

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 949 547**

51 Int. Cl.:

B01L 3/00 (2006.01)
G01N 1/18 (2006.01)
G01N 1/28 (2006.01)
G01N 1/36 (2006.01)
G01N 1/06 (2006.01)
G01N 1/31 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **28.08.2013** **E 21179025 (8)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **07.06.2023** **EP 3895804**

54 Título: **Estructura de soporte de gel que se puede cortar con micrótopo**

30 Prioridad:

12.09.2012 US 201261700062 P

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la
traducción de la patente:
29.09.2023

73 Titular/es:

BIOPATH AUTOMATION, L.L.C. (50.0%)
121 Converse Road
Marion, MA 02738, US y
SAKURA FINETEK U.S.A., INC. (50.0%)

72 Inventor/es:

WILLIAMSON, WARREN, P;
DAPSON, RICHARD, W y
SHAH, AMIT, D

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 949 547 T3

Aviso: En el plazo de nueve meses a contar desde la fecha de publicación en el Boletín Europeo de Patentes, de la mención de concesión de la patente europea, cualquier persona podrá oponerse ante la Oficina Europea de Patentes a la patente concedida. La oposición deberá formularse por escrito y estar motivada; sólo se considerará como formulada una vez que se haya realizado el pago de la tasa de oposición (art. 99.1 del Convenio sobre Concesión de Patentes Europeas).

DESCRIPCIÓN

Estructura de soporte de gel que se puede cortar con micrótopo

5 **Campo técnico**

La presente invención se refiere en general a la histopatología y, más específicamente, a dispositivos y métodos relacionados con el procesamiento, la inclusión y el corte con micrótopo de muestras de tejido biológico con fines de examen científico o médico.

10

Antecedentes

La histopatología es la ciencia de la preparación de muestras de tejido para el examen microscópico por parte de un histopatólogo. El fin último es diagnosticar la afección médica de un paciente del que se tomó la muestra de tejido. Una o más muestras de tejido se tratan en una etapa de procesamiento para retirar el líquido de las muestras de tejido y sustituir el líquido por un medio tal como parafina. A continuación, las muestras de tejido se incluyen en un medio, normalmente parafina, y se forman en un bloque. El bloque de parafina, junto con la(s) muestra(s) de tejido incluida(s), se cortan en cortes muy finos que luego se adhieren a un portaobjetos. Los cortes de tejido se tiñen y se preparan para su examen microscópico por parte de un histopatólogo.

20

Una de las etapas más decisivas del proceso es orientar adecuadamente las muestras de tejido en relación con el plano de corte durante el proceso de inclusión en parafina. Los cortes grandes de órganos o tumores pueden tener o no requisitos de orientación específicos cuando se incluyen en el bloque de parafina. Sin embargo, la mayoría de las muestras de tejido tienen algún requisito en cuenta a la orientación. Se dispone de técnicas o productos que ayudan al auxiliar de laboratorio de histología a obtener la orientación adecuada de la muestra de tejido de manera eficaz. Se dispone de geles que ayudan a la orientación, pero suelen ser geles de dos partes que deben mezclarse o geles de fijación que deben enfriarse o activarse para luego mantener el tejido en la orientación adecuada. Por lo tanto, estos usos de gel precisan tiempo adicional y técnicas especiales para obtener una orientación deseada del tejido. Además, las técnicas modernas, tales como las divulgadas en las patentes de Estados Unidos 7.156.814, 7.722.810, 7.776.274 y 8.034.292 y 8.383.067, son ejemplos de los esfuerzos por adaptarse a tipos específicos de muestras de tejido y a su necesidad de orientación. Algunos tipos de tejidos son mucho más difíciles de incluir adecuadamente que otros. Esto es especialmente cierto con respecto a los fragmentos de tejido pequeños. La automatización del proceso de histopatología supone retos adicionales, porque los métodos de inclusión manual de muestras de tejido tan pequeñas no pueden seguir el ritmo de procesamiento del laboratorio.

35

Los laboratorios de histopatología, al igual que todas las empresas, están sometidos a la presión de ser más rentables, manteniendo al mismo tiempo una alta calidad y tiempos más cortos de entrega de los informes de anatomía patológica. Los tamaños y las formas de los tejidos, con sus correspondientes requisitos de orientación intrincados y únicos, hacen que sea muy difícil satisfacer estas demandas. Incluso dentro de los procesos automatizados avanzados, algunos tipos de tejidos siguen necesitando un cuidado y una atención adicionales para su correcta inclusión. Hasta la automatización del proceso de inclusión en parafina y corte con micrótopo, los auxiliares de laboratorio de histología capacitados llevaban a cabo estas etapas en gran medida de forma manual. Aunque en la técnica anterior se mencionan algunos ejemplos de "ayudas para la inclusión", ninguno de ellos satisface esta necesidad, al menos para un cierto subconjunto de tipos de tejidos. Por ejemplo, hay muestras de tejido muy pequeñas que se examinan de forma rutinaria en el proceso de histopatología. Estas muestras pueden ser tan pequeñas que la manipulación con pinzas es difícil y la orientación es extremadamente difícil. Para agravar este problema, las muestras son a veces tan pequeñas que se necesitan tipos especiales de casetes para estar seguros de que las muestras de tejido no salen de sus casetes de procesamiento de tejidos.

50

Las pequeñas hebras a modo de hilos o las virutas o raspados indiscriminados de un procedimiento de biopsia son especialmente difíciles de mantener en la orientación adecuada durante el proceso de inclusión. Por lo tanto, en histopatología hay tipos de tejidos y procedimientos que precisan un manejo y una técnica de inclusión especiales debido a sus requisitos de tamaño y orientación. Estos procedimientos ralentizan la secuencia de trabajo y están sujetos a un resultado de baja calidad. Además de la anatomía patológica humana, la histopatología se utiliza para diagnosticar enfermedades en especies no humanas. Por ejemplo, las empresas farmacéuticas suelen utilizar modelos de roedor para detectar la interacción de los fármacos o sus efectos secundarios antes de realizar cualquier prueba en humanos. Uno de los modelos de roedor más utilizados es el ratón. La ingeniería genética ha permitido a las empresas diseñar ratones muy sensibles a ciertos tipos de enfermedad, acelerando así el desarrollo de fármacos. Estas empresas utilizan de forma rutinaria el modelo de ratón para observar los efectos de los fármacos, antes de proceder a costosos ensayos. La histopatología confirma los efectos de los fármacos mediante el examen de los tipos de tejidos afectados. Cada año se estudian cientos de miles de ratones. Un ejemplo de tal estructura es el sistema nervioso central. El tejido del límbico, del tronco cerebral, de la médula espinal y del nervio óptico son los más indicativos de crecimiento anormal o de anatomía patológica para algunos fármacos. Como se puede imaginar, algunos hilos nerviosos de un ratón son excesivamente pequeños. Una estructura en particular, el nervio óptico, tiene 1/2 mm de diámetro y menos de dos mm de longitud. Es un reto importante mantener las diminutas muestras de tejido en posición vertical en una gotita de parafina mientras la gotita se enfría y solidifica, o mientras un gel de

65

dos partes se solidifica alrededor de la muestra de tejido de nervio óptico. A menudo, al intentar liberar la muestra de tejido, la muestra se pega a la pinza en lugar de al medio de inclusión. Se trata de un proceso tedioso que precisa extrema destreza, formación y experiencia para obtener resultados de alta calidad homogéneos. Esto, unido a la necesidad de trabajar de forma eficaz, ha creado la necesidad de un soporte para tejidos pequeños que proporcione ventajas significativas a quienes trabajan en este campo. La técnica anterior se divulga en los documentos US2010/184127A1, EP0350189A2, US6458598B1, WO2005/103685A1, WO2010/030358A1, NL2005461C2 y en KUEN YONG LEE *et al*: "Alginate: Properties and biomedical applications", DOI: 10.1016/J.PROGPOLYMS-Cl.2011.06.003.

Sumario

La presente invención es una estructura de soporte de muestras de tejido que se puede cortar como se define en la reivindicación 1. Otras características ventajosas de la invención se exponen en las reivindicaciones dependientes.

El compuesto de gel es elástico, de manera que, después de la deformación de una forma original, el compuesto de gel vuelve a la forma original. Esto puede ayudar a varios usos, tal como la retención de muestras de tejido. La estructura de soporte de muestras de tejido que se puede cortar comprende además un espacio de recepción de muestras de tejidos formado en el compuesto de gel para retener la muestra de tejido durante el proceso histopatológico. El espacio de recepción comprende al menos uno de: una rendija, un orificio, un rebaje o una combinación de los mismos. La estructura de soporte de muestras de tejido que se puede cortar comprende además una estructura de retención de tejidos configurada para retener la muestra de tejido en el espacio de recepción de tejidos. La estructura de retención de tejidos adopta la forma de porciones deformables primera y segunda del compuesto de gel configuradas para aplicar una fuerza a la muestra de tejido y retener así la muestra de tejido en una orientación deseada. Como estructura de retención pueden utilizarse diversas estructuras, tales como mordazas o solapas de la estructura de gel. La porción deformable puede ser un elemento de mordaza articulada configurada para moverse entre las posiciones abierta y cerrada y aplicar una fuerza de sujeción a la muestra de tejido en la posición cerrada para mantener así la muestra de tejido en una orientación deseada. Las dos porciones del compuesto de gel que reciben el tejido entre ellas están en el mismo trozo integral de gel preformado, por ejemplo, que intercala una o más muestras de tejido entre ellas. El espacio de recepción incluye uno o más espacios tridimensionales, tales como surcos, ranuras o rebajes en la estructura de gel preformado que sostienen la(s) muestra(s) de tejido. El compuesto de gel es permeable a los líquidos y reactivos utilizados en el procesamiento de la muestra de tejido. Este aspecto del compuesto de gel garantiza la conservación transversal completa de la muestra de tejido durante el procesamiento del tejido con líquidos y reactivos convencionales. Una estructura de soporte de muestras de tejido que se puede cortar preempaquetada comprende un compuesto de gel como se expone en cualquiera de las descripciones del presente documento y un paquete que encierra el compuesto de gel. El empaquetado puede proporcionar condiciones limpias o incluso estériles para el compuesto de gel, y también al menos ayudar a conservar la humedad dentro del compuesto de gel para mantener la elasticidad de la estructura de gel. El paquete puede contener una solución adecuada para mantener la elasticidad del compuesto de gel. El compuesto de gel y/o el paquete pueden contener aditivos para impedir el crecimiento de moho, hongos o bacterias, por ejemplo. Como alternativa, o, además, el paquete puede someterse a otros diversos otros tipos de esterilización sin contacto, tal como la irradiación gamma o de haz de electrones.

La invención puede utilizarse en métodos para orientar, procesar, incluir y cortar con micrótopo una muestra de tejido utilizando un compuesto de gel preformado en una forma geométrica autosoportada. Por ejemplo, un método comprende retener la muestra de tejido en una orientación deseada entre unas porciones primera y segunda del compuesto de gel preformado con forma geométrica. El tejido se procesa mientras se encuentra en la orientación deseada al someter la muestra de tejido y el compuesto de gel preformado con forma geométrica a líquidos y reactivos de procesamiento. El compuesto de gel preformado con forma geométrica y la muestra de tejido se incluyen en un medio de inclusión mientras están en la orientación deseada para formar un bloque que se pueda cortar con un micrótopo del medio de inclusión, la muestra de tejido y el compuesto de gel preformado con forma geométrica. A continuación, el bloque que se puede cortar con el micrótopo se corta para obtener cortes finos de la muestra de tejido para el diagnóstico.

Otro método comprende retener adhesivamente la muestra de tejido en una orientación deseada sobre el compuesto de gel preformado con forma geométrica. El tejido se procesa mientras está en la orientación deseada sometiendo la muestra de tejido y el compuesto de gel preformado con forma geométrica a líquidos y reactivos de procesamiento. El compuesto de gel preformado con forma geométrica y la muestra de tejido se incluyen en un medio de inclusión mientras están en la orientación deseada para formar un bloque que se puede cortar con micrótopo del medio de inclusión, la muestra de tejido y el compuesto de gel preformado con forma geométrica. El bloque que se puede cortar con micrótopo se corta entonces para obtener cortes finos de la muestra de tejido para diagnóstico.

Los métodos pueden tener diversos otros aspectos o etapas. Por ejemplo, el método puede comprender además retirar el compuesto de gel preformado con forma geométrica de un paquete antes de sujetar adecuadamente la muestra de tejido al compuesto de gel preformado con forma geométrica. La retención de la muestra de tejido entre las porciones primera y segunda puede comprender además la retención de la muestra de tejido entre porciones

elásticamente deformables del compuesto de gel preformado con forma geométrica. Las porciones primera y segunda están en la misma estructura tridimensional de gel, tal como las porciones a ambos lados de una rendija de recepción de tejido, por ejemplo. La retención de la muestra de tejido entre las porciones primera y segunda puede comprender además la retención de la muestra de tejido en un orificio o rebaje formado en el compuesto de gel preformado con forma geométrica. El rebaje puede ser, por ejemplo, un rebaje alargado formado longitudinalmente a lo largo de una superficie exterior del compuesto de gel preformado con forma geométrica. El método puede incluir además sujetar el compuesto de gel preformado con forma geométrica y la muestra de tejido retenida en una estructura de soporte de tejidos al menos antes de las etapas de inclusión y corte con micrótopo. La estructura de soporte de tejidos puede comprender además una estructura de soporte que se puede cortar con micrótopo, tal como un casete.

La invención proporciona varias ventajas y características que abordan las complicaciones o retos asociados con las técnicas actuales de procesamiento e inclusión de muestras de tejido. Por ejemplo, el compuesto de gel de la invención, que se forma en una forma geométrica de autosuporte, puede preformarse en cualquier forma o configuración para facilitar la inclusión de tejidos o de casos difíciles específicos. El compuesto puede permitir que las muestras de tejido se mantengan fijas en una orientación deseada y que la muestra o muestras de tejido se mantengan durante los procedimientos de procesamiento, inclusión y corte del tejido. La muestra de tejido no se pierde durante las técnicas de procesamiento y se mantiene de forma segura y orientada con precisión para su posterior inclusión y corte sin manipulación manual o automatizada adicional de la muestra de tejido propiamente dicha. El tejido puede mantenerse en la orientación deseada durante la colocación efectuada por el usuario, y esto incluye la liberación de la pinza de la muestra de tejido mientras la muestra de tejido está acoplada al compuesto de gel. La muestra de tejido puede acoplarse y retenerse de forma rápida y fácil por el compuesto de gel preformado con herramientas o instrumentos convencionales y no precisa mezcla, secado, enfriamiento u otra activación del compuesto durante el procedimiento de orientación.

Como se ha mencionado anteriormente, el compuesto de gel permite el procesamiento de la muestra de tejido cuando la muestra de tejido se sujeta y se retiene en la orientación deseada. Así, el compuesto es poroso a los líquidos y reactivos utilizados para procesar la muestra de tejido. El compuesto de gel no interfiere con el proceso de diagnóstico y, por ejemplo, si el compuesto de gel absorbe o capta de otro modo la tinción utilizada en los cortes del portaobjetos, el compuesto de gel es distinguible de la muestra de tejido circundante. Preferiblemente, el compuesto de gel no absorbe el tinte y, por lo tanto, el compuesto de gel no distrae al usuario durante el proceso de diagnóstico asociado con el portaobjetos que sostiene uno de los cortes en cinta formados con el micrótopo. El compuesto de gel tridimensional preformado no interfiere con el corte con el micrótopo de cortes muy finos del material de inclusión, el compuesto de gel y la muestra de tejido. Por lo tanto, se pueden cortar cintas muy finas de alta calidad y colocarlas en portaobjetos para fines de diagnóstico. El compuesto de gel tridimensional preformado puede servir para encapsular y atrapar el tejido durante el procesamiento del tejido con líquidos y reactivos químicos, así como durante la inclusión, el corte y la preparación del portaobjetos. Como resultado, el tejido no se pierde durante estos procedimientos. Además, la invención da como resultado que se introduzcan pocos o ningún artefacto en la(s) muestra(s) de tejido, lo que podría interferir con la preparación adecuada del portaobjetos y el diagnóstico de la(s) muestra(s) de tejido. Por último, las estructuras de soporte de muestras de tejido que se pueden cortar, incluidos los compuestos de gel preformados, pueden utilizarse junto con casetes que se pueden cortar automatizados para acelerar el procedimiento histológico general.

El compuesto de gel puede fabricarse en cualquier número de configuraciones físicas basadas, por ejemplo, en las necesidades del histopatólogo o científico, o basadas en las necesidades del procedimiento de anatomía patológica/científico específico que se esté realizando. El compuesto de gel puede suministrarse a granel para que el auxiliar de laboratorio de histología haga las estructuras de soporte de muestras de tejido deseadas. Por ejemplo, el compuesto de gel de la presente invención puede extruirse o moldearse en forma de lámina, y luego cortarse en cortes de tamaño apropiado para la aplicación prevista. Por ejemplo, el compuesto de gel tridimensional preformado puede utilizarse en forma de pequeños bloques de cualquier forma deseada. Pueden incorporarse varias características al compuesto de gel tridimensional preformado para ayudar a su uso durante los diferentes procedimientos implicados en histopatología. Como otro ejemplo, se pueden formar características físicas tales como rebajes o surcos en una o más superficies del compuesto de gel tridimensional para prensar el líquido o el escurrimiento de líquido a medida que la muestra de tejido se coloca o sujeta al compuesto de gel.

Varias características y ventajas adicionales serán fácilmente evidentes para los expertos en la materia después de revisar la siguiente descripción detallada de las realizaciones ilustrativas, tomada en unión con los dibujos adjuntos.

Breve descripción de los dibujos

La Fig. 1 es una vista en perspectiva de varias estructuras de soporte de muestras de tejido preformadas que se pueden cortar construidas en conformidad con una primera realización ilustrativa de la invención.

La Fig. 2 es una vista en perspectiva de una estructura de soporte individual de muestras de tejido que se puede cortar tomada de la Fig. 1.

La Fig. 3 es una vista en perspectiva que ilustra la estructura de soporte de muestras de tejido que se puede cortar deformada o abierta para recibir muestras de tejido en un espacio de recepción.

La Fig. 4 es una vista en perspectiva que ilustra la estructura de soporte de gel de la Fig. 3 en una condición cerrada para sujetar las muestras de tejido en el espacio o rendija de recepción de la estructura de soporte de gel.

La Fig. 5 es una vista en perspectiva que ilustra la estructura de soporte de la Fig. 4 colocada en un casete que se puede cortar, con la tapa del casete en una condición abierta.

La Fig. 6 es una vista transversal que ilustra el casete de la Fig. 5 en una condición cerrada e incluido en un bloque de parafina, así como acoplado a un bastidor en preparación para una operación de corte con micrótopo.

La Fig. 7 es una vista en perspectiva que ilustra una realización ilustrativa, y un sistema de empaquetado para la estructura de soporte de muestras de tejido que se puede cortar de la Fig. 2.

La Fig. 8 es una vista transversal de las estructuras de soporte de muestras de tejido empaquetadas mostradas en la Fig. 7.

La Fig. 9A es una vista en perspectiva de tres estructuras de soporte de muestras de tejido que se pueden cortar formadas en conformidad con otra realización ilustrativa y contenidas en un dispositivo para permitir que los rebajes o ranuras del soporte de muestras de tejido se abran y se cierren.

La Fig. 9B es una vista en perspectiva similar a la Fig. 9A, pero que ilustra el dispositivo utilizado para abrir los rebajes o ranuras para recibir muestras de tejido en su interior.

La Fig. 10 es una vista en perspectiva que ilustra las estructuras de soporte de muestras de tejido que se pueden cortar de las Fig. 9A y 9B recibiendo una pulverización adhesiva de contención para retener, sellar y/o contener aún más las muestras de tejido en su interior.

La Fig. 11 es una vista transversal tomada a través de la estructura de soporte de muestras de tejido que se pueden cortar de la Fig. 10 para ilustrar la capa adhesiva de contención utilizada para sellar y contener la muestra de tejido en su lugar.

La Fig. 12 es una vista transversal similar a la Fig. 6, pero que ilustra el uso de la estructura de soporte de muestras de tejido que se puede cortar de la Fig. 11.

Las Fig. 13-16 son realizaciones ilustrativas adicionales de estructuras de soporte de muestras de tejido construidas en conformidad con realizaciones adicionales.

La Fig. 17A es otra realización ilustrativa de una estructura de soporte de muestras de tejido que se puede cortar que tiene un espacio de recepción en forma de un orificio que comunica con las rendijas respectivas.

La Fig. 17B es una vista en perspectiva de la estructura de soporte de la Fig. 17A, pero con una muestra de tejido contenida en el orificio.

Las Fig. 18-20 son respectivas realizaciones ilustrativas de estructuras de soporte de muestras de tejido que se pueden cortar adicionales capaces de ser cortadas en múltiples trozos.

La Fig. 21A es otra estructura de soporte de muestras de tejido que se puede cortar ilustrativa que recibe una muestra de tejido alargada.

La Fig. 21B es una vista en perspectiva que ilustra la estructura de soporte de muestras de tejido que se puede cortar de la Fig. 21A conteniendo muestras de tejido respectivas y que se pulveriza con una pulverización adhesiva de contención para contener las muestras de tejido en la estructura de soporte.

La Fig. 21C es una vista transversal similar a las Fig. 6 y 9, pero ilustrando el uso de la estructura de soporte de muestras de tejido de la Fig. 21B.

La Fig. 22 es una vista en perspectiva de otra estructura de soporte de muestras de tejido que se puede cortar construida en conformidad con una realización para contener varios tipos de muestras de tejido.

La Fig. 23 es una vista en perspectiva de una estructura de soporte de muestras de tejido que se puede cortar para contener varios tipos de muestras de tejido.

La Fig. 24 es una vista en perspectiva de otra estructura de soporte de muestras de tejido que se puede cortar construida en conformidad con una realización para contener varios tipos de muestras de tejido.

La Fig. 25 es una vista transversal similar a la Fig. 6 pero que ilustra el uso de la estructura de soporte de muestras de tejido que se puede cortar de la Fig. 23 o la Fig. 24.

Descripción detallada

Las Fig. 1-6 ilustran una de las muchas formas posibles de una estructura de soporte de muestras de tejido que se puede cortar construida en conformidad con los conceptos de la invención, y que incluye un compuesto de gel formado en forma geométrica de autosoporte. A lo largo de la presente memoria descriptiva, el término "bloque" puede utilizarse para describir varios tipos de estructuras de soporte de muestras de tejido construidas con un compuesto de gel y preformadas en una forma geométrica, pero este término no pretende limitarse a ninguna forma geométrica tridimensional concreta. En cambio, los bloques de compuesto de gel pueden tener cualquier forma, incluyendo las formas cuadradas o rectangulares mostradas, o bloques de cualquier otra forma curvada, esférica, oblonga u otras.

Como se usa en el presente documento, un "compuesto de gel" se define como un sistema reticulado diluido, que no presenta flujo cuando está en estado en equilibrio, e incluye hidrogeles, organogeles y/o aerogeles. Los compuestos de gel son en su mayor parte líquidos, pero se comportan como sólidos debido a una red tridimensional reticulada dentro del líquido. Son las reticulaciones dentro de los componentes internos las que le dan a un compuesto de gel su estructura tridimensional. De este modo, los compuestos de gel son una dispersión de moléculas de un líquido dentro de un sólido en que el sólido es la fase continua y el líquido es la fase dispersada.

La Fig. 1 ilustra una lámina 10 de compuesto de gel extruido o moldeado formado, por ejemplo, para que sea 1,5 mm de grosor y 4 mm de anchura por 5 mm de largo. Se forman estructuras de soporte de muestras de tejido que se pueden cortar individuales o bloques 12 y cada uno puede tener una dimensión de 1,5 mm de grosor, 4 mm de largo y 3 mm de anchura. Estas dimensiones son simplemente ilustrativas y pueden cambiarse en conformidad con las necesidades del usuario. Los bloques 12 pueden retenerse inicialmente en una bandeja 14 de papel antiadherente o de plástico, que puede ser parte de un paquete que se describirá más adelante, y, como se muestra en la Fig. 3, las muestras 16 de tejido finas en forma de hilo están retenidas en un espacio de recepción de tejidos mostrado en este caso como una rendija 18 entre dos porciones 20, 22 del bloque 12. Una porción 20 del bloque 12 puede plegarse hacia atrás o abrirse como se muestra en la Fig. 3, y luego cerrarse como se muestra en la Fig. 4 para sujetar la muestra 16 de tejido en la orientación deseada. El compuesto de gel es de naturaleza elástica o flexible, de manera que la porción 20 abierta del bloque 12 mostrado en la Fig. 3 se cierra de forma elástica contra la porción 22 opuesta para retener la(s) muestra(s) de tejido 16 entre las dos porciones 20, 22. Alternativamente, si el bloque 12 de gel no tiene suficiente elasticidad o flexibilidad, se puede utilizar un compuesto adhesivo u otros medios para retener las dos porciones 20, 22 en la posición cerrada como se muestra en la Fig. 4. Se apreciará que las muestras 16 de tejido se retienen dentro del espacio de recepción de tejidos (es decir, una rendija 18 en esta realización), y los extremos 16a de las muestras 16 de tejido están al ras contra la otra superficie 12a del bloque 12. De esta manera, los extremos 16a de las muestras 16 de tejido se posicionarán y orientarán correctamente para los procedimientos de inclusión y corte con micrótopo, como se describe a continuación. A este respecto, la superficie exterior 12a adyacente a la que se expone la muestra de tejido estará orientada hacia el plano de corte, de manera que a medida que se toman cortes con una cuchilla de micrótopo, los cortes incluirán cortes transversales finos en los extremos de la muestra 16 de tejido, y luego hacia el interior de los mismos.

Una manera de procesar, incluir y cortar con micrótopo la muestra de tejido se entenderá a partir de una revisión de las Fig. 5 y 6. En estas figuras, se utiliza un casete 30 como se describe, por ejemplo, en la Patente de Estados Unidos N.º 5.817.032 (la patente '032), o en las otras patentes y la solicitud publicada a las que se hace referencia anteriormente. Como el procedimiento se entenderá plenamente por referencia a la patente '032, así como las otras patentes y la solicitud publicada a las que se hace referencia anteriormente en el presente documento, no es necesaria una divulgación adicional excepto en la medida apropiada para la comprensión de la presente invención. Como se muestra en la Fig. 5, el bloque 12 de gel con las muestras 16 de tejido retenidas en el mismo se coloca en el casete 30 que se puede cortar. La tapa 32 del casete 30 se cierra entonces contra una superficie 12b del bloque 12 de gel mientras que la parte inferior 34 del casete 30 se acopla a la superficie opuesta 12a del bloque 12 de gel, como se ilustra mejor en la Fig. 6. Tanto el bloque 12 de gel como las muestras 16 de tejido están retenidas en el casete 30 durante el procesamiento de las muestras 16 de tejido, lo que implica sumergir el casete 30 que se puede cortar, el bloque 12 de gel y las muestras 16 de tejido retenidas en diversos líquidos y reactivos diseñados para extraer los líquidos corporales de las muestras 16 de tejido y sustituir esos líquidos, por ejemplo, por parafina. Después del procesamiento, el casete 30 que se puede cortar, y el bloque 12 de gel con las muestras 16 de tejido retenidas sujetas dentro del casete 30 o sujetas de otra manera a un soporte adecuado, se sujeta dentro de un bastidor 36 en la posición mostrada en la Fig. 6, y el conjunto de bastidor/casete se coloca en un molde (no mostrado). El material incluido, tal como la parafina, se dirige entonces hacia el molde a través del bastidor 36 y el casete 30 perforado de manera que la parafina toma la forma del molde y se solidifica en un bloque de parafina 38 como se muestra en la Fig. 6. Una cuchilla de micrótopo operada por un auxiliar de laboratorio de histología toma entonces cortes de micrótopo, como se describe en general en la patente '032, enfrentando el fondo 34 del casete 30 hasta que se llegue a la muestra 16 de tejido. En este punto, se tomarán cortes muy finos en forma de cinta del bloque de parafina 38, el bloque 12 de gel y las muestras 16 de tejido. Estas cintas (no mostradas) se colocan a continuación en portaobjetos (no mostrados) para su examen y diagnóstico.

Las Fig. 7 y 8 ilustran un método y forma de empaquetar los bloques de gel 12 mostrados en las Fig. 1-4. En este ejemplo, los bloques de gel 12 se colocan en un soporte adecuado, tal como una bandeja 40 de plástico, o papel o cartón recubierto de cera, y se colocan en un paquete que puede adoptar la forma de una bolsa 42 que tiene un medio de fijación adecuado, tal como una conexión deslizante 44 para sellar la bolsa pero que también permite volver a sellarla. La bolsa 42 puede sellarse en un condición limpia o incluso esterilizada y, preferiblemente, mantiene los bloques de gel en condiciones a prueba de humedad o, al menos, resistentes a la humedad hasta su uso. Antes de sellar la bolsa 42, se puede añadir humedad de cualquier manera adecuada para mantener la elasticidad de los bloques de gel 12 durante el transporte y el almacenamiento. Los aditivos también pueden incluir compuestos antifúngicos, antimoho y/o antibacterianos. El usuario puede retirar los bloques de gel 12 deslizando la bandeja 40 de papel o de cartón fuera de la bolsa 42 y despegando los bloques de gel 12 del papel o cartón 40. Los bloques de gel 12 tienen una pegajosidad que es inherente y permite que se adhieran al papel o cartón 40 pero que se despeguen fácilmente para su uso.

Las Fig. 9A y 9B ilustran un dispositivo 50 que puede o no ser parte de una estructura de empaquetado para los bloques de gel 12'. El dispositivo 50 tiene paredes laterales 52, 54 que retienen de forma extraíble los bloques de gel 12' entre ellos. Las paredes laterales 52, 54 pueden comprimirse o apretarse entre sí, como se ilustra esquemáticamente en las Fig. 9A y 9B. Esto abre las respectivas rendijas 56 en cada bloque 12' de gel de tal manera que los pequeños trozos de tejido, tales como las muestras 16 de tejido en forma de hilo pueden ser insertarse fácilmente de manera vertical dentro de cada rendija 56 abierta. Así, las muestras 16 de tejido serán retenidas dentro de los espacios receptores de tejido o rendijas 56 de los bloques de gel 12' sustancialmente como

se muestra y describe con respecto a las Fig. 3-6. Una vez que las muestras 16 de tejido están colocadas y retenidas en las rendijas 56, los bloques de gel 12' pueden retirarse del dispositivo 50 y utilizarse en conformidad con descripción anterior, por ejemplo, con respecto a las Fig. 5 y 6.

Alternativamente, los bloques de gel 12' pueden retirarse del dispositivo 50 y la superficie 12a' del bloque 12' de gel que contiene las rendijas 56 puede pulverizarse con un adhesivo u otro material de recubrimiento con el fin de retener aún más las muestras 16 de tejido dentro del bloque 12' de gel. Como se muestra en las Fig. 10 y 11, este recubrimiento pulverizado de material 58 puede utilizarse para crear una capa 60 adhesiva o de recubrimiento que retenga la muestra 16 de tejido dentro del bloque 12' de gel. Este material pulverizado puede adoptar, por ejemplo, la forma de una pulverización del propio gel o de cualquier adhesivo adecuado, tal como adhesivos de acetato de polivinilo (PVA), acetato de etilvinilo (EVA) o cianoacrilato (CA), y en general debe tener las mismas propiedades que el material de gel que forma el bloque 12' tal como, por ejemplo, porosidad, resistencia a las manchas, etc., como se ha analizado anteriormente. Como se muestra además en la Fig. 12, el bloque 12' de gel se coloca en un casete 30 en general como se describe anteriormente en relación con la Fig. 6, de manera que el adhesivo u otra capa de recubrimiento 60 se oriente al plano de corte, definido por la superficie inferior o pared 34 del casete 30, y el extremo 16a de la muestra de tejido también se orienta al plano de corte. De esta manera, después de que el fondo 34 del casete 30 se corta o enfrenta, el micrótopo comenzará a cortar el bloque de parafina 38 y el bloque 12' de gel, además de la muestra 16 de tejido, como se ha descrito anteriormente.

Las Fig. 13-16 ilustran otras diversas configuraciones de bloques de gel, construidas con un compuesto que tiene las formulaciones y propiedades descritas en el presente documento, pero que tienen espacios receptores de tejidos de diversas formas. La Fig. 13 ilustra un bloque 70 de gel con un espacio receptor de tejidos 72 en forma de un rebaje alargado y oblongo, mientras que la Fig. 14 ilustra un bloque 80 de gel con un par de orificios o rebajes oblongos 82 para recibir y retener muestras 16 de tejido. La Fig. 15 ilustra un bloque 90 de gel con dos rebajes alargados de forma cuadrada 92, mientras que la Fig. 16 ilustra un bloque 100 de gel con un único rebaje alargado 102, por ejemplo, para contener un trozo plano de tejido 104, tal como el tejido de la piel, orientado de canto con respecto al plano de corte del micrótopo.

Las Fig. 17A y 17B ilustran otro bloque 110 de gel con un espacio alternativo de recepción de tejidos en forma de un orificio 112 central y rendijas 114, 116 que se extienden desde los lados opuestos del orificio 112. Este orificio 112 está configurado para contener un trozo cilíndrico de tejido, tal como un trozo tubular de tejido 118 como se muestra en la Fig. 17B. Para este fin, los extremos 120, 122 opuestos del bloque 110 de gel pueden apretarse o **comprimirse** juntos para ensanchar el orificio 112, con la ayuda de las rendijas 114, 116, y la pieza tubular de tejido 118 puede colocarse entonces en el orificio 112. Debido a la elasticidad o flexibilidad del bloque 110 de gel, los lados 124, 126 opuestos del bloque 110 de gel se moverán juntos hacia la posición original y por lo tanto comprimirán o mantendrán la muestra de tejido tubular 118 en la orientación deseada mostrada en la Fig. 17B. Los bloques de gel ilustrados en las Fig. 13-16, así como el de las Fig. 17A y 17B, se utilizan de la misma manera que se ha descrito anteriormente, cortando a lo largo de un plano definido por la superficie de cada bloque que expone la muestra de tejido a la cuchilla del micrótopo.

Las Fig. 18, 19 y 20 ilustran otros ejemplos de bloques de gel 130, 140, 150 con diversos tipos de espacios receptores de tejidos 132, 142, 152, y capaces de ser cortados a lo largo de las líneas punteadas, por ejemplo, de manera que el usuario puede personalizar la estructura de soporte de muestras de tejido, es decir, los bloques de gel 130, 140, 150, según sus necesidades.

Las Fig. 21A, 21B y 21C ilustran otra realización alternativa de un bloque 160 de gel que incluye rebajes alargados 162 a lo largo de una superficie 164 para recibir muestras 166 de tejido finas en forma de hilo como se muestra en la Fig. 21A. Como se muestra además en la Fig. 21B, la superficie 164, incluyendo las muestras 166 de tejido, puede pulverizarse con un material adhesivo 168 de manera que se forme un recubrimiento 169 sobre la superficie 164 y sobre las muestras 166 de tejido de manera que las muestras 166 de tejido queden retenidas en los rebajes o surcos 162. El material adhesivo 168 puede ser del tipo descrito anteriormente. Los bloques de gel 160 con las muestras 166 de tejido retenidas se utilizan entonces de la manera descrita anteriormente, por ejemplo, con un casete 30 de tejido que se puede cortar (véase la Fig. 6) y con las muestras 166 de tejido orientadas hacia el fondo del casete, definiendo el plano de corte del micrótopo. Entonces se toman cortes como se describe en general en relación con la Fig. 6.

La Fig. 22 ilustra otro bloque 170 de gel alternativo construido en conformidad con la invención, y que incluye una diversidad de espacios receptores de tejidos 172, 174, 176 para contener tejidos de diferentes tipos y/o tamaños y/o formas.

La Fig. 23 ilustra una realización no de acuerdo con la invención en la que se utilizan dos formas de lámina 180, 182 del compuesto de gel para intercalar muestras 184 de tejido entre ellas. Las pequeñas y finas láminas 180, 182 del compuesto de gel preformado pueden incluirse luego en parafina y cortarse en un micrótopo. Preferiblemente, al menos la hoja 182 que se cortará en primer lugar por el micrótopo es tan fina como sea práctico para minimizar el número de cortes de corte que sean necesarios para llegar a las muestras 184 de tejido. Se apreciará que la superficie 182a que porta las muestras de tejido en este ejemplo define el plano de corte. Se obtiene otro beneficio

cuando las estructuras de compuesto de gel se utilizan para enderezar o aplanar el tejido de tal manera que la cuchilla (no mostrada) tome un corte de tejido completo y continuo. Por ejemplo, si las muestras 184 de tejido son onduladas y se curvan fuera del plano definido por la superficie 182a, entonces el efecto de intercalado de la lámina 180 cuando se coloca sobre las muestras 184 de tejido enderezará o aplanará las muestras 184 en un solo plano para un corte eficaz.

La Fig. 24 ilustra otra modificación en la que la lámina 182 de la Fig. 23 ha sido ligeramente modificada a una lámina de gel 182' que incluye un rebaje 190 para contener muestras 192 de tejido, y además incluye canales 194, 196 para expresar o drenar líquido, tal como formalina, en que las muestras 192 de tejido se almacenan durante el transporte a un laboratorio de histología. A este respecto, el técnico en histología puede verter el vial de líquido que contiene pequeñas muestras 192 de tejido (por ejemplo, fragmentos, etc.) en el rebaje 190 y el líquido puede drenar a través de uno o más canales 194, 196 mientras deja las muestras 192 de tejido en el rebaje 190. La Fig. 25 ilustra un uso de las láminas 180, 182 o 182' de gel junto con un casete 30 que se puede cortar, como se describe, por ejemplo, en las Fig. 6, 12 y 21C. Como en todas las figuras, se utilizan números de referencia similares para referirse a una estructura y función similares, y por lo tanto no es necesaria una descripción adicional de dicha materia objeto común. La Fig. 25 proporciona una ilustración clara de otra ventaja cuando se utiliza un casete 30 que se puede cortar. Es decir, la lámina 182 de la parte inferior impide que las muestras 184 de tejido entren en contacto directamente con la parte inferior 34 del casete 30. Si las muestras 184 de tejido entraran en contacto con la parte inferior 34, entonces podrían introducirse artefactos en las muestras 184 de tejido debido a las discontinuidades de la parte inferior 34 (es decir, su construcción perforada). La superficie 182a y la superficie de frente 180a intercalarán las muestras 184 de tejido y presentarán un corte continuo del tejido a la cuchilla del micrótopo (no mostrado) después de que la parte inferior 34 y la lámina 182 se hayan cortado o "enfrentado" mediante la cuchilla durante la porción inicial del proceso con micrótopo.

De acuerdo con las realizaciones de la presente invención, los compuestos de gel pueden incluir hidrogeles, organogeles, aerogeles o combinaciones de los mismos. Un hidrogel es una red de cadenas poliméricas en la que el agua es el medio dispersado. Los hidrogeles ilustrativos incluyen, pero sin limitación, hidrogeles de silicona, hidrogeles a base de proteínas, a base de carbohidratos o a base de polioles. Un organogel es un material sólido no cristalino y no vítreo compuesto por una fase orgánica líquida atrapada en una red tridimensional reticulada. Los organogeles ilustrativos incluyen, entre otros, organogeles basados en lecitina y varios basados en dendrímeros. Un aerogel es un material poroso sintético en el que el componente líquido del gel es aire o un gas. Los aerogeles ilustrativos incluyen, pero sin limitación, aerogeles a base de sílice y a base de carbono.

Los compuestos de gel utilizados para construir los bloques de gel divulgados en el presente documento pueden formarse de diversas maneras, proporcionándose a continuación dos realizaciones ilustrativas. Los compuestos de gel se forman a partir de ingredientes, tales como macromoléculas capaces de experimentar reticulación, agentes de reticulación, conservantes y agua u otros disolventes adecuados. Otros ingredientes optativos incluyen, por ejemplo, colorantes.

El compuesto de gel puede incluir hidrogeles que incluyen macromoléculas reticuladas. Por consiguiente, las macromoléculas son capaces de experimentar reticulación. En un aspecto, las macromoléculas pueden contener una pluralidad de grupos hidroxilo, que pueden reaccionar con un agente de reticulación adecuado. Las macromoléculas ilustrativas incluyen gelatina, almidones, tal como almidón de maíz, y agares. Otras macromoléculas adecuadas incluyen proteínas, tales como suero, albúmina o polímeros sintéticos, como polilisina o polioles. De forma similar, muchos carbohidratos (por ejemplo, diversas gomas, o celulosa y sus derivados) también se reticulan como el almidón de maíz. Las características del compuesto de gel pueden diferir, en particular en la resistencia al cizallamiento. Por consiguiente, las formulaciones tendrían que optimizarse basándose en la selección de las materias primas.

Pueden utilizarse agentes de reticulación ilustrativos tales como bórax, formaldehído de melamina, aluminato de sodio o tetraborato de potasio para producir una estructura de gel. El agente de reticulación puede ser bórax.

Los conservantes ilustrativos incluyen agentes antimicrobianos, que inhiben el crecimiento de moho. Los agentes antimicrobianos adecuados incluyen metilparabeno. Pueden utilizarse otros agentes antimicrobianos, tales como propilparabeno y otros. Sin agentes antimicrobianos, los compuestos de gel pueden enmohecerse después de varios días.

El uso del color es optativo. Se pueden utilizar diversos tipos de tintes sintéticos u otros colores. Se puede utilizar un color acuoso de calidad alimentaria durante la fabricación del compuesto de gel. Se pueden utilizar diversos colores según las necesidades. Un objetivo de añadir color al compuesto de gel es proporcionar un contraste para que un técnico pueda ver fácilmente las cavidades fabricadas para los tejidos en el bloque de compuesto de gel, permitiendo una rápida inserción de los tejidos en el bloque, mejorando así la eficacia. El color puede desaparecer durante diversas fases del procesamiento y la tinción del tejido.

El compuesto de gel incluye además agua. El agua desionizada o destilada es adecuada, así como el agua del grifo. Un factor importante en la preparación del compuesto de gel es la temperatura del agua. Preferiblemente, el agua

debe estar fría (por ejemplo, a menos de unos 25 °C), porque incluso el agua tibia provocará un mayor grado de aglutinación. De acuerdo con una realización, la temperatura del agua está, por ejemplo, entre aproximadamente 5 °C y aproximadamente 20 °C. Pueden utilizarse codisolventes de tipo glicol en combinación con agua para reducir el contenido de agua y la contracción del gel debido al secado y/o para modificar o incorporar nuevas propiedades.

Obtención de los productos químicos

La gelatina viene en diferentes rangos de peso molecular (llamados bloom). Los catálogos científicos ofrecen varios intervalos. Estos han sido especialmente purificados y clasificados, por lo que su coste es elevado. La gelatina de la tienda de comestibles tiene un intervalo más amplio de pesos moleculares, pero al menos las marcas comerciales tienen una alta uniformidad de lote a lote. La gelatina es un material fácilmente disponible que hace que el compuesto de gel tenga muy buena flexibilidad y propiedades físicas, pero el compuesto de gel hecho de gelatina se teñirá de rosa por la eosina, lo que puede hacer difícil distinguir el gel del tejido. Se puede utilizar cualquier gelatina; para los ejemplos siguientes se utilizó gelatina de la marca comercial Knox. De acuerdo con una realización, la gelatina puede estar presente en el compuesto de gel en una cantidad que varía de aproximadamente el 2 % en peso y el 30 % en peso, en base al peso total del compuesto de gel.

El almidón puede obtenerse a partir de una variedad de fuentes vegetales (trigo, maíz, patata, etc.). El almidón de maíz es muy barato y está disponible en alta calidad consistente. El almidón de diferentes proveedores o fuentes tendría diferentes rangos de peso molecular, la fórmula puede ser optimizada en base a las materias primas seleccionadas. En los ejemplos siguientes, se ha utilizado almidón de maíz doméstico Clabber Girl® de Hulman & Co. De acuerdo con una realización, el almidón puede estar presente en el compuesto de gel en una cantidad que oscila de aproximadamente 2 % en peso y aproximadamente el 30 % en peso, basándose en el peso total del compuesto de gel.

El agar es un complejo de polisacáridos (CAS: 9002-18-0) obtenido a partir de algas rojas. El agar está compuesto por aproximadamente el 70 % de agarosa y el 30 % de agarpectina. La agarosa es la parte del agar que forma el gel, mientras que la agarpectina es una fracción no gelificante. En la presente solicitud se seleccionó el agar en lugar de la agarosa debido al menor coste del primero. Los catálogos científicos ofrecen una serie de intervalos y modificaciones de agar, principalmente para su uso como medio de cultivo. La agarosa pura o algunos de los productos de agar están especialmente purificados y clasificados, por lo que su coste es elevado. Se pueden utilizar sustitutos del agar tal como Phytigel™ y/o materiales del tipo escleroglucano. Para los siguientes ejemplos se utilizó agar de precio medio normal (Sigma Aldrich n.º de producto A1296). De acuerdo con una realización, el agar puede estar presente en el compuesto de gel en una cantidad que varía de aproximadamente el 0,1 % en peso a aproximadamente el 15 % en peso, basándose en el peso total del compuesto de gel.

El bórax es tetraborato de sodio. Como mineral se encuentra comúnmente en forma de decahidrato, pero el bórax disponible en el mercado puede variar significativamente en su grado de hidratación (para mejorar el flujo y la facilidad de solubilidad). En los ejemplos siguientes se ha utilizado bórax doméstico de marca (20 Mule Team). El grado de hidratación es crucial en el pesaje y debe ser considerado durante la formulación. De acuerdo con una realización, los agentes de reticulación pueden estar presentes en el compuesto de gel en una cantidad que varía de aproximadamente el 0,05 % en peso y aproximadamente el 5 % en peso, basándose en el peso total del compuesto de gel.

El metilparabeno está ampliamente disponible en varios proveedores. De acuerdo con una realización, los conservantes pueden estar presentes en el compuesto de gel en una cantidad que varía de aproximadamente el 0,05 % en peso y aproximadamente el 5 % en peso, basándose en el peso total del compuesto de gel.

Como se describe en el presente documento, se forma una lámina del compuesto de gel en una cubeta poco profunda y antiadherente. Sin embargo, pueden utilizarse opciones alternativas tales como la extrusión.

EJEMPLO 1

Fórmula convencional (los porcentajes son p/v con respecto al agua)

Fórmula 1x, porcentaje p/v de ingredientes

Ingrediente	Porcentaje	Para un tamaño de lote de 645,16 cm ² (100 pulgadas cuadradas)
Bórax	1,33	1,50 g
Gelatina	9,33	10,50 g
Almidón de maíz	9,33	10,5 g
Metilparabeno	1,33	0,15 g
Agua	100	112,50 g

Tamaño de lote

La Fórmula convencional, o Fórmula 1x, produce un gel de aproximadamente 2 mm de grosor cuando se vierte en una cubeta de 645,16 cm² (100 pulgadas cuadradas). Para cubetas de diferentes tamaños y geles de diferente grosor, puede modificarse la escala de la fórmula proporcionalmente.

Preparación del compuesto de gel del Ejemplo 1

Se combinan cantidades prepesadas de almidón de maíz, gelatina y metilparabeno en un recipiente y se mezclan minuciosamente para minimizar la formación de grumos cuando se añade agua. PRECAUCIÓN: NO AÑADIR BÓRAX A LOS OTROS INGREDIENTES SÓLIDOS. Se añade agua fría (por ejemplo, a menos de 25 °C) a los ingredientes secos mezclados sin mezclar para permitir que el almidón se hidrate durante aproximadamente un minuto o más. Se mezcla minuciosamente la mezcla acuosa para garantizar que sustancialmente todo el almidón de maíz, la gelatina y el metilparabeno se dispersen uniformemente en ella. Calentar la mezcla acuosa hasta que empiece a hervir, agitando o mezclando de otra manera periódicamente durante el proceso. A continuación, se interrumpe el calentamiento de la mezcla acuosa y se añade la cantidad prepesada de bórax mientras se mezcla mecánicamente durante unos segundos hasta que el bórax esté completamente dispersado.

Trabajando lo más rápido posible, el material resultante se vierte en una cubeta poco profunda y antiadherente. La cubeta se inclina en todas las direcciones para que el material fluya hacia todas las esquinas y bordes, luego se coloca la cubeta a nivel y se deja que la gravedad lleve el material a un grosor uniforme. Se cubre la cubeta con una envoltura de plástico y se deja que el material se enfríe a temperatura ambiente sin que se mueva para formar una lámina de compuesto de gel. Después de 2 o más horas, la lámina de compuesto de gel se retira de la cubeta en una sola pieza. Por ejemplo, la lámina puede retirarse de la cubeta haciendo palanca a lo largo de uno de los bordes con una espátula o dispositivo similar, y luego tirando de ella hacia arriba y hacia fuera. La lámina de compuesto de gel se coloca en un trozo liso de envoltura de plástico y se corta. El gel se corta en bloques de 12 x 18 mm (o en el tamaño necesario). A continuación, se crean en los bloques las rendijas u orificios deseados para soportar formas específicas de tejido. La forma y las cavidades necesarias para soportar los tejidos pueden lograrse utilizando moldes durante el procesamiento o mediante troquelado posterior a la fabricación.

Explicación química:

La gelatina produce un gel fuerte cuando se procesa adecuadamente. En su forma hidratada a temperatura ambiente, sus moléculas son bolas fuertemente envueltas que no interactúan entre sí (ni con otros ingredientes), lo que minimiza la formación de grumos. La dispersión es algo viscosa, pero no gelificará como tal. A medida que la temperatura aumenta hasta el punto de ebullición, las moléculas se desenrollan y se vuelven cuerdas largas enredadas. Al enfriarse, conservan la conformación enredada y se vuelven una masa a modo de esponja que atrapa el agua. Una dispersión de gelatina pura es reversiblemente gelatinosa o líquida, dependiendo de la temperatura.

El almidón de maíz es también una macromolécula con similitudes con la gelatina. Tiende a aglutinarse mucho cuando se pone en agua fría debido a las fuertes interacciones entre moléculas adyacentes. Cuando está seco, las partículas de almidón y gelatina se pegan entre sí y minimizan las interacciones almidón-almidón durante la hidratación, de ahí la necesidad de mezclar los ingredientes secos. Al igual que la gelatina, las moléculas de almidón se desenvuelven a mayor temperatura y forman un gel suave al enfriarse. El almidón se utiliza como espesante, pero a altas concentraciones forma un gel con poca resistencia al cizallamiento. La función del almidón en el gel es proporcionar grupos hidroxilo reactivos para la reticulación.

El bórax es un agente de reticulación que reacciona con los grupos hidroxilo que se encuentran en los carbohidratos como el almidón. La reticulación hace que la gelificación sea irreversible. La reacción es rápida inicialmente, por lo que el gel debe verse inmediatamente después de incorporar bórax a la mezcla.

El bórax y el almidón por sí solos producirán un gel permanente, pero se utilizó una combinación de ambos para obtener propiedades físicas tales como la resistencia al cizallamiento necesaria a los efectos de la presente solicitud.

EJEMPLO 2

Fórmula convencional (los porcentajes son p/p)

Fórmula 1x, porcentaje p/p de ingredientes

Material	Porcentaje	Para un tamaño de lote de 645,16 cm ² (100 pulgadas cuadradas)
Agar o agarosa	2,00	2,70 g
Bórax	0,50	0,68 g

(continuación)

Material	Porcentaje	Para un tamaño de lote de 645,16 cm ² (100 pulgadas cuadradas)
Almidón de maíz	3,00	4,05 g
Agua D.I.	94,30	127,30 g
Colorante apto para uso alimentario	0,05	0,07 g
Metilparabeno	0,15	0,20 g

Tamaño del lote

- 5 El tamaño de lote convencional produce un gel de aproximadamente 2 mm de grosor cuando se vierte en una cubeta de 645,16 cm² (100 pulgadas cuadradas). Para utilizar cubetas de diferentes tamaños u obtener geles de diferente grosor, debe aumentarse o reducirse la escala de la fórmula proporcionalmente.

Preparación del compuesto de gel del Ejemplo 2:

- 10 Se mide y se registra el peso del recipiente vacío que se utilizará para hacer el gel. Se combinan en el recipiente cantidades prepesadas de almidón de maíz, agar y metilparabeno y se mezclan minuciosamente para minimizar la formación de grumos cuando se añade agua. PRECAUCIÓN: **EL BÓRAX NO DEBE AÑADIRSE A LOS OTROS**
- 15 **INGREDIENTES SECOS.** Se añade agua fría (por ejemplo, a menos de 25 °C). La mezcla acuosa se mezcla minuciosamente para garantizar que sustancialmente todo el almidón de maíz, la gelatina y el metilparabeno se dispersen uniformemente en ella. Se añade a la mezcla acuosa colorante apto para uso alimentario del color deseado y se mezcla bien para dispersar el colorante y proporcionar un color homogéneo a la mezcla. La mezcla acuosa se calienta hasta que empiece a hervir, agitando o mezclando de otra manera periódicamente durante el proceso. A continuación, se interrumpe el calentamiento de la mezcla acuosa. Se pesa el recipiente y su contenido.
- 20 Si es necesario, se añade agua y se mezcla para rellenar y compensar la pérdida de agua en la formulación debido a la evaporación. Se añade la cantidad prepesada de bórax y se agita la mezcla acuosa durante unos segundos hasta que el bórax esté completamente dispersado/disuelto.

- 25 Trabajando lo más rápido posible, el material resultante se vierte en una cubeta poco profunda y antiadherente. La cubeta se inclina en todas las direcciones para que el material fluya por todas las esquinas y bordes, luego se pone la cubeta a nivel y se deja que la gravedad lleve el material a un grosor uniforme. Se cubre la cubeta con un envoltorio de plástico y se deja que el material se enfríe a temperatura ambiente sin que se mueva para formar una lámina de compuesto de gel. Después de proporcionar un tiempo de gelificación adecuado, la lámina de compuesto de gel se retira de la cubeta en una sola pieza. Por ejemplo, la lámina puede retirarse de la cubeta haciendo palanca
- 30 a lo largo de uno de los bordes con una espátula o dispositivo similar, y luego tirando de ella hacia arriba y hacia fuera. La lámina de compuesto de gel se coloca en un trozo liso de envoltura de plástico y se corta. El gel se corta en bloques de 12 x 18 mm (o en el tamaño necesario). Se crean cuidadosamente en el bloque de gel las rendijas u orificios deseados para soportar formas específicas de tejido. La forma y las cavidades necesarias para el soporte de los tejidos pueden lograrse utilizando moldes durante el procesamiento o mediante troquelado posterior a la fabricación.
- 35

Explicación química

- 40 El agar (o agarosa) produce un gel fuerte cuando se procesa adecuadamente. En forma de polvo seco, sus moléculas son partículas estrechamente envueltas que no interactúan entre sí (ni con otros ingredientes), lo que minimiza la formación de grumos. Su dispersión en agua es algo viscosa, pero no es un gel. Cuando la temperatura se eleva hasta el punto de ebullición, las moléculas se desenvuelven y se convierten en cuerdas largas enredadas. Al enfriarse, conservan la conformación enredada y se vuelven una masa a modo de esponja que atrapa el agua.
- 45 Una dispersión pura de agar (o agarosa) forma un gel reversible con propiedades físicas y estabilidad que dependen de la temperatura.

- El almidón de maíz es también una macromolécula con similitudes al agar. Sin embargo, tiende a aglutinarse mal cuando se pone en agua debido a las fuertes interacciones entre las moléculas adyacentes. Cuando están secas, las partículas de almidón y de agar se pegan unas a otras y minimizan las interacciones almidón-almidón durante la hidratación, de ahí la necesidad de mezclar los ingredientes secos antes de la hidratación. Al igual que el agar, las moléculas de almidón se desenrollan a mayor temperatura y forman un gel suave al enfriarse. El almidón se utiliza como espesante, pero a altas concentraciones forma un gel con poca resistencia al cizallamiento. Su función en el compuesto de gel descrito en el presente documento es proporcionar grupos hidroxilo reactivos para la reticulación y optimizar las propiedades físicas del gel.
- 50
- 55

El bórax es el agente de reticulación que reacciona con los grupos hidroxilo que se encuentran en los carbohidratos como el almidón o el agar. La reticulación solidifica permanentemente el gel. La reacción es rápida inicialmente, por lo que el gel debe verse rápidamente después de incorporar el bórax a la mezcla.

El bórax y el agar o el almidón por sí solos producirán un gel permanente, pero estas composiciones binarias (bórax/agar o bórax/almidón) se utilizan para obtener propiedades físicas tales como la resistencia al cizallamiento necesaria a los efectos de la presente solicitud.

5 El agar es un componente importante en los materiales formadores de gel. Una de las razones preferidas para el uso del agar en lugar de otros materiales de formación de gel, tales como la gelatina, es que el agar no se tiñe con eosina. Por lo tanto, durante la evaluación microscópica, los tejidos pueden distinguirse muy fácilmente del gel circundante.

10 El metilparabeno es un agente antimicrobiano. Sin él, los geles se enmohecen después de varios días.

El agua es el mayor componente de esta formulación. El agua desionizada o destilada es adecuada, así como el agua del grifo. Un factor importante en la preparación del compuesto de gel es la temperatura del agua. Preferiblemente, el agua debe estar fría (por ejemplo, a menos de unos 25 °C), porque incluso el agua tibia provocará un mayor grado de aglutinación. El agua debe estar fría cuando se añada por primera vez a la mezcla de almidón-agar, porque el agua caliente provocará un mayor grado de aglomeración del almidón de maíz, lo que dificulta la mezcla inicial.

15

Variaciones en el proceso de fabricación que no forman parte de la presente invención.

20

El orden de adición de los materiales secos iniciales (por ejemplo, agar, almidón de maíz y metilparabeno), así como el agua, puede cambiarse según la comodidad del proceso de fabricación.

Los materiales pueden calentarse de manera convencional o con microondas. Se ha descubierto que el calentamiento con microondas es especialmente adecuado para calentar lotes pequeños. Más específicamente, se ha observado que el tiempo de calentamiento se reduce significativamente y se obtiene un calentamiento más homogéneo sin que el material se asiente y se pegue a la parte inferior del recipiente.

25

La variación de las proporciones de las materias primas, como agar, almidón de maíz, bórax, agua, etc., puede afectar a las propiedades físicas del gel en diferentes grados. Sin embargo, puede obtenerse un gel con propiedades físicas viables en una gama considerable de reactantes. Se ha demostrado que las formulaciones presentadas en los Ejemplos 1 y 2 proporcionan una consistencia mejorada de lote a lote en los procesos de fabricación descritos.

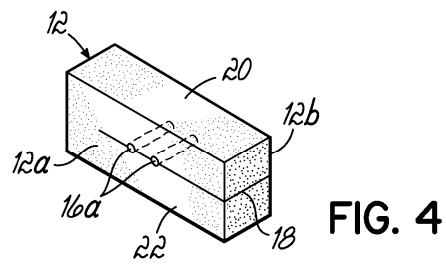
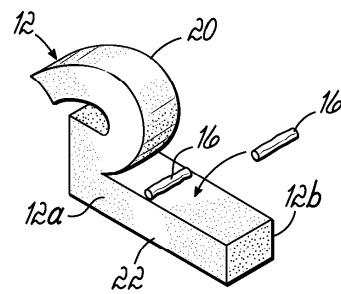
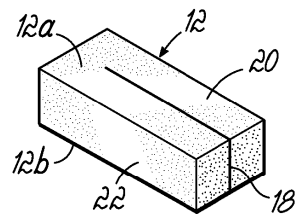
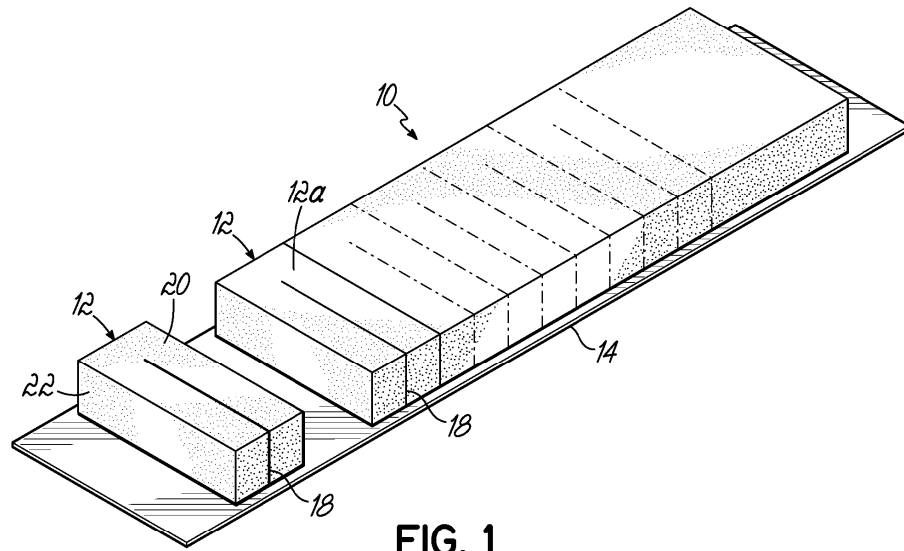
30

Los expertos en la materia podrán apreciar fácilmente ventajas y modificaciones adicionales dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

35

REIVINDICACIONES

1. Una estructura de soporte de muestras de tejido que se puede cortar para orientar, procesar, incluir y cortar con micrótopo una muestra (16) de tejido, que comprende un bloque (12) de compuesto de gel preformado en una forma geométrica tridimensional de autosoporte, incluyendo el bloque (12) de compuesto de gel unas porciones (20,22) primera y segunda elásticamente deformables, **caracterizada por que** el bloque (12) de compuesto de gel comprende además un orificio, rendija o surco formado en el bloque (12) de compuesto de gel preformado con forma geométrica, para retener la muestra (16) de tejido entre las porciones (20, 22) primera y segunda elásticamente deformables del mismo bloque de compuesto de gel preformado con forma geométrica, en que las porciones (20, 22) primera y segunda elásticamente deformables están situadas a ambos lados del orificio, rendija o surco, y están configuradas para aplicar una fuerza a la muestra (16) de tejido para retener de ese modo la muestra (16) de tejido para la retención y orientación de la muestra de tejido durante un proceso de histopatología que incluye el procesamiento, la inclusión y el corte con micrótopo de la muestra (16) de tejido.
2. La estructura de soporte de muestras de tejido que se puede cortar de la reivindicación 1, en donde el orificio, rendija o surco comprende además un rebaje alargado formado longitudinalmente a lo largo de una superficie exterior del bloque (12) de compuesto de gel preformado con forma geométrica.
3. La estructura de soporte de muestras de tejido que se puede cortar de cualquier reivindicación anterior, en donde el bloque (12) de compuesto de gel es elástico de tal manera que después de la deformación de una forma original, el bloque (12) de compuesto de gel vuelve a la forma original.
4. La estructura de soporte de muestras de tejido que se puede cortar de cualquier reivindicación anterior, en donde el bloque (12) de compuesto de gel es permeable a los líquidos y reactivos utilizados en el procesamiento de la muestra (16) de tejido para proporcionar de ese modo la conservación transversal completa de la muestra (16) de tejido.
5. Una estructura de soporte de muestras de tejido que se puede cortar preempaquetada que comprende:
la estructura de soporte de muestras de tejido que se puede cortar como se expone en cualquiera de las reivindicaciones anteriores; y un paquete (40, 42) que encierra el bloque (12) de compuesto de gel en condiciones limpias o incluso estériles, a prueba de humedad.



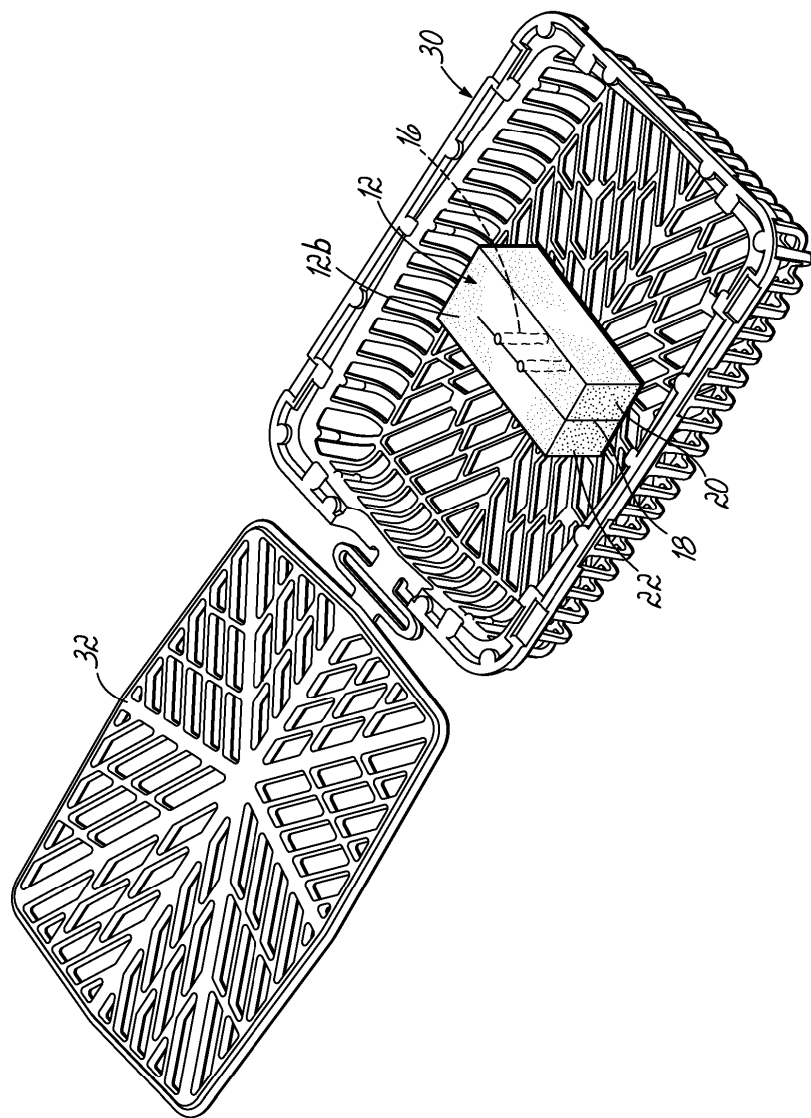


FIG. 5

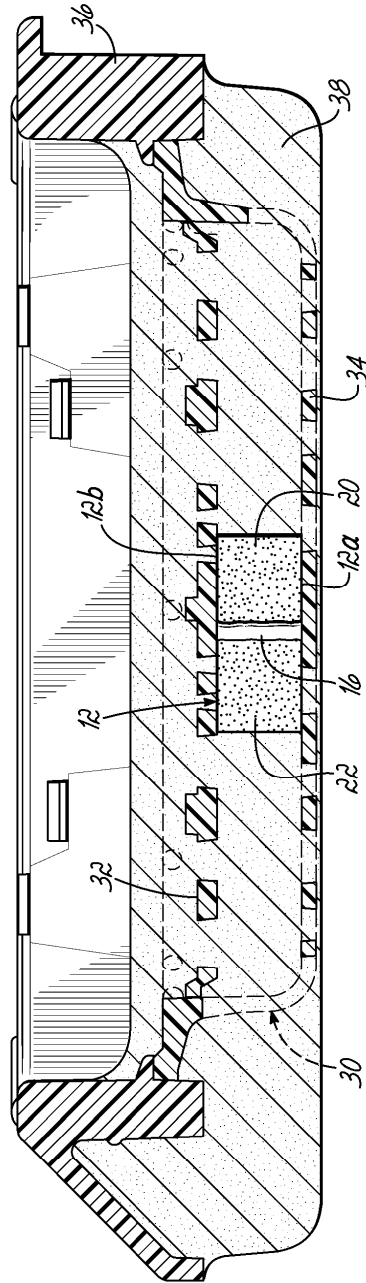


FIG. 6

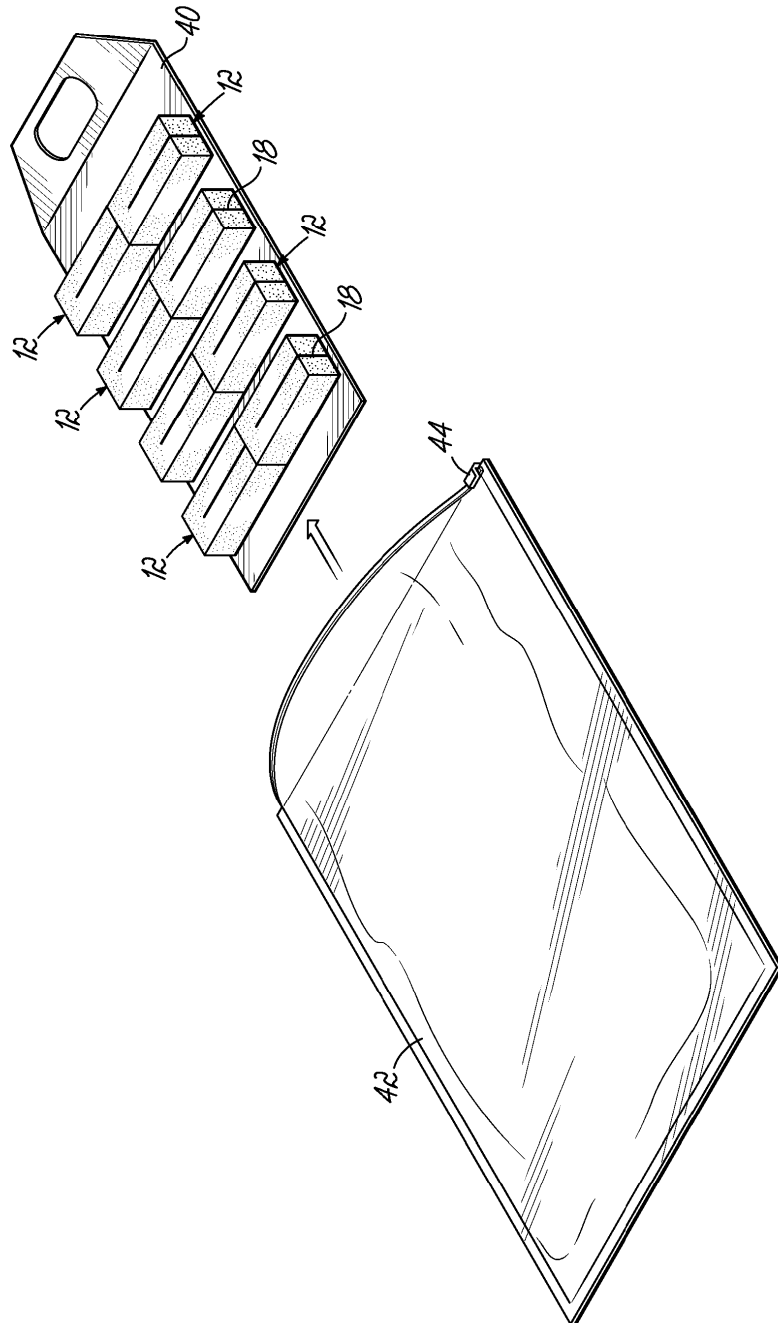


FIG. 7

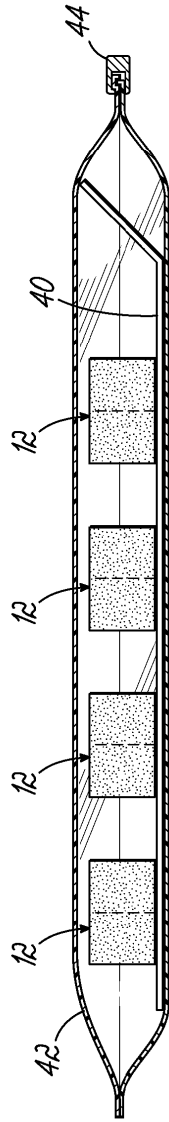


FIG. 8

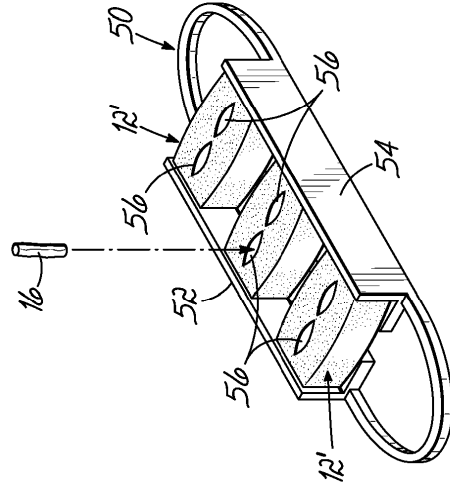


FIG. 9B

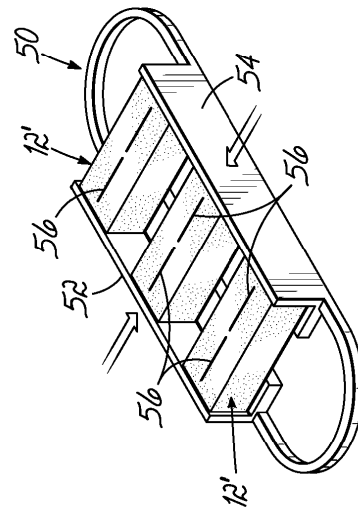


FIG. 9A

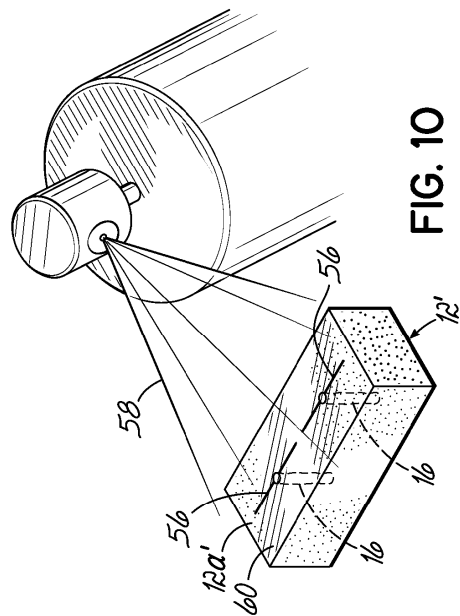


FIG. 10

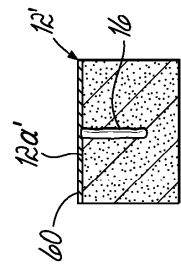


FIG. 11

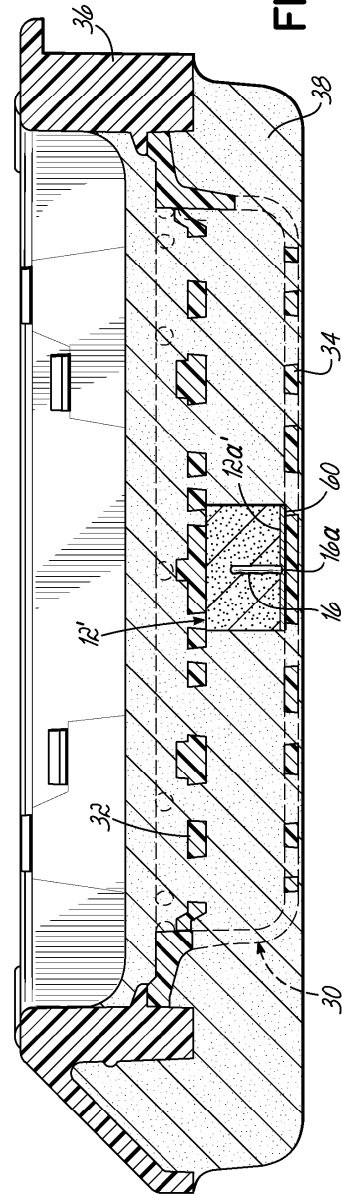


FIG. 12

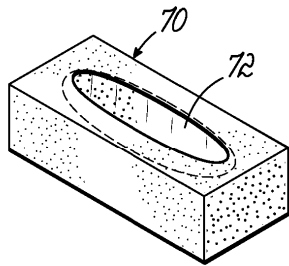


FIG. 13

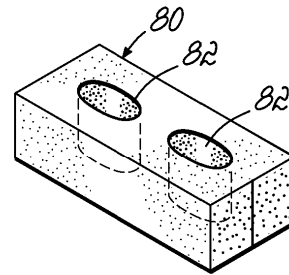


FIG. 14

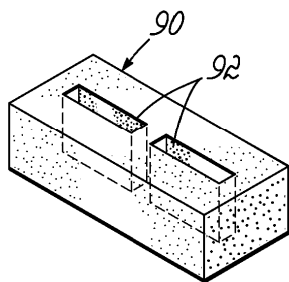


FIG. 15

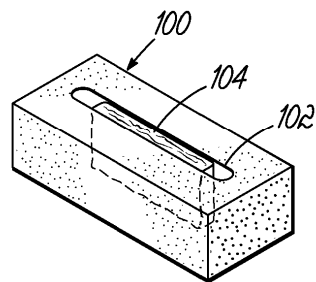


FIG. 16

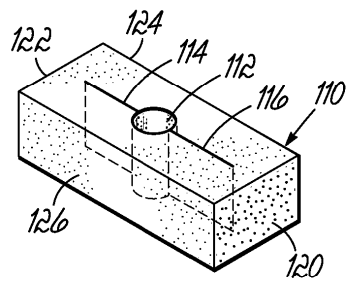


FIG. 17A

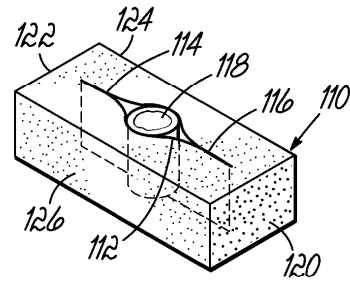


FIG. 17B

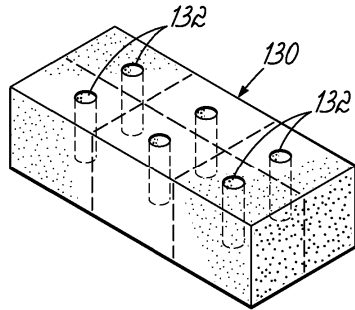


FIG. 18

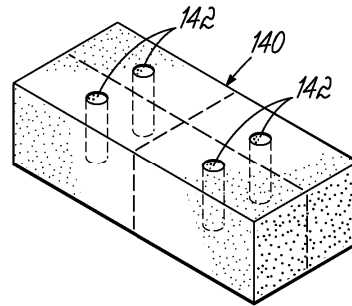


FIG. 19

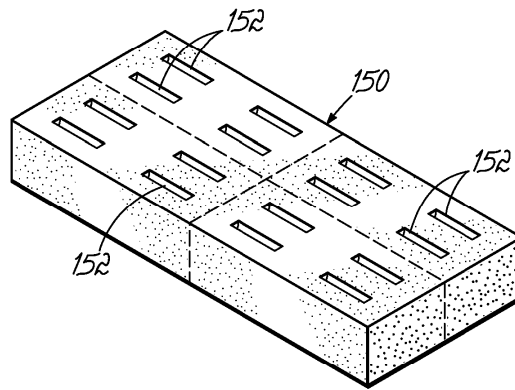


FIG. 20

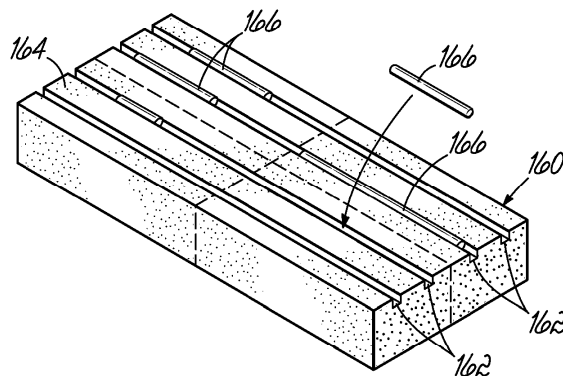


FIG. 21A

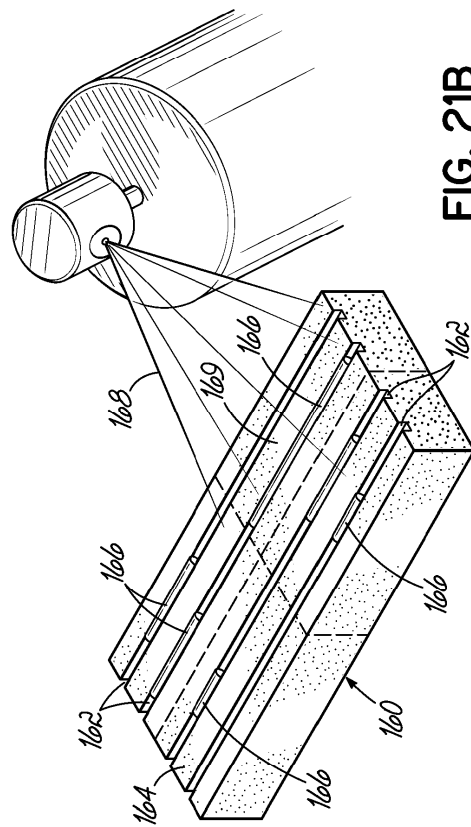


FIG. 21B

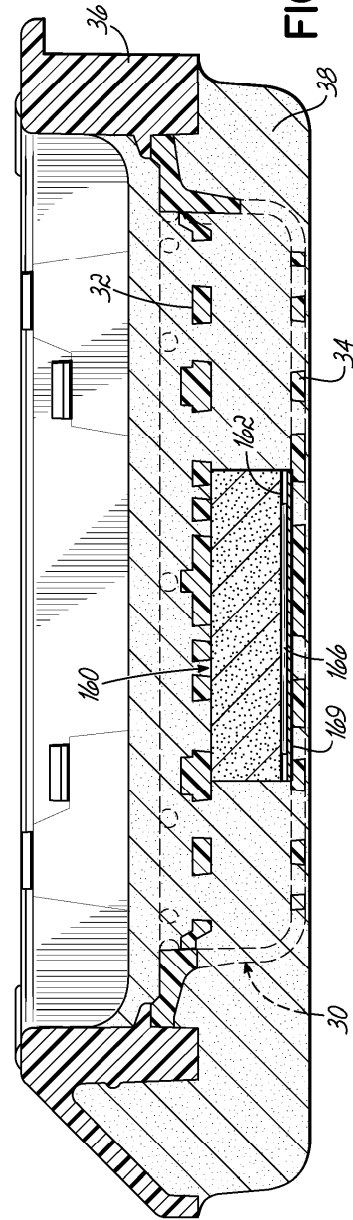


FIG. 21C

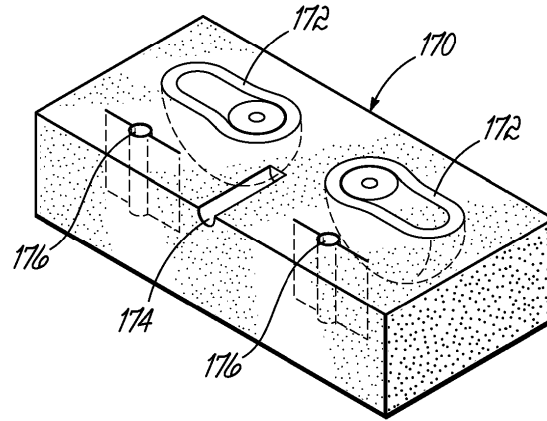


FIG. 22

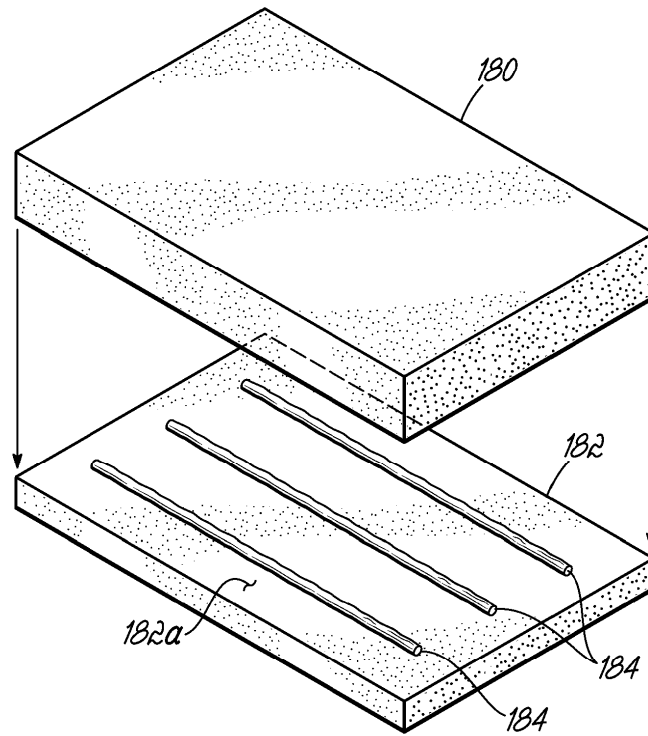


FIG. 23

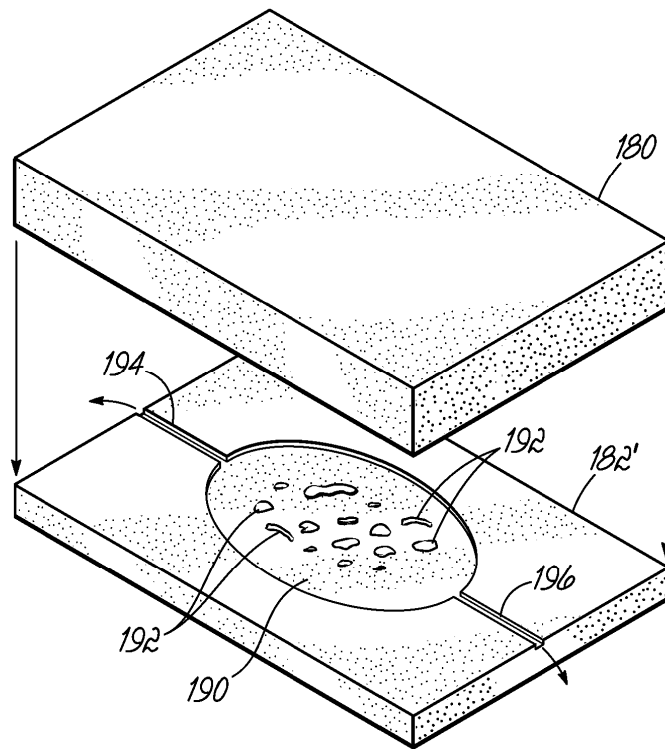


FIG. 24

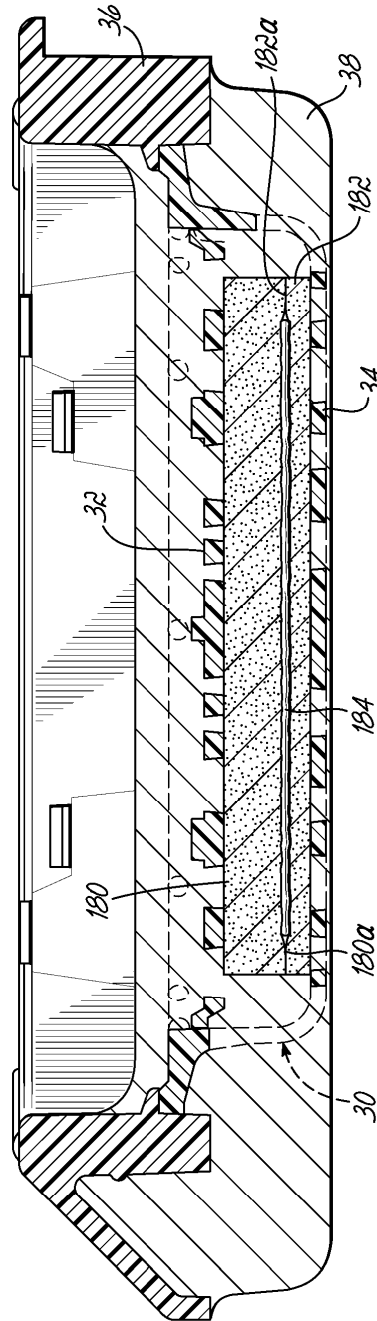


FIG. 25