

MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA PROCURACIÓN DE TEJIDO OCULAR

BANCO DE TEJIDOS OCULARES DE CUCAIBA
Ministerio de salud de la Provincia de Buenos Aires

MANUAL DE PROCEDIMIENTOS PARA LA PROCURACIÓN DE TEJIDO OCULAR

BANCO DE TEJIDOS OCULARES DE CUCAIBA
Ministerio de salud de la Provincia de Buenos Aires

ÍNDICE

1) DONANTE

- 1.1. Criterios de selección de donantes de tejido corneal
- 1.2. Causas de exclusión de donantes de tejido corneal
- 1.3. Edad del donante
- 1.4. Pruebas Serológicas. Obtención de las muestras de sangre
- 1.5. Donación y obtención de tejido ocular
 - 1.5.1. Consentimiento informado
 - 1.5.2. Certificación de la muerte
 - 1.5.3. Identificación del donante
 - 1.5.4. Revisión de la Historia Clínica
 - 1.5.5. Tiempo aceptable de extracción
- 1.6 Preparación del donante sugerida
 - 1.6.1 Antes de la muerte
 - 1.6.2. Después de la muerte
 - 1.6.3. Previo a la preparación

2) OBTENCIÓN DE TEJIDO

- 2.1. Inspección del cadáver
 - 2.1.1. Inspección general
 - 2.1.2. Inspección local
- 2.2. Lavado y aclarado
- 2.3. Procedimiento sugerido para la enucleación
- 2.4. Reconstrucción temporaria
- 2.5. Complicaciones post enucleación
- 2.6. Conservación previa del globo ocular. Cámara húmeda de Filatow
- 2.7. Cuidado del donante después de la extracción

3) PROCEDIMIENTOS PROPIOS DEL BANCO.PROCESAMIENTO

- 3.1. Descontaminación del globo ocular. Estudio y valoración del mismo

- 3.2. Evaluación del tejido corneal
- 3.3. Procesamiento de la cornea
- 3.4. Examen del anillo esclerocorneano

4) TÉCNICAS DE CONSERVACIÓN O PRESERVACIÓN CORNEAL

- 4.1. Métodos a corto plazo: Cámara húmeda
- 4.2. Métodos de conservación intermedios

5) REGISTRO DE DATOS, EMPAQUETADO, DISTRIBUCIÓN

- 5.1. Registros del donante
- 5.2. Confidencialidad
- 5.3. Empaquetado y distribución
- 5.4. Contenedor
- 5.5. Distribución
- 5.6. Transporte

6) TRANSPLANTE DE TEJIDO OCULAR

- 6.1. Consentimiento informado
- 6.2. Solicitud del tejido al Banco
- 6.3. Reinformación al Banco
- 6.4. Control microbiológico del tejido preservado para implante
- 6.5. Seguimiento del transplante de tejido ocular

CAPITULO 1: DONANTE

1.1. Criterios de selección de donantes de tejido corneal

Los criterios que se proponen para la selección de donantes de córnea con finalidad de transplante se basan en:

- Las peculiaridades anatómicas de la córnea, especialmente la ausencia de vasos sanguíneos o linfáticos, lo que determina que el tejido corneal pueda ser considerado diferente de otros tejidos a ser transplantados
- Estándares de selección internacionalmente reconocidos (The Eye Bank Association of América, Directivas del Parlamento Europeo y del Consejo de la Unión Europea 2004)
- Sistemas de microscopía endotelial que permiten valorar con exactitud la cualidad y calidad endotelial del tejido corneal
- Revisión bibliográfica

1.2. Causas de exclusión de donantes de tejido corneal

A. CRITERIOS DE EXCLUSIÓN PARA INJERTO PENETRANTE

- Muerte de causa desconocida
- Imposibilidad de realizar el estudio serológico del donante (pérdida de la muestra, hemodilución)
- Ingestión de una sustancia tóxica o exposición a ella, que pueda ser transmitida en una dosis tóxica a los receptores del tejido
- Los donantes con enfermedades malignas podrán ser evaluados y tenidos en cuenta para la donación de córneas, excepto los afectados por retinoblastoma, melanoma del polo anterior, neoplasia hematológica o tumores malignos que pudieran afectar el polo anterior del ojo. Metástasis de tumores malignos primarios o secundarios susceptibles de producir afectación de la cámara anterior del ojo.
- Tumores del Sistema Nervioso Central que afecten la estructura ósea y/o el contenido orbitario.
- Riesgo de transmisión de enfermedades del S.N.C. causadas por priones:
 - Creutzfeldt Jacob o factor de riesgo

Receptores de hormona derivada de pituitaria humana (ej. Hormona de crecimiento PIT-HGH entre los años 1963 a 1985, debido al riesgo potencial de transmitir la enfermedad de Creutzfeldt Jacob.

Receptores de injertos de duramadre

Historia familiar relacionada con enf. de Creutzfeldt Jacob no iatrogénica

Personas con antecedentes de demencia progresiva rápida o enfermedades degenerativas neurológicas de origen desconocido

Germann Straussler Scheinkr

Insomnio familiar fatal

Kuru

- Enfermedades del S.N.C. Alzheimer y encefalitis bacteriano en la que no se ha podido identificar el germen causal, o en la que no se haya cumplido tratamiento según antibiograma por un periodo de al menos 48 hs, o en aquellas en que el germen causal sé un gram (-) negativo o un multirresistente.

Pan encefalitis esclerosante subaguda

Leucodistrofia multifocal progresiva

Encefalitis viral activa o encefalitis de causa desconocida. Encefalitis fúngica o parasitaria.

Esclerosis múltiple

Esclerosis lateral amiotrófica

Enfermedad de Parkinson

- Sepsis
- Sífilis
- Tuberculosis

- Septicemia activa (bacteriana, fúngica, viremia), si no se ha podido identificar el germen causal, o en la que no se haya cumplido tratamiento según antibiograma por un periodo de al menos 48 hs, o en aquellas en que el germen causal sea un Gram (-) o multirresistente.

- Procesos febriles recientes

- Endocarditis fúngica

- Endocarditis bacterianas no se ha podido identificar el germen causal, o en la que no se haya cumplido tratamiento según antibiograma por un periodo de al menos 48 hs, o en aquellas en que el germen causal sea un Gram +/- o un multirresistente.

- Meningitis viral, fungica o parasitaria
- Meningitis bacteriana, si no se ha podido identificar el germen causal, o en la que no se haya cumplido tratamiento según antibiograma por un período de al menos 48 hs., o en aquellas en que el germen causal sea un Gram – o multirresistente
- Enfermedades autoinmunes: Artritis Reumatoidea, Lupus, Esclerodermia, S. Sjogren
- Infecciones víricas:
 - VIH+
 - Rabia
 - Hepatitis B
 - Hepatitis C
 - Rubéola congénita
- Pertenecientes a grupos de alto riesgo (drogadictos, bisexuales.,homosexuales, promiscuos sexuales,politransfundidos,hemofilicos,tatuajes menores a seis meses,antecedente carcelario,hijos de madres con SIDA)
- Infección activa por herpes simple y herpes zoster.
- Hemodilución de muestras de donantes:(ver anexo 1 para cálculo de hemodilución)

Donantes que hayan recibido sangre (más de 4 bolsas o unidades) , componentes sanguíneos o coloides en la 48 hs. anteriores al fallecimiento o cristaloides en la hora anterior al fallecimiento, debido al efecto de la hemodilución sobre los resultados de pruebas serológicas
- Niños nacidos de madres infectadas por VIH
- Enfermedades intrínsecas del ojo:
 - Retinoblastoma
 - Tumores malignos del segmento ocular anterior y posterior (melanoma)
 - Inflamación intraocular u ocular activa: conjuntivitis, escleritis, iritis, uveítis, vitritis, coroiditis, retinitis.Endoftalmitis.
 - Pterigion u otras alteraciones superficiales de la conjuntiva o superficie corneal incluyendo el área óptica central del botón corneal (cicatrices corneales, úlceras corneales, leucomas)

- Alteraciones adquiridas o congénitas del ojo que afecten la córnea que puedan descartar un resultado exitoso de un futuro uso
- Cirugía intraocular previa , cirugía del segmento anterior o procedimientos quirúrgicos con láser como la trabeculoplastia con láser argón, la fotocoagulación retinal y panretiniana .
- Procedimiento refractivo de córnea
- Glaucoma
- Nubecula o leucoma corneal central
- Ictericia escleral.
- Donantes con serología positiva para:
 - HIV I Y II
 - H.T.L.V I Y II
 - HEPATITIS B
 - HEPATITIS C
 - CITOMEGALOVIRUS IG M ¿?
 - HUDDLESSON TITULOS MAYORES 1/100
 - VDRL + Y FTA-ABS +
 - SEROLOGIA CHAGAS +
- Cirugía de fotoablación láser
- Cirugía del segmento anterior que produzca una disminución de la población de células endoteliales en el tejido corneal o penetrante pero debería estar autorizada por el Director Médico (evaluación de endotelio con microscopio especular que considere que la población endotelial no es suficiente)
- Procesos hematológicos malignos
 - Leucemia, Aplasia medular,Hemoglobinuria Paroxística Nocturna, Policitemia Vera, Mielofibrosis.
- Linfoma
- Linfomas diseminados activos
 - Enfermedad de Hodgkin
 - Linfomas malignos, Linfomas no Hodgkin
 - Linfoma de Burkitt
 - Micosis Fungoide

Mieloma Múltiple

Macroglobulinemia

Enfermedad de la cadena pesada

- Síndrome de Reye's

B. CRITERIOS DE EXCLUSION PARA INJERTO LAMELAR

-Nubécula o leucoma corneal central.

C. CRITERIOS DE EXCLUSION PARA INJERTO ESCLERAL:

-NEOPLASIAS

-ICTERICIA ESCLERAL

-HEMORRAGIA ESCLERAL

-ENFERMEDADES DEL COLAGENO

-ENFERMEDAD DE CHAGAS (SEROLOGIA +)

Todas estas contraindicaciones se han diseñado para disminuir el riesgo de transmisión de enfermedad al receptor y también por la calidad o eficacia potencial del tejido que pueda poner en peligro el éxito de la cirugía.

Es necesario realizar una evaluación médica del posible donante

- Historia médica
- Investigación de la causa de muerte. Revisión del certificado de muerte y la causa de muerte (si es posible) un examen de su evolución anotando datos relevantes, medicaciones, temperatura, test de laboratorio (especialmente test microbiológico, serológicos y hematológicos) anotando si hubo transfusiones, la cantidad y el tiempo que duraron. Lo ideal es un screening del donante que conste de un examen verbal con el médico que realizó el tratamiento.
- Si la donación se realiza fuera del ambiente hospitalario se debe entrevistar al médico de cabecera del donante de ser posible u obtener datos de los familiares.

- Se debe enviar copia de dicha información al Banco de Tejidos Oculares de Cucaiba.Completando la historia clínica del donante a corazón parado.

1.3. Edad del donante

Se recomienda una correcta evaluación de cada donante y no se especifican límites máximos de edad puesto que no se ha demostrado de forma definitiva una relación clara entre la calidad del tejido corneal obtenido y la edad del donante. Una córnea donante con una morfología y densidad de células endoteliales normales es válida para el transplante independientemente de su edad.

Es el estado de la viabilidad endotelial el que fijará las pautas para aceptar una córnea donante para transplante

Las córneas de menores de 2 años son muy flexibles, poseen una alta curvatura y un diámetro aprovechable estrecho, además de una extrema delgadez que ocasiona dificultades técnicas para su manejo, por tales motivos no se consideran como donantes.

1.4. Pruebas Serológicas Obtención de las muestras de sangre

Es recomendable obtener las muestras de sangre lo mas pronto posible y en todo caso siempre antes de las 6 hs. Post mortem, ya que la hemólisis y los productos de degradación tisular pueden ser causantes de falsos positivos en las pruebas serológicas.

Las muestras de sangre se recogerán antes de la extracción del globo ocular o tejido corneal.

La pruebas serológicas deben realizarse sobre el suero o el plasma del donante, no deberán realizarse en otros fluidos o secreciones (humor acuoso o vítreo)

Las pruebas serológicas exigidas son:

VIH 1 y 2 (en caso de resultado positivo la donación esta contraindicada)

Hepatitis B Antígeno de superficie (HbsAg) Contraindicación

El resultado positivo de AcCore de la Hepatitis B exige la realización de pruebas complementarias.

Hepatitis C (donación contraindicada)

Treponema Pallidum (pruebas para detectar Ac, específico para T, P)
Contraindicación.

HTLV I y II (en donantes que viven o proceden de zonas de alta incidencia, sus compañeros sexuales o sus hijos) Contraindicación

CHAGAS

Prueba Serológica	Resultados	Distribución
H.I.V. I y II	Positivo	No
H.T.L.V. I y II	Positivo	No
V.D.R.L	Positivo	No
H.C.V.	Positivo	No
Hbs. Ag.	Positivo	No
Anticore	Positivo	Realizar Anti Hbs. Ag.
Anti Hbs.Ag.	Positivo	Sí
Anti Hbs. Ag.	Negativo	No
CMV Ig M	Positivo	No
CMV Ig G	Positivo	Sí
Hudlesson	Positivo	Títulos menores a 1/100 Sí
Hudlesson	Positivo	Títulos mayores a 1/100 No

Es necesario contar con 10 ml (min. 5 ml) de sangre en tubo preferentemente de vidrio y fraccionado en 2 tubos para mayor seguridad.

El método empleado para obtener sangre del cadáver es la punción intra cardíaca.

Se pueden usar las vías subclavia, femoral y vale la toma desde cualquier vaso accesible.

Para realizar la punción intracardíaca se debe palpar el ángulo de Louis del esternón. Inmediatamente por debajo, está el 2do espacio intercostal, palpar el 3ro y el 4to., y a esta altura, a dos centímetros del reborde intercostal punzar con aguja raquídea 18 G. Ir retirando y aspirando hasta que la sangre comience a entrar en la jeringa.

No olvidar rotular los tubos.

Los tubos deben ser secos, sin aditamento alguno, y deben ser enviados lo antes posible al laboratorio para su procesamiento.

1.5. Donación y obtención de tejido ocular

1.5.1. Consentimiento informado

Previamente a la extracción de tejido se obtendrá el consentimiento informado para la donación, que deberá estar debidamente firmado por los familiares del donante potencial.

El documento del consentimiento informado para la donación se deberá incluir en la historia clínica del donante.

En los casos de fallecimientos sometidos a investigación judicial se contará con la autorización de la autoridad legal competente, previa a la extracción.

1.5.2. Certificación de la muerte

Tanto en los casos de donación de tejidos como en los donantes multiorgánicos el certificado de defunción debe haber sido emitido y firmado por un facultativo ajeno al equipo de ablación.

1.5.3. Identificación del donante

Antes de la extracción se tomarán las debidas precauciones para asegurar la correcta identificación del donante, al que se le asignarán un código que se mantendrá a lo largo de todos los procedimientos que se realicen con el tejido procedente de la donación.

1.5.4. Revisión de la Historia Clínica

Es importante establecer las condiciones sociales y médicas del donante previas a su muerte para poder determinar la seguridad y probable eficacia del tejido.

Se debe prestar especial atención a los siguientes datos:

- causa de muerte y factores asociados
- historia médica pasada y reciente
- Anotar el momento de la muerte encefálica y hora de paro cardíaco.

Para la donación de ojos el factor más importante es el período de tiempo en que ha estado isquémica la córnea. Así es que el tiempo que hay que anotar es el tiempo en que la sangre ha dejado de circular irreversiblemente (en el caso de un donante multiorgánico el tiempo de clampeo o «cron_clamp»)

Nombre del paciente y fecha de nacimiento (o edad)

Para asegurar la exclusión por septicemia en el donante en el momento de la muerte se deben hacer análisis de laboratorio recientes.

Se deben analizar e interpretar los resultados de cultivos sanguíneos, las curvas de temperatura de los últimos días y los recuentos de la serie blanca.

Hablar con el médico que lo trató y tener una idea de sus impresiones clínicas, anotar la cantidad y fecha de transfusiones.

La hemodilución puede tener efecto en la validez de la serología tras la transfusión.

Como norma general se debe tener una muestra pre_transfusión para evaluar si un donante adulto ha recibido 4 o más unidades de sangre completa (o equivalente) dentro de las 48 hs. Precedentes a la parada de la función circulatoria. (Anexo 1 para cálculo de hemodilución)

Para menores de 12 años se debe obtener una muestra pretransfusión para saber si el niño ha recibido alguna transfusión sanguínea durante el último ingreso.

Los siguientes productos sanguíneos son equivalentes a 1 unidad de sangre completa: 1 bolsa de células rojas, 1 unidad de plasma congelado fresco, 500 ml de albúmina al 5 %, 5 unidades de plaquetas, 10 unidades de crioprecipitado.

Lo ideal es que el Banco hable con el médico y revise la historia del paciente (recibir Hist. Clínica del donante)

Si no está disponible la historia médica escrita (por ej. Muerte en domicilio) el personal del Banco de tejidos oculares debe examinar otras posibilidades para establecer una historia clínica relevante, por ej. hablar con los miembros de la familia y / o con el médico general del donante u otro personal médico (o forense si ha sido realizado postmortem)

1.5.5. Tiempo aceptable de extracción

Se consideran períodos aceptables para proceder a la extracción del globo ocular:

Antes de las 6 hs. posteriores a la asistolia si el cadáver no ha sido refrigerado

Antes de las 12 hs. Después de la refrigeración si ésta se ha hecho en las 6 primeras hs. Después de la asistolia.

1.6 Preparación del donante sugerida

1.6.1 Antes de la muerte

- Si el donante se encuentra en estado de coma o en mantenimiento con respiración asistida (muerte cerebral), es necesario aplicar un lubricante o gotas de solución salina balanceada para mantener la integridad de la córnea. En este estado hay poca o nula producción de lágrimas.
- Debe asegurarse que los párpados permanezcan cerrados para prevenir la desecación del epitelio antes de la enucleación.

1.6.2. Después de la muerte

- Elevar la cabeza del donante si se considera necesario (los ojos inyectados u ojos rojos a menudo son una señal de que el donante sangrara durante la enucleación, esto se puede reducir por elevación)
- Deberá continuarse con la irrigación con solución fisiológica y mantener los párpados cerrados.
- Pueden ponerse gasas humedecidas en solución fisiológica o bolsas de hielo sobre los párpados cerrados, cuidando que los mismos no queden entreabiertos y contacte entonces la gasa con el epitelio corneal.

1.6.3. Previo a la preparación

- revisar datos médicos del donante
- establecer el consentimiento
- completar todos los requisitos legales
- identificar adecuadamente al donante, concordando el consentimiento con el nombre del fallecido
- asegurarse que el material no haya caducado y los paquetes estériles se encuentren intactos
- desenvolver una bata quirúrgica y usar la envoltura como base estéril para el área de trabajo
- colocarse la bata, máscara quirúrgica, gorro y guantes

CAPITULO 2 : OBTENCIÓN DE TEJIDO

2.1. Inspección del cadáver

2.1.1. Inspección general

- Debe inspeccionarse todo el cuerpo tratando de detectar lesiones (venopunturas en abuso de drogas, infecciones locales, quemaduras, escaras, tatuajes, etc.) color (ictericia) etc.
- Debe tenerse la precaución de identificar el cuerpo. Debe recabarse información acerca de la causa primaria de muerte y verificar antecedentes en la historia clínica, si existe, o realizar un interrogatorio a familiares y / o profesionales cercanos al donante.

2.1.2. Inspección local

- Antes de realizar la ablación debe realizarse una evaluación microscópica de los globos oculares.
- Ha de observarse claridad de las córneas, la presencia de defectos epiteliales o cuerpos extraños, color de la esclera, la presencia de Pterigion que comprometa gran parte de la córnea, etc.

2.2. Lavado y aclarado

- Abrir los párpados cuidadosamente (primero el derecho) e irrigar vigorosamente con solución salina balanceada estéril retirando todos los restos, moco y material extraño del saco corneal y conjuntival. Repetir en el ojo izquierdo.
- La irrigación en este momento puede prevenir el daño a la córnea, durante la preparación de la piel, en caso de que haya restos extraños bajo los párpados. La irrigación reducirá también la contaminación microbiana
- Realizar un campo quirúrgico lavando la piel de los párpados, cejas, y pómulos con un antiséptico incoloro (si se utilizan sustancias yodadas recordar lavarlas para que el cadáver quede estéticamente normal). Usar torundas anchas empezando centralmente y trabajando hacia fuera, cubriendo las cejas, el puente de la nariz y las áreas temporales de los párpados.
- Ninguna de las sustancias debe entrar en contacto con los ojos ya que puede lesionar las córneas.
- Prestar especial atención a las pestañas. No repetir el trazo sobre la misma área. Repetir ojo izquierdo.

- Repetir la preparación de la piel con povidona yodada en cada ojo. Los párpados pueden encubrir contaminantes.
- Cambio de guantes.
- Colocar un campo estéril alrededor de los ojos y preparar la mesa con campo estéril para el instrumental. En caso de enucleación, colocar dos recipientes estériles con las tapas aflojadas en el borde del área de trabajo.
- Si se realiza escisión in situ de la córnea, en su lugar se pondrán dos medios de conservación, tras examinar su claridad, color y fecha de caducidad.
- El ablacionista debe estar vestido con ropa estéril (camisolín, botas, gorro barbijo). Deben prever la posibilidad de cambio de guantes según las circunstancias de la ablación. No siempre se cuenta con ayuda por lo que deben cambiarse los guantes si se los ha contaminado.
- El donante está ahora preparado para la enucleación o escisión

2.3. Procedimiento sugerido para la enucleación

Preparar dos recipientes estériles colocando una gasa de algodón de 10 x 10 en la tapa y luego usar unas pinzas mosquito para colocar 2 gasas de algodón de 5 x 5 como protector acolchado en cada container.

Colocar paño estéril sobre el donante y aislar el O.D.

Se coloca el blefarostato para mantener los párpados separados. Mientras se inserta el espéculo hay que tener cuidado de no levantar la superficie epitelial.

Usando una pinza de conjuntiva o de dientes pequeños y una tijera de conjuntiva se realiza una peritomía tan próxima del limbo como sea posible en los 360 grados alrededor de la córnea cuidadosamente ya que una gran tracción puede causar pliegues y sufrimientos de la córnea, por lo que se aconseja se realice con la menor tensión posible. Donantes con órbitas pequeñas como en los niños o muy ancianos usar blefarostato más pequeño y retirarlo antes de la extracción.

Es necesario disecar la conjuntiva y la cápsula de Tenon con tijera en los cuatro cuadrantes para facilitar el acceso a los músculos oculares.

Aislar con el gancho de estrabismo sucesivamente los cuatro músculos rectos y seccionarlos cerca de su inserción.

En caso de no cortar el recto lateral tomarlo con una pinza mosquito cerca de su inserción y utilizarlo como manija para guiar el globo, localizar oblicuo mayor y menor y separarlos como a los otros músculos si no se habían cortado ya con los músculos rectos.

Si se va a utilizar una cuchara de enucleación, insértela dentro de la órbita por el lado medial mientras se aplica una suave presión con el mango hacia arriba, y la tijera de nervio óptico debe ingresar semiabierta por el lado lateral. Corte el nervio

óptico aplicando una suave presión hacia arriba y dejando un remanente de 3 a 6 mm. unido al globo con cuchara.

Debe tenerse cuidado de no tocar la córnea con ningún instrumento y mantenerse la forma del globo ocular sin alterar la presión intraocular.

Una vez que el nervio óptico ha sido seccionado, levante cuidadosamente el globo de la órbita, cortando los tejidos residuales con la tijera de enucleación. Hay que ser cuidadoso para no cortar ninguna pestaña en este momento.

Traslade cuidadosamente el globo a un recipiente estéril de boca ancha con la córnea hacia arriba y gasas envolviendo al globo. Una vez recogidos ambos globos oculares en contenedores esterilizados, la parte estéril del procedimiento se ha terminado y se puede irrigar. Irrigue con solución salina balanceada sobre la córnea de modo que la gasa quede húmeda pero nunca el ojo sumergido en el líquido.

Coloque esta CAMARA HUMEDA para su traslado al Banco de Tejidos Oculares en una caja de tergopol con hielo (no utilizar hielo seco) y adherir el frasco con cinta a las paredes del recipiente. Rotular con nombre y número de operativo.

2.4. Reconstrucción temporaria

Debe restituirse la apariencia del cadáver.

Introduzca bolitas de algodón o gasas húmedas en la cavidad orbitaria. Retire el blefarostato de los párpados y ciérrelos. Ayúdese con hisopos, coloque el párpado superior sobre el inferior y únalos con pegamento instantáneo.

Si quedan restos de sangre o de sustancias con yodo, lave con jabón o use algodón con alcohol.

Mantenga la cabeza levantada para evitar el edema o cambios de coloración de la piel durante el procedimiento o el transporte.

Deje el área en la condición en que la encontró cuando comenzó.

2.5. Complicaciones post enucleación

El sangrado post enucleación es una complicación común. Ocurre en donantes que recibieron tratamiento anticoagulante o que tienen alta presión intravascular al momento de la muerte.

Las maniobras hemostáticas por compresión en el fondo de la órbita fuerzan a la sangre a infiltrar los tejidos vecinos, dando como resultado un cambio de coloración en la piel y edema.

Cauterización química o ligadura de vasos han sido utilizadas con éxito para detener el sangrado. Si no dispone de estos medios, deje que la sangre fluya hasta que la presión disminuya.

Informe acerca de esta situación al jefe del Banco de Tejidos Oculares o al coordinador del operativo.

2.6. Conservación previa del globo ocular. Cámara húmeda de Filatow

Después de la enucleación, los globos oculares deben lavarse abundantemente con solución salina e inmediatamente depositarse en recipientes estériles apoyando la parte posterior del globo sobre gasas estériles embebidas en solución salina, vigilando que la parte anterior (cara corneal) quede hacia arriba.

Los recipientes que contienen los globos oculares se deben trasladar lo antes posible o en su defecto se depositarán en la heladera a 4° C de temperatura, para minimizar la posibilidad de crecimiento bacteriano y los procesos de autólisis.

Con este método el tejido ocular se mantiene en buen estado durante aproximadamente 24 hs. después de la muerte, debido a que si en ese lapso no se separa la córnea del globo, la autólisis de los tejidos destruirá el material.

2.7. Cuidado del donante después de la extracción

Cuando se ha completado la extracción, se debe preparar el cuerpo del donante hasta lograr su configuración anatómica inicial, para ser devuelto a sus familiares o dejar bajo custodia del patólogo u otra autoridad competente.

CAPITULO 3 :PROCEDIMIENTOS PROPIOS DEL BANCO PROCESAMIENTO

3.1. Descontaminación del globo ocular Estudio y valoración del globo ocular

Después de la extracción, los globos oculares se introducirán en recipientes estériles y se trasladaran al Banco de Tejidos Oculares.

Una vez en el Banco se procederá a realizar:

- Después se hace un lavado cuidadoso con solución salina balanceada.
- Un examen microscópico del globo ocular observando la integridad del mismo y sus características anatómicas, con el objetivo de descartar una posible cirugía previa o lesiones que afecten el polo anterior y posterior del globo.

3.2. Evaluación del tejido corneal

Examen biomicroscópico del polo anterior con la lámpara de hendidura, donde se observara el estado del epitelio, del estroma y del endotelio corneal para detectar posibles lesiones en estas estructuras.

Se deben verificar:

- Las dimensiones de la córnea, para descartar microcórnea o megalocórnea
- La presencia o no de arco senil.
- Anormalidades de la cámara anterior (sangre o tyndall manifiesto, sinequias)
- La posible cirugía intraocular.
- Las características del epitelio (valoración de edema, erosiones o partículas)
- La ausencia de opacidades que afecten el botón corneal, vascularización, pliegues en la membrana de Descemet, alteraciones en la curvatura o espesor, y procesos degenerativos o lesiones posquirúrgicas.
- La ausencia de signos de infección.
- La ausencia de lesiones en el segmento anterior que puedan deteriorar el tejido corneal.
- Posibles opacidades de la lámina de Bowman, estroma, membrana de Descemet o endotelio.
- Valoración del posible edema estromal.

- Valoración de la existencia de pliegues en la membrana de Descemet y endotelio.
- Retroiluminación del endotelio para detectar roturas, córnea guttata.
- Valoración de la presencia de vasos en el estroma.
- Valoración microscópica del endotelio corneal, mediante microscopia especular. Así se obtendrán una serie de parámetros cualitativos que permitirá dar una valoración objetiva de la viabilidad del tejido. La microscopia especular permite determinar la densidad celular endotelial, el pleomorfismo celular, el polimegatismo y la identificación de la córnea guttata. Para una mejor observación del endotelio corneal la córnea debe estar a la temperatura de la habitación. El momento más adecuado para realizar la microscopia especular es tras la colocación de la córnea en el medio de almacenamiento, dejando el tiempo suficiente al medio para equilibrarse con la temperatura de la habitación y para la deturgencia de la córnea. Se obtendrán una serie de parámetros cualitativos
 - La densidad celular superior o igual a 2000 cel./ mm²
 - El mosaico celular debe ser monomorfo sin marcado pleomorfismo ni polimegatismo, valoración de coeficiente de hexagonalidad.
 - Ausencia de signos degenerativos: córnea guttata, depósitos endoteliales o posibles roturas de la monocapa endotelial.
 - Ausencia de lesiones traumáticas.
 - Células inflamatorias y las bacteria pueden verse fácilmente bajo el microscopio especular y su presencia significaría la exclusión de la córnea para transplante.
 - La microscopía especular no solo permite el uso de córneas de donantes mayores, también permite el uso de córneas de donantes a los que se ha realizado cirugía del segmento anterior.

3.3. Procesamiento de la córnea

Toma de muestra con hisopo para examen microbiológico del limbo. Se envía a bacteriología en medio de transporte stuart . El tejido no se distribuirá hasta no haber recibido el resultado de 48 hs.

Se realizará la escisión del anillo esclerocorneal con la mínima pérdida de células endoteliales y la reducción de la flora bacteriana adyacente al anillo escindido.

Para realizar el procesamiento, es altamente recomendada la utilización de cámara de flujo laminar, aparte de la técnica aséptica.

Se comienza tomando el globo ocular con firmeza por su parte posterior con una gasa 4 x 4, sin ejercer excesiva presión. Remover todo remanente de conjuntiva con tijeras Wescot o deslizando el filo de una hoja de bisturí del limbo hacia la periferia unos 5 mm alrededor de toda la córnea. Usando una segunda

hoja de bisturí realizar una esclerectomía a 2-3 mm. Del limbo hasta llegar al espacio supracoroideo. Se introduce una de las ramas de la tijera de Castroviejo dentro del espacio y se completa la incisión alrededor de la córnea. Tratar de evitar reintroducir la rama de la tijera, la coroides es muy delicado y puede salir vítreo. Si se produce una pérdida de vítreo, retirar la tijera para evitar continuar cortando la coroides, reinsertar la tijera y continuar la operación reduciendo la presión del globo.

Si la rama de la tijera entra y colapsa la cámara anterior, el iris contactará y producirá un daño endotelial en la córnea. Para evitar esto, mantenga la tijera a 2-3 mm. del limbo, y si se produce regístrelo en el informe del procesamiento.

Para separar el anillo esclerocorneano verificar si quedan adherencias o si la incisión es completa.

Se toma fuertemente el borde escleral libre de anillo esclerocorneano, separando en una sola maniobra con la fuerza ejercida hacia arriba con una mano y el globo hacia abajo con la otra.

No debe contactarse en ningún momento el endotelio y la exposición al aire debe ser la menor posible durante la maniobra.

Una vez separado el anillo esclerocórneo, debe inmediatamente ser sumergido en el medio de conservación.

Los frascos deben estar rotulados y mantenidos en frío a 4°C (heladera) y no serán distribuidos ni entregados hasta que los resultados de la serología sean recibidos.

Se realizará control microbiológico del medio de preservación durante la conservación del tejido.

3.4. Examen del anillo esclerocórneo

Se clasifica el tejido en : Excelente=0 ; Muy bueno 1 , Bueno=2 ; Regular=3 y Malo o no aptas para cirugía=4.

Se evalúan los siguientes parámetros:

Los valores con asterisco: inaceptables para trasplante.

1) Exposición epitelial: la opacificación del epitelio es secundaria a la desecación de las capas celulares por evaporación (Post mortem)

0= epitelio cristalino claro

1= menos del 25 % del área de la superficie corneal tiene erosiones punteadas.

2= del 25 % al 50 % de la córnea con erosiones punteadas.

3= del 50 % al 75 % de la córnea con erosiones punteadas.

4= mas del 75 % de la córnea con erosiones punteadas

2) Defecto epitelial : normalmente una sección de células epiteliales muere debido a la prolongada exposición epitelial.

0= epitelio completo , intacto

1= defecto epitelial pequeño, menor a 2 mm. de diámetro.

2= defecto epitelial de 2-4 mm. de diámetro.

3= defecto epitelial de 4-6 mm. de diámetro.

4= defecto epitelial mayor a 6 mm. de diámetro.

3) Opacidad subepitelial : opacidad por debajo del epitelio que se limita al estroma anterior.

0= sin opacidades.

1= suave niebla periférica subepitelial.

2= tenue opacidad periférica menor de 3 mm.

3= tenue opacidad periférica o paracentral 3 mm. o algún numero de opacidad mas densa.*

4= alguna opacidad en la zona central de 4 mm. *

4) Opacidad estromal : se extiende dentro del estroma.

0= sin opacidad

1= opacidad estromal tenue periférica o pequeña sin comprometer la zona central de 4mm.

2= opacidad estromal tenue, periférica o pequeña la cual incluye la zona central de 4mm.. Son insignificantes para injertos ópticos.

3= opacidad estromal tenue, periférica o pequeña la cual incluye la zona central de 5 mm., son insignificantes para injertos ópticos.*

4= cicatriz central densa y o extensa. *

5) Infiltrado estromal: un área de opacificacion en el estroma plantea la posibilidad de infección. Usualmente localizados en el ¼ inferior de la córnea bajo área de exposición epitelial y/o defecto. Estas reacciones no son indicativas de infección pero sí de respuesta estéril inmune.

0= no hay infiltrados.

1= aparece muy tenue.

2= aparece tenue y/o pequeños infiltrados.

3= infiltrado(s) moderado en tamaño y densidad.*

4= gran cantidad de infiltrados.*

6) Edema estromal: por daño o defecto endotelial.

0= espesor de córnea normal (0.5 mm aprox.)

1= menos del 10% del espesor normal.

2= entre el 10-15% mayor que el espesor normal.

3= 25.30% mayor que el espesor normal.*

4= 50% o mas que el espesor normal.*

7) Pliegues o estrías en Descemet:

0= sin pliegues visibles con lámpara de hendidura o a simple vista.

1= pliegues muy leves , se ven con lámpara de hendidura.

2= pequeños pliegues a la vista.

3= pliegues moderados.

4= numerosos pliegues.*

8) Pérdida de células endoteliales:

0= sin pérdida.

1= muy pequeña pérdida.

2= pequeña pérdida.

3= moderada pérdida.

4= ¼ o más de pérdida de células endoteliales.

9) Pleomorfismo y polimegatismo endotelial. Cantidad de variación en tamaño y brillo de células endoteliales:

0= células endoteliales hexagonales y de igual tamaño.

1= células muy ligeramente pleomórficas.

2= células ligeramente pleomórficas.

3= células moderadamente pleomórficas.

4= denso pleomorfismo ($\frac{1}{2}$ de las células o más de tamaño y brillo no normal)*

10) Guttata endotelial

0= no guttata.

1= muy pequeña cantidad de guttata.

2= pequeña cantidad de guttata.

3= moderada cantidad de guttata.*

4= densa cantidad de guttata.*

11) Conteo de la densidad de células endoteliales con microscopio especular

0= 3000 o más.

1= 2500 a 3000.

2= 1500 a 2500.

3= 1000 a 1500.

4= 500 a 1000. No apto*

12) Claridad global:

0= apariencia cristalina de todas las capas.

1= muy leve niebla epitelial o estromal.

2= leve niebla epitelial o estromal.

3= moderada niebla epitelial o estromal.

4= densa niebla epitelial o estromal.*

Se promueven valores otorgados a cada una (epitelio, estroma, endotelio),y se otorga valor numérico a cada córnea.

Este sistema es muy subjetivo dada la naturaleza cualitativa del criterio seleccionado.

La información obtenida junto con la microscopia especular permite realizar una valiosa evaluación sobre la viabilidad de la córnea.

Si las córneas han superado los criterios de la lámpara de hendidura, deberán incluirse para queratoplastia.

CAPITULO 4 : TÉCNICAS DE CONSERVACIÓN O PRESERVACIÓN CORNEAL.

Podemos clasificar los métodos de conservación corneal según la duración máxima de su capacidad de conservación en :

- Métodos a corto plazo: Cámara húmeda (córnea viable para trasplante hasta 24 hs.)
- Métodos de conservación a mediano plazo: Medios enriquecidos de conservación a 4°C como el Optisol (córneas viables tras un período de 8 -12 días)

Han sido muy diversos los métodos desarrollados a lo largo de la historia para llevar a cabo la conservación de las características morfológica y fisiológicas de la córnea del donante; en todos ellos el factor limitante para mantener una adecuada viabilidad corneal ha sido la irreversibilidad del endotelio corneal y por lo tanto conservar la integridad del mismo es fundamental.

4.1. Método de conservación a corto plazo: Cámara húmeda

Cámara húmeda, técnica que se fundamenta en la conservación del globo ocular entero en un recipiente estéril con un elevado grado de humedad y a temperatura de 4°C que puede ser alcanzada por la heladera convencional. Es una técnica fiable, sencilla y fisiológica para la conservación postmortem de la córnea. El límite máximo de conservación es de 24 hs, se describe tras este período pérdida celular no mayor al 5%. Una vez transcurrido este período de 24 hs, empiezan a aparecer pliegues en la membrana de Descemet, rasgos de células endoteliales, signos de pérdida severa de la irregularidad del mosaico endotelial. Disminución de microvellosidades endoteliales y presencia de rupturas en la membrana celular dan lugar a pérdida masiva de células, que se agrava especialmente tras las primeras 48 hs. de conservación.

4.2. Métodos de conservación a mediano plazo

Este grupo engloba los métodos de conservación de la córnea aislada en los medios líquidos de cultivo enriquecidos a bajas temperaturas (+ 4°C).

Por lo tanto, implica en todos los casos la necesidad de extraer la córnea completa con un margen escleral de 1 mm. en condiciones estériles a partir del globo ocular del donante.

- Medio Optisol: contiene condroitinsulfato y dextrano. En la actualidad es el medio comercial de conservación corneal más frecuentemente utilizado. Se ha podido establecer un límite máximo de conservación de 8-12 días para el almacenaje de córneas humanas en medio Optisol, puesto que los valores de densidad endotelial media y porcentaje de supervivencia endotelial no sobrepasan tras dicho período los límites habitualmente aceptados. Después de 12 días, aparecen pliegues de la membrana de Descemet, con aparición frecuente de figuras de roseta, constituidas por una célula central lisada rodeada de células sanas que intentan recubrir el espacio que ha quedado denudado debido al desprendimiento celular

CAPITULO 5 :REGISTRO DE DATOS , EMPAQUETADO, DISTRIBUCIÓN

Una vez procesado, analizado y conservado el tejido, se realizará el Registro de datos en libros foliados y rubricados por el INCUCAI (número de operativo, fecha de ablación, fecha de recepción, datos de donante, institución que ablaciona, médico ablacionista y datos referidos a córnea y receptor, y de este último aclarando número de inscripción en lista y si estaba en lista de urgencia)

5.1. Registros del donante

Para cada donante se dispondrá de un expediente que contenga:

- Identificación del donante (edad, sexo, causa de muerte y factores de riesgo)
- Formulario de consentimiento de la donación.
- Datos clínicos (causa de muerte, antecedentes y estado del paciente 48 hs. previas a la donación)
- Resultados de las pruebas de laboratorio y otras pruebas realizadas si las hubiera.
- En caso de haberse realizado autopsia, los resultados se incluirán en el expediente.
- Fecha / hora de fallecimiento / de la perfusión.
- fecha / hora de extracción y centro sanitario o sitio en el que se lleva a cabo
- Condiciones de conservación del cadáver, refrigerado o no, hora de comienzo de refrigeración, y hora de traslado al lugar de extracción.
- Lugar de extracción, equipo que la realiza y persona encargada.
- grado de asepsia
- Información sobre las soluciones de conservación, incluida composición, el lote, la fecha de expiración, la temperatura, la cantidad, la concentración y método de preparación
- Informes macroscópicos y microscópicos y valores obtenidos bajo microscopia especular (viabilidad de la córnea)
- Injertos obtenidos y características pertinentes
- destino del tejido
- Método de conservación hasta la llegada del tejido al centro donde se implantará

5.2. Confidencialidad

Se registrará fecha de implante, datos del receptor y posibles reacciones adversas en el receptor. Estos datos deben ser notificados al banco por los centros de implante

El contenido del registro será confidencial, seguro, completo legible e indeleble y sus datos deberán mantenerse para garantizar la trazabilidad.

5.3. Empaquetado y distribución

Cada unidad de tejido deberá ir acompañado de una etiqueta o registro con la siguiente información:

- número o código de identificación del tejido
- características del tejido
- identificación del banco de tejido
- número de lote

Se adjuntará documentación con:

- datos morfológicos y funcionales
- fecha de distribución del tejido
- determinaciones serológicas realizadas al donante y sus resultados
- recomendaciones para el almacenamiento
- instrucciones para la apertura del contenedor, el envase y cualquier otra manipulación necesaria
- fecha de expiración tras la apertura o la manipulación
- instrucciones para la comunicación de reacciones adversas graves

5.4. Contenedor

La etiqueta de cada contenedor deberá tener al menos la siguiente información:

- Es tejido humano

- Identificación y dirección del Banco de tejido de origen
- Identificación y dirección del centro sanitario de destino
- Código de identificación del tejido
- Declaración de que el envase contiene tejidos humanos y nombre genérico del tejido
- Condiciones de transporte recomendadas (manténgase en posición vertical, manténgase en frío)

5.5 Distribución

Antes de la distribución se realizará la revisión completa del donante y revisión completa del tejido y su viabilidad.

Con esta validación se realizará el empaquetado y rotulado para poder proceder a su distribución.

Los datos procedentes de la revisión se incluirán en la ficha de viabilidad del tejido que el Banco remitirá al centro transplantador.

5.6. Transporte

El tejido será transportado directamente del Banco al quirófano en contenedores adecuados que además de protección garanticen las condiciones de temperaturas adecuadas.

CAPITULO 6: TRANSPLANTE DE TEJIDO OCULAR

6.1. Consentimiento informado:

El responsable del implante solicitará y obtendrá el consentimiento informado del receptor, que quedará archivado en su historia clínica y del cual se facilitará copia al Banco de Tejido.

6.2. Solicitud del tejido al Banco:

El responsable del centro transplantador deberá solicitar el tejido al Banco, especificando datos del receptor del tejido, el diagnóstico y fecha prevista para la intervención

6.3.Reinformación al Banco:

El responsable del transplante deberá informar al Banco sobre condiciones de recepción y calidad del tejido recibido, así como las incidencias y posibles reacciones adversas presentadas después del implante. El banco mantendrá un registro con los datos del donante y del tejido, y con los datos del receptor, con el objeto de mantener la trazabilidad. El jefe de equipo de implante debe remitir al Banco el certificado de implante y el anillo esclero-corneal sobrante. A este último se le realizará control microbiológico.

6.4.Control microbiológico del tejido preservado para implante

A pesar que la incidencia de infecciones clínicamente significativas post-implante no son de gran magnitud en estudios prospectivos, la contaminación de los tejidos preservados se asocia a complicaciones infecciosas que pueden ser devastadoras. Por lo tanto la buena calidad microbiológica de estos tejidos disminuye el riesgo de infecciones en el receptor.

La contaminación puede ocurrir en cada una de las etapas del proceso: procuración, procesamiento para la preservación, preservación propiamente tal o durante el implante en el receptor.

Los tejidos para implante son productos biológicos que no resisten procedimientos convencionales de esterilización, pues pierden su funcionalidad o son tóxicos, por lo que la ausencia de contaminación depende del control en cada una de las etapas.

El tejido ocular normalmente contiene bacterias de la flora comensal conjuntival y eventualmente otros patógenos, dependiendo de la causa de muerte del dador y del tiempo transcurrido entre la muerte y la enucleación.

Según distintas comunicaciones la incidencia de endoftalmitis post-implante oscila entre el 0,04-2%. Se considera que al menos el 50% de estas infecciones, la fuente sería la cornea dadora.

Si bien el cultivo rutinario del tejido es controversial, ya que demuestra un grado de contaminación que va del 5-30% (*Staphylococcus coagulans* neg., *Streptococcus viridans* y hongos).

Sin embargo, estos resultados no niegan la asociación de contaminación corneal y endoftalmitis post implante.

Cuando se analizó un número importante de endoftalmitis post injerto corneal, se encontró que el 56% se debía al microorganismo que creció en el anillo.

El riesgo de desarrollar endoftalmitis post implante de corneas con cultivo positivo sube de 5,7 a 21 veces para algunos autores.

El indicador de calidad recomendado para los bancos es la Tasa de Endoftalmitis presentada hasta los 90 días post implante.

El objeto del banco es proporcionar corneas de alta calidad no necesariamente estériles, pero suficientemente libre de patógenos que puedan provocar infección clínica.

Los procedimientos recomendados para control microbiológico de corneas para implante son:

- Cultivo del anillo corneo-escleral: después del corte del botón donado se siembra directamente en el quirófano en caldo tioglicolato. Se envía al laboratorio donde se incubará durante cinco días. O sino se envía el frasco con preservante y tejido al laboratorio para su procesamiento.

- Solución preservante: se siembra directamente 2 ml en caldo tioglicolato. Se envía al laboratorio donde se incubará cinco días.

- Ambas muestras deben ser subcultivadas al quinto día en Agar sangre y Saboraud.

- Cualquier cultivo positivo se identificará de acuerdo a los métodos microbiológicos convencionales, se hará estudio de sensibilidad y se guardará la(s) cepa(s) para estudio epidemiológico posterior.

- El laboratorio debe avisar al clínico y al banco en forma inmediata.

6.5 Seguimiento del transplante de tejido ocular

El botón corneal transplantado deberá ser analizado mediante biomicroscopía y microscopio especular a los 15, 30, 90, 180 y 360 días del transplante. Se deberá informar al Banco sobre la evolución del receptor a las 3 semanas del transplante.



CUCAIBA
0800 222 0101
www.cucaiba.gba.gov.ar

