

A Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum Szemészeti Klinikája (igazgató: Berta András egyetemi tanár)<sup>1</sup> és a Cornea Bank (orvos igazgató: Boytha Zsuzsanna), Budapest<sup>2</sup> közleménye

## A corneakonzerválás módszertani kérdései

MÓDIS LÁSZLÓ,<sup>1</sup> BOYTHA ZSUSZANNA,<sup>2</sup> BERTA ANDRÁS<sup>1</sup>

**Összefoglalás:** A szaruhártya-átültetésekre jelentkező minőségi igény növekedésével, a donorszűrés szükségességével és a műtétek tervezhetőbbé tételével megalakultak az első szembankok és beültetésre kerültek az első konzervált szaruhártyák. Az első corneabankot 1944-ben az Egyesült Államokban alapították, 1961-ben megalakult az amerikai (Eye Bank Association of America, EBAA), majd a hetvenes években az Európai Szembankok Szövetsége (European Eye Bank Association, EEBA). Utóbbi társaság tagja a budapesti és debreceni szembank is. A hazánkban is kötelezően bevezetett donorszűrés, az egészségügyi törvény transzplantációkra vonatkozó rendelkezései, valamint a hazai keratoplasticát végző központok jobb és több corneával való ellátása miatt feltétlenül szükségesnek láttuk közös szempontok, irányelvek és módszerek kidolgozását a két Magyarországon működő szembank között. Alábbiakban kívánjuk közreadni hosszas egyeztető megbeszélések után kialakított módszertani levelünket szaruhártya átültetéseket végző intézmények számára.

**Kulcsszavak:** Európai Szembankok Szövetsége, szembank, cornea konzerválás, minőségellenőrzés

### METHODOLOGY OF CORNEAL PRESERVATION

**Summary:** The strict quality control in corneal transplantation, the need for donor screening, and surgery planning raised the need for eye banks, and the first preserved corneas were implanted. The first cornea bank was established in the United States in 1944, then in 1961 the Eye Bank Association of America (EBAA) and at the end of the 70ies the European Eye Bank Association were founded. Regarding the acts of the new medical law concerning transplantation, the compulsory donor screening in Hungary, and for a better supply of corneas for transplantation centers, it is highly relevant to develop a common methodology and strategy for the two Hungarian cornea banks. We present our policy and our suggestions for transplanting hospitals and clinics.

**Key words:** European Eye Bank Association, eye bank, corneal preservation, quality control

#### I. Donorszelekció

A donorszelekciónál a következő három szempontot vesszük figyelembe: a donor betegségei, a donor életkora, a halál beállta és a bulbus/cornea eltávolítása között eltelt idő.

##### A donor betegségei

A szaruhártya eltávolítása előtt a donorszövetet fokális oldalvilágítással ellenőrizzük, megtekintve a cornea makroszkóposan is megítélhető alkotórészeit, a hámborítást, a stromát és a Descemet-membránt.

A donációból való kizárás szemészeti és általános orvosi szempontjait a következők.

– **Szemészeti kizáró okok:** A cornea korábbi betegségei, hegesedései, abnormális cornealis endothelium, korábban végzett intraocularis szemészeti műtétek, az elülső szegmentum malignus tumorai és a retinoblastoma.

– **Általános orvosi kizáró okok:** Ismeretlen halálok, HIV szeropozitivitás, AIDS, HTLV szeropozitivitás, CMV szeropozitivitás, hepatitis B és C, ismeretlen eredetű sárgaság, septikaemia, leukaemia, lymphoma, Jakob-Creutzfeldt-betegség, progresszív multifokális leukoencephalopathia, Reye-szindróma, encephalitis, meningitis, sclerosis multiplex, Parkinson-kór, amyotrophiás lateralis sclerosis, rabies, rubeola.

lex, Parkinson-kór, amyotrophiás lateralis sclerosis, rabies, rubeola.

##### A donor életkora

A szaruhártyadonor kiválasztásakor kifejezett életkorhatárhoz kötött korlátozások nincsenek, a cornea vizsgálata dönti el a felhasználhatóságot. A cornearádiusz és a görbületi sugár életkorral való változása miatt nagyon fiatal donorból származó szaruhártya felhasználása nem javasolt. Általában háromévesnél fiatalabb donorok szaruhártyáját nem használjuk átültetésre.

##### A halál beállta és a bulbus, cornea eltávolítása között eltelt idő

A halál beállta és a szemből eltávolítása közötti idő lehetőleg kevesebb legyen mint 12 óra, de a 24 órát nem haladhatja meg. In situ corneosclerális excisio esetében ez az idő maximum 6 óra lehet.

Tekintettel a jelenleg Magyarországon érvényes jogszabályokra, a betegről vagy hozzátartozótól írásbeli beleegyezés nem szükséges. Az egészségügyi törvény (1998. 208. § 2. bekezdés) erről így rendelkezik: „A kezelőorvos a szerv, illetve szövet átültetésére rendelkezésre álló időn belül köteles meggyőződni arról, hogy a beteg életében tett-e tilta-

kozó nyilatkozatot. Ilyen nyilatkozat hiányában a kezelőorvos köteles a 16. § 1. és 2. bekezdése szerinti személy nyilatkozatát beszerezni az elhunytak a szerv, szövet eltávolítására vonatkozó feltehető szándékáról. Szaruhártya-átültetés céljából történő szerv-, illetve szöveteltávolítás esetén nincs szükség a hozzátartozó nyilatkozatának beszerzésére.” A boncteremi orvostól azonban feltétlenül meg kell tudni, hogy a donorszövet eltávolításának van-e bármilyen irányú akadálya.

## II. A szaruhártya eltávolítása

A donor szaruhártyákat kétféleképpen távolíthatjuk el. Az első, a hagyományosnak mondható, az egész szemgolyó eltávolítását (enucleatio), a másik csak a cornea eltávolítását jelenti 3–4 mm-es scleralis gyűrűvel (in situ corneoscleralis excisio). Mindkét módszernél a sterilitás szabályai szerint járunk el. Multiorganikus donáció esetén – a vérzés veszélye miatt – kizárólag(!) az in situ corneoscleralis excisio módszere választható, a keringés fenntartásának befejezése után.

**Enucleatio:** A szemhéjak feltárása után a szemrésbe povidonjodid (PVP) oldatot és antibiotikumcseppet csepeztünk, majd elvégezzük az enucleatio ismert lépéseit. A laterális egyenes izom megmaradt csontjába varratot teszünk, amelynek segítségével a szemgolyót steril nedves kamrába helyezzük. A nedves kamra alja antibiotikummal (általában gentamycin) átitatott gézlapot tartalmaz.

**In situ corneoscleralis excisio:** A kötőhártya preparálásig a lépések az előző módszerével megegyeznek, majd a klinikai limbustól kb. 4 mm-re szikével körkörös sebést ejtünk és a szike hegyével az elülső csarnokba hatolunk. A körkörös sebet corneaollóval kompletáljuk, ügyelve arra, hogy az uveát ne sértsük meg. Az így eltávolított corneoscleralis szövetet az általunk használt konzerváló médiumba helyezzük. Ha az uvea sérül, sejtjei a corneához tapadhatnak. A dús vérellátással bíró szövet növelheti a tartósított cornea antigenitását és ezáltal az átültetés utáni kilökődés veszélyét.

## III. Vérmintavétel

Szerológiai vizsgálatokhoz a vérmintát – ha boncolás során nem áll rendelkezésre – a vena subclaviából nyerjük.

## IV. A szemrés ellátása

**Enucleatio esetén:** A szemrésbe műanyag protézist helyezünk, amely lehetőség szerint a donor szemszínével egyező legyen. A szemhéjakat az anatómiai viszonyoknak megfelelően egy vagy több varrattal zárjuk.

**In situ corneoscleralis excisio esetén:** A szem eredeti színét megőrizzük, és az eltávolított corneoscleralis gyűrű helyére nagyméretű, alakjában, formájában corneát imitáló, a szemhéjak zárását is biztosító érdes felszínű, áttetsző műanyag protézist helyezünk. A szemhéjak levarrása ebben az esetben nem kötelező, de az anatómiai viszonyoknak megfelelően egy vagy több varrattal zárhatjuk.

## V. A szembankba érkező szaruhártya vizsgálata konzerválás előtt

– **Réslámpás vizsgálat:** A szembankba érkező szaruhártyát először réslámpával vizsgáljuk meg. Segítségével tájékozódunk a cornea anatómiai rétegeiről, illetve elváltozásairól.

– **Spekulár mikroszkópia:** Megvizsgáljuk az endothelsejteket morfológiáját és sejtsűrűségét. Az endothelsejtszám meghatározása numerikusan vagy összehasonlító referenciaképek alapján történhet.

## VI. A szaruhártya preparálása

Ha a cornea eltávolítása enucleatióval történt, a következőképpen készítjük elő további vizsgálatokra. A bulbus egyperces csapvizes lemosás után 2 percig 0,5%-os PVP-oldatban áztatjuk, amelyet steril NaCl-oldattal öblítünk le. A cornea preparálását steril boxban végezzük. A bulbusról a szaruhártyát az in situ corneoscleralis excisio lépéseinek megfelelően választjuk le. Ezután a preparált corneákat endotheliummal felfelé steril Petri-csészébe helyezzük és részletesebben megvizsgáljuk az endothelsejtek morfológiáját és sejtszámát. Egyperces 0,4%-os tripánkék-festés után 4 perces steril NaCl-os öblítés következik, és a corneát natív preparátumok vizsgálatára alkalmas inverz fáziskontraszt mikroszkóppal vizsgáljuk. A tripánkék vitális festék, amely az élő sejteket nem, csak az elhalt sejteket festi meg. Az a cornea kerülhet konzerválásra, amelynél látóterenként az elhalt sejtek aránya 1–2%-nál nem több és az endothelium sejtszáma 2000/mm<sup>2</sup> felett van.

## VII. Tárolási módszerek

A szaruhártyák konzerválására jelenleg rutinszerűen rövid (néhány napos), középtávú (7–10 napos) és közép-hosszú távú (21–35 napos) módszerek használatosak. (A hosszú távú – évekre kiterjedő – cryoprezerváció még nem terjedt el.) Rövid távú konzerválás esetén a corneát nedves kamrában tároljuk, a korábban ismertett módon, a tárolási idő +4 °C-on maximum 24 óra.

Középtávú tárolás esetén a kereskedelmi forgalomban lévő oldatokat használjuk. A corneákat +4 °C-on tárolva 7–8 napon belül felhasználjuk. A szaruhártya az endotheliumrétegével felfelé kerül az oldatba. A közép-hosszú távú konzerválás esetén különböző összetételű sejtenyészítő médiumok használhatóak. A scleragyűrűbe öltött 6/0-s varrat segítségével a corneát olyan módon lógatjuk bele a tartósító folyadékba, hogy az egyenletesen vegye körül. Így a +37 °C-on, CO<sub>2</sub>-termosztátban tárolt cornea 3–5 hétig használható fel.

## VIII. Szerológiai vizsgálatok

A jelenlegi egészségügyi törvény szerint transzplantáció előtt a HIV (HIV-1/HIV-2) és hepatitis B (HbsAg) szűrés elvégzése kötelező.

## IX. Mikrobiológiai tesztelés

A konzerválás időtartama alatt a következő protokoll szerint végzünk mikrobiológiai vizsgálatokat a mosófolyadékból infekciók szűrése és megelőzése céljából. Rövid és középtávú konzerválás esetén a tenyésztés elvégzése nem kötelező, tekintettel az alacsony tárolási hőmérsékletre. Középtávú konzerválás esetén azonban ajánlott a cornea felhasználása előtti napon a mintavételt elvégezni. Középtávú konzerválás esetén azonban ajánlott a cornea felhasználása előtti napon kell mikrobiológiai vizsgálatokat végezni.

Ajánlott, de nem kötelező a szaruhártya kimetszése és felhasználása után a corneoscleralis gyűrű felszínéről mintát venni.

## X. Szaruhártya küldése szembankból

Rövid és középtávú konzerválás után a donorszövetet az eredeti nedves kamrában, illetve a tároló folyadékban küldjük felhasználásra. Közép-hosszú távú konzerválás esetén a cornealis oedemát egy nappal a felhasználás előtt 5% dextrán hozzáadásával csökkentjük és a szövetet új tárolóedénybe helyezzük. A szaruhártyát megfelelő kísérlappal küldjük a felhasználó intézményekbe, amely a következőket tartalmazza: a donor neve, születési időpontja, a halálozás oka, időpontja (év, hó, nap, óra, perc), esetleges kísérő betegségek, az enucleatio/donorszövet eltávolítás időpontja (év, hó, nap, óra, perc), az enucleatiót/donorszövet eltávolítást végző orvos neve. Továbbá tartalmazza a konzerváló médium nevét, amennyiben van, az oldat Lot számát, a konzerválás időpontját (év, hó, nap, óra, perc), a cornea bio- és inverz mikroszkópos státuszát, az endotheli-

umsejt-számot, a szerológiai és a mikrobiológiai tesztek eredményeit, a vizsgáló orvos nevét.

## XI. Felhasználói jelentés a szembank felé

A szaruhártyát felhasználó intézet/operator köteles a szembank részére visszajelzést küldeni. Transzplantáció esetén meg kell adni a recipiens nevét, életkorát és az átültetést indokló diagnózist. (A debreceni Szembank kísérlapja tartalmazza ezen adatokat, amit levélben vagy faxon lehet visszaküldeni.) A fel nem használt corneákat szövettani vizsgálatnak kell alávetni, amelyet a debreceni Szembank is elvégez.

## Irodalom

1. Andersen J., Ehlers N.: Corneal transplantation using 4-week banked donor material. Long-term results. *Acta Ophthalmol Copenh* 65, 293–299 (1987).
2. Archer D.B., Trevor-Roper P.D.: Organization and administration of Westminster-Moorfields Eye-Bank. *Br-J-Ophthalmol* 51, 1–12 (1967).
3. Armitage W.J., Moss S.J., Easty D.L., Bradley B.A.: Supply of corneal tissue in the United Kingdom. *Br J Ophthalmol* 74, 685–687 (1990).
4. Directory of European Eye Banks (Seventh edition) (1999).
5. Feigenbaum S., Pepose J.S.: Screening corneal donors for transmissible disease. Safety, resources, and reason (editorial). *Arch Ophthalmol* 109, 941–943 (1991).
6. Kaufman H.E.: Corneal preservation (editorial). *Arch Ophthalmol* 104, 1285–1286 (1986).
7. Módis L., Szalka A., Berta A., Takács L., Balázs K., Nagy A.: A Debreceni Szembank. *Szemészet* 132, 141–143 (1995).

A szerző levelezési címe: Dr. Módis László

Debreceni Egyetem Orvos- és Egészségtudományi Centrum, Szemészeti Klinika

4012 Debrecen, Nagyerdei krt. 98.

Tel.: (52)430-322, fax: (52)415-816,

E-mail: lmodis@dragon.klte.hu