiti delle presenti linee guida.

L'etichetta applicata dalla Banca da cui è originato il tessuto, non deve in nessun caso essere rimossa, alterata o cancellata.

La documentazione originale di accompagnamento del tessuto deve essere inviata alla struttura sanitaria dove sarà eseguito il trapianto senza nessuna omissione o manomissione.

Se il Responsabile della Banca ritiene opportuno procedere ad ulteriori verifiche sull'idoneità del tessuto, tutta la documentazione relativa a queste verifiche deve essere inviata alla struttura sanitaria dove sarà eseguito il trapianto insieme alla documentazione originale.

SEZIONE C

SELEZIONE DEL DONATORE

1. Premesse

Devono essere definite Procedure Operative Standard per tutte le fasi del prelievo, dall'identificazione del donatore al trasporto dei tessuti alla Banca,

2. Manifestazione di volontà alla donazione

2.1. Manifestazione di volontà per il prelievo da donatore cadavere

La manifestazione di volontà alla donazione deve essere accertata secondo le norme stabilite dalla legislazione vigente .

Per l'approvvigionamento di tessuti provenienti da donatori cadavere si fa riferimento alla Legge 1 aprile 1999, n.91 - Disposizioni in materia di prelievi e di trapianti di organi e di tessuti.

Il consenso per il prelievo delle cornee deve essere documentato e ottenuto nel rispetto dell'articolo 1 della legge 301/93.

2.2. Consenso per il prelievo da donatore vivente

La persona responsabile del processo di donazione deve garantire che il donatore sia stato adeguatamente informato degli aspetti relativi al processo di donazione e prelievo. La persona che fornisce le informazioni deve essere in grado di rispondere a tutte le domande del donatore. Dette informazioni riguardano: scopo e natura del prelievo, conseguenze e rischi, esami analitici, registrazione e protezione dei dati dei donatori, riservatezza medica, scopo terapeutico. I risultati degli esami analitici devono essere comunicati e spiegati chiaramente al donatore. Ai donatori si deve garantire la riservatezza estrema sull'utilizzo dei loro dati.

2.2.1. Documentazione di consenso

Il consenso per la donazione del tessuto da vivente deve essere documentato.

3. Anonimato

I documenti e le informazioni relative al donatore sono riservati e vanno conservati e trattati nel rispetto della *privacy* del donatore e dei suoi familiari. L'anonimato è garantito attraverso l'utilizzo di sigle e codici di identificazione per rintracciare i tessuti.

4. 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.

5. Idoneità generale del donatore

L'idoneità di una persona per la donazione di tessuto dovrà basarsi sulla storia medica e sociale, sullo stato clinico, sull'esame fisico, sui risultati degli esami sierologici effettuati sul sangue prelevato e sull'autopsia, se effettuata, ed ha l'obiettivo di ridurre il rischio di trasmissione di patologie dal donatore al ricevente.

5.1. Valutazione dell'idoneità generale del donatore

La raccolta di notizie approfondite della storia medica/sociale/sexuale del potenziale donatore deve essere effettuata da parte di personale competente.

Se il personale che effettua la selezione del donatore non fa parte della Banca devono esservi accordi scritti riguardo alle procedure da seguire per la valutazione del donatore, la tipologia dei tessuti ed i campioni di sangue da prelevare in conformità con le presenti linee guida.

Per quanto riguarda l'anamnesi, le domande poste sotto forma di questionario o di intervista verranno rivolte al donatore stesso in caso di donatore vivente, ai familiari, al medico curante, al medico di base o ad altra fonte attendibile ed esauriente in caso di donatore cadavere.

Devono inoltre essere prese in considerazione le informazioni contenute nella cartella clinica, gli esiti degli accertamenti effettuati, i risultati degli esami di laboratorio eseguiti.

La documentazione in cui sono registrate le informazioni raccolte deve riportare anche le fonti da cui sono state ottenute.

Il donatore vivente deve confermare la veridicità delle informazioni fornite.

5.2. Cause di esclusione assoluta dalla donazione

Le seguenti condizioni costituiscono una causa di esclusione assoluta alla donazione di tessuti:

- per il donatore cadavere, causa di morte sconosciuta (il tessuto può essere utilizzato per il trapianto solo qualora una autopsia abbia chiarito la causa della morte ed escluso le condizioni di cui ai punti successivi)
- malattia ad eziologia sconosciuta
- storia, evidenza clinica o di laboratorio di infezione in atto da HIV, HBV o HCV o ittero di eziologia sconosciuta
- soggetti con fattori di rischio per HIV, HBV o HCV:
 - soggetti con comportamenti sessuali a rischio negli ultimi 12 mesi
 - prostituzione negli ultimi 12 mesi
 - uso e.v, i.m. o s.c. di droghe negli ultimi 12 mesi
 - soggetti emofilici sottoposti a infusione di fattori della coagulazione di origine umana
 - esposizione percutanea o attraverso ferite aperte o mucose a sangue potenzialmente infetto da HIV, HBV o HCV nei 12 mesi precedenti
 - soggetti in emodialisi cronica da insufficienza renale cronica da più di un mese
 - soggetti che hanno trascorso un periodo di detenzione carceraria negli ultimi 12 mesi
 - malattie veneree diagnosticate o trattate negli ultimi 12 mesi
 - tatuaggi, piercing o agopuntura negli ultimi 12 mesi, se non eseguiti con materiale sterile, monouso
 - partners di soggetti con rischio di infezione da HIV, HBV o HCV, come precedentemente definito, negli ultimi 12 mesi
- infezioni sistemiche che non siano state controllate al momento della donazione, comprese malattie batteriche e infezioni sistemiche virali, fungine e parassitarie o gravi infezioni locali dei tessuti e delle cellule destinati a donazioni. I donatori affetti da setticemia batterica possono essere valutati e presi in considerazione per la donazione dei tessuti oculari solo qualora

- questi siano destinati alla conservazione mediante coltura degli organi, al fine di consentire l'individuazione di eventuali contaminazioni del tessuto
- soggetti con fattori di rischio per malattie da prioni:
 - soggetto o familiare con m. di Creutzfeldt-Jakob
 - presenza di demenza o malattie croniche degenerative centrali ad eziologia sconosciuta (m. di Alzheimer, sclerosi multipla, sclerosi laterale amiotrofica, panencefalite acuta sclerosante, m. di Parkinson, leucoencefalite multifocale progressiva)
 - soggetti che hanno utilizzato ormoni di derivazione ipofisaria, o allotrapianto di dura madre o siano stati sottoposti ad interventi intracranici non specificati
 - soggetti sottoposti ad intervento chirurgico o trasfusione di sangue o emoderivati in Gran Bretagna negli anni dal 1984 al 1996
 - sindrome di Reye
 - neoplasia maligna in atto o precedente – fanno eccezione:
 - il carcinoma basocellulare
 - il carcinoma in situ della cervice uterina
 - il carcinoma in situ delle corde vocali
 - il carcinoma in situ della vescica
 - per i donatori di sole cornee le neoplasie maligne non costituiscono criterio di esclusione, salvo che nel caso di:
 - neoplasie maligne di origine ematopoietica
 - neoplasie maligne del bulbo oculare
 - soggetti sottoposti a trapianto di organo, tessuti oculari o xenotrapianto
 - ingestione o esposizione a sostanza tossica che può essere trasmessa in dose nociva (p.es. cianuro, piombo, mercurio, oro)
 - storia di trattamenti farmacologici a scopo immunosoppressivo
 - chemioterapia o terapia radiante, tranne che per i donatori di cornea
 - malattie autoimmuni comprese le malattie del collagene, che possano pregiudicare la qualità dei tessuti da prelevare
 - vaccinazione con virus vivo attenuato (morbillo, rosolia, parotite, varicella, febbre gialla e vaiolo) nelle quattro settimane antecedenti alla donazione
 - rischio di trasmissione di patologia infettiva legato a viaggi in zone endemiche o esposizione ad agente infettivo, non escludibile con esami di approfondimento
 - malattie emopoietiche quali: gammopatie monoclonali, mielodisplasia, policitemia vera

5.3. Valutazione del donatore pediatrico

Oltre ai criteri elencati al punto precedente deve essere preso in considerazione quanto segue:

I bambini nati da madri affette da HIV o che comunque rientrano in uno dei criteri di esclusione di cui alla sezione 5.2 non possono essere ammessi come donatori finché sia definitivamente escluso qualsiasi rischio di trasmissione dell'infezione.

a) I bambini di età inferiore a 18 mesi, nati da madri affette da HIV, epatite B, epatite C o HTLV, o a rischio di contrarre l'infezione, che sono stati allattati dalle madri nei 12 mesi precedenti non possono essere considerati donatori, indipendentemente dai risultati degli esami analitici.

b) I bambini nati da madri affette da HIV, epatite B, epatite C o HTLV, o a rischio di contrarre l'infezione, che non sono stati allattati dalle madri nei 12 mesi precedenti e che non risultano affetti da HIV, epatite B, epatite C o HTLV sulla base degli esami analitici o fisici e del controllo delle cartelle cliniche possono essere ammessi come donatori.

5.4. Criteri di esclusione specifici per i diversi tessuti:

5.4.1. cornea:

- infiammazioni e infezioni oculari in atto
- malattie congenite o acquisite dell'occhio che possono pregiudicare il risultato del trapianto
- chirurgia laser e refrattiva e altri interventi chirurgici sulla cornea

5.4.2. tessuto muscoloscheletrico:

- Osteoporosi significativa per la donazione di grandi segmenti scheletrici per sostegno strutturale.
- Malattie quali acromegalia, iperparatiroidismo che comportano alterazioni strutturali della matrice ossea.
- Età inferiore ai 15 anni per i segmenti metafisari e epifisari per supporto meccanico
- Età superiore ai 55 anni per cartilagine vitale o allotrapianti osteocondrali o di menisco
- Età superiore ai 65 anni per tendini e fascia lata

5.4.3. valvole:

- epilessia accertata e in terapia
- anoressia e bulimia
- sindrome di Down, di Marfan o di Noonan
- assideramento con temperature inferiori o uguali a 0°C
- alcolismo cronico
- valvulopatia cardiaca a carico delle valvole aortica e polmonare, con incontinenza da moderata a severa
- precedenti interventi cardiocirurgici a carico delle valvole cardiache o dei segmenti vascolari che si intendono prelevare
- dissecazione aortica
- traumi diretti e massivi nella zona di prelievo
- polmonite nei 30 giorni precedenti senza evidenza di risoluzione
- età superiore ai 65 anni

5.4.4. vasi:

- epilessia accertata e in terapia
- anoressia e bulimia
- sindrome di Down, di Marfan o di Noonan
- assideramento con temperature inferiori o uguali a 0°C
- alcolismo cronico
- arteriopatia ostruttiva cronica periferica (claudicatio intermittens)
- arteriti
- patologia aneurismatica
- diabete mellito insulinoindipendente (esclusione del prelievo del distretto femoro-popliteo-tibiale)
- terapia corticosteroidica protratta e/o con derivati dell'ormone somatotropo
- precedenti interventi di chirurgia vascolare

- lesioni aterosclerotiche maggiori (placche aterosclerotiche calcificate, ulcerate o emorragiche)
- traumi del vaso
- dissecazioni arteriose.
- trombosi venosa profonda e superficiale
- insufficienza venosa cronica
- precedenti interventi di chirurgia vascolare flebologica
- varici essenziali
- incontinenza della crosse safeno-femorale.
- età superiore ai 60 anni

5.4.5. cute:

- abrasioni, ustioni acute estese
- nevi clinicamente sospetti, nevi multipli se > 100
- presenza di malattie sistemiche con compromissione cutanea
- infezioni cutanee, dermatiti, patologie cutanee infiammatorie a carattere locale, ectoparassitosi
- età < a 14 anni e > 75 anni

5.4.6. membrana amniotica:

- termine di gravidanza < 35^a settimana (33^a settimana in caso di gravidanza gemellare)
- taglio cesareo in urgenza
- rottura intempestiva delle membrane
- malformazioni e/o patologie del neonato evidenziate mediante riscontro ecografico
- liquido tinto
- malattie genetiche della donatrice o del neonato: sindrome di Down, di Marfan, di Noonan,
- diabete di tipo I o gestazionale insulinodipendente
- alcolismo cronico

6. Ispezione fisica del donatore

Prima del prelievo di tessuto deve essere effettuata una accurata ispezione fisica del donatore per evidenziare segni generali di esclusione.

Particolare attenzione deve essere posta alla presenza di :

- infezioni veneree (ulcere genitali, condilomi anali, ecc.)
- segni che riguardano fattori di rischio infettivo (puntura di vasi ematici, tatuaggi, piercing)
- infezioni cutanee, dermatiti, patologie cutanee infiammatorie a carattere locale, ectoparassitosi

Se all'esame viene riscontrato un segno che possa indicare un criterio di esclusione dalla donazione si dovrà procedere ad un approfondimento dell'anamnesi, all'esecuzione di adeguati esami di laboratorio o strumentali al fine di escludere la presenza di controindicazioni alla donazione.

La completezza dell'indagine anamnestica e dell'esame obiettivo devono essere sottoscritte da un medico responsabile della valutazione dell'idoneità del donatore.

7. Esame autoptico

Nel caso in cui venga effettuata un'autopsia, ciò deve essere tempestivamente comunicato alla Banca.

Trasmissione scritta dei risultati deve avvenire non appena questi sono disponibili: il Responsabile della Banca o persona designata devono rivederli prima che il tessuto sia messo a disposizione per la distribuzione. Nel caso di tessuti che non possono essere conservati per lunghi periodi deve essere registrato e valutato almeno un resoconto preliminare negativo della autopsia.

8. Test sierologici

I potenziali donatori devono essere testati in relazione a malattie trasmissibili in conformità con il presente documento.

Devono essere effettuati i test su campioni di sangue del donatore.

Nel caso di donazione da cadavere, tutti i campioni di sangue devono essere ottenuti quanto più tempestivamente possibile, preferibilmente entro 12 ore dalla morte del donatore e non oltre comunque le 24 ore, allo scopo di ridurre il grado di emolisi del campione.

Se il donatore è stato sottoposto a trasfusioni di sangue, emocomponenti o infusione di plasma-expanders nelle 48 ore precedenti il prelievo del campione ematico e non è possibile effettuare i test su di un prelievo precedente alle infusioni, i risultati devono essere valutati tenendo conto della diluizione: se la diluizione è superiore al 50% il risultato non è attendibile ed il donatore è da considerarsi quindi non idoneo.

Nella documentazione di accompagnamento dei tessuti deve essere specificato che il campione non supera i livelli di diluizione indicati, o devono essere comunicati tutti i parametri necessari per calcolare tale dato.

Alla Banca deve essere trasmesso, insieme al referto dei test o al prelievo per l'esecuzione di tali test, dichiarazione che non sussistono le condizioni di emodiluizione.

Nel caso di donatori viventi, sono prelevati campioni di sangue contemporaneamente alla donazione con un margine consentito di 7 giorni dopo la donazione.

8.1. Laboratori di analisi

I test devono essere effettuati possibilmente per via routinaria, da un laboratorio qualificato, che deve osservare le seguenti raccomandazioni per quanto riguarda gli accertamenti per i soggetti potenzialmente donatori di tessuti:

- adozione di procedure informatiche per il trasferimento dei risultati dagli strumenti di misura al sistema gestionale informatico di laboratorio , eliminando trascrizioni manuali dei risultati
- adozione di procedure informatiche e/o strumenti grafici utili alla messa in evidenza dei risultati che determinino inidoneità assoluta del donatore (grassetto, maiuscolo, sottolineato, etc.)
- indicazione nel referto, oltre alla valutazione positivo/negativo, del valore numerico prodotto dallo strumento e della relativa soglia di positività
- controllo da parte di 2 operatori della congruità dei risultati strumentali con i risultati repertati, producendo un referto a doppia firma

8.2. Archivio dei sieri

I sieri di tutti donatori devono essere opportunamente identificati e, se i tessuti non sono stati scartati, i sieri devono essere conservati adeguatamente sigillati ad una temperatura inferiore a -40°C per almeno *25 anni* dall' utilizzo del tessuto.

8.3. Test sierologici obbligatori

In caso di positività ad uno dei seguenti test obbligatori, il soggetto risulta non idoneo alla donazione e il tessuto non può essere utilizzato per il trapianto:

- antigene di superficie del virus dell'epatite B (HBsAg)
- anticorpi anti virus dell'epatite C (HCV)
- anticorpi anti virus HIV 1 e 2
- TPHA o altro test che rilevi gli anticorpi anti treponema

E' obbligatorio effettuare inoltre la ricerca degli anticorpi anti antigene c dell'epatite B (HBcAb): se il risultato è positivo, in assenza di HBsAg, deve essere eseguita la ricerca degli anticorpi anti antigene s dell'epatite B (HBsAb). Se HBsAb è positivo, il donatore è idoneo. Se HBsAb è negativo, deve essere effettuata la ricerca di HBV DNA. Se questa risulta negativa con un test in grado di rilevare almeno 50 UI/ml, i tessuti possono essere utilizzati per trapianto.

Gli anticorpi anti-HTLV-I e II devono essere ricercati per donatori che vivono in aree ad alta incidenza o ne sono originari o i cui partner sessuali provengono da tali aree, ovvero qualora i genitori del donatore siano originari di tali aree. Se i risultati del test sono positivi, il tessuto non può essere usato per trapianto.

Test supplementari per specifici tessuti :

- Toxo IgM per membrana amniotica, in caso di positività il tessuto non può essere utilizzato per trapianto
- CMV IgM per cute, valvole cardiache e vasi e membrana amniotica; se positivo si deve eseguire ricerca di CMV DNA (su acido nucleico di polimorfonucleati), se è negativa il donatore è idoneo.
- CMV IgG per la cute: in caso di positività il risultato deve essere comunicato al centro che ha fatto richiesta del tessuto

Nel caso in cui venissero eseguiti, in aggiunta alle sierologie obbligatorie, anche indagini NAT per HIV, HBV e HCV, il periodo finestra da considerare per i fattori di rischio di cui al punto 5.2 può essere ridotto a 6 mesi.

8.4 Controlli successivi per il donatore vivente

I test per la ricerca di anticorpi HIV 1 e 2, HCV e HBsAg devono essere ripetuti sui donatori viventi ad almeno 180 giorni di distanza dalla donazione. In alternativa il campione di sangue prelevato al momento della donazione o successivamente alla donazione deve essere testato con tecnica di amplificazione nucleica (NAT) per HIV, HBV e HCV (resta comunque necessario effettuare i test previsti al punto 8.3)

I risultati di queste indagini devono essere disponibili prima del rilascio del tessuto.

SEZIONE D

PRELIEVO

1. Personale che esegue il prelievo

Il prelievo è effettuato da persone che hanno completato un programma di addestramento predisposto da una équipe medica specializzata o dalla banca dei Tessuti, documentato presso la Banca o il Centro Regionale di Riferimento.

2. Strutture e qualità degli ambienti di prelievo

Le strutture in cui viene effettuato il prelievo devono essere adeguate con una qualità dell'aria equivalente a quella di sala operatoria, con l'eccezione per le cornee e per i tessuti che vengono sottoposti a sterilizzazione al termine della processazione in Banca. Le operazioni di prelievo devono essere eseguite con procedure asettiche, in modo da salvaguardare le proprietà dei tessuti e ridurre il rischio di contaminazione batterica, in particolar modo quando, nella processazione, non possa essere applicata una sterilizzazione finale del prodotto. Nel caso di donatore vivente, deve essere posta particolare attenzione alla salute e alla sicurezza del soggetto.

Gli strumenti ed i dispositivi impiegati devono essere sterili, convalidati e certificati. Per il materiale non monouso devono essere predisposte procedure per la pulizia e sterilizzazione.

3. Donatore

Prima del prelievo il medico che lo esegue deve effettuare l'identificazione del donatore, accertarsi che sia stata effettuata la esclusione di criteri di non idoneità del donatore e sia stata accertata la manifestazione di volontà alla donazione.

Qualora il donatore sia sotto la tutela della magistratura o di un medico legale, il permesso deve essere chiesto a questi ultimi.

La rimozione di dispositivi o apparecchi invasivi (cannule, sondini, cateteri) deve essere autorizzata dal Patologo.

Nel caso di donatori cadavere, al termine del prelievo di tutti i tessuti deve essere effettuata una ricomposizione accurata della salma.

4. Limiti temporali per il prelievo

Il prelievo dei tessuti deve essere eseguito il più presto possibile dopo la morte (o arresto circolatorio se si tratta di donatore multiorgano).

Per tessuto muscoloscheletrico, cute, vasi e valvole il prelievo deve essere effettuato entro 12 ore dal decesso. Se il corpo viene refrigerato nelle prime 6 ore dalla morte, il prelievo può essere effettuato entro 24 ore dalla morte, prolungabili a 30 ore per il tessuto muscoloscheletrico.

Per i tessuti oculari il limite massimo per il prelievo è posto a 24 ore dal decesso.

5. Modalità di prelievo per il tessuto muscoloscheletrico

5.1. Operazione di prelievo

Il prelievo deve essere eseguito nelle stesse condizioni e modalità con cui si svolge un intervento chirurgico in ambito ortopedico secondo le norme procedurali di seguito indicate.

L'équipe deve essere di norma formata da 3-4 persone, a seconda dell'entità del prelievo, delle quali una deve essere il medico responsabile .

Nel donatore cadavere deve essere eseguita la depilazione delle parti interessate al prelievo, la copertura dei genitali e delle altre eventuali incisioni chirurgiche.

Liberati i segmenti prelevati dalle parti molli non necessarie, si procede al lavaggio con soluzione che deve essere specificata nella documentazione

5.2. Prelievi per esame colturale

Gli esami colturali devono prevedere la ricerca per aerobi, anaerobi e miceti.

5.3. Prelievo da donatore vivente

Il prelievo viene effettuato durante l'intervento chirurgico e sottoposto quindi ai prelievi per esami culturali come descritto nel paragrafo precedente.

6. Modalità di prelievo per i tessuti oculari

6.1. Prelievo di cornea

La procedura di prelievo deve essere concordata con la Banca.

In generale procedere come segue: dopo disinfezione della cute, applicazione di blefarostato e disinfezione con iodio povidone al 5% , si procede a peritomia congiuntivale limbare per 360°, retraendo quanto più possibile la congiuntiva stessa ed evitando che il tessuto congiuntivale rimanga aderente al limbus. Si pratica un'incisione sclerale a tutto spessore, a circa 4 mm dal limbus, per 360°, senza lesionare l'uvea sottostante. Prelevare la cupola sclerocorneale, evitando il più possibile distorsioni o piegature. Porre la cornea prelevata con l'anello sclerale nel contenitore del liquido di conservazione. Procedere alla ricostruzione, eventualmente coprendo il segmento anteriore con un conformatore in plastica e quindi con la congiuntiva. Chiudere le palpebre, eventualmente applicando un punto di sutura. Rimuovere eventuali residui di soluzione disinfettante. Lasciare la testa del donatore sollevata, verificando l'assenza di sanguinamento.

6.2. Prelievo di bulbo oculare

La procedura di prelievo deve essere concordata con la Banca degli Occhi.

In generale procedere come segue: dopo disinfezione della cute, applicazione di blefarostato e disinfezione con iodio povidone al 5%, si procede a peritomia congiuntivale limbare per 360°. Tagliare all'inserzione i muscoli retti, senza danneggiare la sclera. Dopo aver lussato il bulbo verso l'alto recidere il nervo ottico a 5-10 mm dal bulbo. Irrigare il bulbo con PBS sterile ed avvolgerlo con garza sterile in modo da dare tono e lasciare scoperta la cornea. Porre il bulbo nel contenitore inserendo fra la garza e la parete alcuni tamponi oculistici rettangolari sterili (almeno quattro) che, una volta bagnati, si gonfiano e mantengono il bulbo in tensione. Procedere alla ricostruzione: inserendo nell'orbita una pallina di garza inumidita e coprendola con il conformatore in plastica e quindi con la congiuntiva. Chiudere le palpebre, eventualmente applicando un punto di sutura. Rimuovere eventuali residui di soluzione disinfettante. Lasciare la testa del donatore sollevata, verificando l'assenza di sanguinamento.

7. Modalità di prelievo per le valvole

7.1. Operazione di prelievo

Il prelievo deve essere eseguito nelle stesse condizioni e modalità con cui si svolge un intervento chirurgico in ambito cardiovascolare.

L'équipe deve essere di norma formata da 2 persone, dei quali 1 medico chirurgo.

7.2. Donatore vivente

In un paziente sottoposto a trapianto di cuore, nel caso in cui il cuore che viene sostituito non presenti lesioni valvolari, può essere effettuato il recupero di tessuti valvolari in corso di cardiectomia.

8. Modalità di prelievo per i segmenti vascolari

8.1. Operazione di prelievo

Il prelievo deve essere eseguito nelle stesse condizioni e modalità con cui si svolge un intervento chirurgico in ambito cardiovascolare.

8.2. Donatore cadavere

I vasi arteriosi da prelevare comprendono:

- vasi arteriosi e venosi delle cavità toracica e addominale
- vasi arteriosi e venosi degli arti inferiori

8.3. Donatore vivente

La donazione da vivente di segmenti vascolari è possibile qualora durante un intervento di safenectomia, la vena prelevata non venga eliminata ma avviata alla Banca.

9. Modalità di prelievo per la cute

9.1. Operazioni di prelievo

Il prelievo deve essere effettuato in condizioni di asepsi, secondo le modalità con cui si svolge un intervento chirurgico.

L'équipe deve essere di norma formata da due operatori di cui un medico prelevatore.

E' necessario eseguire la depilazione delle sedi di prelievo e successivamente il lavaggio con acqua e detergente. Quindi si procede alla disinfezione delle superfici .

9.2. Sedi di prelievo

Il prelievo, di idoneo spessore, dovrà essere effettuato in aree non visibili, al fine di evitare deturpazioni, in particolare: cosce anteriori e posteriori, arti superiori, dorso; da evitare prelievi al capo, collo, mani, perineo e genitali.

10. Modalità di prelievo per il tessuto placentare

10.1. Operazioni di prelievo

I tessuti placentari vengono prelevati in corso di taglio cesareo in elezione secondo i criteri di asepsi, seguendo i protocolli interni della Banca.

Dopo l'estrazione del feto e la recisione del funicolo, la placenta viene estratta in modo atraumatico, evitando la rottura massiva delle membrane.

11. Conservazione dei tessuti immediatamente dopo il prelievo

Immediatamente dopo il prelievo, l'operatore posiziona in condizioni di asepsi il tessuto prelevato all'interno di una confezione internamente sterile, di misure adeguate, contenente l'idonea soluzione di conservazione. Una volta chiusa, la

confezione non sarà riaperta né il tessuto in esso contenuto verrà rimosso se non a cura del personale della Banca.

La confezione viene conservata alla temperatura di +2°C/+10°C fino al momento del trasporto.

I tessuti che non devono subire ulteriore lavorazione devono essere confezionati in triplo sacchetto di materiale crio resistente chiuso in modo di assicurare l'integrità della confezione. Il sacchetto più esterno può, in alcuni casi, essere sostituito da contenitore rigido.

12. Etichettatura dei contenitori

Ogni contenitore di tessuti deve recare un'etichetta con:

- nome o codice di identificazione del donatore
- tipo di tessuto
- area del prelievo, se pertinente
- data di prelievo
- nel caso di donatori autologhi è aggiunta la seguente dicitura: "esclusivamente per uso autologo"
- indicazione della soluzione utilizzata per la conservazione durante il trasporto

I contenitori esterni per il trasporto devono recare un'etichetta che specifichi

- origine umana del tessuto destinato al trapianto
- identificazione del Centro di approvvigionamento (indirizzo, telefono)
- identificazione della Banca dei tessuti di destinazione (indirizzo, telefono)
- descrizione delle condizioni di trasporto e di conservazione da osservare
- per le donazioni autologhe riportare la dicitura "solo per uso autologo"
- codifica secondo Circolare Ministeriale n°3, 8 maggio 2003

13. Ricomposizione della salma

Nel donatore cadavere, al termine del prelievo di tutti i tessuti deve essere effettuata una ricomposizione accurata della salma.

14. Procedure finali

Il medico che coordina l'équipe di prelievo deve redigere il verbale del prelievo effettuato annotando data, ora, luogo e procedura impiegata, i nomi degli operatori e del donatore ed infine le sedi del prelievo. Deve apporvi firma leggibile.

In caso di donatore cadavere deve essere segnalata l'eventuale richiesta di autopsia.

15. Documentazione di accompagnamento:

I tessuti devono essere inviati alla Banca con la seguente documentazione:

- Verbale di prelievo
- dati identificativi del donatore con indicazione di chi ha identificato il soggetto
- descrizione tessuti inviati
- per il donatore a cuore fermo: data e ora di morte, modalità di conservazione del cadavere (refrigerato, sì/no, ora eventuale refrigerazione)
- lotto/identificazione soluzione di conservazione dei tessuti
- dichiarazione sottoscritta dal medico responsabile della valutazione dell'idoneità del donatore secondo le presenti linee guida che indichi l'assenza di criteri di esclusione dalla donazione, sulla base dell'indagine anamnestica e

dell'esame obiettivo

- risultati dei test sierologici se disponibili
- consenso alla donazione per le cornee e per i donatori viventi

16. Trasporto

Il trasporto deve avvenire in modo che siano assicurati sia l'integrità del contenitore, sia il mantenimento di una temperatura di +2°C/+10°C, finché non vengono effettuate in Banca tutte le procedure previste.

SEZIONE E

LAVORAZIONE DEI TESSUTI

1. Ricevimento dei tessuti presso la Banca

All'arrivo presso la Banca deve essere effettuata una verifica documentata che le condizioni di trasporto, l'imballaggio, l'etichettatura e la documentazione di accompagnamento siano conformi alle presenti Linee Guida.

Ogni "non conformità" deve essere riportata su apposito registro interno.

I tessuti ricevuti devono essere tenuti in quarantena finché la persona autorizzata, dopo la valutazione dei tessuti e di tutta la documentazione, non li abbia dichiarati idonei alla distribuzione.

2. Registrazione documentazione

La Banca deve tenere e registrare la documentazione pervenuta e conservarla per almeno 30 anni dopo l'utilizzo clinico confermato del rispettivo tessuto, o della sua eliminazione.

3. Distinzione dei tessuti

I tessuti provenienti da ciascun donatore devono essere lavorati e conservati singolarmente in modo da evitare contatti o contaminazioni tra essi e con tessuti di altri donatori.

Ogni tessuto è individuato con un codice unico, attribuito dalla banca, in modo da renderne possibile la rintracciabilità.

4. Modalità di lavorazione

Durante tutte le fasi di lavorazione e confezionamento si devono usare strumenti sterili, procedure asettiche e condizioni adeguate a evitare la contaminazione e la crescita di microrganismi e a mantenere la vitalità cellulare ove richiesto. Tutte le fasi di lavorazione devono essere effettuate in un ambiente microbiologicamente e climaticamente controllato.

Le procedure di lavorazione critiche devono essere convalidate e non devono rendere i tessuti o le cellule clinicamente inefficaci o nocivi per il ricevente. La convalida può basarsi su studi eseguiti dalla Banca stessa, o su dati di studi pubblicati, o — per procedure di lavorazione pienamente consolidate — sulla valutazione retrospettiva dei risultati clinici relativi ai tessuti forniti dalla banca. E' necessario dimostrare che il procedimento di convalida può essere svolto in modo coerente ed efficace nell'ambito della banca ad opera del suo personale.

Qualora ai tessuti o cellule 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 svolti in conformità delle POS approvate. Prima di ogni modifica significativa della lavorazione, il procedimento modificato deve essere convalidato e documentato.

Le procedure di lavorazione devono essere periodicamente sottoposte a valutazione critica rispetto al mantenimento dei risultati previsti.

5. Terreni, reagenti, materiali

I terreni, i reagenti, i materiali ed i contenitori utilizzati per il prelievo, l'analisi, la conservazione e lo stoccaggio dei tessuti devono essere appropriati al processo da svolgere e sterili. Tali prodotti devono essere corredati da certificati di sterilità e qualità forniti dalle Ditte produttrici con standard riconosciuti in campo internazionale; in caso contrario è richiesta documentazione pubblicata su riviste nazionali o internazionali o su linee guida approvate o dopo approvazione del Comitato Scientifico.

La ditta produttrice, le caratteristiche, il numero di lotto, codice, data di produzione e/o scadenza (nel caso si tratti di prodotti disponibili in commercio) dei terreni e reagenti devono essere registrati sulla scheda di ogni tessuto; nel caso si tratti di reagenti prodotti presso la Banca devono essere registrati n° lotto, data produzione e scadenza, sigla, validazione .

6. Tessuto Oculare

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 con gli 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.

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/mm²
- 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

6.1.2. Criteri di idoneità per cornee da utilizzarsi per cheratoplastica lamellare

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

6.1.3. Criteri di idoneità per cornee da utilizzarsi per cheratoplastica endoteliale

- densità cellulare endoteliale uguale o superiore a 2.000 cellule/mm²

- mosaico cellulare endoteliale monomorfo senza marcato pleiomorfismo né polimegatismo
- segni di distrofia o degenerazione endoteliale (depositi pigmentati, gutte) assenti o estremamente ridotti

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)

6.2. Metodi di conservazione delle cornee

6.2.1. Conservazione "a freddo" a breve termine

La conservazione a temperatura ipotermica (+2°/+10°C) consente la conservazione a breve termine della cornea isolata. Il tempo massimo di conservazione, variabile in relazione alle caratteristiche del terreno utilizzato e indicato nel foglio illustrativo del prodotto in uso, è generalmente compreso tra 5 e 10 giorni.

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.

6.2.3. Liofilizzazione

La liofilizzazione consente la conservazione a lungo termine di lamelle corneali utilizzate a scopo di cheratoplastica lamellare. La liofilizzazione deve essere condotta attraverso procedure idonee standardizzate applicabili al tessuto corneale. I tessuti disidratati per liofilizzazione, confezionati in contenitori sterili, possono essere conservati a temperatura ambiente per un periodo massimo di 12 mesi, salvo non sussistano dati a sostegno di un periodo più lungo, oltre il quale si rendono necessari controlli di sterilità.

6.2.4. Conservazione in etanolo:

La sclera può essere conservata in etanolo a 70%, a temperatura ambiente per un periodo massimo di 12 mesi.

6.2.5. Disidratazione:

I tessuti corneali possono essere conservati in presenza di *gel di silice* per un massimo di 6 mesi

7. Tessuto Muscoloscheletrico

7.1. Dimensionamento dei campioni

I segmenti di tessuto osseo per trapianto massivo devono essere radiografati, possibilmente in 2 proiezioni, con sistema di misurazione, per permettere la scelta del segmento da utilizzare sulla base delle sue dimensioni e caratteristiche.

7.2. Generalità

Di seguito sono indicati tutti i metodi correntemente stabiliti per la lavorazione dei tessuti muscolo - scheletrici. Altri metodi possono essere usati se ne è stata dimostrata l'efficacia.

7.3. Allottrapianti osteocondrali di piccoli frammenti freschi (cartilagine articolare)

Tutti gli allottrapianti osteocondrali di piccoli frammenti freschi devono essere prelevati asetticamente in sala operatoria.

Non possono essere usati per i pazienti prima che sia completato l'esame del sangue del donatore in conformità del presente documento, i controlli batteriologici siano negativi e l'idoneità del donatore sia stata approvata dal Direttore Medico o da persona designata.

7.4. Tessuti crioconservati prelevati asetticamente e non sterilizzati

7.4.1. Allottrapianti osteocondrali crioconservati

Gli allottrapianti osteocondrali vengono prelevati usando tecniche asettiche in sala operatoria. Può essere aggiunta una soluzione crioconservativa per trattare la superficie della cartilagine prima del congelamento. L'osso prelevato, adeguatamente confezionato, viene generalmente congelato ponendolo a temperatura uguale o inferiore a - 80 °C o può essere soggetto a congelamento a temperatura controllata usando un meccanismo di congelamento computerizzato ad azoto liquido.

7.4.2. Osso crioconservato e tessuto connettivo

Dopo il prelievo asettico in sala operatoria, l'osso crioconservato o il tessuto connettivo (cartilagine costale, fascia lata, tendine o menisco) viene sistemato in ambiente a temperatura uguale o inferiore a -80°C entro le 12 ore dal prelievo. Può essere aggiunta una soluzione crioconservativa per trattare la superficie della cartilagine prima del congelamento. Le successive manipolazioni del tessuto (per esempio, pulizia, taglio) devono essere effettuate asetticamente.

7.4.3. Data di scadenza dei tessuti crioconservati

I tessuti crioconservati a temperatura uguale o inferiore a -80°C , possono rimanere depositati per un periodo di 5 anni, oltre il quale verranno eliminati secondo la vigente normativa, nel rispetto delle procedure specifiche.

I tessuti crioconservati pronti per l'impianto non devono, di norma, essere ricongelati una volta scongelati.

7.5. Tessuti liofilizzati : metodi, controlli, scadenza

La liofilizzazione è un metodo per la conservazione, ma non per la sterilizzazione: la sterilizzazione deve essere ottenuta attraverso protocollo asettico, di cui al punto D 2.7.1, o sterilizzazione addizionale.

Dopo che è stata sviluppata una procedura standardizzata per la liofilizzazione, deve essere documentato il programma di controllo qualità per il monitoraggio dell'esecuzione del liofilizzatore.

I tessuti disidratati attraverso liofilizzazione devono essere immagazzinati a temperatura ambiente.

Ogni ciclo deve essere chiaramente documentato, inclusa la durata, la temperatura e la pressione di sottovuoto di ogni fase del ciclo.

Devono essere testati campioni significativi per il contenuto di acqua residua

I tessuti liofilizzati confezionati sotto vuoto hanno durata di conservazione indefinita, comunque è consigliabile immagazzinare un tessuto non oltre i 5 anni, salvo che non ci siano dati a sostegno di un periodo più lungo.

7.6. Tessuti semplicemente disidratati: metodi, controlli ,scadenza

L'uso di semplice disidratazione (evaporazione) dei tessuti come mezzo di conservazione deve essere controllato in maniera simile a quella usata per la liofilizzazione. Le temperature per la semplice disidratazione devono essere inferiori ai 60°C.

Ogni ciclo di disidratazione deve essere monitorato durante l'operazione per la temperatura.

Dopo la disidratazione, devono essere testati campioni rappresentativi per l'umidità residua.

La data di scadenza per i tessuti disidratati si conforma a quella dei tessuti liofilizzati.

7.7. Tessuti irradiati: metodi, controlli, scadenza

Sono disponibili strutture di irradiazione commerciali o ospedaliere per irradiazione ionizzante a raggi gamma.

La dose minima raccomandata per la sterilizzazione batterica è di 25 kGray.

L'inattivazione virale dipende da numerosi fattori e non può essere raccomandata alcuna dose specifica, ma deve essere validata se possibile, comunque giustificata da prove, letteratura o specifiche evidenze .

Il protocollo usato deve essere validato tenendo in considerazione la carica microbica iniziale e deve essere effettuato da strutture che seguono una pratica di buona irradiazione.

La sterilizzazione attraverso radiazioni ionizzanti deve essere documentata. Le pratiche di lavorazione includono il nome della struttura e la dosimetria risultante per ogni lotto.

Deve essere assegnato un numero unico di lotto ed aggiunto alla documentazione dei tessuti.

I tessuti sterilizzati attraverso irradiazione hanno la stessa corrispondente data di scadenza dei tessuti congelati o liofilizzati.

7.8. Tessuti sterilizzati con ossido di etilene: metodi, controlli, scadenza

Deve essere usata cautela nell'uso di ossido di etilene, poiché i residui possono avere effetti tossici per gli allotrapianti muscolo - scheletrici, già dimostrati in letteratura.

Seguendo procedimenti di lavorazione appropriati, i tessuti vengono sistemati in contenitori permeabili all'ossido di etilene ed esposti a miscele di gas di ossido di etilene sulla base delle linee guida suggerite dal produttore. Può rendersi necessaria l'individuazione di un protocollo individualizzato, a seconda della natura dei campioni che devono essere sterilizzati. Un programma di Controllo Qualità deve dimostrare che l'apparecchiatura è conforme ai requisiti di temperatura, umidità e concentrazione di gas per il periodo selezionato. Durante la sterilizzazione con ossido di etilene deve essere seguita una appropriata procedura di areazione per permettere la rimozione di residui di ossido di etilene e/o i suoi sottoprodotti.

In ogni lotto devono essere incluse le strisce di indicatori chimici. Deve essere in atto una procedura validata per ogni lotto di tessuto per documentare che è stata portata a termine la sterilizzazione.

Deve essere effettuato il monitoraggio del livello residuo di prodotti chimici o dei sottoprodotti su campioni rappresentativi dei tessuti finiti di ogni lotto.

La sterilizzazione ad ossido di etilene non ha influenza sulla data di scadenza.

7.9. Altri metodi di inattivazione

Alcuni agenti chimici hanno solo un ruolo decontaminante, altri agenti possono avere un effetto di inattivazione su patogeni specifici. Deve essere validata l'efficienza di questi agenti verso il tipo di tessuto trattato.

L'uso di sostanze chimiche e la possibile presenza di residui deve essere indicata nell'informativa che accompagna il tessuto.

In condizioni specifiche può essere usato il calore per la decontaminazione o la sterilizzazione dei tessuti. Il protocollo usato deve essere validato, tenendo conto della carica microbica iniziale e deve essere effettuato da struttura riconosciuta.

7.10. Demineralizzazione dell'osso

Sono disponibili ed accettabili diversi metodi e procedure per la produzione di osso demineralizzato. Devono essere usati reagenti a qualità controllata.

Deve essere determinato il calcio residuo ottenuto dal metodo.

8. Vasi e Valvole

Il tessuto deve essere mantenuto sempre a temperatura di + 4°C fino al momento della preparazione, fase che deve avvenire possibilmente entro 12 ore (al massimo 24 ore) dal momento dell'arrivo alla banca.

I tessuti vengono preparati secondo le normali procedure chirurgiche di isolamento delle valvole cardiache e dei segmenti vascolari .

8.1. Valutazione del campione

Per ogni tessuto si definiscono le caratteristiche dimensionali, si riporta una descrizione del tessuto e delle eventuali lesioni e si dà una valutazione anatomica - macroscopica facendo riferimento alle classificazione degli allegati I e II.

8.2. Controlli microbiologici

Per ogni tessuto idoneo si procede al prelievo di uno o più campioni destinati alle indagini microbiologiche, da eseguire anche sul liquido di trasporto. Ogni Banca deve definire nelle proprie procedure operative l'elenco dei patogeni la cui presenza determina l'eliminazione del tessuto prima della disinfezione.

8.3. Disinfezione

Ogni tessuto è riposto in soluzione di disinfezione all'interno di un contenitore sterile contrassegnato con il codice univoco tipico di ogni campione. La composizione del liquido di disinfezione, la temperatura e la durata cui deve essere mantenuto il campione sono definiti dal protocollo di disinfezione proprio di ogni Banca. Al termine del periodo di disinfezione per ogni tessuto idoneo si procede al prelievo di uno o più campioni destinati alle indagini microbiologiche da eseguire anche sul liquido di disinfezione.

8.4. Procedure di congelamento

Ogni tessuto idoneo viene congelato al termine della fase di disinfezione.

La preparazione al congelamento deve avvenire nelle stesse condizioni di sterilità e con le stesse accortezze impiegate nelle fasi precedenti.

Ogni tessuto è riposto all'interno di opportune sacche sterili crioresistenti insieme

ad una quantità di soluzione di congelamento definita dal protocollo proprio di ogni Banca e che preveda l'impiego di un terreno base nutriente e di un agente crioprotettore (es. DMSO).

Ogni sacca deve essere identificata inequivocabilmente e deve riportare il tipo di tessuto contenuto, la data del congelamento ed il codice univoco interno.

Il congelamento avviene mediante ultracongelatore programmabile, secondo una discesa termica controllata e grazie ad un sistema di alimentazione a vapori di azoto liquido.

8.5. Stoccaggio

La conservazione dei tessuti criocongelati avviene a temperatura variabile tra i -140°C e -185°C, in contenitori di stoccaggio alimentati ad azoto liquido.

I tessuti stoccati devono essere utilizzati per trapianto non oltre 5 anni dalla data di congelamento.

9. Cute

9.1. Controlli microbiologici e di mantenimento della vitalità

I controlli microbiologici devono essere ripetuti almeno prima del confezionamento definitivo e comunque prima del congelamento, su campioni allestiti per controllare che durante le procedure di prelievo, conservazione temporanea e trasporto sia stata garantita la sterilità. Ogni campione dato in distribuzione deve essere certificato sterile; non si ammette alla distribuzione alcun campione i cui test microbiologici abbiano prodotto crescita, indipendentemente dalla specie isolata.

Sulla cute destinata a congelamento o criopreservazione si devono effettuare controlli di vitalità mediante indagini microscopiche, colturali o tests idonei (MTT, RN, CFE); tali indagini devono essere eseguite prima del congelamento e al momento dello scongelamento per la validazione dei tessuti prima dell'impiego.

9.2. Processazione

In caso di cute suddivisa in tanti lotti quante sono le aree anatomiche di prelievo questa deve mantenere tale suddivisione fino alle fasi di stoccaggio e distribuzione. Nell'etichetta deve essere riportato il codice del donatore, l'area del prelievo, il lotto, la data di scadenza del terreno di trasporto.

All'arrivo nel laboratorio, se la cute non viene subito processata, può essere conservata in frigorifero a +2°/+10°C per un periodo non superiore a 72 ore.

La cute tolta dalla refrigerazione é trasferita in nuovi contenitori sterili con terreno di lavaggio (PBS, soluzioni saline, EMEM, RPMI, ecc) per allontanare residui indesiderati e successivamente in terreno di decontaminazione per un tempo determinato. La procedura di inattivazione microbica cui vengono sottoposti tessuti deve essere specificata, documentata e validata.

Nel caso di impiego di soluzioni antimicrobiche la cute deve essere sottoposta ad una fase di lavaggio accurato al fine di eliminare quanto più possibile i residui antimicrobici che invalidano le prove di qualità microbiologiche successive.

9.3. Conservazione della cute

9.3.1. Cute vitale

- Conservazione a fresco

La cute a fresco deve essere conservata in un sistema di refrigerazione, elettronicamente monitorato, con registrazione permanente della temperatura. E' necessaria la presenza di un sistema di allarme che si attivi quando la temperatura oltrepassa i limiti consentiti.

La cute deve essere conservata in contenitori idonei, sigillati (stoccaggio ipotermico), ad una temperatura di +2/+10°C per un periodo di tempo non superiore a 72 ore .

- **Conservazione della cute congelata**

Sia in caso di congelamento che di criocongelamento della cute è necessario impiegare una soluzione crioprotettiva per ridurre al minimo il danno indotto al tessuto dal congelamento. La cute deve permanere, prima della crioconservazione, nelle soluzioni crioprotettive per il tempo necessario a garantire un' adeguata penetrazione del protettivo mantenendo una idonea temperatura di refrigerazione.

La cute congelata a -80°C può essere conservata per un periodo massimo di due anni, in azoto liquido fino a 5 anni.

9.3.2. Cute non vitale

- **Conservazione in glicerolo**

Per la conservazione a lungo termine della cute non vitale si esegue una procedura di conservazione in glicerolo all'85-87%. La cute viene posta in contenitori o sacche idonei, sterili, usando tecniche asettiche a +2/+10°C.

La cute glicerolata viene conservata in soluzione di glicerolo all'85-87%, per un periodo massimo di due anni a +2/+10°C

10. Membrana Amniotica

10.1. Estrazione della membrana amniotica

La placenta con il cordone ombelicale e il sacco amniotico ancora adeso viene lavata con soluzione fisiologica sterile (o soluzione fisiologica sterile addizionata di antibiotici e/o antifungini). La membrana amniotica viene poi preparata secondo le procedure interne della Banca documentate e validate.

10.2. Disinfezione

Se viene effettuata una disinfezione della membrana amniotica, la composizione del liquido di disinfezione, la temperatura e la durata cui deve essere mantenuto il campione devono essere definiti dal protocollo proprio di ogni Banca. Al termine del periodo di disinfezione per ogni tessuto idoneo si procede al prelievo di uno o più campioni destinati alle indagini microbiologiche, da eseguire anche sul liquido di disinfezione.

10.3. Controlli di qualità microbiologici e di mantenimento della vitalità

Si devono effettuare controlli microbiologici su tutte le fasi del processo: prelievo estrazione per la membrana amniotica da avviare a crioconservazione senza disinfezione finale. Ogni Banca deve definire nelle proprie procedure operative l'elenco dei patogeni la cui presenza determina l'eliminazione del tessuto.

Sulla membrana amniotica vitale, si devono effettuare specifici controlli di vitalità, che devono essere definiti nelle procedure della Banca. Ogni Banca deve

inoltre definire un livello di vitalità cellulare, al di sotto del quale il tessuto non può essere distribuito come tessuto vitale.

10.4. Controllo di qualità anatomo-morfologico

Per ogni lembo di membrana amniotica si definiscono le caratteristiche dimensionali e strutturali (lato epiteliale - lato stromale). Per la membrana amniotica vitale si riporta una descrizione del tessuto e delle eventuali lesioni e si dà una valutazione anatomica - macroscopica secondo le procedure operative interne della Banca.

I tessuti non idonei devono essere eliminati e della loro eliminazione deve essere documentata e riportata su apposito registro la causa della non idoneità e la loro destinazione finale.

10.5. Metodi di conservazione della membrana amniotica

10.5.1. Crioconservazione membrana amniotica vitale

Ogni lembo di membrana amniotica idoneo viene crioconservato entro 48h dal prelievo della placenta in sala operatoria.

La preparazione alla crioconservazione deve avvenire nelle stesse condizioni di sterilità e con le stesse accortezze impiegate nelle fasi precedenti.

Ogni lembo di membrana amniotica viene riposto all'interno di opportune sacche/contenitori sterili crioresistenti, insieme ad una quantità di soluzione di criocongelamento definita dal protocollo proprio di ogni Banca e che preveda l'impiego di un terreno base nutriente e di un agente crioprotettore

La crioconservazione avviene mediante ultracongelatore programmabile, secondo una discesa termica controllata e grazie ad un sistema di alimentazione a vapori di azoto liquido. Le curve di crioconservazione utilizzate per la membrana amniotica, devono essere state precedentemente validate e definite nelle procedure interne della Banca. Per ogni criocongelamento effettuato si deve conservare la sua documentazione.

10.5.2. Congelamento

Ogni frammento di membrana amniotica "non vitale" idoneo e confezionato in un contenitore con terreno adatto, viene conservato ponendolo in un congelatore con temperatura non superiore a -80°C fino al termine del periodo di conservazione (scadenza) o, in alternativa, può essere crioconservato. E' possibile utilizzare un congelatore a discesa programmata ma non è indispensabile dato che non è necessario preservare la vitalità cellulare.

11. Smaltimento dei tessuti non idonei

Tutti i tessuti riconosciuti come non idonei per qualsiasi motivazione, devono essere scartati e registrati su apposito verbale di scarto per non conformità.

12. Variazioni delle procedure

Deve essere effettuata una valutazione di rischio documentata, approvata dal responsabile, per decidere la sorte dei tessuti stoccati della introduzione di nuovi criteri di selezione o controllo dei donatori o di significative modifiche di alcune fasi della lavorazione.

SEZIONE F

DISTRIBUZIONE DI TESSUTI AI CENTRI DI TRAPIANTO

1. Generalità

I Centri di Trapianto possono fare richiesta di tessuto a scopo di trapianto/innesto per un paziente alla Banca identificata dalla propria Regione o ad una struttura con la quale la Regione abbia stipulato apposita convenzione. La Banca provvederà a fornire il tessuto attenendosi ai criteri di distribuzione e alle priorità descritte nelle proprie procedure operative. Se la Banca non dispone del tessuto richiesto, provvederà a ricercarlo presso le altre Banche sul territorio nazionale. In caso di non disponibilità in tutte le strutture nazionali, la Banca potrà richiedere il tessuto ad una delle banche estere identificate a tale scopo e comprese nell'apposito elenco definito dal Centro Nazionale Trapianti.

Se nel territorio regionale del Centro di Trapianto non è presente una Banca identificata dall'autorità regionale e questa non ha stipulato una convenzione con una Banca di altra Regione, il Centro è tenuto a trasmettere la richiesta al Centro Regionale di Riferimento (CRR), questi autorizzerà la richiesta ad una Banca italiana. Se sul territorio nazionale il tessuto non dovesse essere reperibile, il Centro di Trapianto dovrà informare di ciò il CRR e richiedere la attivazione del circuito internazionale, tramite una Banca italiana.

I criteri di distribuzione e le priorità di assegnazione devono essere descritte in una procedura e ad essa deve attenersi la Banca.

2. Preparazione del tessuto per l'invio al Centro Trapianto

2.1. Controllo documentazione

Prima che qualsiasi confezione di tessuto possa essere tolta dalla quarantena e avviata alla distribuzione, il Responsabile Medico della Banca deve ricontrollare l'intera documentazione relativa alla idoneità del donatore (anamnesi, rispondenza ai criteri di selezione del donatore, dati autoptici quando disponibili, test sierologici e microbiologici e documentazione di prelievo), Il Responsabile della Banca deve inoltre verificare la completezza e conformità della documentazione di processazione e dei controlli di qualità del tessuto. Il tessuto destinato alla distribuzione deve corrispondere agli standard prefissati.

2.2. Ispezione dei contenitori

Deve essere eseguita ispezione finale del contenitore e dei dati riportati sullo stesso, per controllare la sua integrità, la corretta disposizione del tessuto al suo interno, i dati sull'etichetta e l'identificazione del contenuto. L'etichetta del tessuto usata dalla struttura della Banca del Tessuto non può essere rimossa, alterata o oscurata.

2.3. Imballaggio e trasporto

Il trasporto dei contenitori viene effettuato nel rispetto delle condizioni ambientali predefinite, sulla base della tipologia di tessuto trasportato e delle condizioni di stoccaggio. In alternativa, il tessuto può essere inviato al centro di trapianto già pronto all'uso, dopo scongelamento e lavaggio, in contenitori sterili e sigillati. Per il trasporto dei tessuti al di fuori della struttura in cui risiede la banca, é necessario

un imballaggio esterno sigillato, idoneo a mantenere la temperatura di stoccaggio o di trasporto indicata nelle procedure operative della banca.

2.4. Etichettatura

Le singole confezioni di tessuto riportano:

- denominazione della banca del tessuto;
- tipo di tessuto;
- codice identificativo del tessuto (compreso il lotto, se pertinente)
- se pertinente dimensioni del tessuto
- data di scadenza
- in caso di donazione autologa la scritta: “esclusivamente per uso autologo” e identificazione del paziente
- in caso di tessuto con destinatario definito, l’identificazione del ricevente

Sull’imballaggio esterno viene applicata la etichettatura esterna con le seguenti indicazioni:

- denominazione, indirizzo e numero di telefono della banca del tessuto;
- identificazione del centro di trapianto a cui è destinato il tessuto, comprensivo di indirizzo e numero di telefono
- origine umana del tessuto destinato al trapianto e la scritta :”MANIPOLARE CON CAUTELA”
- per tessuti vitali: “NON IRRADIARE”
- eventuali condizioni di trasporto raccomandate;
- eventuale presenza di CO2 o altri gas criogeni all’interno dell’imballaggio.

2.5. Documentazione di accompagnamento

2.5.1. Generalità

Tutti i tessuti devono essere corredati da documentazione di accompagnamento che dovrà essere inserita nella documentazione clinica del ricevente il trapianto. Istruzioni specifiche devono essere accluse al tessuto per il quale è richiesto un trattamento specifico.

2.5.2. Requisiti della documentazione di accompagnamento

La documentazione di accompagnamento deve contenere tutte le informazioni descritte nell’etichettatura oltre ai seguenti dati:

- origine del tessuto (specificare se si tratta di tessuto proveniente da altro paese);
- informazioni e risultati dei test di screening effettuati sul donatore;
- temperatura di stoccaggio o data e ora di scongelamento se il tessuto viene inviato scongelato
- istruzioni per l’apertura del contenitore e dell’imballaggio e per eventuale scongelamento e ricostituzione del tessuto;
- composizione del terreno di trasporto/stoccaggio e di eventuali residui di agenti/soluzioni di preservazione o lavorazione aggiunti (es. antibiotici, ETOH, ETO, DMSO, ecc.);
- eventuale procedura di sterilizzazione/inattivazione impiegata;
- indicazione di esito negativo dei controlli microbiologici effettuati

- quantità totale e numero di contenitori di tessuto inviate.
- eventuale risultato del controllo vitalità cellulare residua
- data di scadenza dal momento dell'apertura o ricostituzione

Nella documentazione di accompagnamento deve essere specificato che:

- ogni tessuto deve essere utilizzato per un solo paziente;
- la struttura sanitaria destinataria del tessuto è responsabile del corretto mantenimento del tessuto inviato, dalla ricezione al momento del trapianto;
- il Centro di Trapianto non può stoccare il tessuto ricevuto dalla Banca se non temporaneamente in attesa del trapianto
- la struttura sanitaria destinataria del tessuto deve informare la Banca sulla destinazione dei tessuti (data/sede di trapianto, chirurgo responsabile del trapianto, identificazione e dati clinici del ricevente), per garantirne la rintracciabilità;
- la struttura sanitaria destinataria del tessuto è responsabile del mantenimento della documentazione necessaria a garantire la rintracciabilità del tessuto inviato;
- eventuali reazioni avverse correlate al trapianto intervenute nel ricevente o eventi avversi gravi correlati al tessuto devono essere immediatamente comunicate alla banca.

3. Documentazione di ricevimento del tessuto

Conferma del ricevimento e dell'utilizzo del tessuto deve essere trasmessa alla Banca attraverso l'invio di una documentazione con la data di ricevimento, informazioni sulla destinazione (nome del ricevente, data dell'intervento, chirurgo che ha effettuato il trapianto) con la firma del medico responsabile del trapianto. La dichiarazione implica il giudizio di idoneità, al momento della consegna, del tessuto trasportato.

Tale documentazione garantisce la rintracciabilità del tessuto.

4. Deposito dopo la distribuzione

Il tessuto deve essere utilizzato entro la scadenza indicata dalla banca e conservato nelle modalità e nei tempi indicati dalla banca, secondo procedura scritta

Se si effettua il trasporto di materiale congelato devono essere allegare le istruzioni per lo scongelamento.

La responsabilità per il tessuto scongelato, mantenuto in deposito presso il Centro Trapianto, è dell'operatore.

5. Riconsegna di un tessuto alla banca

Nel caso di ritorno del tessuto alla Banca, spetta al Responsabile deciderne, dopo valutazione, la destinazione finale secondo una procedura operativa scritta.

SEZIONE G

REGISTRAZIONI SUCCESSIVE AL TRAPIANTO

1. Documentazione per il follow-up

Ciascuna Banca elaborerà dei moduli per la raccolta del follow-up del ricevente. Tutti i moduli includeranno:

1.1. Documentazione relativa al ricevente

- nome del paziente , data di nascita e sesso
- diagnosi della malattia curata con il trapianto
- struttura che effettua l'intervento
- codice identificativo del tessuto utilizzato (indicato nella documentazione di accompagnamento del tessuto stesso)
- procedure chirurgiche applicate
- data dell'intervento
- nome e cognome del chirurgo che ha eseguito il trapianto
- dati clinici del ricevente secondo le indicazioni dei singoli Comitati scientifici della Banca

2. Riservatezza nell'utilizzo delle informazioni inviate

Tutte le informazioni relative alle reazioni al trapianto, al follow-up del ricevente e quant'altro possa interessare la banca a scopi epidemiologici e di sicurezza, dovranno essere utilizzate dalla banca stessa in modo che non compaia nessuna indicazione che possa permettere l'identificazione del ricevente ai sensi dell'art. 18 comma 2 della Legge 91/99.

SEZIONE H

GESTIONE DI REAZIONI ED EVENTI AVVERSI GRAVI

1. Generalità

Le reazioni gravi interessano i donatori viventi ed i riceventi di tessuti o cellule umani. Sia i Centri di Prelievo che i Centri di Trapianto sono quindi interessati al loro rilevamento.

Gli eventi avversi gravi possono realizzarsi in qualunque fase del processo: dal momento della identificazione del donatore al trapianto. Il riscontro può avvenire da parte di una qualunque delle strutture coinvolte nel processo.

2. Responsabilità delle Banche dei tessuti

2.1. Procedure

Le Banche devono fornire le istruzioni per la notifica degli eventi e reazioni avverse ai Centri di Trapianto e a tutte le strutture che intervengono nelle singole fasi del processo.

Ogni struttura deve avere procedure scritte per ottemperare questo requisito.

La Banca deve avere procedure per la comunicazione al Centro Regionale di Riferimento (CRR) di ogni reazione/evento avverso grave, comprese tutte le informazioni disponibili pertinenti e le conclusioni dell'indagine volta ad accertarne le cause e l'esito.

Ogni Banca deve avere una procedura scritta, rapida e verificabile, che consenta il ritiro dalla distribuzione di qualsiasi prodotto che possa essere connesso con evento/reazioni avversi gravi.

2.2. Notifica

Le Banche devono notificare immediatamente qualsiasi evento/reazione avversi al CRR. Devono essere notificati i provvedimenti adottati per quanto riguarda altri tessuti o cellule interessati, distribuiti per trapianto/innesto.

La notifica deve avvenire immediatamente anche se l'implicazione dei tessuti/cellule nella reazione è solo sospetta, così come nel caso in cui vi sia solo l'ipotesi di un rischio legato all'evento rilevato.

Qualora una Banca venisse a conoscenza di un evento avverso grave, anche se ciò non ha influenza per i tessuti/cellule di pertinenza della Banca stessa, è tenuta a darne notifica al CRR per garantire la sicurezza di eventuali altri riceventi di tessuti o organi.

2.3. Azioni

Le Banche devono intraprendere una indagine per evidenziarne la causa e le implicazioni di eventi/reazioni avverse gravi di cui ha avuto informazione.

Le conclusioni dell'indagine dovranno essere trasmesse al CRR non appena disponibili.

Le Banche del Tessuto, in apposito registro, devono preparare e tenere una relazione scritta sulle ricerche in merito alle reazioni avverse, incluso le conclusioni, il follow -up e le azioni correttive.

3. Responsabilità dei Centri Regionali di Riferimento

Il CRR deve inoltrare la notifica al Centro Nazionale Trapianti ed al proprio Centro Interregionale di Riferimento non appena ne viene a conoscenza. Deve quindi informare tutte le strutture eventualmente coinvolte, seguendo una procedura

scritta a questo riguardo, e intraprendere le azioni preventive e correttive necessarie.

La notifica al CNT deve avvenire telefonicamente ed in seguito in forma scritta. In forma scritta dovranno essere inviate anche le conclusioni dell'indagine svolta, non appena disponibili.

4. Modulistica

Le Banche devono inviare tutte le informazioni pertinenti disponibili ed i provvedimenti adottati ai CRR tramite le schede in All III o IV, e successivamente la conclusione delle indagini mediante l'All V o VI.

Allegato I

GRADING TESSUTI CARDIACI

GRADO 1

Lembi valvolari inutilizzabili, test di coaptazione dei lembi negativo, calcificazioni dei lembi valvolari e del condotto, insufficienza valvolare, gravi danni dovuti a manovre di dissezione o di prelievo, bicuspidie con difetti congeniti, lesioni intimali lungo l'intero condotto aortico.
Valvole da scartare in toto.

GRADO 2

Lembi valvolari anormali, test di coaptazione dei lembi negativo, presenza di ateromi oltre il 30% della superficie valvolare e del condotto, zone di calcificazione a livello intimale.
Valvole inutilizzabili, salvo eventualmente per la preparazione monocuspidi.

GRADO 3

Lembi valvolari normali, con test di coaptazione positivo. Assenza di calcificazioni e di ateromi sui lembi valvolari, valvola mitrale con ateromi per il 15-30% della superficie valvolare, assenza di calcificazioni sul condotto e presenza di ateromi sul 15-30% della superficie, presenza di piccole aree di contusione ma non in prossimità dell'anello valvolare.

GRADO 4

Lembi valvolari ottimi, test di coaptazione dei lembi positivo. Assenza di danneggiamenti, fenestrazioni <2% della superficie, assenza di calcificazioni e di ateromi, Valvola mitrale con presenza di piccole zone ateromatose <5% della superficie e assenza di lesioni intimali del condotto con ateromi <15% sulla superficie.

GRADO 5

Tessuto e lembi valvolari anatomicamente perfetti.

Allegato II

GRADING TESSUTI VASCOLARI ARTERIOSI

GRADO I: *(Non Idoneo)*

Aneurismatico o con presenza di Blister
Calcificazioni transmurali diffuse (>30%)
Aree di ulcerazione più o meno ampia intimale
Test pressorio negativo

GRADO II: *(Idoneo con riserva)*

Megaarterie
Aree di ispessimento fibro-calcifico
Ateromi calcifici segmentari (<15%) aggettanti nel lume senza lesioni ulcerative
Test pressorio positivo
Fenestrazioni < 5% della superficie totale

GRADO III: *(Idoneo)*

Anatomicamente perfetto
Piccole raccolte di materiale fibrolipidico
Test pressorio positivo

GRADING TESSUTI VASCOLARI VENOSI

GRADO I:

Tessuto varicoso
Zone di cedimento > 30% della superficie totale
Zone di fibrosi parietale infiltranti o periavventiziali (post-flebitiche) >15%
Test pressorio negativo

GRADO II:

Segmento ispessito, non dilatato, qualche ectasia circoscritta

GRADO III:

Senza apparenti lesioni

Allegato III**NOTIFICA DI REAZIONI AVVERSE GRAVI****Notifica rapida di
presunte reazioni avverse gravi**

Banca dei Tessuti	
Identificazione della notifica	
Data di notifica (anno/mese/giorno)	
Soggetto coinvolto (ricevente o donatore)	
Data e luogo di prelievo(se il soggetto che ha subito reazione è il donatore) o di utilizzo sull'uomo (anno/mese/giorno)	
Numero unico d'identificazione della donazione	
Data della presunta reazione avversa grave (anno/mese/giorno)	
Tipo di tessuti e cellule coinvolti nella presunta reazione avversa grave.	
Tipo di presunta/e reazione/i avversa/e grave/i	

Allegato IV**NOTIFICA DI EVENTI AVVERSI GRAVI****Notifica rapida di
presunti eventi avversi gravi**

Banca				
Identificazione della notifica				
Data di notifica (anno/mese/giorno)				
Data dell'evento avverso grave (anno/mese/giorno)				
Evento avverso grave che potrebbe avere effetti sulla qualità e la sicurezza di tessuti e cellule a causa di uno scostamento relativo a:	Specificare			
	Difetto di tessuti e cellule	Guasto delle attrezzature	Errore umano	Altro (specificare)
Prelievo				
Controllo				
Trasporto				
Lavorazione				
Stoccaggio				
Distribuzione				
Materiali				
Altro (<i>specificare</i>)				

Allegato V

**Conclusioni dell'indagine
sulle reazioni avverse gravi**

Banca dei tessuti	
Identificazione della notifica	
Data di conferma (anno/mese/giorno)	
Data della reazione avversa grave (anno/mese/giorno)	
Numero unico d'identificazione della donazione	
Conferma della reazione avversa grave (sì/no)	
Modifica del tipo di reazione avversa grave (sì/no) In caso affermativo, <i>specificare</i>	
Esito clinico (se conosciuto) <ul style="list-style-type: none"> – Ristabilimento completo – Postumi lievi – Postumi gravi – Decesso 	
Esito dell'indagine e conclusioni finali	
Raccomandazioni di interventi preventivi e correttivi	

Allegato IV**Conclusioni dell'indagine
sugli eventi avversi gravi**

Banca dei tessuti	
Identificazione della notifica	
Data di conferma (<i>anno/mese/giorno</i>)	
Data dell'evento avverso grave (<i>anno/mese/giorno</i>)	
Analisi delle cause di fondo (in dettaglio)	
Provvedimenti correttivi adottati (in dettaglio)	