

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 996 344**

51 Int. Cl.:

C12M 3/00 (2006.01)

C12M 3/08 (2006.01)

C12M 1/33 (2006.01)

C12M 1/00 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **14.03.2014 E 19208169 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **16.10.2024 EP 3674396**

54 Título: **Sistemas y métodos para el procesamiento de tejidos y la preparación de una suspensión celular a partir de los mismos**

30 Prioridad:

14.03.2013 US 201361783422 P

13.04.2013 AU 2013205148

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

12.02.2025

73 Titular/es:

AVITA MEDICAL AMERICAS, LLC (100.00%)

28159 Avenue Stanford, Suite 200

Valencia, CA 91355, US

72 Inventor/es:

QUICK, ANDREW PERRY;

FENCIL, DAVID ALLEN y

DOLPHIN, WILLIAM FORD

74 Agente/Representante:

ISERN JARA, Jorge

Observaciones:

Véase nota informativa (Remarks, Remarques o Bemerkungen) en el folleto original publicado por la Oficina Europea de Patentes

ES 2 996 344 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

Sistemas y métodos para el procesamiento de tejidos y la preparación de una suspensión celular a partir de los mismos

5 Campo de la invención

Esta invención se refiere a un dispositivo al menos parcialmente automatizado y su uso para preparar una suspensión celular, particularmente una suspensión que comprende células epiteliales viables útiles en la regeneración de tejidos.

10 Antecedentes

La regeneración de tejidos en humanos es extremadamente limitada y constituye un desafío importante para la reparación de la función del órgano dañado. El tratamiento de heridas es un área típica donde se requiere la regeneración de tejidos. Las heridas (laceraciones o aberturas) en el tejido de los mamíferos pueden dar como resultado la ruptura del tejido y la coagulación de la microvasculatura en la cara de la herida. La reparación de dicho tejido representa una respuesta celular ordenada y controlada a la lesión. Todas las heridas de tejidos blandos, independientemente de su tamaño, sanan de manera similar. Los mecanismos de crecimiento y reparación de tejidos son sistemas biológicos en donde la proliferación celular y la angiogénesis se produce en presencia de un gradiente de oxígeno. Los cambios secuenciales morfológicos y estructurales, que se producen durante la reparación del tejido, se han caracterizado con gran detalle y, en algunos casos, se han cuantificado. Ver Hunt, T.K., et al., "Coagulation and macrophage stimulation of angiogenesis and wound healing," *The surgical wound*, pp. 1-18, ed. F. Dineen y G. Hildrick-Smith (Lea y Febiger, Filadelfia: 1981).

El documento EP 2 502 986 describe un dispositivo de procesamiento de células de cartílago basado en módulo automatizado o semiautomatizado para preparar un material biológico en forma de un portador sembrado con células.

La regeneración de tejidos en diversos órganos, tales como la piel o el corazón, depende de que el tejido conectivo restaure el suministro de sangre y permita que las células residuales específicas de órganos, tales como los queratinocitos o las células musculares, reestablezcan la integridad del órgano. Por lo tanto, una función relevante de las células mesenquimales, por ejemplo, los fibroblastos o, además, las células endoteliales de la vasculatura, es la secreción de factores que potencian el proceso de cicatrización, por ejemplo, factores que promueven la formación de nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis) o factores que promueven la reepitelización mediante la proliferación y la migración de queratinocitos.

La morfología celular de una herida comprende tres zonas distintas. El espacio avascular central de la herida es deficiente en oxígeno, acidótico e hipercárbico, y tiene altos niveles de lactato. Adyacente a la trayectoria de la herida hay una zona de gradiente de isquemia local, que se puebla por fibroblastos en división. Detrás de la zona principal hay un área de síntesis activa de colágeno caracterizada por fibroblastos maduros y numerosos capilares recién formados (es decir, neovascularización). Si bien el crecimiento de nuevos vasos sanguíneos (angiogénesis) es necesario para la cicatrización del tejido de la herida, los agentes angiogénicos son incapaces generalmente de satisfacer la necesidad percibida desde hace tiempo de proporcionar los efectos biosintéticos adicionales de la reparación del tejido. Además de la herida aguda (por ejemplo, quemadura o laceración provocada por un traumatismo), la herida creada artificialmente (por ejemplo, en un sitio donante de injerto, indicación estética, procedimiento plástico o tratamiento dérmico), la herida crónica (por ejemplo, úlceras diabéticas o venosas) y otras indicaciones tales como la remodelación de cicatrices, lesiones de pérdida de piel glabra, problemas de pigmentación, vitíligo, leucodermia y los procedimientos de rejuvenecimiento cosmético, también requieren productos terapéuticos rápidos y eficientes. A pesar de la necesidad de una cicatrización más rápida de las heridas (por ejemplo, quemaduras graves, incisiones quirúrgicas, laceraciones y otros traumas), hasta la fecha solo ha habido un éxito limitado en acelerar la cicatrización de la herida con agentes farmacológicos.

El objetivo principal en el tratamiento convencional de las heridas es lograr el cierre de la herida. Las heridas cutáneas abiertas representan una categoría importante de heridas. Esta categoría incluye heridas quirúrgicas agudas y traumáticas, por ejemplo, úlceras crónicas quemaduras, así como también heridas crónicas tales como úlceras neuropáticas, llagas por presión, úlceras arteriales y venosas (estasis) o arteriovenosas mixtas y úlceras diabéticas. Las heridas cutáneas abiertas cicatrizan rutinariamente mediante un proceso que comprende seis componentes principales: i) inflamación, ii) proliferación de fibroblastos, iii) proliferación de vasos sanguíneos, iv) síntesis de tejido conectivo, v) epitelización y vi) contracción de la herida. La cicatrización de la herida se ve afectada cuando estos componentes, ya sea individualmente o en conjunto, no funcionan correctamente. Numerosos factores pueden afectar la cicatrización de la herida, incluyendo desnutrición, infección, agentes farmacológicos (por ejemplo, fármacos citotóxicos y corticosteroides), diabetes y edad avanzada. Ver Hunt et al., en *Current Surgical Diagnosis & Treatment* (Way; Appleton y Lange), pp. 86-98 (1988).

Las heridas cutáneas que no cicatrizan fácilmente pueden provocar al sujeto una angustia física, emocional y social considerable, así como también un gran gasto financiero. Ver, por ejemplo, Richey et al., *Annals of Plastic Surgery* 65 23(2): 159-65 (1989). De hecho, las heridas que no cicatrizan correctamente pueden requerir finalmente tratamientos quirúrgicos agresivos, tales como el injerto de piel autólogo (donde se injertan láminas de piel) o el injerto de dermis cultivada. Por ejemplo, los procedimientos de autoinjerto epitelial cultivado (CEA) toman células de la piel del paciente

para hacer crecer nuevas células de la piel en láminas en un laboratorio. Las nuevas láminas se usan como injertos. Sin embargo, la tasa de prendimiento de estos injertos no es satisfactoria. Ver, por ejemplo, Sood et al., *Journal of Burn Care Research* 31(4):559-68 (2010)). Los procedimientos de injerto más novedosos combinan el CEA con una matriz para un mayor soporte. Por ejemplo, actualmente se dispone de productos como dermis cultivadas o modificadas genéticamente que tienen matrices diferentes en las que se incorporan fibroblastos, tales como TransCyte® y Dermagraft®. Sin embargo, estos productos no son eficientes para inducir la epitelización en heridas grandes. La piel cultivada/modificada genéticamente que incorpora células epidérmicas y fibroblastos está disponible como Apligraf® (NOVARTIS Pharma) y VivoDerm® (Bristol-Myers Squibb). Sin embargo, existen problemas con respecto a la afinidad entre la capa epidérmica cultivada y la capa dérmica e insuficiencia en el efecto clínico que puede obtenerse.

Existe la necesidad de mejorar la cicatrización de la herida y en términos más generales, de una técnica de regeneración tisular mejorada. La presente invención proporciona una suspensión celular autóloga adecuada para la aplicación en diversos sitios receptores, que puede usarse sin tener en cuenta el tipo o tejido de la herida o la naturaleza de la población de pacientes. Además, se proporcionan dispositivos automatizados y el uso de estos para preparar dicha suspensión.

Sumario de la invención

De acuerdo con la invención, se proporciona un sistema para preparar células para trasplantar en un proceso automatizado de acuerdo con la reivindicación 1.

En algunas realizaciones, el cartucho se sella en un paquete estéril antes de su uso. El desintegrador puede ser una malla, tamiz, rejilla, cuchilla o cualquiera de sus combinaciones. En algunos diseños, el cartucho comprende, además, una tapa colocada de manera desmontable o en forma de bisagra a la cámara de procesamiento de tejidos para activar el mecanismo de accionamiento, en donde la tapa tiene un sello para sellar la cámara de procesamiento de tejidos. Por ejemplo, el sello en un primer lado frente a la cámara de procesamiento de tejidos puede tener una superficie de trabajo, en donde cuando el miembro desintegrador se acciona y se coloca sobre un segundo lado del sello frente al miembro desintegrador, la superficie de trabajo está en contacto con el tejido colocado en la cámara de procesamiento de tejidos. El cartucho puede comprender, además, un mecanismo de bloqueo para asegurar la tapa una vez colocada en la cámara de procesamiento de tejidos, de manera que la tapa permanezca colocada cuando el sistema está en uso.

En diversas realizaciones, el cartucho comprende, además, un primer paquete para proporcionar una solución enzimática y un segundo paquete para proporcionar una solución tampón, ambos paquetes en comunicación continua con la cámara de procesamiento de tejidos, en donde la solución enzimática descompone la matriz extracelular en el tejido disociando químicamente de esta manera el tejido, y en donde la solución tampón lava el tejido disociado y suspende las células en la suspensión celular. Por ejemplo, el primer paquete puede tener un primer y un segundo contenedor separados por un sello rompible, el primer contenedor contiene agua estéril y el segundo contenedor contiene polvo enzimático liofilizado, en donde cuando el sello se rompe, el polvo enzimático liofilizado se encuentra con el agua estéril y se disuelve en la misma. Dicho primer o segundo contenedor puede ser una bolsa, un frasco o una jeringa. Para suministrar los reactivos al tejido, la consola puede comprender, además, un primer mecanismo de presurización para impulsar la solución enzimática y un segundo mecanismo de presurización para impulsar la solución tampón hacia fuera del primer paquete y del segundo paquete, respectivamente, en la cámara de procesamiento de tejidos. En algunas realizaciones, el primer paquete recolecta, además, la solución enzimática de desecho después de su uso y el segundo paquete recolecta, además, la solución tampón de desecho después de su uso. Todos los desechos también pueden recolectarse en un paquete. El primer paquete puede estar en comunicación continua con una primera bomba para bombear la solución enzimática y la solución enzimática de desecho. Además, el segundo paquete puede estar en comunicación continua con una segunda bomba para bombear la solución tampón y la solución tampón de desecho. En algunas realizaciones, el cartucho comprende, además, una bomba para extraer la suspensión celular de la cámara de recolección de células y, subsecuentemente, después de rellenarse, bombear la suspensión celular en el aplicador, la tercera bomba en comunicación continua con la cámara de recolección de células y el aplicador. Dos o todas de la primera, segunda y tercera bombas pueden ser la misma bomba. La primera, segunda o tercera bomba puede ser una bomba peristáltica, jeringa u otro tipo de bomba y puede ser desechable o reutilizable. En algunas realizaciones, el cartucho comprende, además, una primera jeringa para recolectar la solución enzimática de desecho y una segunda jeringa para recolectar la solución tampón de desecho, ambas jeringas en comunicación continua con la cámara de recolección de células. El cartucho también puede comprender, además, una tercera jeringa para extraer la suspensión celular de la cámara de recolección de células y, subsecuentemente, después de rellenarla, bombear la suspensión celular en el aplicador, la tercera jeringa en comunicación continua con la cámara de recolección de células y el aplicador. En ciertas realizaciones, el cartucho comprende, además, un detector de fluido para la dosificación controlada de la solución enzimática y la solución tampón. Como una alternativa a las bolsas, el cartucho puede incluir tres contenedores para proporcionar una solución enzimática, agua estéril y polvo enzimático liofilizado, respectivamente.

En ciertas realizaciones, pueden bombearse pequeñas cantidades de la solución enzimática hacia dentro y hacia fuera de la cámara durante la incubación (por ejemplo, a intervalos o frecuencia establecidos), para ayudar a agitar la solución enzimática y acelerar el procesamiento/desintegración de los tejidos.

- 5 En diversas realizaciones, el cartucho puede comprender, además, al menos un contenedor de suministro para proporcionar un agente exógeno. El contenedor de suministro puede ser el mismo paquete que proporciona la solución tampón (por ejemplo, la solución tampón puede incluir el agente exógeno o puede reemplazarse con una solución del agente exógeno después de la liberación de la solución tampón a partir del paquete). El agente exógeno puede ser, por ejemplo, una proteína de choque térmico o un fragmento de la misma, ácido hialurónico, plasma enriquecido en plaquetas, un factor de crecimiento, células madre adiposas o cualquier combinación de los anteriores.
- 10 En ciertas realizaciones, el cartucho comprende, además, un filtro situado entre el desintegrador y la cámara de recolección de células, para filtrar el tejido procesado para eliminar agregados grandes. Alternativa o adicionalmente, puede colocarse un filtro entre la cámara de recolección de células y el aplicador, para filtrar la suspensión celular para eliminar agregados grandes.
- 15 En algunas realizaciones, el cartucho comprende, además, un mecanismo para equilibrar la presión durante el movimiento del fluido, que puede ser un filtro antimicrobiano o una trayectoria tortuosa.
- 20 Cuando sea conveniente o necesario, uno o más componentes del cartucho en contacto con un material biológico se ensamblan de manera desmontable dentro del mismo de manera que dicho componente pueda retirarse del cartucho para eliminar riesgos biológicos, lo que permite que el resto del cartucho se recicle.
- 25 El aplicador puede ser una parte del sistema o un dispositivo independiente. Una superficie externa del aplicador puede sellarse en un paquete estéril antes de transportarlo a un área estéril para el trasplante de células. En algunas realizaciones, el aplicador es capaz de dispensar, rociar o gotear la suspensión celular dentro del mismo en un sitio receptor o un soporte. El aplicador puede presurizarse o accionarse por resorte. El aplicador puede tener un cabezal pivotante para la aplicación axial de la suspensión celular. Como alternativa o además del aplicador, el sistema puede incluir un soporte o sustrato para recibir la suspensión celular, en donde el soporte, después de recibir la suspensión celular, se presenta para el trasplante o cultivo. El soporte puede ser una matriz, un armazón, un apósito o cualquiera de sus combinaciones; el soporte puede ser sólido, semisólido, poroso o fragmentado.
- 30 En diversas realizaciones, el miembro desintegrador puede ser parte de la consola (por ejemplo, conectado al mecanismo de accionamiento) o parte del cartucho (por ejemplo, situado en la cámara de procesamiento de tejidos y, por ejemplo, conectado a la tapa). El miembro desintegrador comprende una mano de mortero. En algunas realizaciones, cuando se usa una mano de mortero, la mano de mortero puede bajar y subir cíclicamente y/o girar para promover el procesamiento del tejido. Además, la mano de mortero puede tener una o más aletas.
- 35 En algunas realizaciones, la consola comprende, además, uno o más de: un mecanismo para retirar y expulsar el cartucho hacia dentro o hacia fuera de la consola; un cerrojo para evitar la extracción del cartucho durante el procesamiento; una interfaz de operario para controlar el tiempo de procesamiento, el volumen de suspensión necesario y la activación del procesamiento de tejidos; un panel de visualización que muestra el estado del procesamiento del tejido; y un mecanismo de expulsión para expulsar el aplicador cuando se rellena.
- 40 En diversas realizaciones, el sistema puede incluir un programa informático de control personalizado para dirigir un procesador o chip de ordenador en la consola para controlar el proceso automatizado. El sistema puede conectarse, además, a un ordenador externo para recolectar y procesar los datos.
- 45 Además de la consola, el cartucho puede tener, además, un mecanismo para proporcionar energía (por ejemplo, calor) para suministrar una fuerza mecánica y/o un reactivo químico al tejido.
- 50 En ciertas realizaciones, el tejido puede ser una muestra de tejido al menos parcialmente procesada antes de colocarse en el cartucho. Por ejemplo, la muestra de tejido al menos parcialmente procesada se ha sometido a incubación con una enzima para descomponer la matriz extracelular en el tejido, lo que disocia químicamente de esta manera el tejido.
- 55 En diversas realizaciones, el cartucho puede comprender, además, un contenedor para proporcionar una solución que comprende el reactivo químico, en donde el reactivo químico es capaz de descomponer la matriz extracelular en el tejido. En consecuencia, la consola comprende, además, un mecanismo de presurización para impulsar la solución hacia fuera del contenedor y hacia dentro de la cámara de procesamiento de tejidos, lo que disocia químicamente de esta manera el tejido dentro del mismo.
- 60 En algunas realizaciones, el cartucho puede sellarse en un paquete estéril antes de su uso. El cartucho puede comprender, además, una tapa colocada de manera desmontable o en forma de bisagra a la cámara de procesamiento de tejidos para activar el mecanismo de accionamiento, en donde la tapa tiene un sello para sellar la cámara de procesamiento de tejidos. En una realización, el sello en un primer lado frente a la cámara de procesamiento de tejidos tiene una superficie de trabajo, en donde cuando el miembro desintegrador se acciona y se coloca sobre un segundo lado del sello frente al miembro desintegrador, la superficie de trabajo está en contacto con el tejido colocado en la cámara de procesamiento de tejidos. En algunas realizaciones, el cartucho comprende, además, un mecanismo de bloqueo para asegurar la tapa una vez colocada en la cámara de procesamiento de tejidos, de manera que la tapa permanezca colocada cuando el sistema está en uso.
- 65

5 En algunas realizaciones, el cartucho comprende, además, al menos un contenedor de suministro para proporcionar un agente exógeno, que puede ser una proteína de choque térmico o un fragmento de la misma, ácido hialurónico, plasma enriquecido en plaquetas, un factor de crecimiento, células madre adiposas o cualquier combinación de los anteriores.

10 En ciertas realizaciones, la consola comprende, además, un miembro desintegrador y un mecanismo de accionamiento para el mismo, en donde cuando se acciona, el miembro desintegrador se engrana con la cámara de procesamiento de tejidos y ejerce una fuerza mecánica sobre el tejido colocado en la misma, lo que disocia mecánicamente de esta manera el tejido. En algunas realizaciones, el cartucho comprende, además, un miembro desintegrador situado en la cámara de procesamiento de tejidos. El miembro desintegrador comprende una mano de mortero, y el desintegrador (en el cartucho) puede ser una malla, tamiz, rejilla, cuchilla o cualquiera de sus combinaciones.

15 Como una alternativa o además del miembro desintegrador y el mecanismo de accionamiento, la consola puede comprender, además, una fuente magnética para impulsar el movimiento de un imán colocado en la cámara de procesamiento de tejidos, en donde el movimiento del imán ejerce la fuerza mecánica sobre el tejido colocado en la misma, lo que disocia mecánicamente de esta manera el tejido.

20 El sistema comprende, además, opcionalmente, un aplicador desechable desmontable en comunicación continua, directa o indirectamente, con la cámara de recolección de células y capaz de recibir la suspensión celular a partir de la misma. El aplicador es capaz de dispensar, rociar o gotear la suspensión celular dentro del mismo en un sitio receptor o un soporte. Como una alternativa o además del aplicador, el sistema puede incluir un soporte para recibir la suspensión celular, en donde el soporte, después de recibir la suspensión celular, se presenta para el trasplante o cultivo. El soporte puede ser una matriz, un armazón, un apósito o cualquiera de sus combinaciones; el soporte puede ser sólido, semisólido, poroso o fragmentado.

25 El sistema puede incluir, además, un filtro situado entre el desintegrador y la cámara de recolección de células, para filtrar el tejido procesado para eliminar agregados grandes. Además, puede colocarse un filtro después de la cámara de recolección de células, para filtrar la suspensión celular y eliminar agregados grandes.

30 En algunas realizaciones, uno o más componentes del cartucho en contacto con un material biológico pueden ensamblarse de manera desmontable dentro del mismo para que dicho componente pueda retirarse del cartucho para eliminar riesgos biológicos, lo que permite que el resto del cartucho se recicle.

35 En diversas realizaciones, el sistema puede incluir un programa informático de control personalizado para dirigir un procesador o chip de ordenador en la consola para controlar el proceso automatizado. El sistema puede conectarse, además, a un ordenador externo para recolectar y procesar los datos.

40 Además de la consola, el cartucho puede tener también un mecanismo para proporcionar energía motriz (por ejemplo, calor) para suministrar una fuerza mecánica y/o un reactivo químico al tejido.

Otros aspectos y ventajas de la invención serán aparentes para los expertos en la materia a partir de la siguiente descripción.

45 Descripción detallada

Los expertos en la materia apreciarán que la invención descrita en el presente documento es adaptable a variaciones y modificaciones distintas a las específicamente descritas. Debe entenderse que la invención incluye todas estas variaciones y modificaciones dentro del alcance de las reivindicaciones adjuntas.

50 El alcance de la presente invención no debe limitarse a las realizaciones específicas descritas en el presente documento, que solo pretenden servir de ejemplo.

55 A lo largo de la memoria descriptiva y las reivindicaciones siguientes, a menos que el contexto lo requiera de cualquier otra manera, la palabra "comprender" o variaciones tales como "comprende" o "que comprende", se entenderá que implican la inclusión de un número entero o grupo de números enteros declarados, pero no la exclusión de cualquier otro número entero o grupo de números enteros.

60 Al tener en cuenta lo anterior, esta invención proporciona un dispositivo único adecuado para producir una suspensión celular de tejido vivo adecuada para la aplicación a un paciente en un procedimiento relacionado con el epitelio. Durante el uso del dispositivo, un tejido donante (por ejemplo, epitelio de la piel, tal como epitelio glabro, epitelio respiratorio, epitelio vascular, epitelio corneal y epitelio glandular) se recoge de un paciente y se somete a un medio de disociación de tejidos, y se recolectan las células adecuadas para aplicarlas nuevamente a un sitio receptor del mismo paciente. En algunas realizaciones, las células así recolectadas pueden cultivarse y expandirse *in vitro* antes de aplicarlas a un sitio receptor. Además, las células pueden sembrarse en un armazón o matriz donde las células
65 pueden crecer y/o proliferar en un tejido u órgano artificial.

Las células pueden presentarse en forma de una suspensión de células (usada indistintamente con "suspensión celular" en el presente documento) en una solución que es adecuada para la dispersión inmediata (por ejemplo, inmediatamente después de la obtención y/o filtración sin el cultivo *in vitro* de las células) sobre el sitio receptor. La suspensión celular puede dispersarse (inmediatamente después de la obtención o después del cultivo *in vitro*) sola en el sitio receptor o junto con un factor(es) adicional(es) tal(es) como una proteína(s) de choque térmico, ácido hialurónico, plasma enriquecido en plaquetas, factor(es) de crecimiento, y/o células madre adiposas, para facilitar, por ejemplo, la cicatrización de la herida, el rejuvenecimiento de la piel u otros tratamientos epiteliales. La suspensión celular puede dispersarse mediante rociado, goteo o cualquier otro proceso de aplicación. Además, la suspensión celular puede inyectarse directamente en un tejido.

Aspectos de la presente invención incluyen un sistema de obtención y trasplante de células, que puede incluir: un cartucho para procesar un tejido, que comprende una cámara de procesamiento de tejidos, un desintegrador situado en la misma y una cámara de recolección de células separada de la cámara de procesamiento de tejidos mediante el desintegrador, en donde después de disociar el tejido colocado en la cámara de procesamiento de tejidos mecánica y/o químicamente y hacer pasar el tejido disociado a través del desintegrador, se recolecta una suspensión celular en la cámara de recolección de células; y una consola programable para alojar el cartucho y para proporcionar la energía motriz para suministrar una fuerza mecánica y/o un reactivo químico al tejido, en donde la consola comprende un procesador para controlar la consola para suministrar la fuerza mecánica y/o el reactivo químico.

En algunas realizaciones, el sistema de la presente invención puede ser el sistema del producto ReCell Next Generation (NG). El sistema puede incluir una consola reutilizable, un cartucho desechable (usado en el presente documento indistintamente con "casete") y, opcionalmente, un aplicador desechable. El aplicador puede residir en el cartucho hasta su uso. El cartucho con aplicador puede ser un paquete estéril desechable. El cartucho porta la cámara de procesamiento de tejidos y los materiales necesarios (fluidos y/o sólidos) para tratar y procesar la muestra de piel. El cartucho y el aplicador son dispositivos pasivos que se accionan mecánicamente mediante la consola (después de que el cartucho se inserta en la misma) para lograr el trabajo mecánico sobre el tejido necesario y los movimientos del fluido. Todas las fuentes de energía y controles pueden residir en la consola.

En algunas realizaciones, las funciones básicas del proceso son 1) tratar previamente la muestra de piel sumergiéndola en enzima calentada, 2) enjuagarla con tampón, 3) triturarla mecánicamente mientras se sumerge en una solución tampón adicional para disociar las células requeridas, 4) suspender las células en el tampón a continuación 5) transportar la suspensión del producto al aplicador para que un operario pueda usar manualmente el aplicador para aplicar la suspensión celular al lecho de la herida preparado del paciente.

El procesamiento de tejidos puede llevarse a cabo mediante una serie de métodos o una combinación de métodos. En la realización descrita en el presente documento, el proceso de trituración implica ejercer una fuerza de compresión y/o de rotación sobre la muestra de piel mediante un miembro diseñado especialmente ("superficie de mano de mortero") a la vez que se aplica un movimiento giratorio parcial al miembro. El proceso de manipulación del fluido implica la reconstitución automática de un polvo enzimático con agua estéril antes de la introducción de la solución enzimática en la cámara de procesamiento, y a continuación la eliminación de la enzima a un contenedor de desechos seguido de una o múltiples introducciones de tampón u otra solución en la cámara durante el resto del proceso. Finalmente, el fluido de producto, una suspensión de células de la piel, se bombea a un aplicador u otro recipiente o matriz para su introducción en una herida.

A continuación, se muestra una descripción del ReCell® NG, una realización posible de la invención. El sistema se diseña, desarrolla y fabrica para proporcionar a los usuarios un dispositivo nuevo y mejorado, automatizado, seguro, eficiente, predecible, confiable y fácil de usar para el tratamiento de áreas más grandes que el kit ReCell manual (Figura 1, descrito en detalle a continuación).

Algunas ventajas de los sistemas automatizados incluyen:

- Minimizan el tiempo de procesamiento
- Eliminan las etapas del proceso manual, minimizan la interacción del usuario y proporcionan un proceso automatizado
- Al final del proceso, proporcionan la suspensión celular al usuario en un recipiente o aplicador, cuyo exterior permanece estéril
- Mejoran el aplicador y la aplicación de la boquilla para un uso más intuitivo
- Proporcionan a los usuarios confianza en la consistencia de la suspensión

A continuación se describen otras características de la presente invención. No obstante, debe entenderse que estos ejemplos se incluyen únicamente con el propósito de ilustrar la presente invención. No debe entenderse de ninguna manera como una restricción en la descripción amplia de la invención como se establece anteriormente.

La siguiente descripción se presenta para proporcionar a los expertos en la materia una descripción ilustrativa de cómo se fabrican y evalúan las composiciones y/o los métodos reivindicados en el presente documento, y pretende ser solo ilustrativa de la invención y no pretende limitar el alcance de lo reivindicado. Las modificaciones y variaciones de diversos aspectos de los siguientes ejemplos serán evidentes para los expertos en la materia y se incluyen dentro del alcance de la presente invención tal como se define en las reivindicaciones. Por ejemplo, aunque se describen algunos

ejemplos en relación con un procedimiento relacionado con la piel, lo mismo puede aplicarse a los tejidos epiteliales no cutáneos (tales como el epitelio respiratorio, el epitelio vascular, el epitelio glandular, el epitelio corneal y similares) con ligeras modificaciones que están bien dentro del nivel de los expertos de la materia.

5 A continuación, se presentan algunos diseños ilustrativos del sistema y diversos componentes del mismo.

1. Información General

10 El sistema ReCell NG es un sistema autólogo de obtención y trasplante de células, usado para tratar una variedad de afecciones de la piel u otras relacionadas con el epitelio, mediante la aplicación de una suspensión líquida de células obtenidas en el área de tratamiento. Esta suspensión celular se prepara a partir de una muestra de la propia piel u otro tejido epitelial del paciente en un proceso automatizado y autólogo.

15 El proceso emplea una enzima y/o una acción mecánica para disociar las células a partir de la muestra de tejido y ponerlas en suspensión en una solución tampón.

20 El sistema incluye un cartucho o casete desechable (Figuras 2A-3B, muestran dos diseños diferentes); una consola reutilizable (Figuras 4A-6B, muestran dos diseños diferentes) en la que se inserta el casete; y opcionalmente, un aplicador desechable (Figuras 7-9) que se aloja en el casete hasta que está listo para su uso.

25 El casete puede proporcionarse estéril y contener los materiales del proceso y una cámara que contiene la muestra de tejido. Este se sella contra la penetración microbiana. El aplicador se rellena con la suspensión celular mientras se aloja en el casete durante el proceso, y a continuación se retira para su uso después de que el casete se extrae de la consola. La consola proporciona parte o la totalidad de la energía motriz y el control. Además de la consola, el cartucho puede tener, además, un mecanismo para proporcionar energía motriz (por ejemplo, calor) para suministrar una fuerza mecánica y/o un reactivo químico al tejido.

30 El aplicador es capaz de dispensar, rociar o gotear la suspensión celular dentro del mismo en un sitio receptor o un soporte. Por ejemplo, el aplicador puede rociar o gotear el fluido de suspensión celular en el área de tratamiento o permitir la aplicación debajo de un apósito de capa de contacto ya en su lugar, a opción del médico. Como una alternativa o además del aplicador, el sistema puede incluir un soporte para recibir la suspensión celular, en donde el soporte, después de recibir la suspensión celular, se presenta para el trasplante o cultivo. El soporte puede ser una matriz, un armazón, un apósito o cualquiera de sus combinaciones; el soporte puede ser sólido, semisólido, poroso o fragmentado.

35 2. ReCell Manual

40 El sistema ReCell NG es una versión al menos parcialmente automatizada del proceso ReCell manual desarrollado previamente.

45 El proceso manual emplea un kit ReCell (Figura 1) que se suministra con componentes estériles y no estériles. El kit ReCell contiene un frasco de agua estéril, uno de enzima liofilizada (polvo) y uno de tampón compuesto de lactato de sodio ("tampón"). La enzima se reconstituye introduciendo 10 ml de agua estéril en el frasco de la enzima. La solución enzimática se coloca a continuación en un pocillo calentado en el kit para llevar la solución hasta 37 grados C. La muestra de piel se coloca a continuación en la enzima calentada durante un período de tiempo para descomponer la matriz extracelular y reducir la unión entre la capa epidérmica y la dérmica. El tampón se extrae de su frasco y se coloca en un pocillo de enjuague en la unidad de procesamiento ReCell. La cantidad requerida de tampón para crear la suspensión celular se introduce en una jeringa de 5 ml. Cantidades crecientes de volumen de la suspensión celular permiten el tratamiento de superficies más amplias. La muestra de piel puede ser una biopsia de grosor dividido (incluye epidermis, la unión dermis-epidermis y algo de dermis) obtenida mediante el uso de un dermatoma u otro dispositivo estándar similar. Pueden usarse biopsias de 1-4 cm cuadrados para crear, por ejemplo, 1-4 ml de suspensión celular. La suspensión celular puede diluirse o concentrarse para aumentar o reducir su volumen, según sea necesario.

55 Una vez que la muestra de piel ha completado el tratamiento en la enzima, se enjuaga en tampón mediante la inmersión en el pocillo de enjuague. La muestra se coloca a continuación en la "bandeja" del kit, con el lado epidérmico hacia arriba. Se usa un bisturí para raspar manualmente las capas de células epidérmicas y de la unión, para recolectar las células en una agrupación pequeña de solución tampón. Mientras se raspa, la muestra se humedece con gotas de solución tampón para llevar las células desagregadas a la suspensión. Se usa la cantidad total correcta de solución tampón para crear el volumen de suspensión celular deseado.

60 La bandeja se inclina manualmente para mover la suspensión celular a una esquina, desde donde se extrae con una jeringa. La suspensión celular se aspira varias veces para enjuagar la bandeja y recolectar el máximo número de células. La suspensión celular se dispensa a continuación desde la jeringa en una cesta tamizadora de células (por ejemplo, con malla de tamaño de 40, 80, 100 o 200 micrómetros, o cualquier otro tamaño dependiendo de la aplicación de filtrado deseada) que se encuentra en un tercer pocillo en la unidad de procesamiento ReCell. Se retira el tamiz y la suspensión celular filtrada se aspira a continuación y se extrae del pocillo con una jeringa nueva y estéril. A

continuación, se ajusta un cabezal de rociado a esta jeringa, lo que crea de esta manera un aplicador que se usa para rociar o gotear la suspensión celular sobre el área de tratamiento. Alternativamente, se usa una aguja roma para introducir la suspensión debajo de un apósito.

5 3. Sistema Recell NG

El proceso automatizado ReCell NG incluye tres subsistemas: Manipulación del fluido (opcional), procesamiento del tejido y aplicación.

10 Los sistemas de manipulación del fluido y de procesamiento de tejidos tienen componentes que encierran y ponen en contacto la muestra de tejido y los fluidos dentro del casete. Estos componentes forman un sistema sellado. Los componentes magnéticos y/o mecánicos de la consola ejercen fuerzas sobre los componentes del sistema sellado, lo que provoca movimientos dentro del sistema sellado sin romper mecánicamente el sello del sistema. Esto logra el trabajo mecánico de la muestra de tejido y los movimientos del fluido, a la vez que se mantiene una barrera microbiana.

15 El sistema se sella contra microbios. La cámara de procesamiento de tejidos puede ventilarse con un respiradero de "trayectoria tortuosa" o un filtro antimicrobiano dentro del sistema para permitir que el aire salga y entre sin llevar microbios al sistema. Esto es necesario para acomodar los cambios de volumen y presión a medida que el fluido se mueve a través del sistema.

20 El trabajo mecánico básico de la muestra de tejido puede lograrse mediante el uso de un miembro desintegrador. En diversas realizaciones, el miembro desintegrador puede ser parte de la consola (por ejemplo, conectado al mecanismo de accionamiento) o parte del cartucho (por ejemplo, situado en la cámara de procesamiento de tejidos y, por ejemplo, conectado a la tapa). El miembro desintegrador puede ser una mano de mortero o un triturador.

25 En un sistema ilustrativo, el trabajo mecánico se logra mediante un miembro giratorio alternativo, la "mano de mortero" (Figuras 13-14), que aplica una fuerza lineal y torsional, y un impacto repetido a la muestra de tejido mediante un sello flexible. (La porción de accionamiento de la mano de mortero ("cilindro de accionamiento de la mano de mortero") es parte de la consola y no toca la muestra de tejido. La muestra de tejido se trabaja por un componente montado en el interior de un sello flexible ("superficie de la mano de mortero") a través del cual se transmite la fuerza desde el miembro de accionamiento en la consola. Estas fuerzas se aplican contra el tejido a medida que se asienta sobre una malla metálica gruesa o cualquier desintegrador de tejido adecuado (por ejemplo, una lámina con agujeros, cuchilla, rejilla, tamiz, etcétera), lo que ayuda a concentrar la fuerza y permite que el líquido y las células goteen a través de los mismos. La superficie de la mano de mortero puede tener múltiples crestas radiales para ayudar también a concentrar las fuerzas, al imitar la acción del bisturí usado en el kit ReCell actual a medida que la mano de mortero gira. El número de crestas, su forma y el movimiento, la fuerza y el tiempo necesarios para efectuar la desagregación pueden ajustarse y optimizarse. Además, puede usarse otro miembro desintegrador, tal como un triturador.

40 Como alternativa o junto con un movimiento de la mano de mortero, el trabajo mecánico puede lograrse mediante la agitación vigorosa de la muestra de tejido que se coloca en un baño de tampón (por ejemplo, un tampón compuesto de lactato de sodio). Por ejemplo, la muestra de tejido puede colocarse en un baño de tampón junto con un agitador magnético estéril en el casete. La consola puede proporcionar una fuerza magnética para impulsar el movimiento (por ejemplo, rotación) del agitador magnético, lo que altera físicamente de esta manera el estrato celular y disocia las células.

45 Una superficie externa del aplicador puede sellarse en un paquete estéril antes de transportarlo a un área estéril para el trasplante de células. Por ejemplo, el aplicador puede alojarse en un compartimento en el casete, que se sella con una película desprendible o cualquier otro paquete estéril, de manera que el exterior del aplicador se mantiene dentro de una barrera microbiana. El aplicador puede ser una parte del sistema o un dispositivo independiente. El aplicador puede presurizarse o accionarse por resorte. El aplicador puede tener un cabezal pivotante para la aplicación axial de la suspensión celular. El aplicador puede rellenarse con la suspensión celular a través de una trayectoria sellada del sistema de manipulación del fluido durante el proceso, de manera que la suspensión celular no se expone hasta que el médico la rocía en el área de tratamiento en el área estéril.

50 Como una alternativa o además del aplicador, el sistema puede incluir un soporte para recibir la suspensión celular, en donde el soporte, después de recibir la suspensión celular, se presenta para el trasplante o cultivo. El soporte puede ser una matriz, un armazón, un apósito o cualquiera de sus combinaciones; el soporte puede ser sólido, semisólido, poroso o fragmentado.

60 4. Sistema de manipulación del fluido

El sistema de manipulación del fluido es opcional. Por ejemplo, si la muestra de tejido se ha procesado parcialmente (por ejemplo, se incubó con una enzima tal como una solución de tripsina y se lavó y se colocó en un tampón) antes de colocarla en el casete, puede eliminarse el sistema de manipulación del fluido. Un sistema de manipulación del fluido ilustrativo se muestra en las Figuras 15A-15C. La Figura 15A es un esquema de su funcionamiento. Las Figuras 15B y 15C son soportes físicos ilustrativos en el cartucho que manipula los fluidos. Esto incluye los elementos siguientes, que son parte del casete a menos que se indique de cualquier otra manera.

En diversas realizaciones, el cartucho comprende un primer paquete para proporcionar una solución enzimática y un segundo paquete para proporcionar una solución tampón, ambos paquetes en comunicación continua con la cámara de procesamiento de tejidos, en donde la solución enzimática descompone la matriz extracelular en el tejido disociando químicamente de esta manera el tejido, y en donde la solución tampón lava el tejido disociado y las células suspendidas en la suspensión celular. Por ejemplo, el primer paquete puede tener un primer y un segundo contenedor separados por un sello rompible, el primer contenedor contiene agua estéril y el segundo contenedor contiene polvo enzimático liofilizado, en donde cuando el sello se rompe, el polvo enzimático liofilizado se encuentra con el agua estéril y se disuelve en la misma. Dicho primer o segundo contenedor puede ser una bolsa, un frasco o una jeringa. Para suministrar los reactivos al tejido, la consola puede comprender, además, un primer mecanismo de presurización para impulsar la solución enzimática y un segundo mecanismo de presurización para impulsar la solución tampón hacia fuera del primer paquete y del segundo paquete, respectivamente, en la cámara de procesamiento de tejidos. En algunas realizaciones, el primer paquete recolecta, además, la solución enzimática de desecho después de su uso y el segundo paquete recolecta, además, la solución tampón de desecho después de su uso. El primer paquete puede estar en comunicación continua con una primera bomba para bombear la solución enzimática y la solución enzimática de desecho. Además, el segundo paquete puede estar en comunicación continua con una segunda bomba para bombear la solución tampón y la solución tampón de desecho. En algunas realizaciones, el cartucho comprende, además, una bomba para extraer la suspensión celular de la cámara de recolección de células, y subsecuentemente, después de rellenarse, bombear la suspensión celular en el aplicador, la tercera bomba en comunicación continua con la cámara de recolección de células y el aplicador. Dos o todas de la primera, segunda y tercera bombas pueden ser la misma bomba. La primera, segunda o tercera bomba puede ser una bomba peristáltica, una jeringa u otro tipo de bomba y puede ser desechable o reutilizable. En algunas realizaciones, el cartucho comprende, además, una primera jeringa para recolectar la solución enzimática de desecho y una segunda jeringa para recolectar la solución tampón de desecho, ambas jeringas en comunicación continua con la cámara de recolección de células. El cartucho también puede comprender, además, una tercera jeringa para extraer la suspensión celular de la cámara de recolección de células, y subsecuentemente, después de rellenarla, bombear la suspensión celular en el aplicador, la tercera jeringa en comunicación continua con la cámara de recolección de células y el aplicador. En ciertas realizaciones, el cartucho comprende, además, un detector de fluido para la dosificación controlada de la solución enzimática y la solución tampón. Como una alternativa a las bolsas, el cartucho puede incluir tres contenedores para proporcionar una solución enzimática, agua estéril y polvo enzimático liofilizado, respectivamente.

Un sistema de manipulación del fluido ilustrativo incluye:

- Dos paquetes sellados que contienen los fluidos y el polvo enzimático (para disociar el tejido químicamente, que puede incluir, por ejemplo, digestión con enzimas tales como tripsina, dispasa, colagenasa, tripsina-EDTA, termolisina, pronasa, hialuronidasa, elastasa, papaína y pancreatina). El paquete 1 tiene dos cámaras separadas por un sello. La primera cámara contiene agua estéril y la segunda cámara contiene polvo enzimático liofilizado. El paquete 2 contiene tampón de lactato de sodio u otra solución para fabricar la suspensión celular. Alternativamente, pueden usarse tres contenedores para proporcionar una solución enzimática, agua estéril y polvo enzimático liofilizado, respectivamente. El agua y la enzima pueden almacenarse en contenedores separados conectados por tuberías u otros medios.
- Se usan dos rodillos (u otro mecanismo de presurización adecuado, tal como placas de presión) (parte de la consola), para impulsar los fluidos hacia fuera de los paquetes.
- Dos trayectorias de fluido conectan los dos paquetes a la cámara de procesamiento de tejidos.
- La cámara de procesamiento de tejidos (también parte del sistema de procesamiento de tejidos).
- La cámara de recolección de células más abajo de la cámara de procesamiento de tejidos.
- Una trayectoria de fluido común que comprende tuberías que se interconectan con una bomba y un detector de fluido/aire, para dosificar y mover los fluidos separados.
- Una trayectoria de fluido para rellenar el aplicador.
- Un conjunto de válvulas de pinza (u otras válvulas tales como válvulas rotativas, de pistón, de compuerta deslizante; parte de la consola) que suben y bajan para cerrar o abrir cada una de las trayectorias de fluido cuando se requiere en el ciclo del proceso.
- El aplicador (opcional), que permanece como parte integral del sistema de manipulación del fluido hasta que se extrae del casete para el uso por el médico en el área estéril.
- En diversas modalidades, el cartucho puede comprender, además, al menos un contenedor de suministro para proporcionar un agente exógeno. Por ejemplo, el agente exógeno puede ser una proteína de choque térmico o un fragmento de la misma, ácido hialurónico, plasma enriquecido en plaquetas, un factor de crecimiento, células madre adiposas o cualquier combinación de los anteriores.

Cuando es conveniente o necesario, uno o más componentes del cartucho o del sistema de manipulación del fluido en contacto con un material biológico, se ensamblan de manera desmontable dentro del mismo de manera que dicho componente pueda retirarse del cartucho para eliminar riesgos biológicos, lo que permite que el resto del cartucho se recicle.

Cuando se necesita una bomba, la bomba puede ser peristáltica, una jeringa u otro tipo de bomba y puede ser desechable o reutilizable. La bomba puede ser parte de la consola y ser reutilizable, o puede ser parte del casete y ser desechable. Por ejemplo, pueden incorporarse un motor de bomba peristáltica y accionadores en la consola durable e interconectarse con un tramo de tubería. El motor de la bomba peristáltica puede tener rodillos unidos a la

misma en una configuración rotativa o en una lineal. Estos rodillos pueden entrar en contacto con la tubería, comprimiendo la tubería para ocluirla e impulsar el fluido a lo largo de la trayectoria de la tubería.

5 Una bomba desechable (por ejemplo, una bomba peristáltica) puede ser ventajosa como una bomba completa, simple y económica que se encierra completamente dentro de la parte de casete consumible del sistema. La bomba desechable puede acoplarse a través de una interfaz física simple a un motor que es parte de la consola durable. Una bomba desechable ilustrativa es Quantex Pump disponible de Quantex Arc Ltd (Londres, Reino Unido).

10 5. Proceso de manipulación del fluido

10 Esto es opcional dependiendo de si la muestra de tejido se ha procesado o procesado parcialmente o no antes de colocarla en el casete. Si la muestra de tejido se ha procesado al menos parcialmente antes de introducirse en el casete, la manipulación del fluido puede omitirse. El procesamiento parcial, en un ejemplo, incluye incubar la muestra de tejido con una enzima tal como una solución de tripsina y lavarla y colocarla en un tampón antes de colocar la muestra de tejido en el casete.

20 Cuando se necesita manipular el fluido, todas las válvulas se cierran con la inserción del casete en la consola. El primer rodillo ("rodillo enzimático") empuja hacia adelante, lo que comprime el agua estéril y rompe el sello con el paquete de polvo enzimático. Esto une las dos cámaras en una.

El primer rodillo se detiene para darle a la enzima un período de retraso para disolverse en agua. El rodillo puede tener un avance porcentual establecido antes de detenerse o controlarse mediante un interruptor de presión.

25 Se abre una primera válvula (en el "tubo de alimentación de enzima"). El primer rodillo continúa entonces el avance, rompe el segundo sello entre el paquete combinado de agua/enzima estéril y el "tubo de alimentación de enzima" que conduce a la cámara de procesamiento de tejidos.

30 El primer rodillo continúa el avance para desplazar la solución enzimática hacia fuera del paquete. Una bomba peristáltica (o cualquier otra bomba) desplaza la solución hacia la cámara de procesamiento de tejidos y la cámara de recolección de células combinadas para rellenarla y cubrir el tejido. La primera válvula se cierra. Un retraso variable/configurable mientras la muestra de tejido se remoja en la solución enzimática. (Nota: la temperatura puede mantenerse con un sensor y un serpentín en la pared de la cámara de procesamiento de tejidos o mediante un pasador térmico que se extiende desde la consola. Durante este período, la mano de mortero puede subir y bajar cíclicamente para ayudar a agitar la solución enzimática y promover el tratamiento del tejido. Esto puede permitir un período de remojo más corto. Además, pueden usarse otros medios para desplazar el fluido empleado, tales como rotar la mano de mortero, con o sin añadir aletas, y bombear cantidades pequeñas de la solución hacia dentro y hacia fuera de la cámara).

40 La primera válvula se abre nuevamente y la bomba peristáltica (o cualquier otra bomba) extrae la solución enzimática hacia fuera de la cámara de procesamiento de tejidos y la cámara de recolección de células combinadas a través del tubo de drenaje enzimático y la almacena en el paquete núm. 1 (la bolsa de enzima ahora vacía) para su almacenamiento como desecho. La primera válvula se cierra. Se abre una segunda válvula (en el "tubo de alimentación de tampón"). El segundo rodillo ("rodillo tampón") avanza parcialmente, lo que rompe el sello. La bomba peristáltica (o cualquier otra bomba) dosifica el volumen y bombea la solución tampón a través del tubo de alimentación del tampón para enjuagar la muestra de tejido en la cámara de procesamiento de tejidos. (El tampón puede ingresar a través de múltiples puertos para cubrir la superficie). Se bombea tampón suficiente para rellenar completamente la combinación de cámara de procesamiento de tejidos/de recolección de células. A continuación, se cierra la válvula.

50 La primera válvula se abre nuevamente. La bomba peristáltica (o cualquier otra bomba) extrae todo el tampón de enjuague hacia fuera de la cámara de procesamiento y lo coloca en el paquete núm. 1 para almacenarlo como desecho.

55 El volumen de la cámara de recolección de células puede ajustarse para el tamaño de la muestra de tejido y el volumen de tampón a usar.

60 A continuación, comienza el proceso de desagregación (ver la sección de procesamiento de tejidos a continuación). La segunda válvula se abre, el segundo rodillo continúa su avance y la bomba peristáltica (o cualquier otra bomba) desplaza la solución tampón a la cámara una o varias veces durante los movimientos de la mano de mortero para mojar repetidamente la muestra de tejido con gotas de solución tampón y se detiene entre estas de forma coordinada con los movimientos de la mano de mortero. La válvula se cierra entre alicuotas. (Nota: El paquete del tampón puede diseñarse con un ancho escalonado para aumentar la precisión volumétrica en las aplicaciones de volumen pequeño. El rodillo puede controlarse con un dosificador de control de flujo.

65 Durante este proceso, el tampón recoge las células que se liberan de la muestra de tejido, y la suspensión celular creada de esta forma drena por gravedad en la cámara de recolección de células, y pasa a través del filtro de 100 micrómetros (o de una malla de tamaño de 40, 80, 150 o 200 micrómetros, o de cualquier otro tamaño, dependiendo de la aplicación de filtrado deseada) montado en la cámara de recolección de células. (Ver la sección sobre el

procesamiento de tejidos y las Figuras 10-12 sobre el ensamblaje de la cámara de procesamiento de tejidos y la de recolección de células). Al final del ciclo de la mano de mortero, se añade tampón adicional a la cámara para enjuagarlo y recolectar todas las células desagregadas y para obtener el volumen necesario de la suspensión celular. Esto puede producirse varias veces para capturar completamente todas las células y lograr el volumen deseado. A continuación, la segunda válvula se cierra y permanece cerrada.

Una vez finalizado el procesamiento del tejido, se abre una válvula (en el "Tubo de recolección de células"). La bomba extrae la suspensión celular hacia fuera de la cámara de recolección (a través de un filtro) y la introduce en el aplicador. La bomba se invierte después y bombea la suspensión celular bruscamente de vuelta a la cámara de procesamiento de tejidos/recolección de células para lavar las células de las superficies de la cámara y de la mano de mortero y activar aún más las células. Esto puede repetirse. Después de este proceso, la suspensión permanece en el aplicador. A continuación, se cierra la válvula.

Puede extraerse tampón adicional desde el paquete del tampón y bombearse a la cámara (como se describió anteriormente) para enjuagarlo y recolectar las células desagregadas adicionales y para completar el volumen necesario de la suspensión celular. Esto puede producirse varias veces para capturar completamente todas las células y lograr el volumen deseado. Esta suspensión adicional se bombea al aplicador y la bomba después se invierte y bombea la suspensión celular bruscamente de vuelta a la cámara de procesamiento de tejidos/recolección de células para lavar las células de las superficies de la cámara y de la mano de mortero y activar aún más las células.

6. Sistema de procesamiento de tejidos

El sistema de procesamiento de tejidos es una combinación de elementos del cartucho y la consola, que se muestran en las Figuras 2A-3B (dos diseños de cartuchos diferentes, núm. 1 y núm. 2), 4A-6B (dos diseños de consola diferentes, núm. 1 y núm. 2) y 10-12 (cámaras de procesamiento de tejidos y de recolección de células).

Cámara de procesamiento de tejidos: Un recipiente construido con resina modificada por ingeniería (o cualquier otro material adecuado) con una malla de acero (o cualquier otro desintegrador adecuado) sobre una abertura en la parte inferior ("malla de procesamiento de tejidos"), soportada por una fuerte estructura de nervadura o circunferencialmente. La parte superior de la cámara se cierra con una tapa ("tapa de la cámara"). Un puerto combinado o dos puertos separados en esta cámara permiten bombear la solución enzimática y la solución tampón. (El tampón puede ingresar a través de uno o dos o múltiples puertos para cubrir la superficie).

Tapa de la cámara: Puede usarse una tapa colocada de manera desmontable o en forma de bisagra a la cámara de procesamiento de tejidos para sellar la abertura superior de la misma, por ejemplo, mediante un accesorio de tipo bayoneta. Una vez cerrada, la tapa puede bloquearse en su lugar mediante un mecanismo de cierre, de manera que la tapa permanezca cerrada durante el procesamiento y no pueda volver a abrirse o reutilizarse después del primer uso. El cuerpo de la tapa incluye un sello de elastómero flexible (por ejemplo, poliuretano), con una superficie de la mano de mortero elevada (convexa esférica) fijada en el lado de la cámara de la tapa y una muesca ranurada en la parte superior. Cuando la tapa se sujeta a la cámara, una ventilación de trayectoria tortuosa en el sello de la junta tórica o en otro lugar (o alternativamente, un filtro antimicrobiano) permite que pase el aire, pero sella contra la intrusión de microbios. La tapa también puede ser sustancialmente rígida con una forma de eje vertical con junta tórica o sellos cuádruples u otro dispositivo de sellado.

Malla de procesamiento de tejidos: Una malla de acero inoxidable con forma esférica cóncava, que cubre una abertura en la parte inferior de la cámara de procesamiento de tejidos y la separa de la cámara de recolección de células más abajo. Cuando la muestra de tejido se coloca en la cámara de procesamiento, se asienta sobre la malla de procesamiento de tejidos. Además, puede usarse cualquier desintegrador de tejido adecuado (por ejemplo, una lámina con agujeros, cuchilla, rejilla, tamiz, etcétera).

Cámara de recolección de células: Una cámara debajo de la cámara de procesamiento de tejidos, con un filtro (por ejemplo, de 100 micrómetros, 200 micrómetros o más grande o pequeño) montado de manera que la suspensión celular que drena de la cámara de procesamiento de tejidos pasa a través del mismo antes de pasar a la parte inferior de la cámara de recolección de células para retirar o recolectar agregados grandes o trozos de tejido. En ciertas realizaciones, el cartucho comprende, además, un filtro situado entre el desintegrador y la cámara de recolección de células, para filtrar el tejido procesado para eliminar los agregados grandes. Alternativa o adicionalmente, puede colocarse un filtro entre la cámara de recolección de células y el aplicador, para filtrar la suspensión celular para eliminar agregados grandes. (Nota: El volumen de la cámara de recolección de células puede ser variable para permitir el uso de diversos volúmenes bajos de solución tampón, mientras se mantiene la cubierta de la muestra de tejido con tampón al final del procesamiento del tejido).

Mecanismo de accionamiento (componente de la consola): Un miembro que permite que las fuerzas pasen a través de la tapa a la muestra de tejido. El mecanismo de accionamiento tendrá una llave que permite el acoplamiento con la tapa de la cámara para permitir la desagregación. Cuando el brazo de pivote está en la posición retraída (Figura 5B, panel superior, Figura 6B, panel superior y Figura 13), se extrae un miembro cilíndrico desintegrador (componente de la consola) de la tapa de manera que no interfiera con el movimiento del casete que se mueve hacia adentro y hacia fuera de la consola; cuando el brazo de pivote está en su lugar (Figura 5B, panel inferior, Figura 6B, panel inferior y

- Figura 14), la parte inferior del miembro desintegrador se coloca sobre un sello o membrana dentro de la tapa. Por ejemplo, el sello en un primer lado frente a la cámara de procesamiento de tejidos puede tener una superficie de trabajo, en donde cuando el miembro desintegrador se acciona y se coloca sobre un segundo lado del sello frente al miembro desintegrador, la superficie de trabajo está en contacto con el tejido colocado en la cámara de procesamiento de tejidos. Alternativamente, el miembro desintegrador puede ser una parte del cartucho (por ejemplo, conectado a la tapa de la cámara o a la cámara de procesamiento de tejidos), de manera que, al acoplarse con el mecanismo de accionamiento, el miembro desintegrador puede trabajarse por el mecanismo de accionamiento para ejercer fuerza sobre el tejido.
- El mecanismo de accionamiento puede girarse en una oscilación a través de un arco. Esto permite la aplicación de torsión a la muestra de tejido.
- La fuerza accionada por resorte o mecánica, magnética u otra sobre el mecanismo de accionamiento permite que se aplique una fuerza constante a la muestra de tejido, directamente o mediante una membrana.
- La subida y bajada cíclica del mecanismo de accionamiento permite que se apliquen fuerzas de impacto o variables a la muestra de tejido.
- Todas las fuerzas aplicadas analizadas anteriormente se transmiten a la muestra de tejido directamente (cuando el miembro desintegrador es una parte del cartucho) o a través del sello en la parte superior de la tapa de la cámara del casete, sin romper el sello, por lo que la barrera microbiana alrededor de la muestra de tejido se mantiene durante todo el proceso.
- Un diseño alternativo o adicional al módulo de la tapa de la cámara y el mecanismo de accionamiento anteriores es para proporcionar un agitador magnético en la cámara de procesamiento de tejidos y accionar el agitador magnético mediante una fuerza magnética proporcionada por la consola. El agitador magnético, después de una agitación lo suficientemente vigorosa, descompone la muestra de tejido en una columna de células que después puede filtrarse y recolectarse en la cámara de recolección de células.
7. Procesamiento de tejidos
- Este proceso busca imitar de alguna manera la acción de raspado del bisturí en la superficie de la bandeja en el kit ReCell manual, con los elementos de trabajo adicionales de una malla metálica y el impacto de la mano de mortero. Estos elementos de trabajo adicionales buscan proporcionar suficiente acción para disociar las células requeridas independientemente de la orientación de la muestra.
- Después del enjuague con tampón descrito anteriormente, el mecanismo de accionamiento se mueve hacia la tapa para acoplarse con la superficie de la tapa de la cámara provista de teclas y aplicar una fuerza (directamente o sobre la superficie de la mano de mortero) contra la muestra de tejido. (Ver la Figura 14).
- Puede aplicarse un mecanismo para subir y bajar cíclicamente y/o girar el mecanismo de accionamiento a una frecuencia prescrita, para proporcionar un impacto cíclico o una fuerza variable de la superficie de la mano de mortero en la muestra de tejido.
- Un enlace montado en el mecanismo de accionamiento proporciona la capacidad de girar el accionador de la mano de mortero. Con las crestas múltiples en la superficie de la mano de mortero, un movimiento oscilante en este arco puede barrer las crestas para cubrir la superficie total de la muestra.
- El proceso anterior continúa durante un número prescrito de ciclos. Cuando se completa, algunos restos de dermis quedarán atrapados en la malla. Las células deseadas se suspenderán en el tampón en la cámara de recolección de células.
- Alternativamente o junto con el mecanismo de accionamiento anterior, la consola puede proporcionar una fuerza magnética que impulsa el movimiento de un agitador magnético colocado previamente en la cámara de procesamiento de tejidos. El movimiento de un agitador magnético puede descomponer la muestra de tejido en una columna de células.
8. Aplicador
- El diseño del aplicador se muestra en las Figuras 7-9.
- El aplicador contiene una jeringa accionada por resorte, con el resorte orientado para resistir el rellenado de la jeringa.
- Se coloca una válvula de operación en el aplicador y se ajusta para permitir que la jeringa del aplicador se rellene, pero para impedir que el fluido salga de la boquilla de rociado en el aplicador.
- Alternativamente, el aplicador puede incluir un tabique o, por ejemplo, una goma de silicona. Este tabique se colocaría adyacente a un tabique asociado en el cartucho. Cuando el cartucho se inserta en la consola, se acopla con una

protuberancia que está estacionaria. Esto fuerza una aguja accionada por resorte a través de ambos tabiques lo que abre una trayectoria de fluido desde la tubería del cartucho al aplicador y permite que se rellene. Cuando se retira el cartucho de la consola, la aguja accionada por resorte se retrae y sella nuevamente ambos tabiques lo que asegura la esterilidad.

5 La compresión por resorte mantiene la presión sobre el fluido mientras está en el aplicador y a medida que se vacía después sobre la superficie de tratamiento.

10 Después de rellenar el aplicador, el casete se retira de la consola y el casete se lleva al área estéril, la enfermera circulante abre la cámara del aplicador aún estéril en el cartucho y la presenta a la enfermera instrumentista o al médico, quien lo recupera asépticamente para su aplicación al paciente.

15 El médico orienta la boquilla del aplicador hacia el área de tratamiento y abre la válvula de operación parcial o totalmente para lograr la fuerza de flujo deseada, desde un goteo hasta un rociado. (La válvula de operación puede ser cualquier válvula adecuada). El aplicador puede tener un cabezal pivotante para la aplicación axial de la suspensión celular.

20 Como una alternativa o además del aplicador, el sistema puede incluir un soporte para recibir la suspensión celular, en donde el soporte, después de recibir la suspensión celular, se presenta para el trasplante o cultivo. El soporte puede ser una matriz, un armazón, un apósito o cualquiera de sus combinaciones; el soporte puede ser sólido, semisólido, poroso o fragmentado.

9. Consola

25 El diseño interno de la consola se muestra en las Figuras 5A-6B como dos diseños diferentes (Diseño de consola núm. 1 y núm. 2).

30 Algunos o todos los componentes mecánicos y eléctricos activos del sistema residen en la consola. (Todos los componentes del casete pueden ser pasivos, impulsados mecánicamente mediante componentes de energía de la consola, con la posible excepción de un serpentín de calentamiento y un sensor que pueden colocarse en el casete). La consola puede tener dispositivos o medios para reconocer que un casete es genuino y no se ha usado previamente basándose en un dispositivo de identificación pasiva en el casete (autenticación, por ejemplo, mediante un código de barras o un chip de identificación). Alternativamente, el cartucho puede tener también algunos componentes activos, tal como un mecanismo para proporcionar energía motriz (por ejemplo, calor) para suministrar una fuerza mecánica
35 y/o un reactivo químico al tejido.

40 En algunas realizaciones, la consola comprende, además, uno o más de: un mecanismo para retirar y expulsar el cartucho hacia dentro o hacia fuera de la consola; un cerrojo para evitar la extracción del cartucho durante el procesamiento; una interfaz de operario para controlar el tiempo de procesamiento, el volumen de suspensión necesario y la activación del procesamiento de tejidos; un panel de visualización que muestra el estado del procesamiento del tejido; y un mecanismo de expulsión para expulsar el aplicador cuando se rellena.

45 En diversas realizaciones, el sistema puede incluir un programa informático de control personalizado para dirigir un procesador o chip de ordenador en la consola para controlar el proceso automatizado. El sistema puede conectarse, además, a un ordenador externo para recolectar y procesar los datos.

Sistemas mecánicos: Los sistemas mecánicos principales se han descrito anteriormente y se resumen a continuación:

- 50 • Rodillos del paquete de fluido: Estos se montan en tornillos de dirección impulsados por motores de paso, un motor para cada rodillo.
- Bomba: Interconecta con la tubería en el cartucho para el movimiento del fluido.
- Mecanismo de accionamiento: Un mecanismo para proporcionar fuerza y oscilación al miembro desintegrador y su enlace de rotación.
- 55 • Accionamiento de la válvula: Las válvulas que controlan la apertura y el cierre de toda la tubería deben accionarse mediante solenoides.

Además, se incluyen controles electrónicos para lograr lo siguiente:

- 60 ■ El funcionamiento de los subsistemas internos del Instrumento ReCell NG puede monitorizarse y controlarse mediante un sistema electrónico que incluye uno o más microcontroladores interconectados a diversos accionadores, sensores y componentes de interfaz del usuario.
- Los recursos adicionales para el(los) microcontrolador(es) pueden incluir una memoria flash, un reloj en tiempo real con batería de respaldo e interfaces en serie para ordenadores externos. Las instrucciones para el microcontrolador se contienen en un programa de microprograma cargado en la memoria flash, lo que permite una fácil instalación de actualizaciones/mejoras.
- 65 ■ Los accionadores, tales como motores, se encienden o apagan mediante microordenadores, a través de circuitos de salida digital (DO). Alternativamente, la energía del motor (y, por lo tanto, la velocidad) puede variarse mediante el uso de salidas digitales controladas por temporizadores y contadores, que es una técnica

llamada modulación por ancho de pulso (PWM).

- Los sensores pueden usarse para medir o indicar parámetros físicos importantes, tales como la posición del mecanismo del rodillo, la fuerza aplicada por un rodillo o una temperatura interna. El microcontrolador lee las salidas de los sensores mediante el uso de un convertidor analógico a digital (ADC) o circuitos de entrada digital (DI).
- La interfaz del usuario (por ejemplo, pantalla táctil LCD en color retroiluminada, pantalla táctil fija, botones o prominencias simples o LED, etcétera) incluye medios de entrada de datos, medios para enviar diversos datos a pantallas, indicadores o generadores de audio. Estos tipos de dispositivos pueden comprarse como un módulo que incluye circuitos para operar los componentes más complejos (por ejemplo, interruptores táctiles o pantallas) y, a menudo, se comunican con el microcontrolador a través de un bus interno.
- Un programa que se ejecuta en el microordenador escanea periódicamente las diversas entradas, tales como los interruptores de la interfaz del usuario, los sensores de posición o un sensor de temperatura, y después determina las acciones de salida apropiadas, tales como encender o apagar un motor o calentador. El programa informático se analiza en detalle a continuación.

Interfaz de operario: Una interfaz de operario ilustrativa puede ser un panel de control. La interfaz también puede ser una pantalla táctil. Pueden incluirse las funciones siguientes:

- Capaz de determinar visualmente los parámetros clave desde una distancia de 3 metros y un progreso de ángulo de 45 ° mínimo (barra u otro indicador visual cualitativo, así como también un reloj de cuenta regresiva)
- Indicador de proceso completo y suspensión lista
- Indicador de fallo o error
- Indicador de energía de CA: se ilumina cuando está enchufado y la energía está disponible, independientemente de si la consola está encendida o apagada.
- Interruptor de encendido/apagado
- Indicaciones de estado
- Encendido/apagado
- Procesamiento y estado de ejecución
- Modo de ahorro de energía
- Fallo/error
- La interfaz del usuario debe ser legible en diferentes condiciones de iluminación, incluyendo las condiciones de iluminación que se encuentran en un quirófano típico
- Temporizador de cuenta regresiva para ser preciso en un minuto
- Indicador audible y visual de la finalización del proceso y del fallo/error
- Botones, teclas o panel táctil para entradas del usuario con información audible
- Proporcionar instrucciones o avisos para el usuario
- Permitir al usuario ingresar el volumen de suspensión deseado
- Permitir al usuario entrar el nivel de proceso
- Los instrumentos deben proporcionar información positiva de que el cartucho se asienta adecuadamente.
- El instrumento debe asegurarse de que el cartucho permanezca asentado adecuadamente durante todo el procedimiento, detectar si el cartucho se golpea o se mueve fuera de su posición de funcionamiento, y proporcionar una notificación de condición de fallo
- El cartucho se alineará automáticamente con la interfaz de la consola
- El cartucho debe coincidir con la consola en solo una orientación
- El procesamiento de las células no tiene que ser visible al operario
- Inactividad - el instrumento se apagará automáticamente:
 - Después de 120 minutos de inactividad (sin presionar un botón, sin inserción del casete, etcétera) después del encendido y antes de que comience el ciclo
 - 90 minutos después de retirar el casete al final del ciclo
- Notificación anticipada visual y audible de apagado 15 minutos antes
- Proporcionar una opción de anulación
- No apagar si el casete no se retira al final del ciclo, pero proporcionar una señal de recordatorio visual y auditiva a intervalos de 2 minutos
- Alarmas:
 - Paquete de cartucho no asentado adecuadamente
 - Temperatura sobreelevada en el mortero
 - Fallo interno en el procesamiento
 - Fallo de energía

En diversas realizaciones, el sistema puede incluir un programa informático de control personalizado para dirigir un procesador o chip de ordenador en la consola para controlar el proceso automatizado. El sistema puede conectarse, además, a un ordenador externo para recolectar y procesar los datos.

Programa informático:

- 5 • El programa informático puede escribirse en C/C++ u otro lenguaje de programación. Puede usarse un sistema operativo o ejecutable en tiempo real para proporcionar soporte para la administración de recursos y temporización. Parte de la funcionalidad podría implementarse mediante el uso de soluciones de soporte físico programables, tales como FPGA, o una combinación de dispositivos de soporte físico/programa informático, tal como "Programmable System on a Chip".
- 10 • La arquitectura de procesamiento puede determinarse por los requisitos de procesamiento y temporización, restricciones de consumo de energía, etcétera. Además, puede usarse un diseño de multiprocesador para dividir la funcionalidad (por ejemplo, procesadores separados para visualización, pantalla táctil, monitorización de batería, interfaz consumible).
- 15 • En el instrumento pueden usarse herramientas de desarrollo (por ejemplo, compilador cruzado, interfaz de depuración JTAG) para cada procesador. Pueden usarse herramientas de código abierto tales como Git, CVS, Bugzilla, etcétera, para la gestión de la configuración del programa informático y el rastreo de defectos.
- Puede incluirse un programa informático de soporte para realizar la interfaz del instrumento y las funciones de depuración.
- Se incluyen las funciones siguientes:
 - Monitorización y control de la interfaz consumible:
 - Control térmico
 - 20 ○ Control de fluidos, incluyendo bombeo, posicionamiento, posicionamiento del rodillo de bolsa, accionamiento de la válvula y sensores necesarios (aire, presión, posición, etcétera)
 - Control de desagregación (control de posicionamiento y movimiento de la mano de mortero, sensores necesarios, etcétera)
 - Detección de consumibles (evitar consumibles ausentes o asentados inadecuadamente)
 - 25 ○ Autenticación de consumible (asegurar un casete genuino y evitar la reutilización)
- Interfaz del usuario
 - Flujo de trabajo de procesamiento de células
 - 30 ○ Interfaz de soporte físico: pantalla gráfica, salida de audio, indicadores de estado diferenciados y entradas del operario
- Energía
 - 35 ○ Monitorización del estado de energía de CA (corriente alterna)
 - Estado y control de energía de CC (corriente continua)
 - Monitorización del estado de la batería
 - Control de carga de la batería
 - 40 ○ Control de sistemas electrónicos para implementar el modo operativo de ahorro de energía
- Autocomprobación del instrumento según lo determinado mediante análisis y control de riesgos (procesador de monitorización independiente o temporizador de vigilancia, POST, etcétera)
 - Autocomprobación de arranque
 - 45 ○ Automonitorización en proceso o para mantener el rendimiento esencial
- Monitorización y control de un reloj en tiempo real para la fecha/hora
- Comunicaciones dobles a un ordenador externo a través de una interfaz con cable (USB 2.0, RS-232)
- 50 • Registro de la operación del instrumento en un registro de eventos
- Registro de alarmas, fallos, etcétera, detectados en un registro de servicio
- Configuración del funcionamiento del instrumento (por ejemplo, selección del idioma)
- Un mecanismo de depuración/actualización de programa informático implementado a través de un puerto de comunicaciones por cable (USB, RS232, JTAG, etc.)
- 55 Energía:
 - El sistema electrónico puede energizarse mediante una batería o un suministro universal capaz de convertir la tensión de línea de CA en diversos niveles de CC que requerirán los diversos circuitos. El suministro es universal, lo que significa que puede aceptar el intervalo de tensiones y frecuencias de línea de entrada usado por la mayoría de los países. Se usará un cable de energía distinto para acomodar las diferentes configuraciones de toma de corriente en diferentes países.
 - 60 • El cable de energía se conectará a un módulo de entrada que incluye un interruptor de energía y un filtro de línea que atenúa las frecuencias de línea conducidas no deseadas para cumplir con las regulaciones de compatibilidad electromagnética (EMC). Se incluirá un disyuntor para proteger el instrumento del daño causado por ciertas condiciones de fallos.
 - 65 • El suministro de energía debe cumplir con las normas de seguridad que se aplican a los equipos eléctricos médicos, tales como IEC 60601-1 y otras variaciones nacionales relacionadas (por ejemplo, UL, CSA, EN). El microordenador monitorizará diversas señales de la fuente de energía para garantizar un funcionamiento fiable del

instrumento.

10. Contexto del sistema

5 ReCell NG puede usarse para desagregar células a partir de la muestra de piel de grosor dividido de un paciente y para recolectar estas células para reintroducirlas en un lecho de herida preparado del paciente.

Indicaciones:

- 10 • En un entorno hospitalario:
- Quemaduras, escaldaduras y lesiones traumáticas
 - Sitios donantes
 - Revisión de grandes cicatrices para mejorar la textura y el color
- 15 • En un entorno clínico:
- Trastornos de pigmentación tales como Vitíligo
 - Defectos epidérmicos tales como cicatrices de acné, nevos pilosos y cicatrices de cáncer de piel
 - Uso profiláctico para la curación de heridas graves
 - Rejuvenecimiento mediante ablación con láser, dermoabrasión o exfoliaciones químicas profundas
 - Heridas crónicas (úlceras en las piernas/difíciles de curar)

Pueden diseñarse dos instrumentos:

- 25 • Consola de clínica:
- Capaz de procesar dos o más muestras en paralelo, una muestra de piel usa un consumible
 - Aceptará solo el cartucho pequeño (por ejemplo, 4 ml) y, por lo tanto, se limitará a una cantidad pequeña (por ejemplo, 4 ml) de suspensión celular (CS)
- 30 • Consola de quirófano (OR, *operating room*):
- Capaz de procesar dos o más muestras en paralelo, una muestra de piel usa un consumible
 - Capaz de producir hasta 16 ml de CS
 - Aceptará cartuchos pequeños o grandes, pero el cartucho pequeño se limitará a una cantidad pequeña (por ejemplo, 4 ml) de CS

Pueden diseñarse dos cartuchos consumibles:

- 40 • El cartucho pequeño (por ejemplo, 4 ml) se destina a la clínica y debe suministrar hasta 4 ml de suspensión celular
- El cartucho grande (por ejemplo, 16 ml) se destina a la OR y debe suministrar hasta 16 ml de suspensión celular

11. Análisis de flujo de trabajo ilustrativo

45 Existen dos flujos de trabajo separados: uno para la OR (Figura 16) y otro para la clínica (Figura 17). Brevemente, el flujo de trabajo puede incluir las etapas siguientes:

- 50 • Cargar la muestra de piel (sin procesar o procesada parcialmente (por ejemplo, incubada en solución enzimática)) en el cartucho
- Insertar el cartucho en el instrumento
- Establecer el volumen de suspensión, nivel de procesamiento requerido
- Presionar inicio
- 55 • Suministrar la suspensión celular al aplicador en 20 minutos (con el proceso estándar) sin acción adicional del operador

Procedimiento de ReCell NG en el quirófano:

- 60 • En un escenario propuesto (Figura 16), la consola ReCell NG está ubicada en el quirófano (OR), sobre una mesa, banqueta o transportador, fuera del área estéril. La consola se enciende para calentarse y autocomprobarse. El casete, aún en su paquete estéril (esterilizado por radiación durante la fabricación) también puede precalentarse.
- El casete se introduce en el área estéril, mediante el uso de una técnica aséptica. Una enfermera instrumentista o un técnico abre la cámara de desagregación al retirar la tapa y coloca la muestra de tejido (recién obtenida del paciente) en el pocillo y después vuelve a poner la tapa. La tapa permanece, lo que mantiene un sello durante todo el proceso y la eliminación de desechos. La muestra de tejido no se orienta de ninguna manera en particular.
- 65 • La enfermera instrumentista pasa el casete a la enfermera circulante que porta el casete de vuelta a la consola e inserta el casete en la ranura de la consola, hasta que se asienta en la consola, se introduce en la consola o se

bloquea de cualquier otra manera en su lugar. La enfermera circulante usa la interfaz del operario de la consola para indicar el tiempo de procesamiento y el volumen de suspensión necesario y activa el ciclo del proceso.

- 5 • El sistema automáticamente, sin entrada adicional del operario, reconstituye la enzima (la enzima puede no ser necesaria si la muestra de piel se ha procesado parcialmente antes de colocarla en el casete, por ejemplo, si la muestra de piel se ha incubado en una solución enzimática), procesa el tejido, crea y filtra la suspensión y carga el aplicador. Durante el procesamiento de la célula, una pantalla de progreso se actualiza y muestra el estado del procesamiento y el tiempo restante hasta que se completa el procesamiento. Cuando se completa el ciclo de procesamiento (aproximadamente 30 minutos), un tono y una luz de notificación notifican al usuario que la suspensión celular está lista y en el aplicador.
- 10 • Después, la enfermera circulante retira el casete de la consola, lo lleva al área estéril y, mediante el uso de una técnica aséptica, abre el compartimento del aplicador y presenta el aplicador estéril a la enfermera instrumentista o al médico.
- A continuación, el médico aplica la suspensión celular en el área de tratamiento.

15 Etapas ilustrativas del proceso de ReCell NG:

- La unidad de sobremesa se configura fuera del área estéril.
- Encender la unidad de sobremesa. El dispositivo realiza una autocomprobación automática e inicia el calentador. Si el resultado de la autocomprobación es aceptable, el instrumento solicita entradas, lo que incluye el volumen de suspensión deseado.
- 20 • Introducir el cartucho estéril en el área estéril
- El cirujano toma una muestra de piel (biopsia por rasurado) que se inserta en el cartucho
- La enfermera o técnico circulante insertan el cartucho en la consola, ajusta el volumen de la suspensión y presiona "ejecutar".
- 25 • El instrumento procesa el tejido (proceso presuntivo)
- Disolver la enzima en agua estéril; dejar en reposo o agitar para mezclar (opcional)
- La solución enzimática se bombea al mortero para sumergir la muestra de piel (opcional)
- Iniciar el temporizador cuando la temperatura de la solución enzimática alcance 22 °C o más
- Calentar a 37 °C
- 30 • Después del tiempo señalado, apagar los calentadores y drenar la solución enzimática para desecharla.
- Enjuagar la muestra de piel con solución tampón; drenar la solución de enjuague para desecharla.
- Añadir un volumen pequeño de tampón para recolectar las células, procese la muestra de piel para extraer y recolectar las células
- Filtrar las células y generar el volumen de suspensión apropiado para el tamaño del área de tratamiento.
- 35 • Transferir la suspensión al aparato de suministro.
- Señal completa
- El cartucho se retira de la consola y una enfermera o técnico circulante abre el compartimento del aplicador. La enfermera de cirugía retira el recipiente de suministro (cuyas superficies exteriores permanecen estériles) del interior aún estéril del cartucho y se lo entrega al cirujano.
- 40 • El cirujano rocía gotas o infunde la suspensión en el área de tratamiento.

12. Datos

45 El sistema, interna o externamente, puede incluir una unidad de almacenamiento de datos, suficiente para mantener registros operativos. Por ejemplo, la consola puede contener provisión para la actividad de registro para informes, resolución de problemas y mejora continua. La consola puede proporcionarse, además, con la capacidad de registrar la autocomprobación, el modo listo, los parámetros de entrada, el tiempo de inserción del cartucho, el tiempo de inicio de eventos y los datos de temperatura/tiempo para al menos cuatro procedimientos de tamaño máximo de salida para la consola. Además, también pueden incluirse datos con marca de tiempo con una resolución de, por ejemplo, un segundo, así como también medios para acceder o mostrar el registro.

13. Parámetros de procesamiento (suspensión celular)

55 Pueden obtenerse diversos tejidos de piel u otros tejidos epiteliales para su procesamiento. La muestra de tejido puede tener dimensiones máximas que se ajusten a la cámara de procesamiento de tejidos (por ejemplo, aproximadamente 4 cm x 4 cm), y puede ser tan pequeña como sea conveniente (por ejemplo, 1,0 cm²). El intervalo de grosor recomendado es de aproximadamente 0,006 - 0,008" (0,15-0,20 mm) y puede ser más delgado o grueso (por ejemplo, 0,1" (2,54 mm)). Los siguientes son varios tamaños ilustrativos adecuados para procesarse por el sistema de la presente invención:

- 60 • Tiempo estándar: hasta 4 cm², 0,006-0,008" de grosor
- Tiempo medio: hasta 16 cm², 0,010-0,012" de grosor
- Tiempo largo: hasta 16 cm², hasta 0,10" de grosor

65 Es probable que la muestra tenga una forma irregular, no rectangular y puede ser potencialmente más gruesa.

Suministro de fluido ilustrativo:

ES 2 996 344 T3

- Enzima reconstituida: $10 \pm 0,2$ ml (por ejemplo, evitar la formación de espuma, recuperación de la solución enzimática a partir del contenedor, etc.)
- 5
- Enjuagar la muestra de piel con tampón después de la digestión: $10 \pm 1,0$ ml (retirar y desactivar la enzima de la muestra de piel)
- 10
- Crear la suspensión celular: Volumen seleccionado por el usuario, según la Tabla 1, Tolerancia $\pm 0,2$ ml. Los tamaños de muestra de piel recomendados y el volumen de tampón a usar para comenzar se muestran en la Tabla 1.

Tabla 1

Volumen deseado de la suspensión celular (CSV)	Área de biopsia [BA](cm ²)	Tampón usado para preparar la suspensión
1,0	1	1,5
1,5	2	2,0
2,0	4	2,5
2,5	4	3,0
3,0	4	3,5
3,5	4	4,0
4,0	4	4,5
5,0	9	5,5
6,0	9	6,5
7,0	9	7,5
8,0	9	8,5
9,0	16	9,5
10,0	16	10,5
11,0	16	11,5
12,0	16	12,5
13,0	16	13,5
14,0	16	14,5
15,0	16	15,5
16,0	16	16,5

15 Durante la incubación, el dispositivo puede mantener la temperatura a un mínimo de 35°C y un máximo de 42°C. (La temperatura ambiente en las salas de operaciones de quemados puede ser tan alta como 42 °C). Después de la incubación, no se requiere temperatura elevada y puede permitirse que la cámara se mueva hacia la temperatura ambiente. (Tenga en cuenta que, dado que la temperatura de la OR para los procedimientos de quemado es a menudo superior a 37°C, la temperatura ambiente puede ser mayor que 37°C. No es necesario enfriar por debajo de la temperatura ambiente).

20 Temporización de proceso: todo el proceso puede completarse en 20 minutos para el proceso estándar. El tiempo puede variar dependiendo del tamaño y el grosor de la muestra.

25 La suspensión celular (CS) resultante incluye diversas células cutáneas viables y funcionales, incluyendo células diferenciadas, en diferenciación y no diferenciadas. Algunas células son capaces de dividirse. Algunas son capaces de proporcionar funciones normales. Pueden incluirse queratinocitos, células de Langerhans, fibroblastos y melanocitos. En algunas realizaciones, pueden usarse 4 ml de CS para áreas de tratamiento máximas de hasta 320 cm² y 16 ml de CS para áreas de tratamiento máximas de hasta 1280 cm².

30 La salida del proceso de desagregación celular puede filtrarse mediante el uso de un filtro de 100 pm u otro tamaño para eliminar partículas más grandes. El fluido de suspensión celular (CS) resultante se transfiere al aplicador. El operario puede configurar el volumen de la salida.

35 Los desechos del proceso deben contenerse dentro del consumible para su eliminación de acuerdo con la guía y la práctica de los materiales biológicos para la región de uso. Tanto el cartucho gastado como el aplicador usado, o cualesquiera componentes de los mismos, pueden tratarse como desechos biológicos.

14. Requisitos medioambientales

40 El sistema ReCell NG funcionará de acuerdo con sus especificaciones definidas en las siguientes condiciones de funcionamiento:

Temperatura: 10 °C – 42 °C
 Humedad relativa: 5 % - 95 %, sin condensación

ES 2 996 344 T3

Presión atmosférica: Desde 1500 pies por debajo del nivel del mar hasta 6500 pies por encima del nivel del mar (15,51 psiA - 11,56 psiA o 106,9 kPa - 79,7 kPa)

El sistema ReCell NG funcionará de acuerdo con sus especificaciones definidas después de exponerse a las condiciones de transporte siguientes:

Temperatura Consola: -20 °C - 60 °C
Cartuchos: - 4 °C - 30 °C

Humedad relativa: hasta 95 %, sin condensación
Presión atmosférica: Desde 1500 pies por debajo del nivel del mar hasta 19 000 pies por encima del nivel del mar (15,51 psiA - 7,04 psiA o 106,9 kPa - 48,5 kPa)

5 El sistema ReCell NG funcionará de acuerdo con sus especificaciones definidas después de exponerse a las siguientes condiciones de almacenamiento:

Temperatura Consola: -20 °C - 60 °C
Cartuchos: 2 °C - 30 °C
Humedad relativa: hasta 95 %, sin condensación
Presión atmosférica: Desde 1500 pies por debajo del nivel del mar hasta 19 000 pies por encima del nivel del mar (15,51 psiA - 7,04 psiA o 106,9 kPa - 48,5 kPa)

10 El sistema ReCell NG funcionará de acuerdo con sus especificaciones definidas después de exponerse al método de prueba estándar ASTM D 4728 para pruebas de vibración aleatoria de contenedores de transporte.

REIVINDICACIONES

- 5 1. Un sistema para preparar células para trasplante en un proceso automatizado, en donde el sistema se configura para producir una suspensión celular de tejido vivo adecuada para la aplicación a un paciente en un procedimiento relacionado con el epitelio, comprendiendo el sistema:
- 10 un cartucho desechable que incluye:
una cámara de procesamiento de tejidos configurada para recibir un tejido y un reactivo químico, en donde el reactivo químico disocia químicamente el tejido;
- 15 un miembro desintegrador que comprende una mano de mortero en la cámara de procesamiento de tejidos, en donde el miembro desintegrador se puede accionar para ejercer una fuerza sobre el tejido, en donde la fuerza disocia mecánicamente el tejido; y
una cámara de recolección de células configurada para recolectar una suspensión que comprende el tejido disociado química y mecánicamente de la cámara de procesamiento de tejidos;
- 20 un desintegrador que separa la cámara de procesamiento de tejidos de la cámara de recolección de células; y
una consola programable y reutilizable, en donde el cartucho se puede insertar en la consola programable y reutilizable, en donde la consola programable y reutilizable comprende además un mecanismo de accionamiento configurado para accionar el miembro desintegrador.
- 25 2. El sistema de la reivindicación 1, en donde el desintegrador comprende una malla, tamiz, rejilla, cuchilla o cualquiera de sus combinaciones.
3. El sistema de la reivindicación 1, que comprende además un filtro dispuesto entre el desintegrador y la cámara de recolección de células.
- 30 4. El sistema de la reivindicación 1, que comprende además una tapa colocada de manera desmontable o en forma de bisagra en la cámara de procesamiento de tejidos.
5. El sistema de la reivindicación 4, en donde el miembro desintegrador está conectado a la tapa.
- 35 6. El sistema de la reivindicación 1, en donde la fuerza ejercida por el miembro desintegrador comprende compresión, fuerza rotacional o ambas sobre el tejido.
7. El sistema de la reivindicación 1, que comprende además un aplicador desechable en comunicación continua con la cámara de recolección de células y se configura para recibir la suspensión celular.
- 40 8. El sistema de la reivindicación 7, que comprende además al menos una bomba configurada para impulsar la suspensión celular de la cámara de recolección de células al aplicador.
9. El sistema de la reivindicación 7, en donde el aplicador es capaz de dispensar, rociar o gotear la suspensión celular.
- 45 10. El sistema de la reivindicación 1, que comprende además un soporte configurado para recibir la suspensión celular, en donde el soporte comprende una matriz, un armazón, un apósito o cualquiera de sus combinaciones.
- 50 11. El sistema de la reivindicación 1, en donde el cartucho comprende, además, un primer paquete que comprende una solución enzimática y un segundo paquete que comprende una solución tampón, en donde el primer paquete y el segundo paquete están en comunicación continua con la cámara de procesamiento de tejidos.
- 55 12. El sistema de la reivindicación 11, en donde el primer paquete comprende además un primer contenedor que comprende agua estéril y un segundo contenedor que comprende polvo enzimático liofilizado, en donde dichos primer y segundo contenedores están separados por un sello rompible.
13. El sistema de la reivindicación 1, que comprende además un contenedor que comprende un agente exógeno, en donde el contenedor está en comunicación continua con la cámara de procesamiento de tejidos, y en donde el agente exógeno comprende una proteína de choque térmico o un fragmento de la misma, ácido hialurónico, plasma enriquecido en plaquetas, un factor de crecimiento, células madre adiposas o cualquiera de sus combinaciones.
- 60 14. El sistema de la reivindicación 11, en donde la mano de mortero sube y baja cíclicamente y/o gira.
15. El sistema de la reivindicación 14, en donde la mano de mortero tiene crestas radiales múltiples.
- 65 16. El sistema de la reivindicación 11, en donde la consola programable y reutilizable comprende además:
un primer mecanismo de presurización configurado para impulsar la solución enzimática fuera del primer paquete dentro de la cámara de procesamiento de tejidos; y
un segundo mecanismo de presurización configurado para impulsar la solución tampón fuera del segundo paquete dentro de la cámara de procesamiento de tejidos.

Figura 1

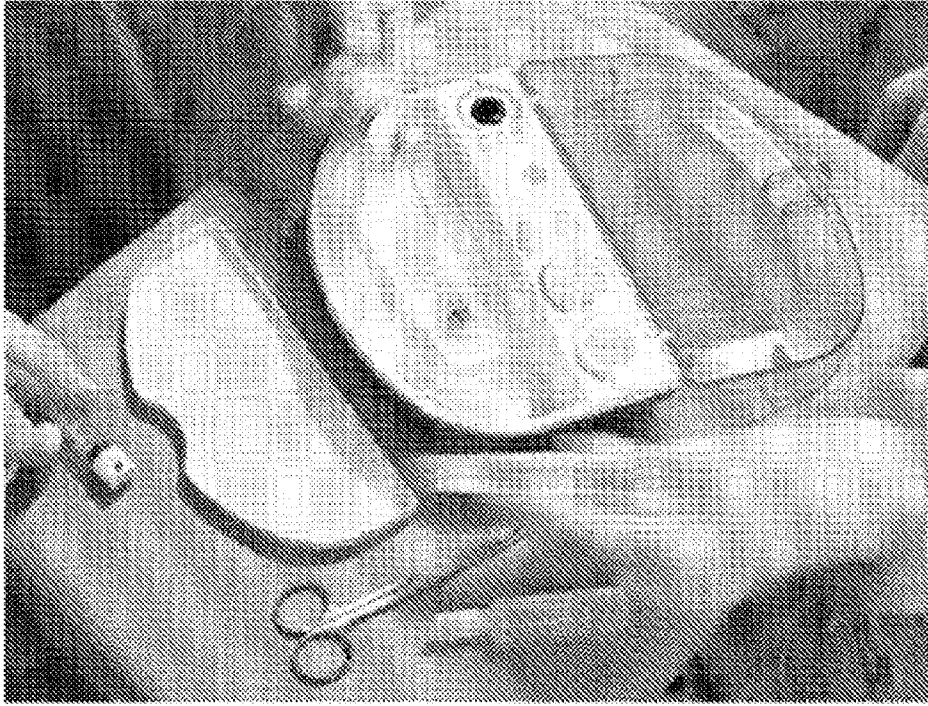


Figura 2A

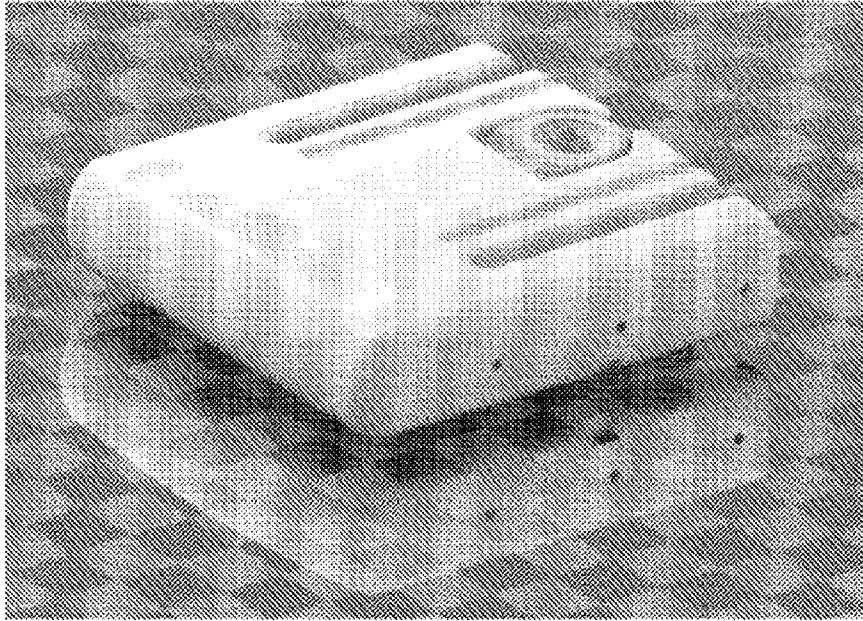


Figura 2B

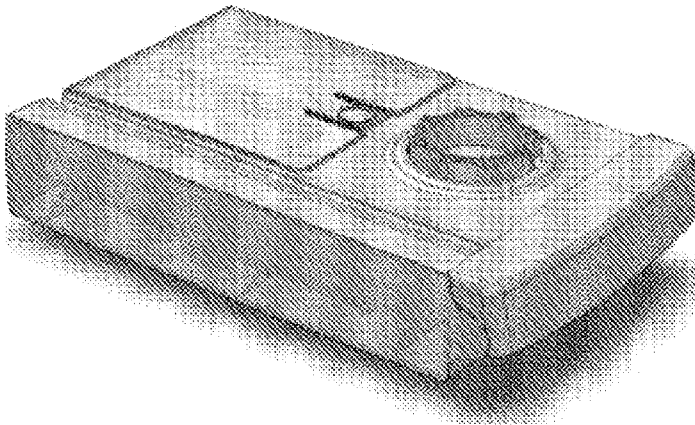


Figura 3A

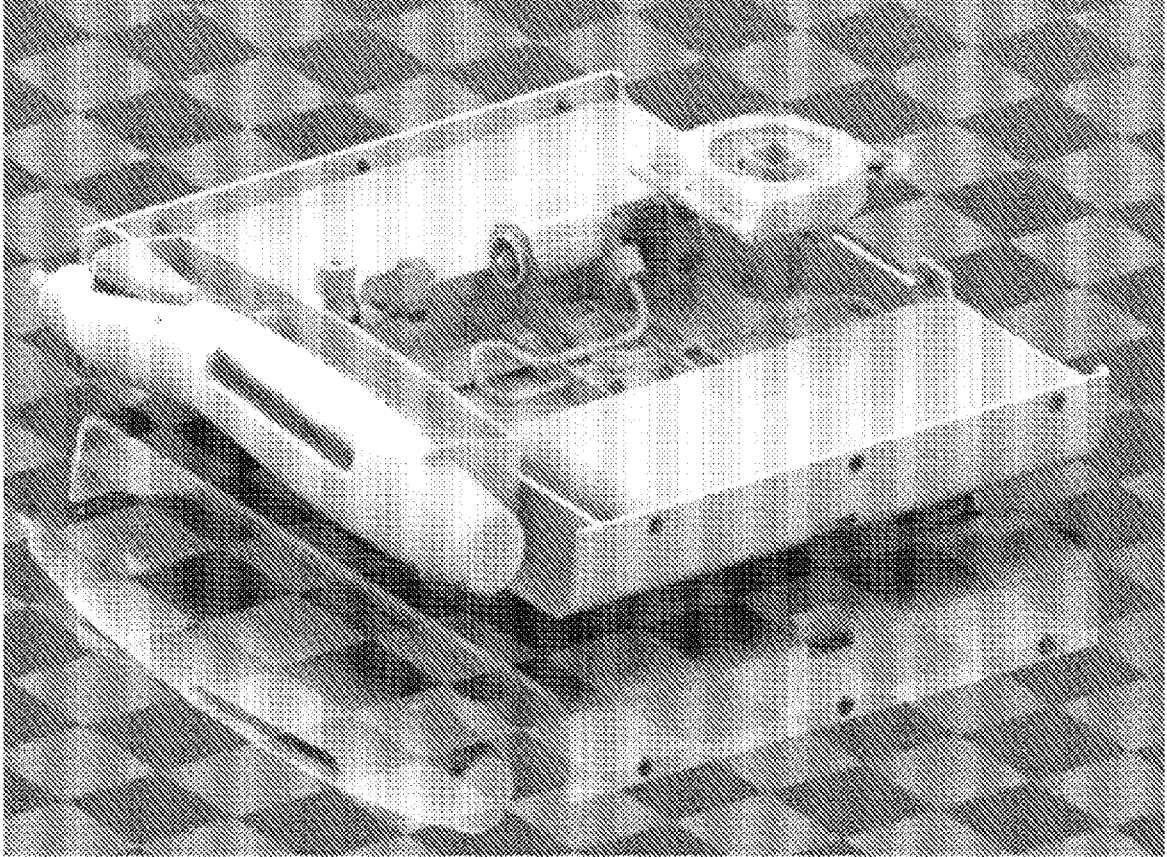


Figura 3B

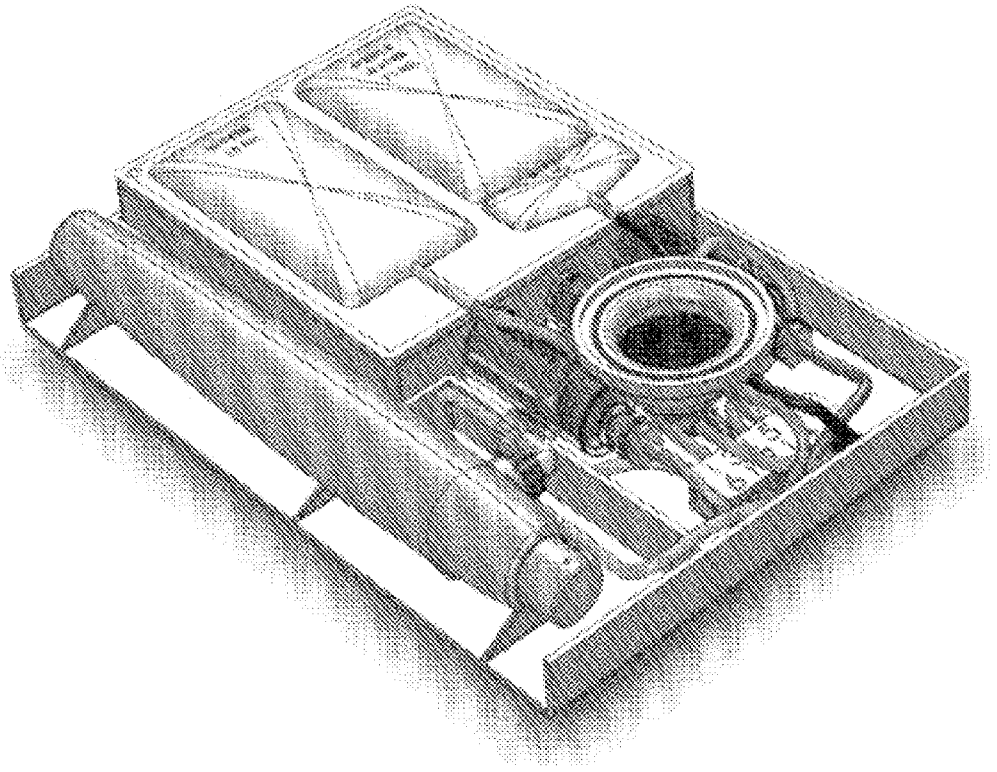


Figura 4A

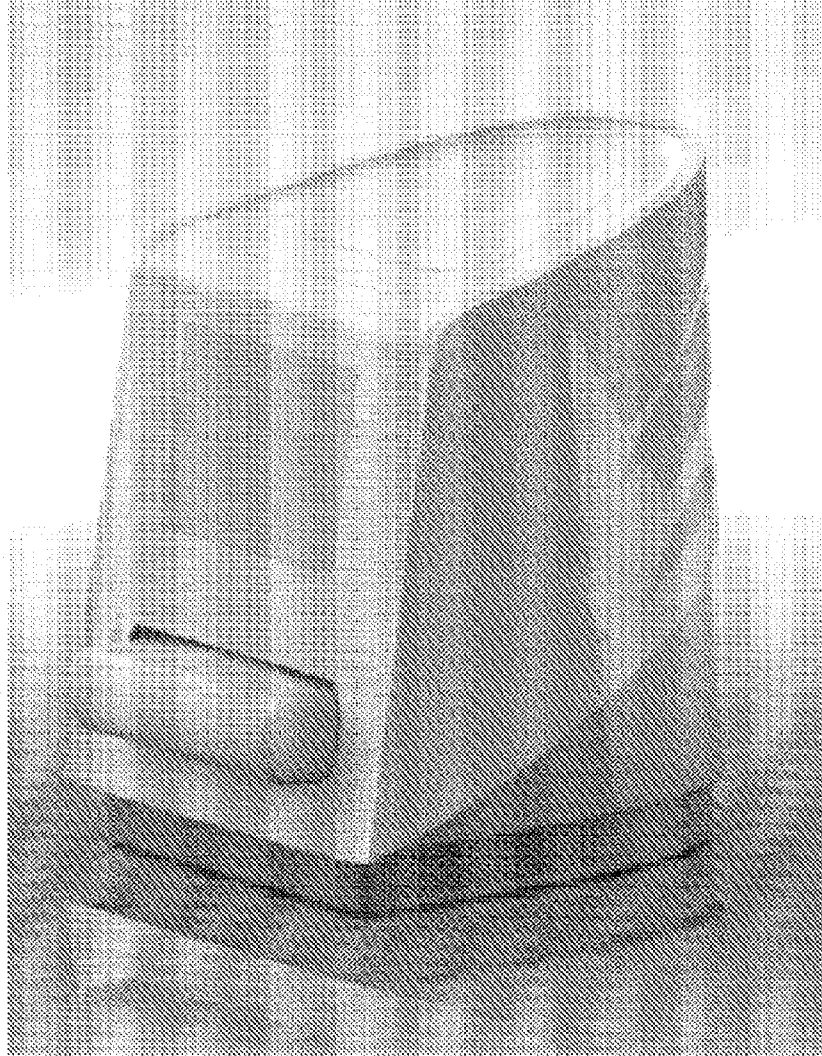


Figura 4B

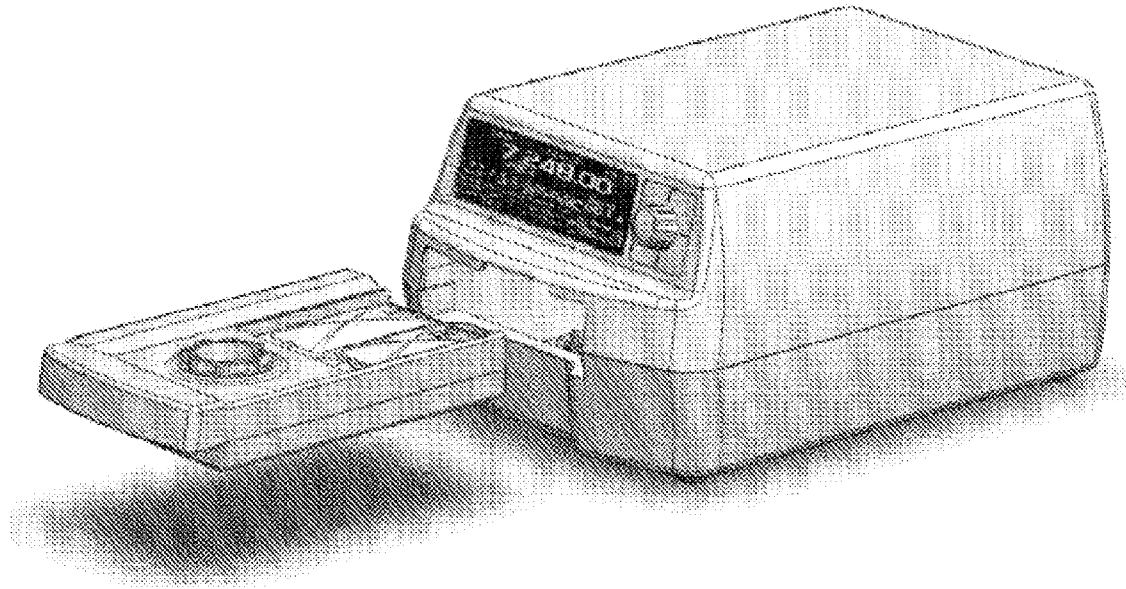


Figura 5A

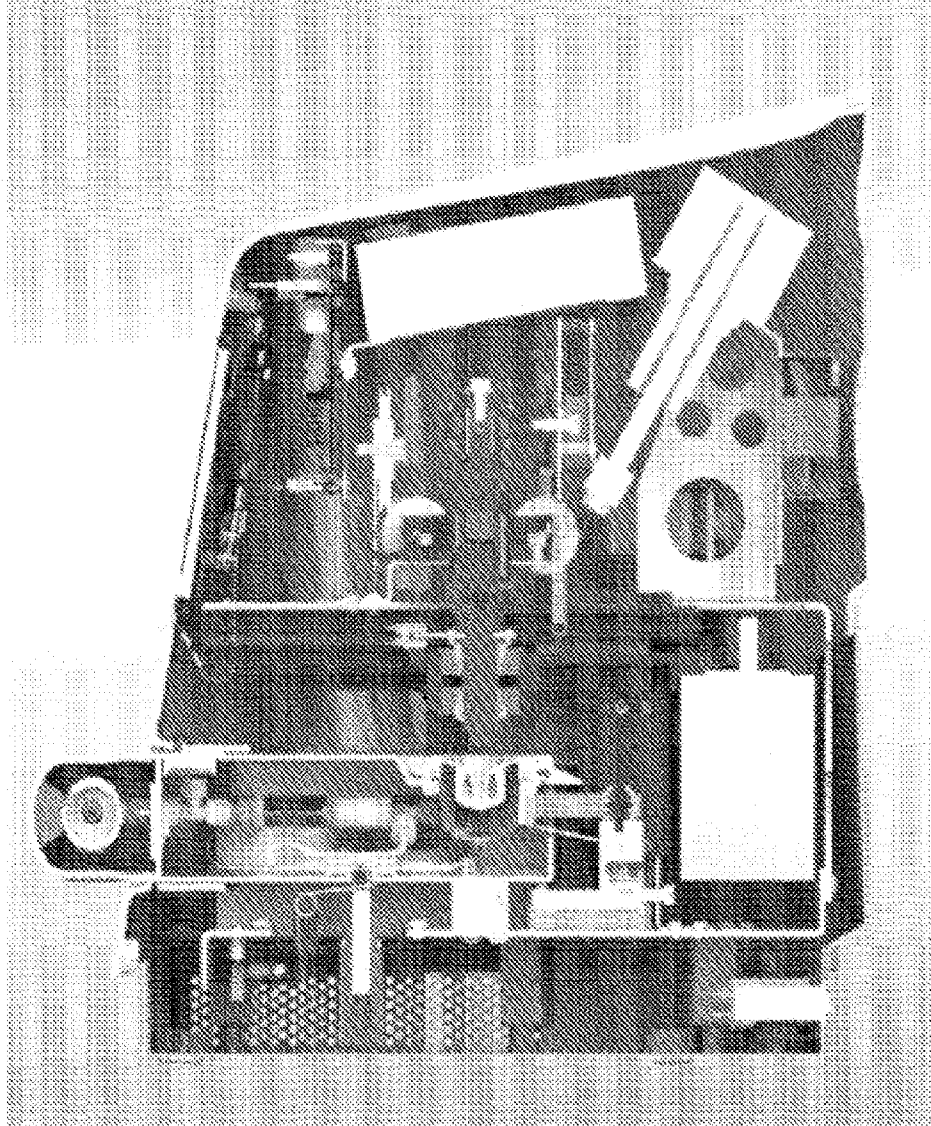


Figura 5B

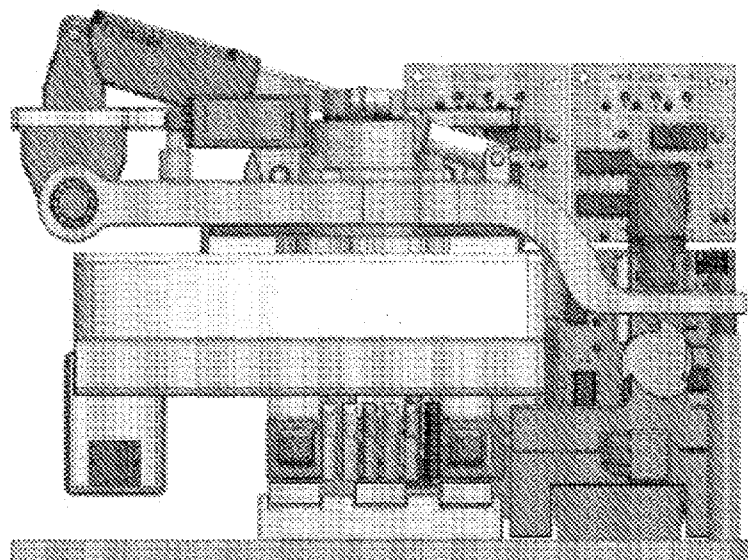
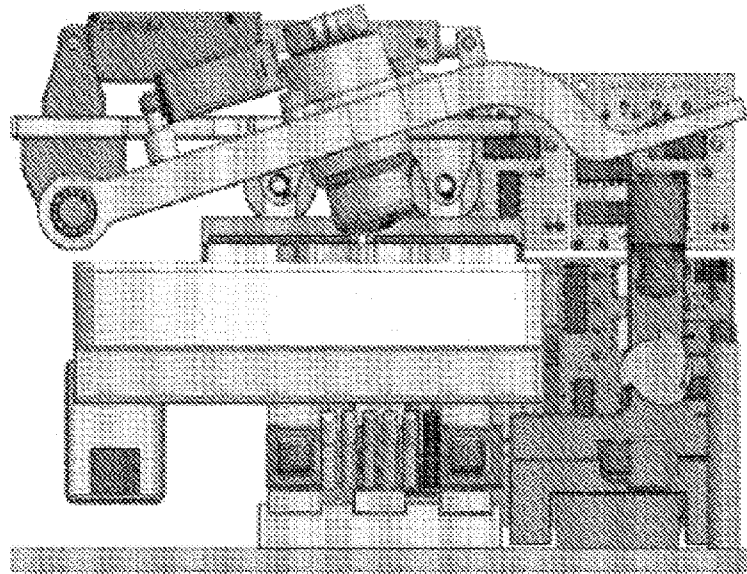


Figura 6A

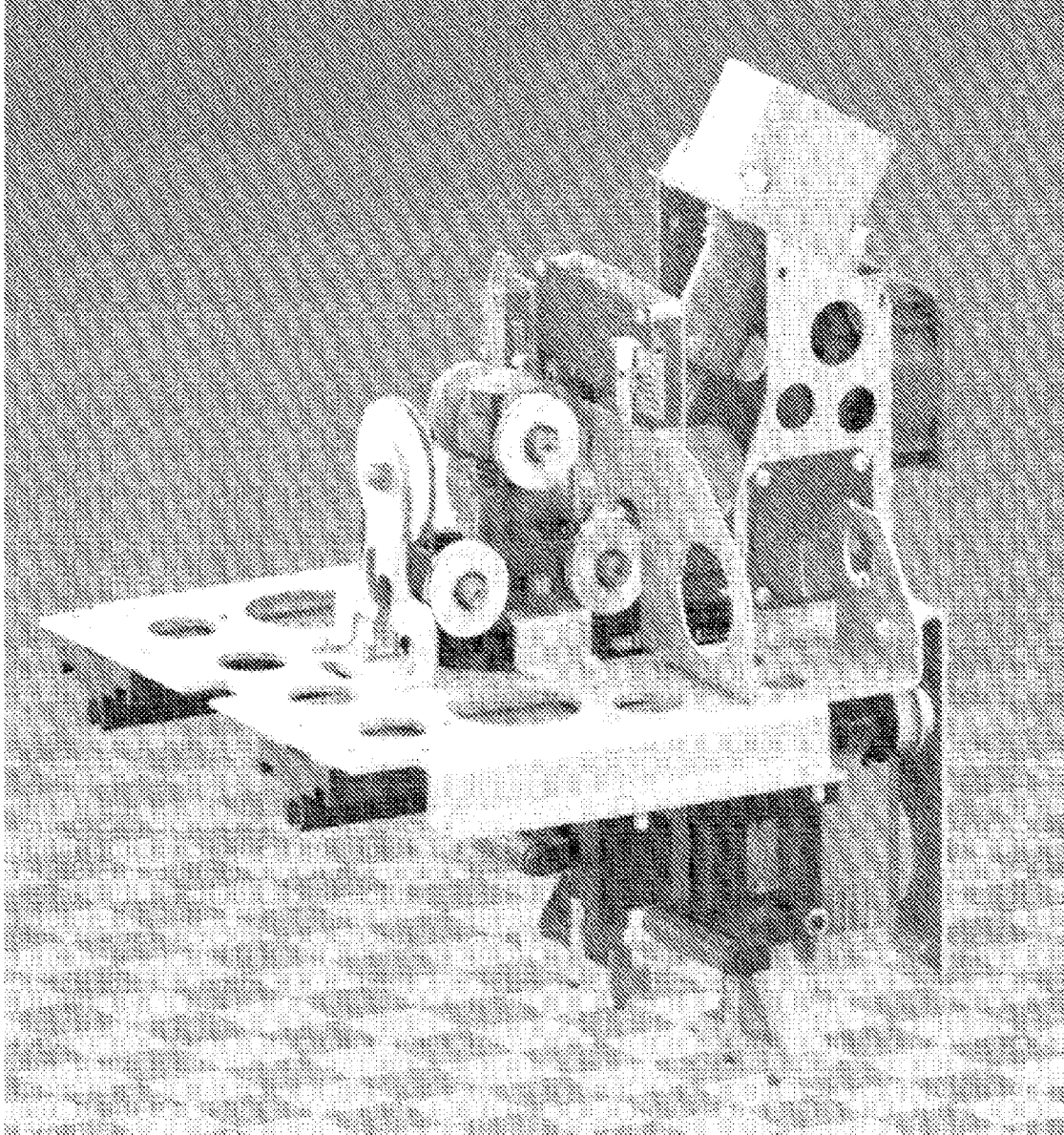


Figura 6B

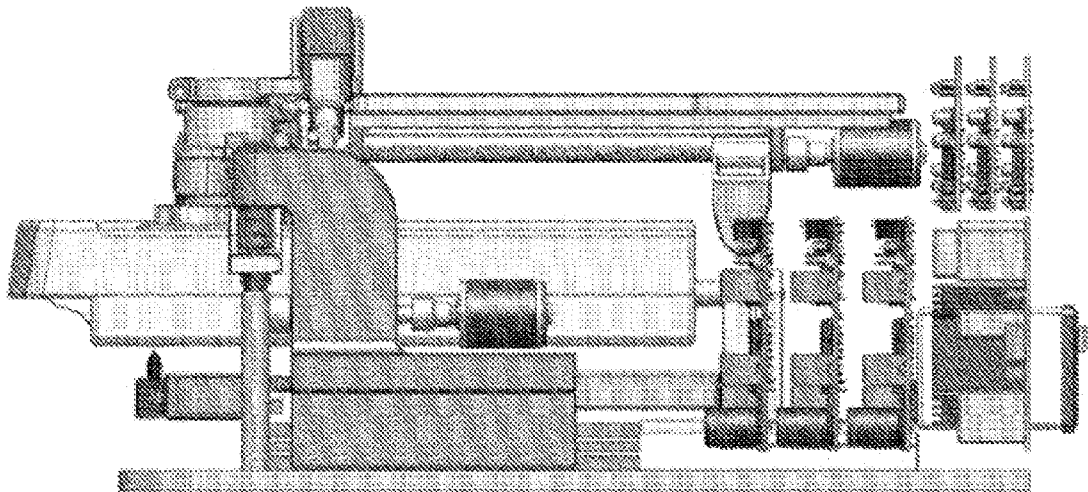
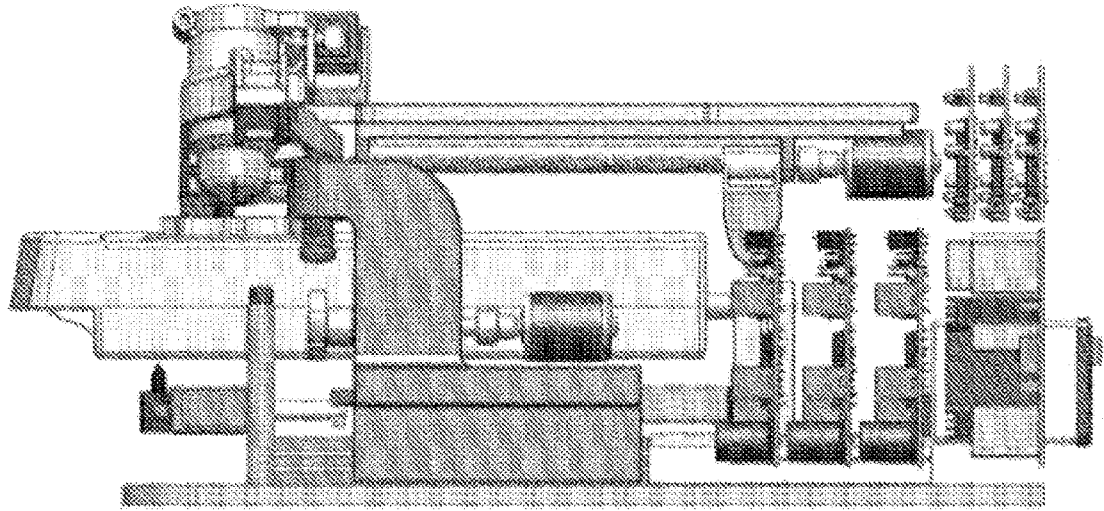


Figura 7

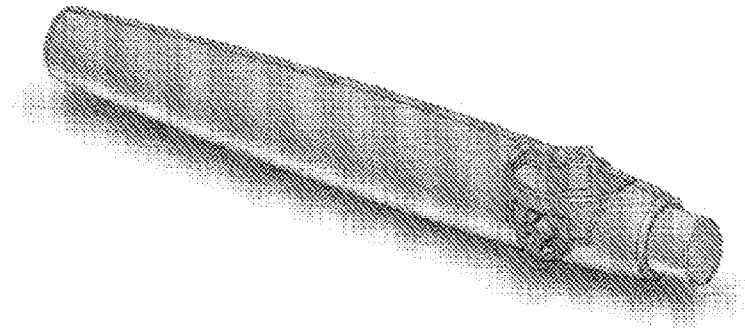


Figura 8

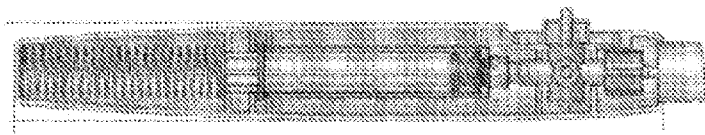


Figura 9

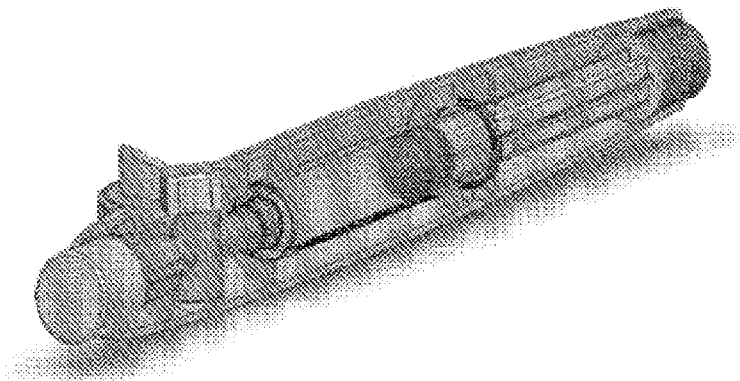


Figura 10

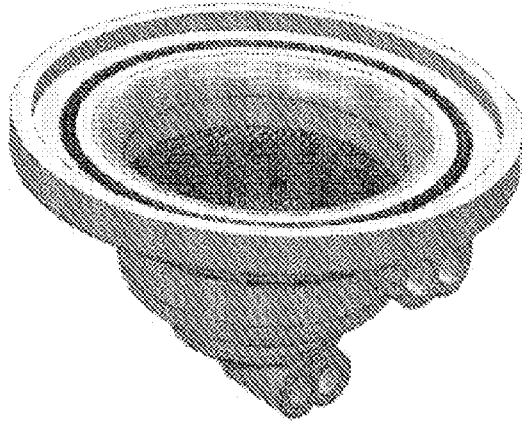


Figura 11

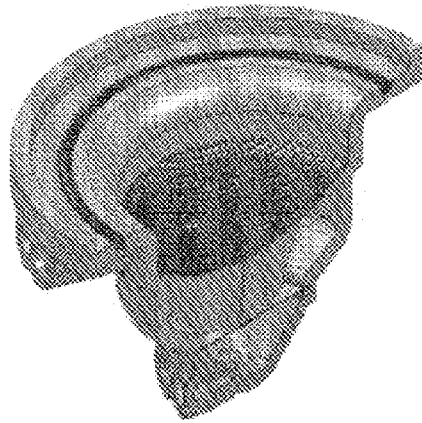


Figura 12

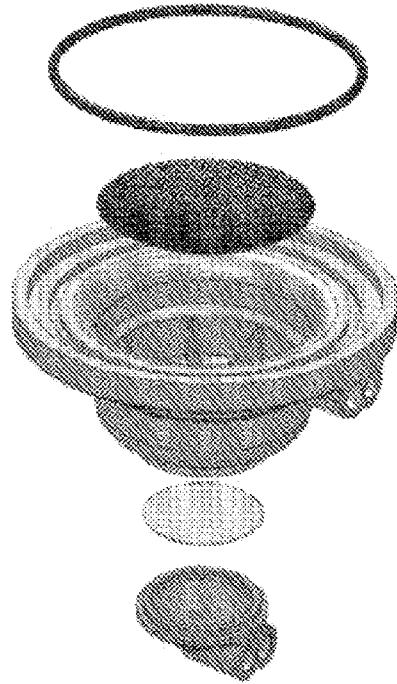


Figura 13

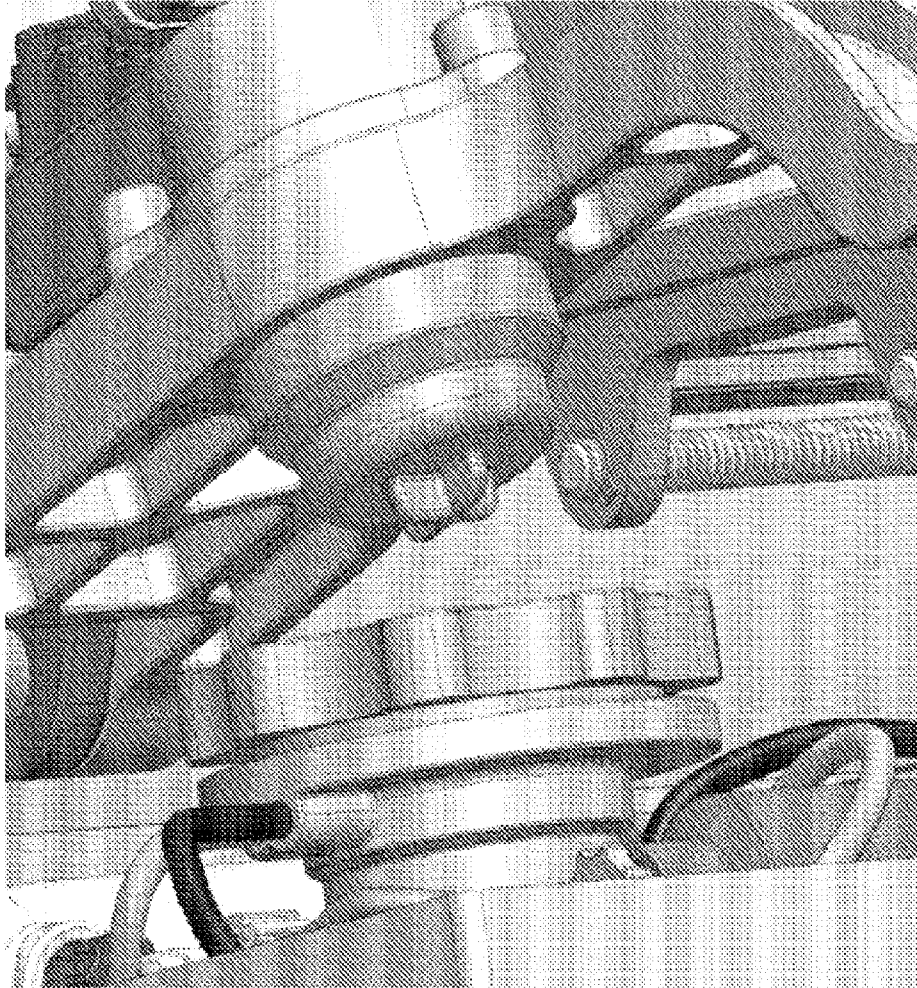


Figura 14

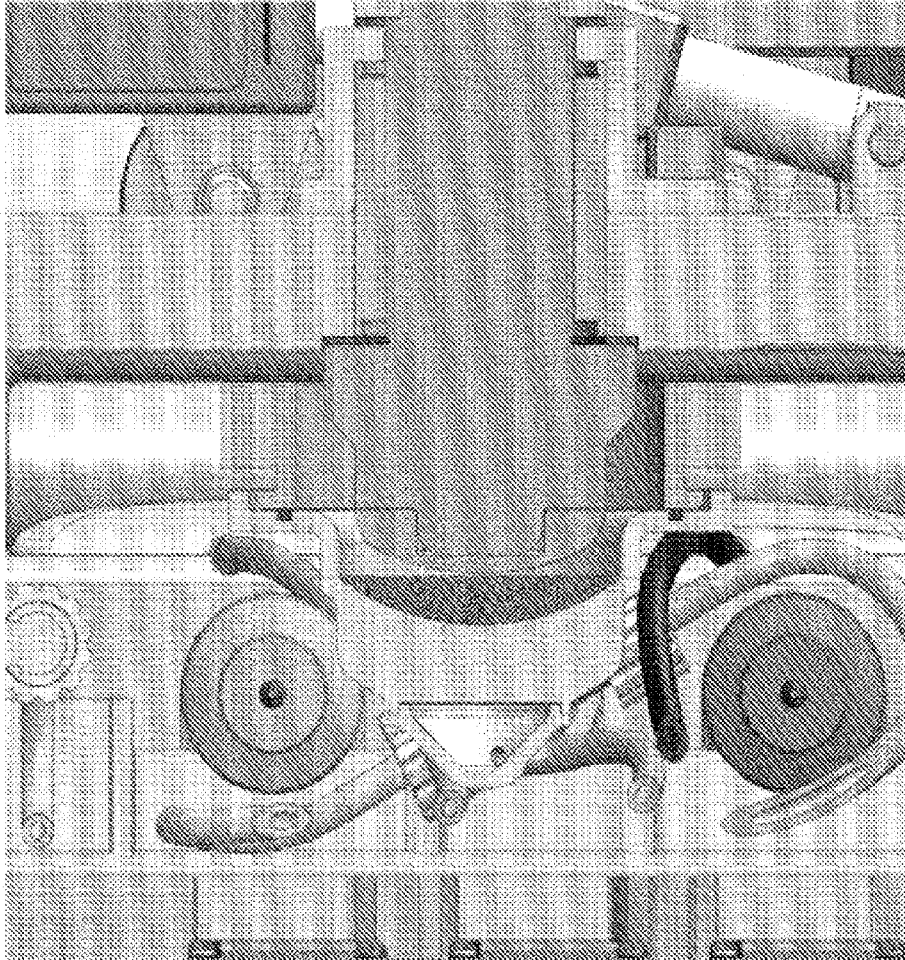


Figura 15 A

Diagrama de flujo del fluido

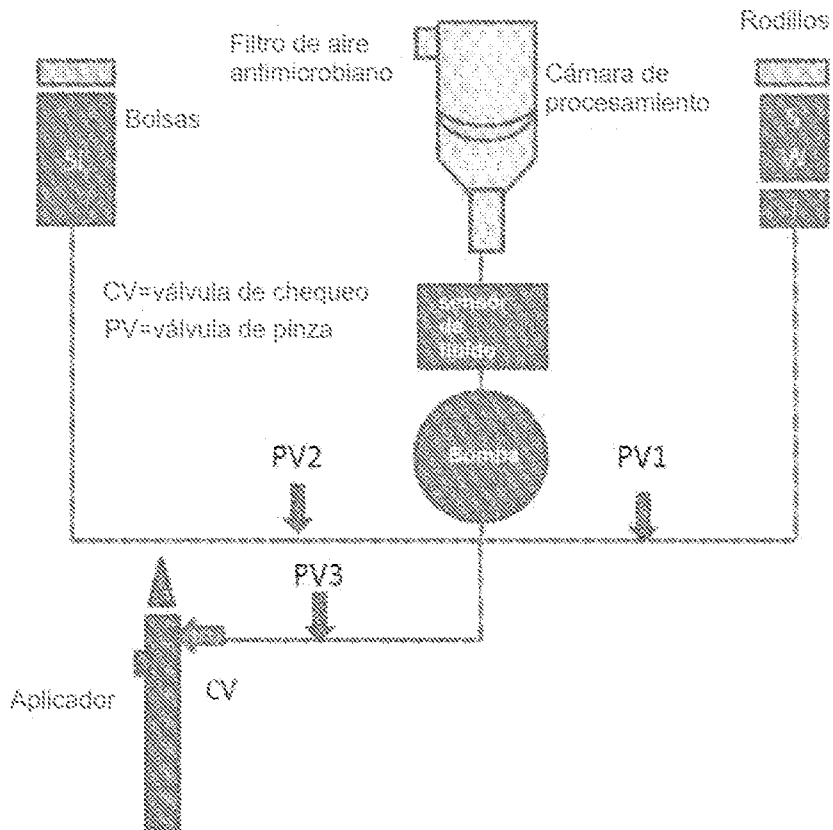


Figura 15B

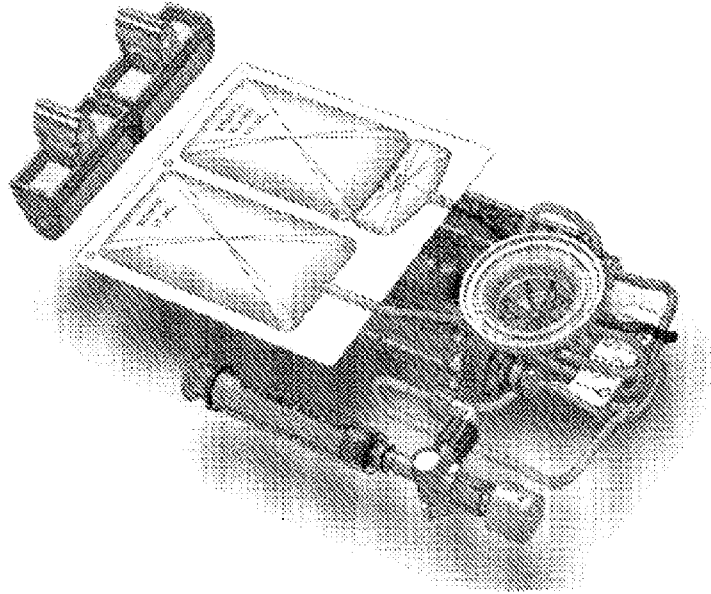


Figura 15C

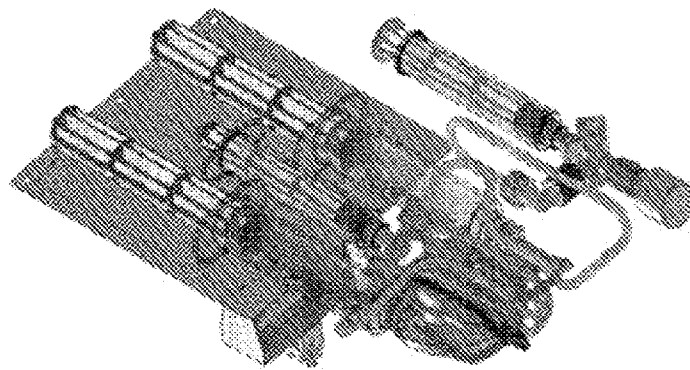


Figura 16

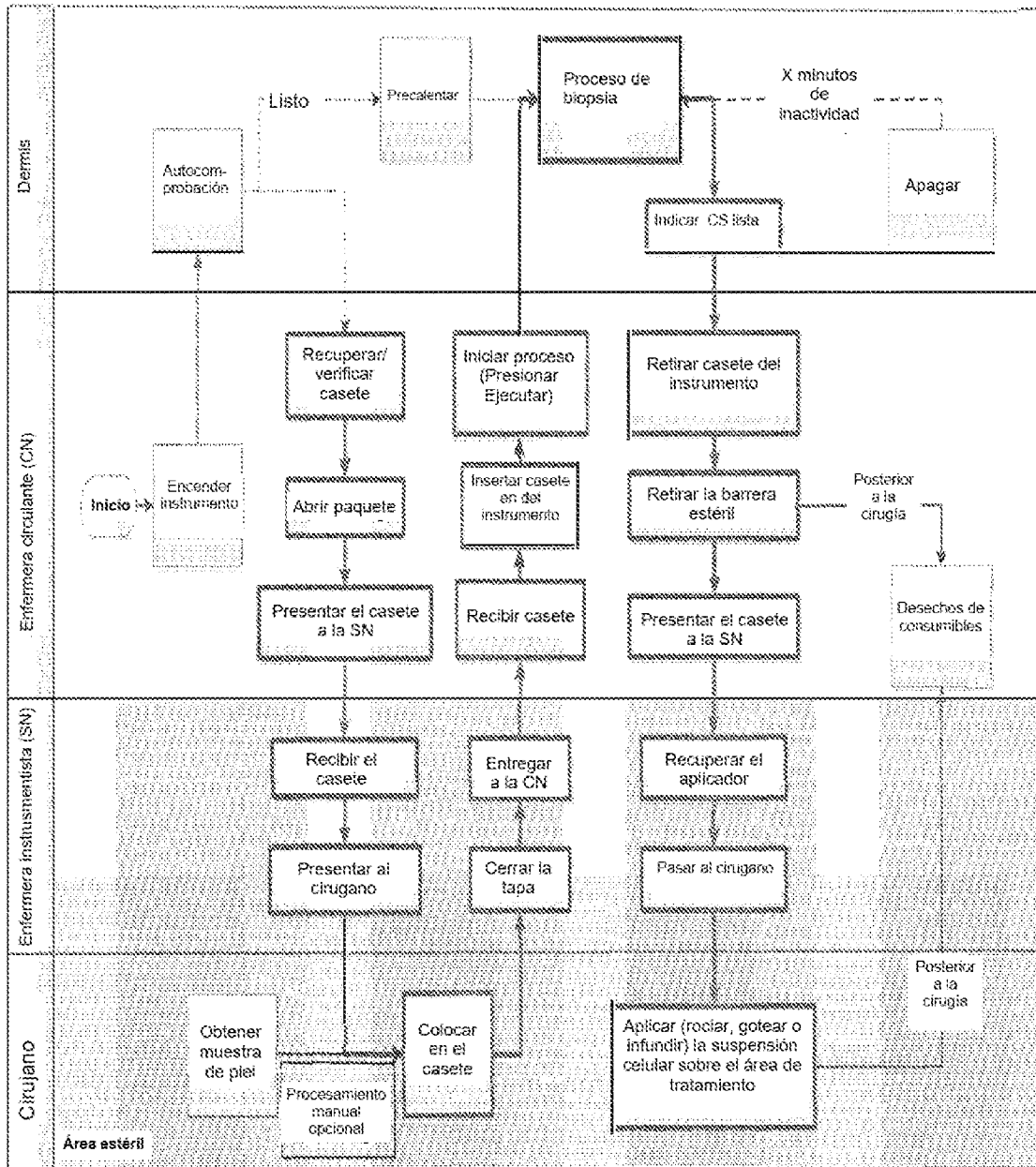


Figura 17

