



MODALITA' DI SCONGELAMENTO del TESSUTO

Materiale occorrente:

400/500 ml di soluzione di lavaggio sterile (es. RPMI 1640, soluzione fisiologica, per trasporto organi, isotonica)
3 arcelle sterili
1 paio forbici sterili
2 paia pinze lunghe sterili
1 bagnetto termostato (range di temperatura 37°C - 42°C)
iodopovidone o analogo disinfettante cutaneo in uso

Procedura:

Dove presente: rimuovere l'involucro di protezione più esterno (trasparente).

Fase 1)

Immergere il tessuto, racchiuso in doppia sacca nel bagnetto termostato a 37°C per 2-3 minuti, quindi eliminare la prima delle due buste ed immergere nuovamente il tessuto nel bagnetto.

N.B. La sacca più interna NON è STERILE esternamente.

Il tessuto va lasciato immerso finchè i cristalli di ghiaccio non si siano sciolti: ciò si può verificare palpando gentilmente il contenuto della busta, facendo attenzione a non ledere il tessuto con la digitopressione.

N.B. Assicurarsi che il tessuto non presenti più parti congelate, in ogni caso la durata totale di questa fase NON DEVE SUPERARE I 15 /20 MINUTI.

A questo punto il tessuto scongelato deve essere rimosso dalla sacca e **immediatamente lavato dal DMSO** (liquido di congelamento) procedendo come sottoriportato.

Fase 2)

Rimuovere il sacchetto dal bagnetto termostato ed immergerlo completamente, per circa 2 minuti, in una arcella contenente la soluzione disinfettante.

Terminata la fase di disinfezione della sacca, aprirla servendosi di un paio di forbici; con un paio di pinze sterili e facendo attenzione a non toccare i bordi della sacca, estrarre il **solo tessuto** e riporlo in un'altra arcella sterile.

Prelevare quindi un piccolo campione di tessuto e del liquido di congelamento per le indagini microbiologiche previste per i controlli di routine.

Fase 3)

Nell'arcella contenente il tessuto versare la soluzione di lavaggio in quantità sufficiente a coprirlo totalmente (circa 150-200 ml).

Lavare ripetutamente il tessuto per circa 10 minuti muovendolo delicatamente all'interno dell'arcella.

Fase 4)

Trasferire il tessuto dopo il primo lavaggio in altra arcella sterile; aggiungere altra abbondante soluzione di lavaggio (150-200 ml) e ripetere il lavaggio per altri 10 minuti.

A questo punto il tessuto è pronto per l'impianto.

Fase 5)

E' consigliabile, se possibile, prelevare un piccolo campione di tessuto e di soluzione da inviare al laboratorio di microbiologia anche al termine di tutti i lavaggi effettuati.

Se si prevede di utilizzare il tessuto **dopo più di un'ora dal suo scongelamento e lavaggio**, bisogna porlo in opportuna soluzione di mantenimento (es. RPMI 1640, soluzione fisiologica, per trasporto organi, isotonica ...) ad una temperatura di + 4°C, per un periodo di tempo **non superiore** ai 3 giorni.