

Convalida microbiologica del tessuto corneale mediante **Media Fill Test**

Anna Limongelli

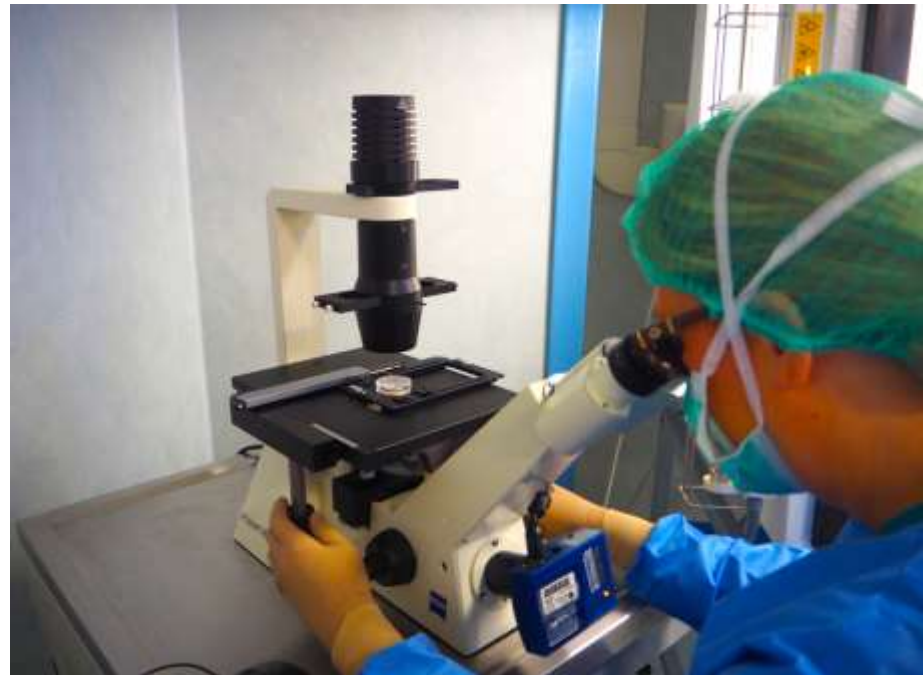
Banca degli Occhi Regionale

Fondazione IRCCS San Gerardo dei Tintori Monza % ASST GOM Niguarda Milano



Obiettivo

- Verificare l'asepsi del processo di lavorazione del tessuto corneale
- Multiple manipolazioni del tessuto
- Tutto avviene in ambiente controllato, secondo Procedure Operative Standard (SOP) consolidate



Obiettivo

- Le SOP descrivono il processo, non le sue criticità
- Cosa dicono le linee guida CNT: le procedure devono essere convalidate*
- Un test di convalida: Media Fill Test



* (...) la convalida può basarsi su studi eseguiti dalla Banca stessa



Cos'è il Media Fill Test

- Usato nell'industria farmaceutica per validare i processi aseptici
- Principio: simulare il processo condotto in asepsi sostituendo il prodotto reale con terreni di coltura ad ampio spettro*
- Non testa il prodotto bensì il processo



* Se durante la simulazione viene introdotta una contaminazione, il terreno permette la crescita microbica rendendola visibile dopo incubazione



Criteri di conformità

- Deve essere ripetuto tre volte in momenti diversi
- Deve essere svolto nelle stesse condizioni ambientali e operative della routine
- Il MFT è valido se al termine non c'è stata crescita microbica
- In caso di crescita microbica, il test è fallito e deve essere ripetuto

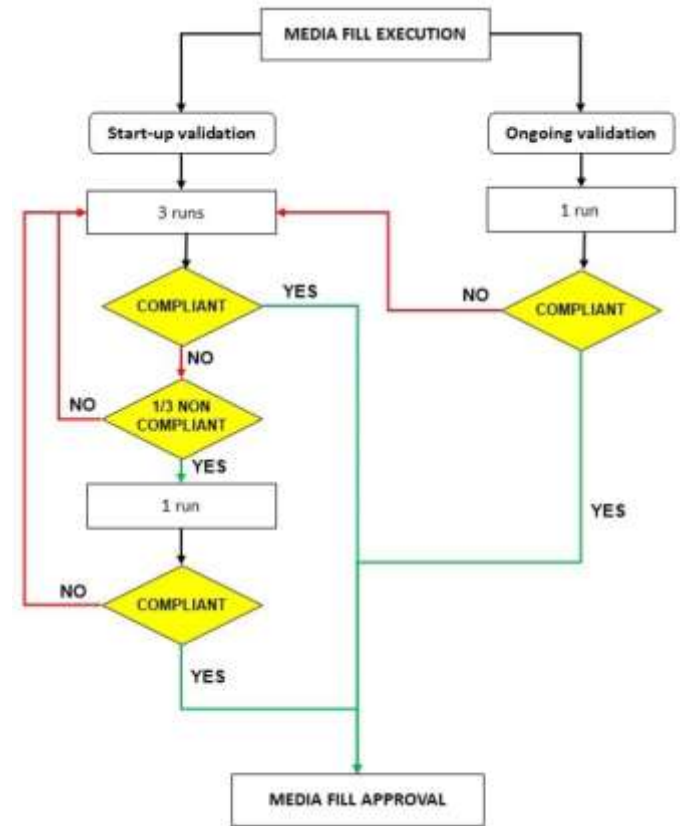


Immagine: Ferrero, et al. *Translational Medicine Communications*. 2023;8:16.



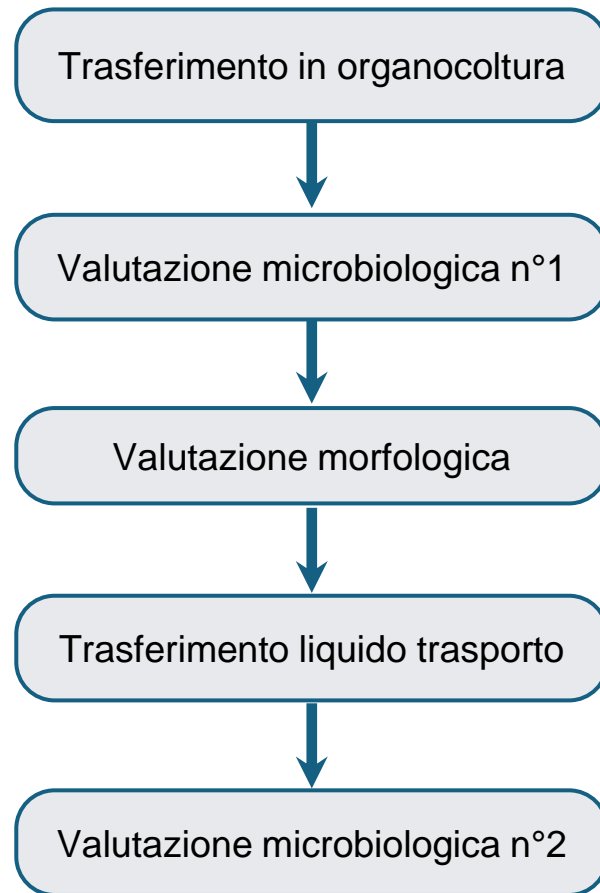
Fasi del lavoro

- Adattare un test farmaceutico nel contesto di *eye banking*
- Analizzare il nostro *workflow* evidenziando le criticità



Workflow reale

- Cinque fasi critiche
- Prevedono manipolazioni sotto flusso laminare in ambiente classificato A / ISO5



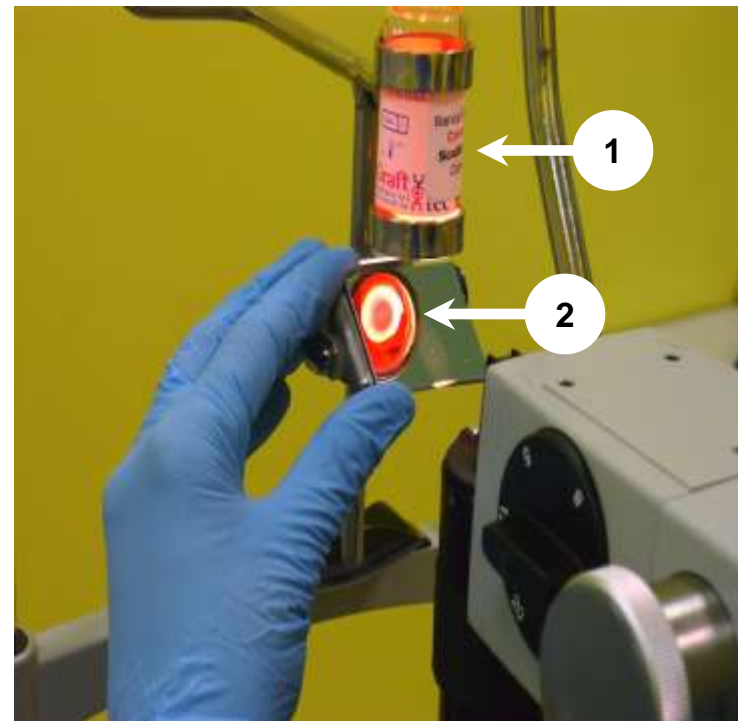
Come abbiamo costruito la simulazione

DUE SOSTITUZIONI FONDAMENTALI

1. Terreni di conservazione* → Tryptic Soy Broth
2. Cornee** → lenti a contatto sterili commerciali

*con antibiotici

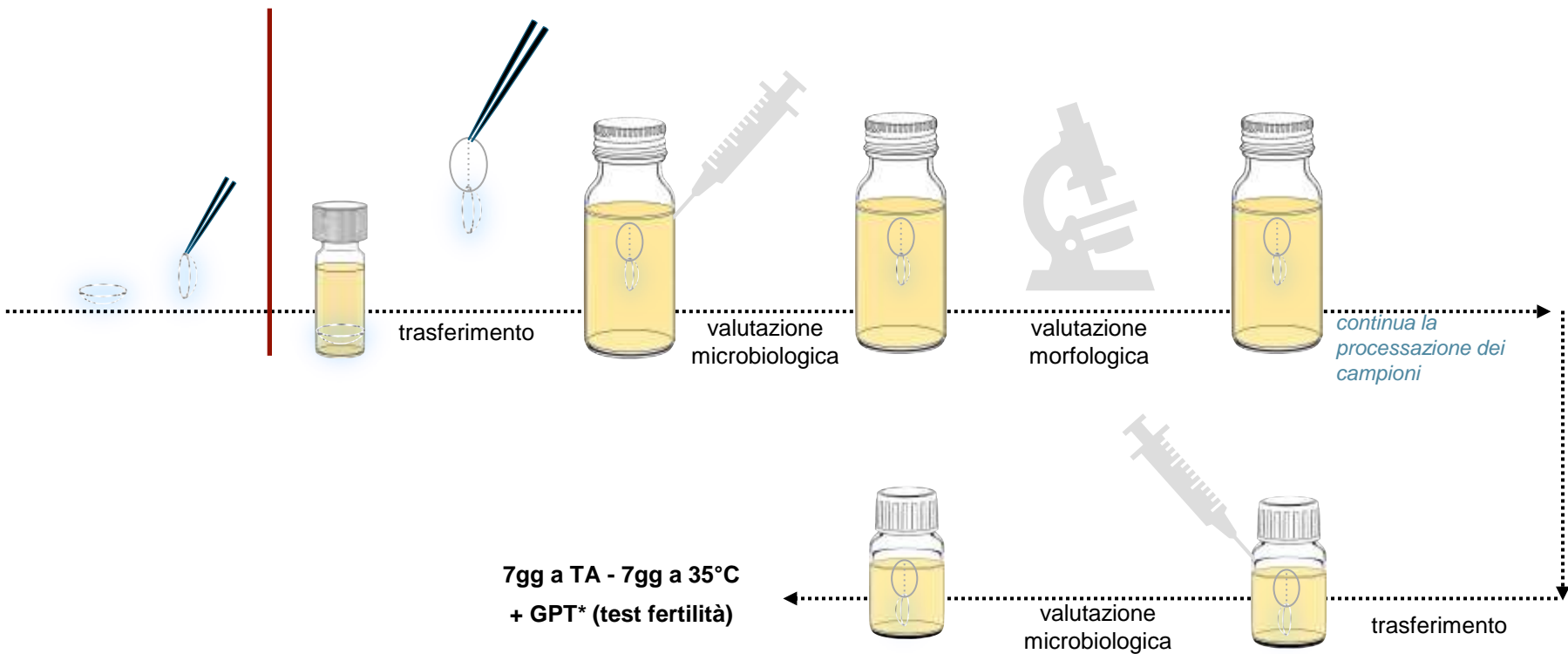
**eliminazione della variabile biologica



Sostituzioni



Esecuzione del test (12 campioni)



* terreno idoneo alla crescita?



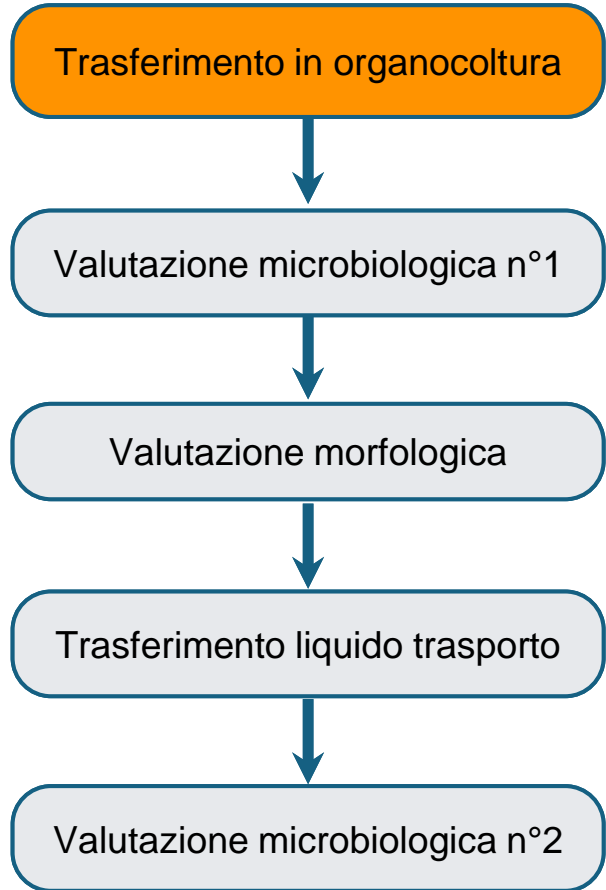
Risultati

	MFT1 Febbraio
N° unità contaminate	1
Attività critica	Trasferimento in organocoltura
Contaminante	Bacillus pumilus / altitudinis
Test finale sterilità terreno	-
Test finale fertilità terreno	-



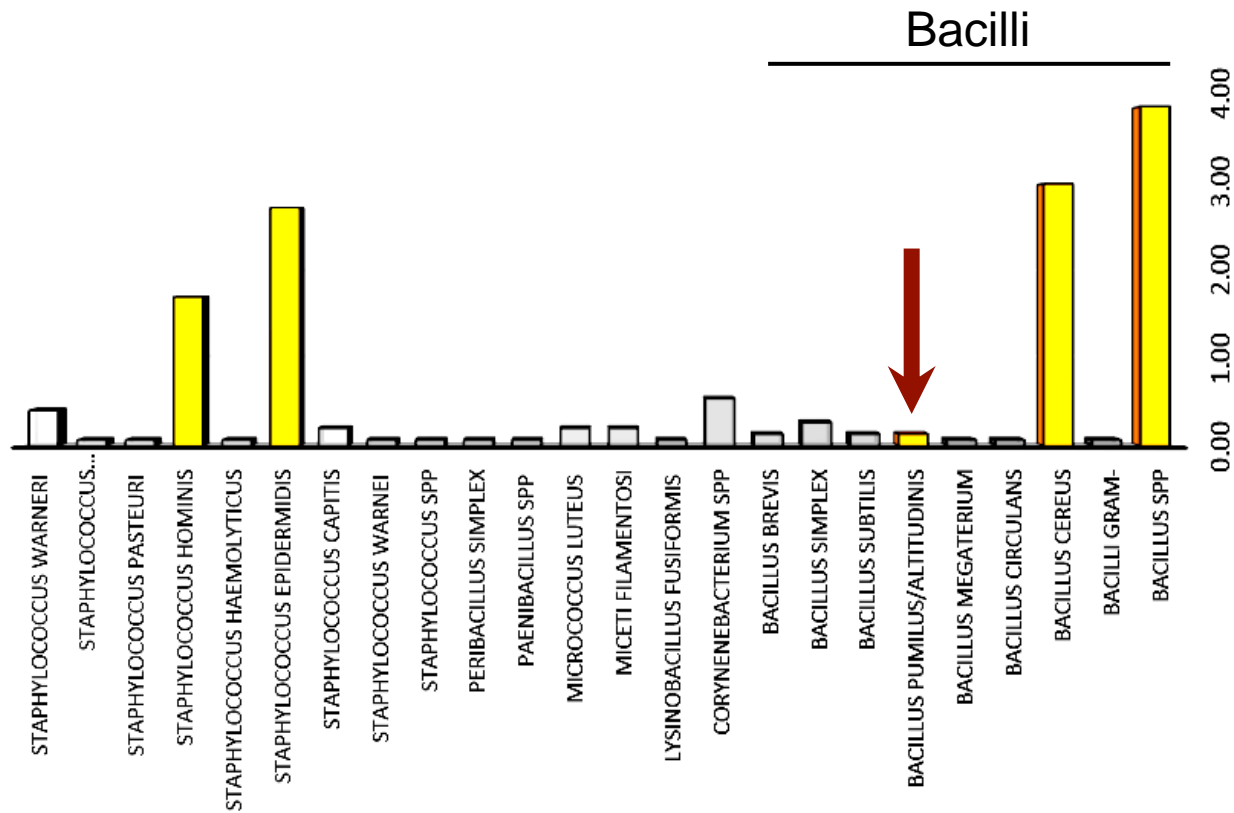
Risultati

- 1 contaminazione nel passaggio da terreno a freddo → a caldo
- corrisponde alla fase con maggior manipolazione
- conferma sperimentale di un punto di criticità prima solo intuito



Trasferimento in organocoltura ultimi 5 anni

valori % di contaminanti registrati nell'attività di trasferimento in coltura d'organo (2021- giugno 2025)



Revisione del processo

Azioni correttive/preventive (CAPA)*:

1. Pulizia dei flaconi
2. Pulizia delle superfici di lavoro
3. Sanificazione dei guanti



* Corrective Action/Preventive Action



Risultati

	MFT1 Febbraio	MFT2 Marzo	MFT3 Aprile	MFT4 Maggio
N° unità contaminate	1	0	0	0
Attività critica	Trasferimento in organocoltura	-	-	-
Contaminante	Bacillus pumilus / altitudinis	-	-	-
Test finale sterilità terreno	-	Negativo	Negativo	Negativo
Test finale fertilità terreno	-	Positivo	Positivo	Positivo



Quali sono le applicazioni?

1. Applicabilità all'*Eye banking*
2. Validazione anche di singole fasi
3. Qualificazione degli operatori
4. Mantenimento delle competenze



Quali sono i limiti?

1. Costi di acquisto dei terreni di simulazione
2. Impiego di risorse umane
3. Logistica/pianificazione delle prove



Conclusioni

1. Approccio innovativo per le banche degli occhi
2. Consolida il percorso di certificazione del tessuto*
3. In linea con le indicazioni europee EDQM in vigore dal 2027 (più stringenti)



* maggiore sicurezza e qualità del tessuto distribuito



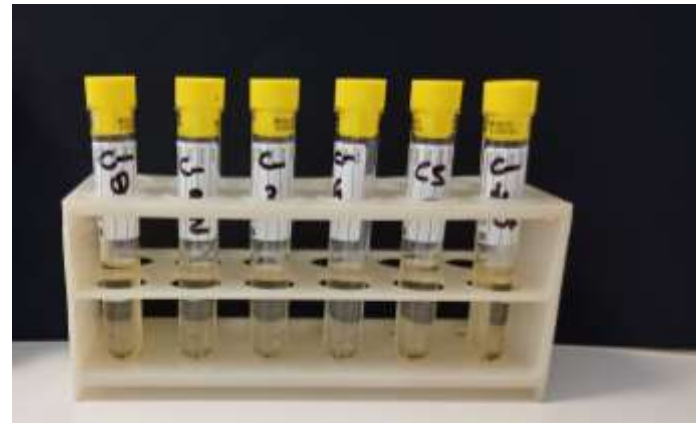
Grazie!



Controllo finale dei terreni

Grow promotion test*

- **fertilità** = consentiva la crescita microbologica?
- **sterilità** = non conteneva contaminazioni?



* Ceppi ATCC (American Type Culture Collection): *Staphylococcus aureus*,
Pseudomonas aeruginosa, *Bacillus subtilis*, *Candida albicans*, *Aspergillus brasiliensis*



Incubazione e lettura

Torbidità = evidenza di contaminazione

- Assenza di crescita → processo conforme
- Presenza di crescita → vulnerabilità di processo

