



# **Queen Astrid Mil. Hosp. - Burn Wound Centre LabMCT / Human Cell & Tissue Banks**

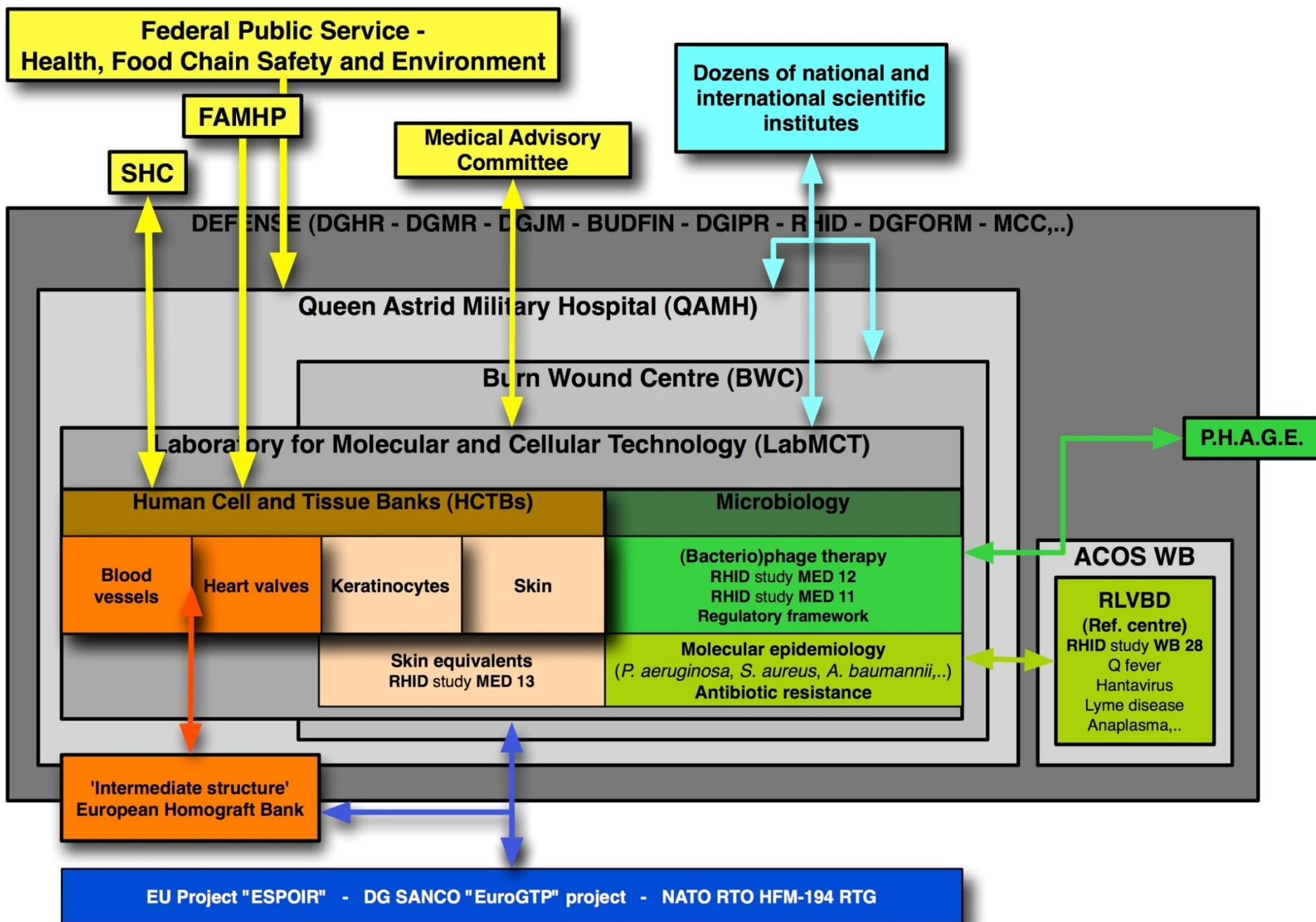
---

**Accredited Human Skin Bank  
(R.I.Z.I.V. / I.N.A.M.I. 7-19001-60-212)  
Accredited Human Keratinocyte Bank  
(R.I.Z.I.V. / I.N.A.M.I. 7-19001-60-219)**

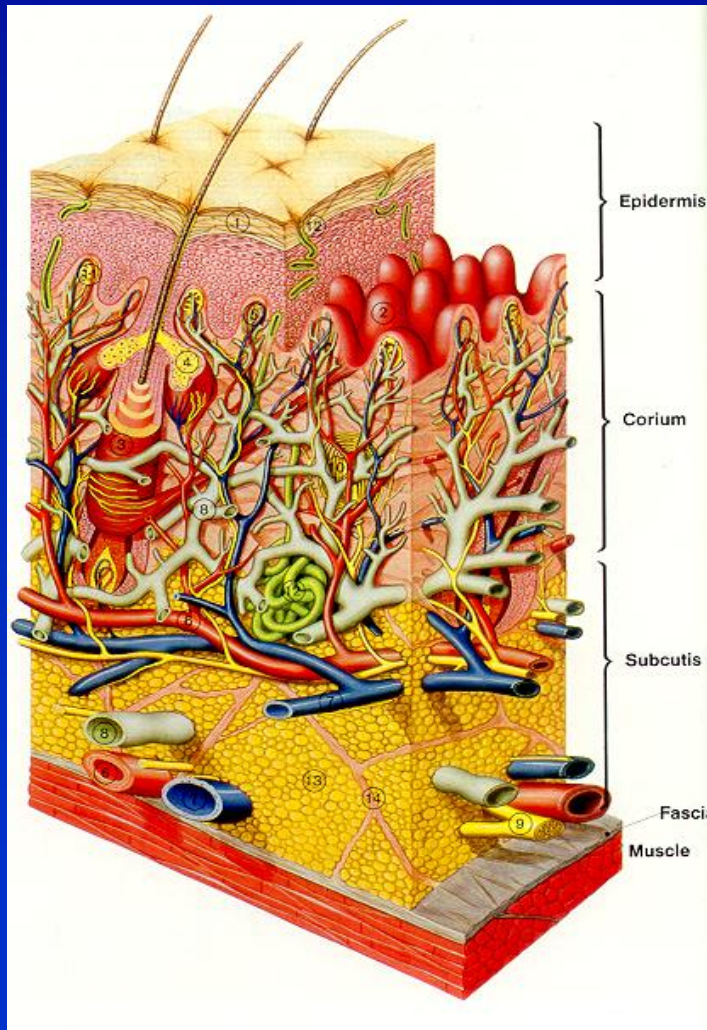


---

Gilbert VERBEKEN, Jean-Paul PIRNAY, Anne PIERLOT



# Skin structure



- **Skin consists of:**
  - Epidermis
  - Dermis
  - Hypodermis
- **Skin contains:**
  - Vascular structures
  - Nerves
  - Hairs, sweat glands and sebaceous glands

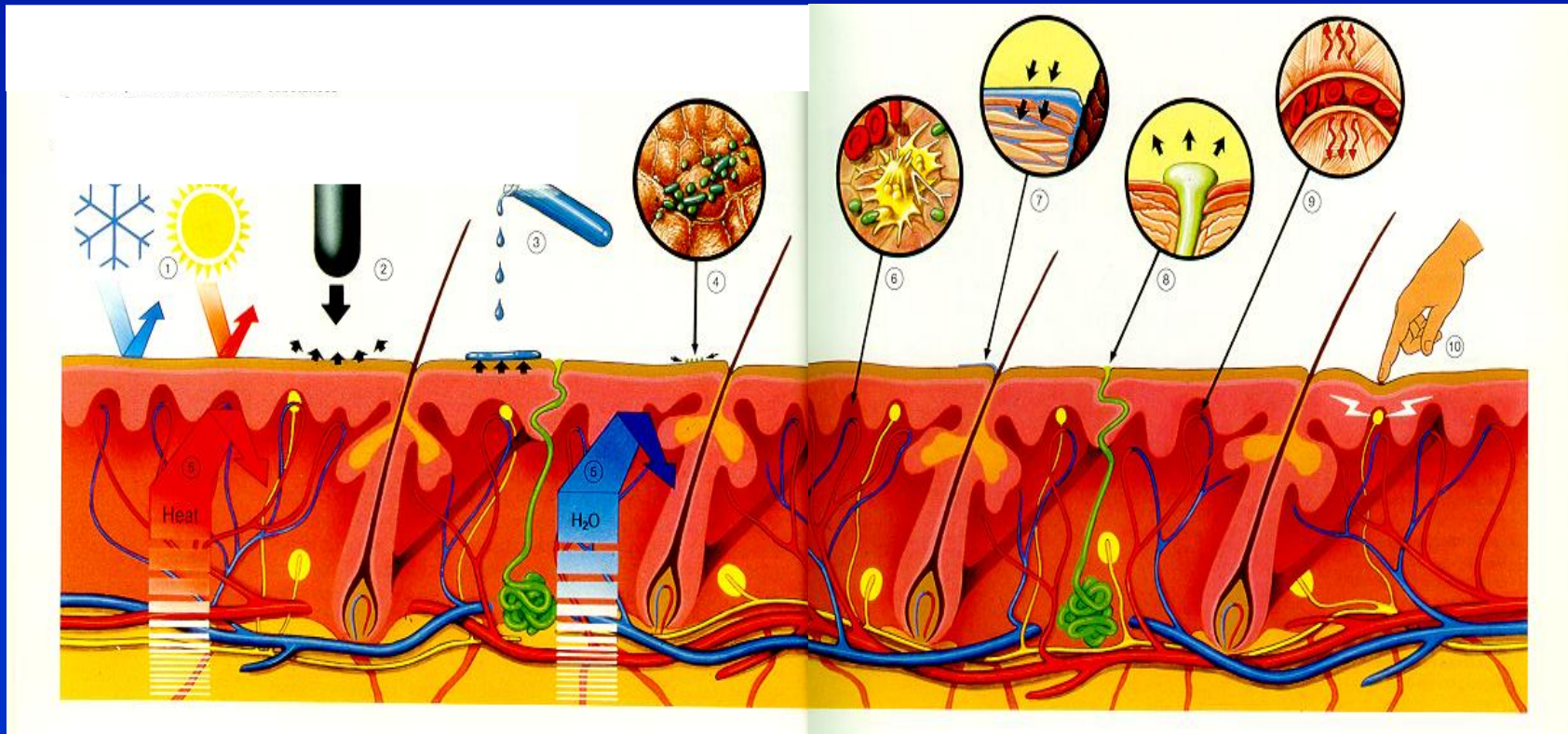


# Skin functions



## Protection against:

1. Cold , heat radiation
2. Pression , shock, friction
3. Chemical substances
4. Invasion of germs
5. Loss of heat and moisture
6. Defense against invading microorganisms
7. Absorption of active substances
8. Secretion of sweat
9. Circulatory and thermal regulation
10. Sensory organs, detecting pressure, vibration, touch, pain and temperature



# Human Donors



- **In Belgium, everyone is donor unless stipulated otherwise (national registry)**
- **Minimum age: 18y**
- **Postmortem max. 48h (when cooled within 6h and blood samples were taken within 24h) vs. Beating-Heart donors**
- **No infectious or neoplastic diseases**

# Human Donors



- **In Belgium, everyone is donor unless stipulated otherwise (national registry)**
- **Minimum age: 18y**
- **Postmortem max. 48h (when cooled within 6h and blood samples were taken within 24h) vs. Beating-Heart donors**
- **No infectious or neoplastic diseases**

# Critères d'exclusion



## CHECKLIST DES CRITERES D'EXCLUSION DE DON DE PEAU

► ► ► Numéro d'identification du donneur: <sup>h</sup>

Appliquez l'auto-collant

### 1) Critères Généraux

	OUI	NON
Enquête judiciaire suite à une mort suspecte ou une mort avec violence ?		
L'anatomo-pathologiste refuse le prélèvement suite à une autopsie à effectuer ou déjà effectuée ?		
Le donneur est-il un étranger résidant depuis moins de 6 mois en Belgique?		
Age du donneur < 18 ans?		
Période post-mortem > 48 heures (pour un donneur mis en chambre froide endéans les 6 h) ?		
OU		
Période post-mortem > 12 heures (pour un donneur mis en chambre froide endéans les 6 h) ?		

### 2) Critères Médicales

	OUI	NON
Présence de maladies transmissibles, d'importance lors d'une application d'allogreffes de peau ?		
Présence de mélanomes potentiels?		
Le défunt a subi une radio- ou chimiothérapie?		
Maladies oncologiques du sang?		
Ictère d'étiologie inconnue?		
Présence dans le sérum de marqueurs d'une infection aiguë ou chronique de HIV?		
Présence dans le sérum de marqueurs d'une infection aiguë ou chronique de HCV?		
Présence dans le sérum de marqueurs d'une infection aiguë ou chronique de HBV?		
Présence dans le sérum de marqueurs de Syphilis?		
Présence dans le sérum de marqueurs d'autres maladies infectieuses d'importance?		
Détérioration mécanique ou microbienne de la peau à l'endroit du prélèvement?		
Le donneur fait partie d'un "groupe à risque" en ce qui concerne le HIV et autres maladies sévères transmissibles?		
Dermatose généralisée?		
Dermatoses à l'endroit du prélèvement (p. ex. champignons) ?		
Brûlures à l'endroit du prélèvement?		
Une infection systémique qui n'est pas sous contrôle au moment du don?		
Toxicité de la peau due à la présence d'agents ou de substances toxiques?		
Maladies portant atteinte à l'intégrité structurelle de la peau ou maladies du collagène?		
Thérapies entraînant une dégénération des tissus conjonctifs?		
Démence ou affection neurologique dégénérative d'origine virale ou inconnue?		
Traitement par hormone de croissance provenant de l'hypophyse humaine?		
Implantation d'une allogreffe de dure-mère en neurochirurgie?		
Donneur traumatisé (p.e. dénutrition,...)?		

# Donor Skin



- Treatment of deep 3th degree burn wounds
- Permits healing ("up-granulation") of the wound bed as preparation for auto-grafting
- In (children with) second degree burns, donor skin can be used as temporary dressing, diminishing pain as well as the need for skin replacement surgery
- **Prevents further loss of calories and fluid**
- **Anti-microbial barrier**



# Skin Harvesting



- **Operating theatres (BH) or autopsy-rooms (NBH)**
- **Aseptic techniques**
- **Medical supervision (exclusion criteria)**
- **Immediate storage in antibiotics containing transport medium (0 °C)**

# Skin Harvesting

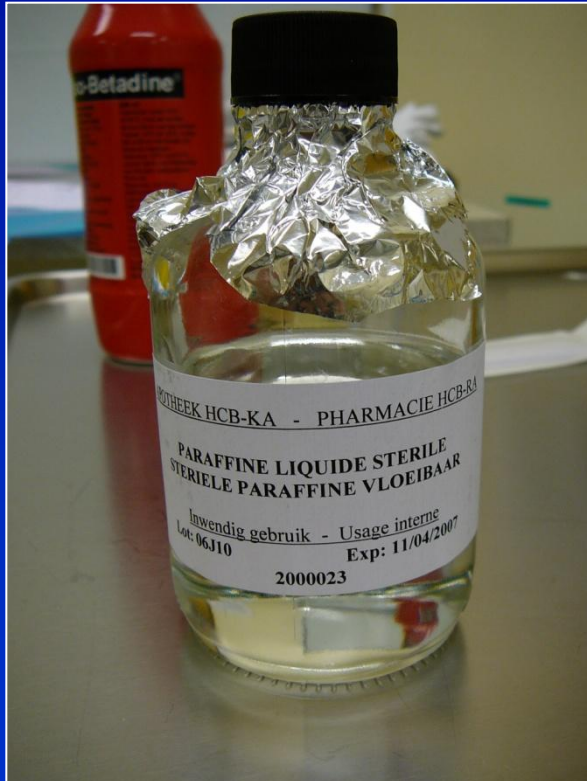


# Skin Harvesting



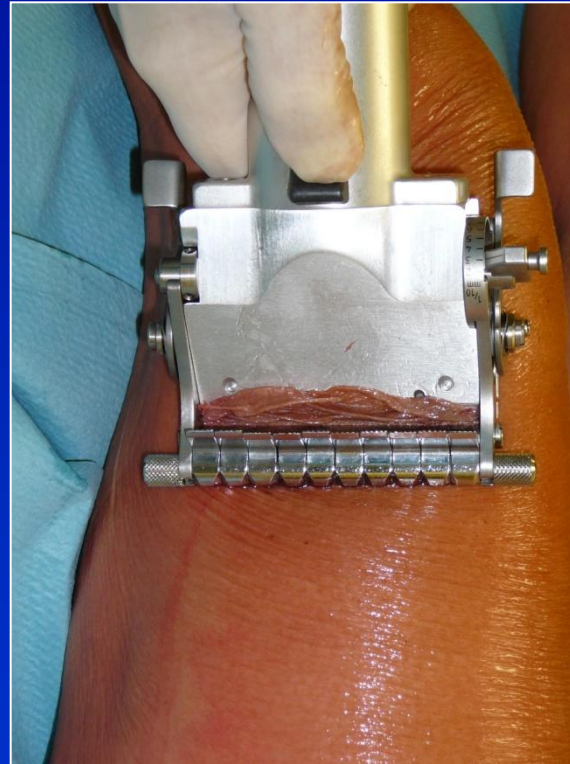


# Skin Harvesting





# Skin Harvesting

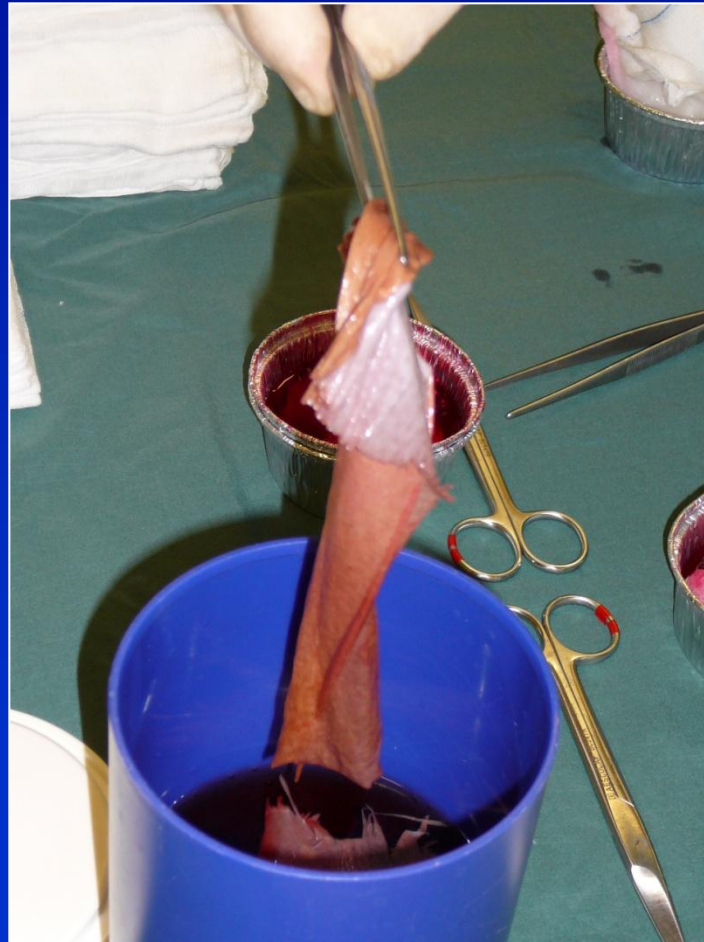
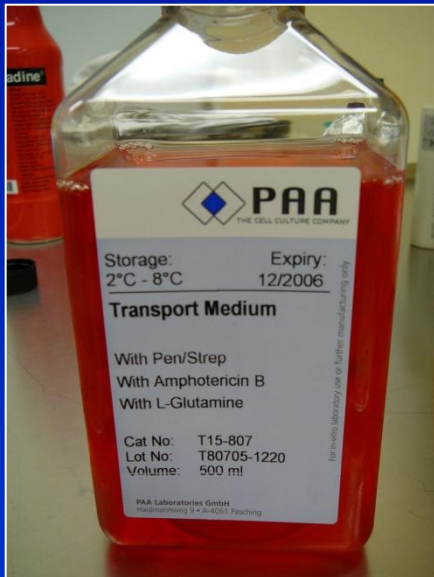


# Skin Harvesting

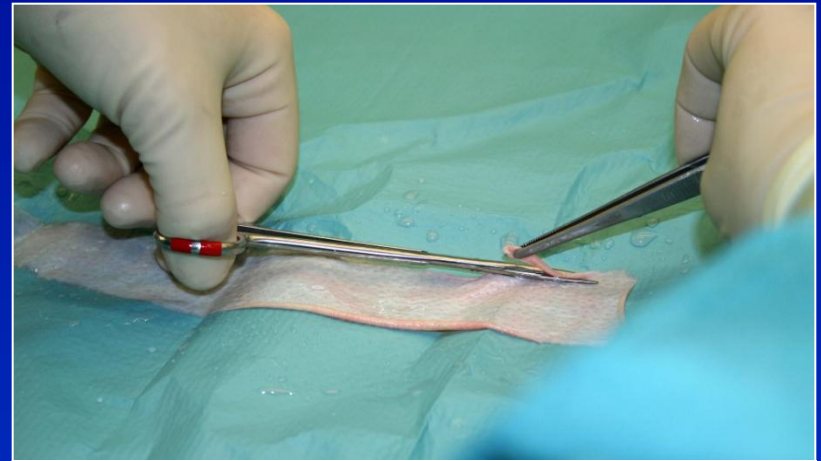




# Skin Harvesting

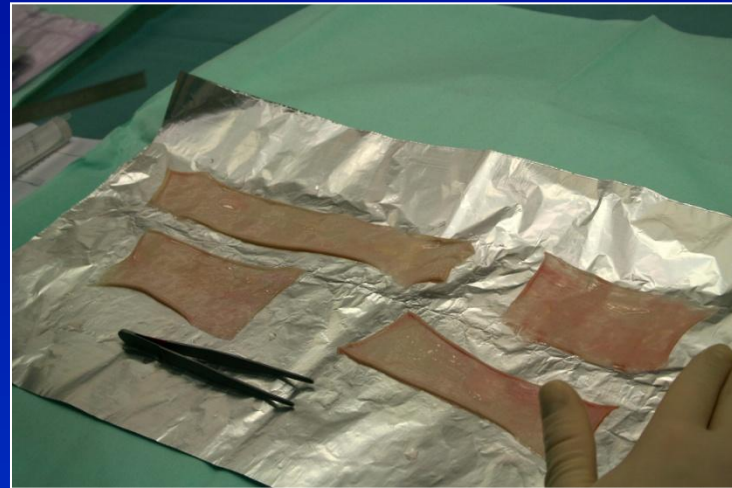


# Skin Conditioning





# Skin Conditioning



# Skin Conditioning



# Tests bactériologiques et sérologiques



Gevraagde analyse	Afnametube	Uitvoerend labo
Syfilis (TPHA)	Droge tube	Bloedbank
Syfilis (VDRL)	Droge tube	Serologie Labo
HBs Ag	Droge tube	Bloedbank
HBs Ab	Droge tube	Bloedbank
HBc Ab	Droge tube	Bloedbank
HBV DNA	BDPPT tube	Bloedbank
HAV Ab	Droge tube	Bloedbank
HCV Ab	Droge tube	Bloedbank
HCV RNA	BDPPT tube	Bloedbank
HIV Ab + HIV Ag p24	Droge tube	Bloedbank
HIV Ab	Droge tube	Bloedbank
HIV RNA	BDPPT tube	Bloedbank
HTLV Ab	Droge tube	Bloedbank
CMV Ab	Droge tube	Bloedbank
Bloedgroep (ABO en rhesus)	EDTA tube	Bloedbank

# CMV & Rhesus



Geglyceroliseerde huidallogreffen (Art n° 50/004)  
(Levend Humaan Weefsel - Living Human Tissue - Tissu Humain Vivant)

BSB n°: BSB-

Lot n°:

**CMV: + (POSITIEF / POSITIF)**

**Rhesus: - (NEGATIEF / NEGATIF)**

Doodsoorzaak / Cause de la mort :  
Leeftijd / Age :  
Geslacht / Sexe : M/M  
Donorzienhuls / Hôpital donneur :  
Bloedgroep / Groupe sanguin : O  
Vervaldatum / Date d'échéance :

Opmerkingen: nvt

Remarques: nvt

DOC 7.5.303.19 - versie 2

**For information only**

Cryogepreserveerde huidallogreffen (Art n° 50/002)  
(Levend Humaan Weefsel - Living Human Tissue - Tissu Humain Vivant)

BSB n°: BSB-

Lot n°:

**CMV: - (NEGATIEF / NEGATIF)**

**Rhesus: + (POSITIEF / POSITIF)**

Doodsoorzaak / Cause de la mort :  
Leeftijd / Age :  
Geslacht / Sexe : M/M  
Donorzienhuls / Hôpital donneur :  
Bloedgroep / Groupe sanguin : A  
Houdbaarheidsdatum / Date de péremption :

Opmerkingen: Niet gebruiken voor Rhesus negatieve vrouwen onder de 40 jaar (Rh+ graft)

Remarques: Ne pas utiliser pour des femmes Rhesus négative de moins de 40 ans (Rh+ graft)

DOC 7.5.303.1 - versie 2



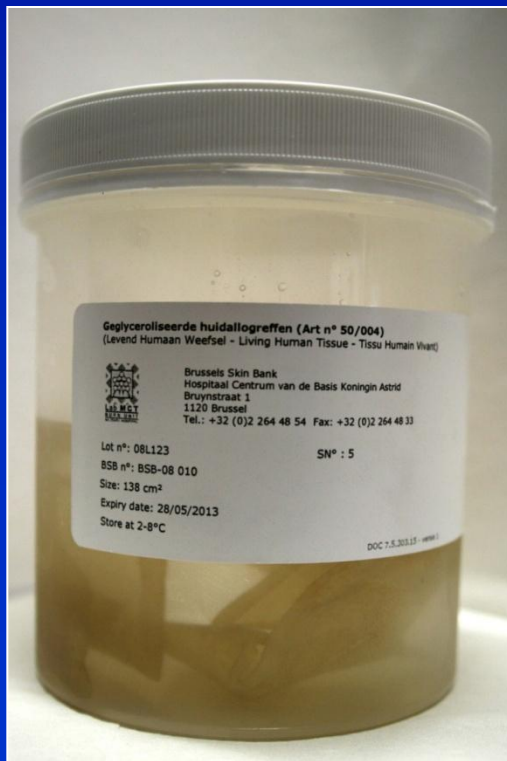
# Skin Cryo Preservation



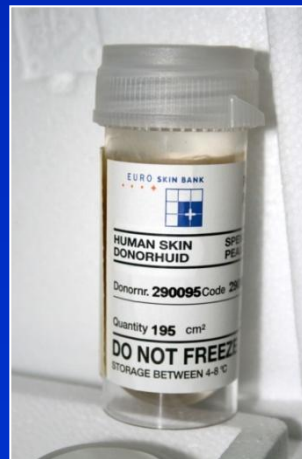
# Glycerol Preservation



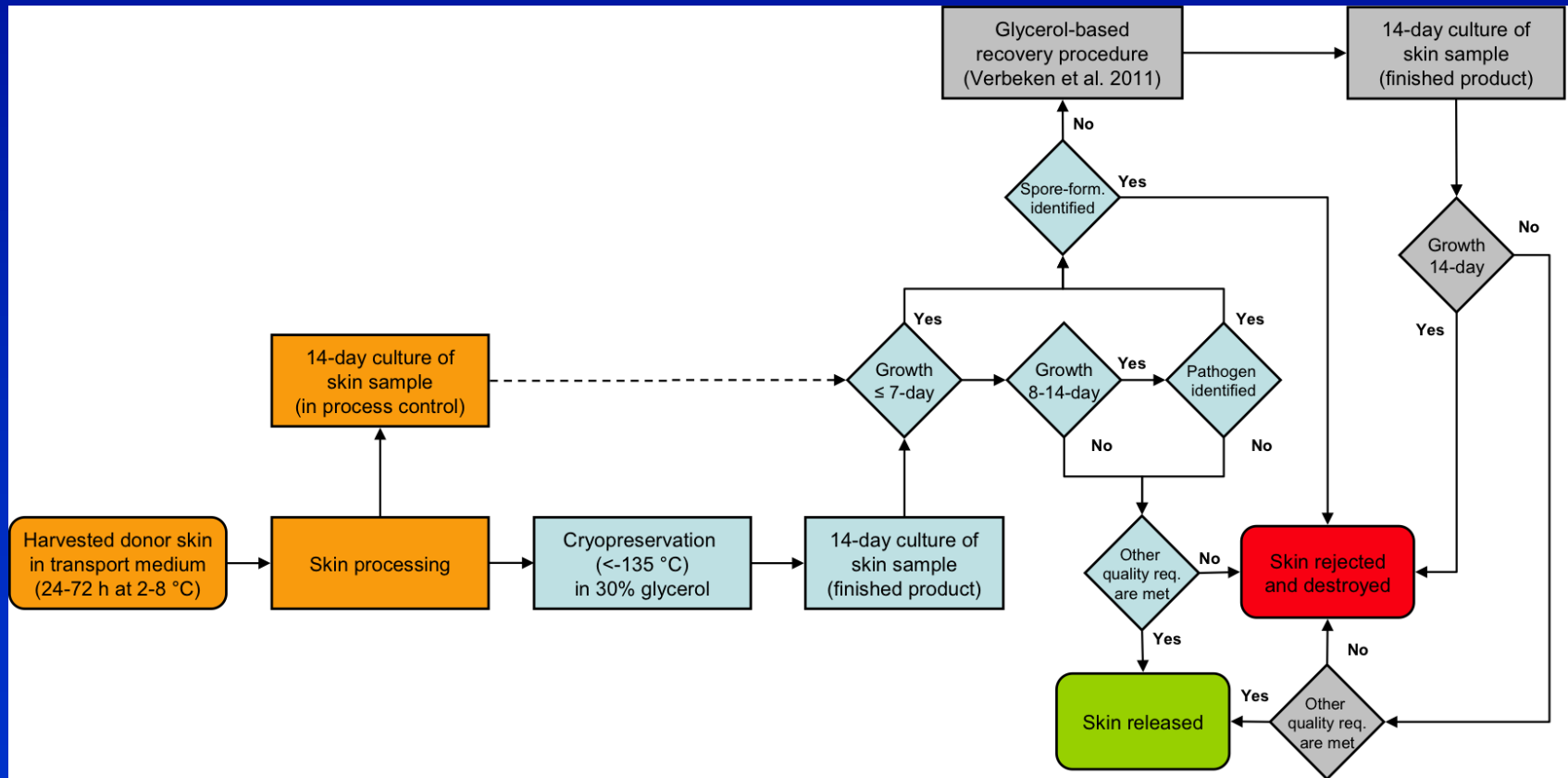
## Glycerolized Donorskin BSB



## Glycerolized Donorskin ESB (Netherlands)



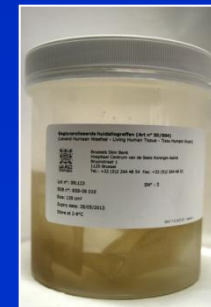
# Decontamination



# Donor Skin

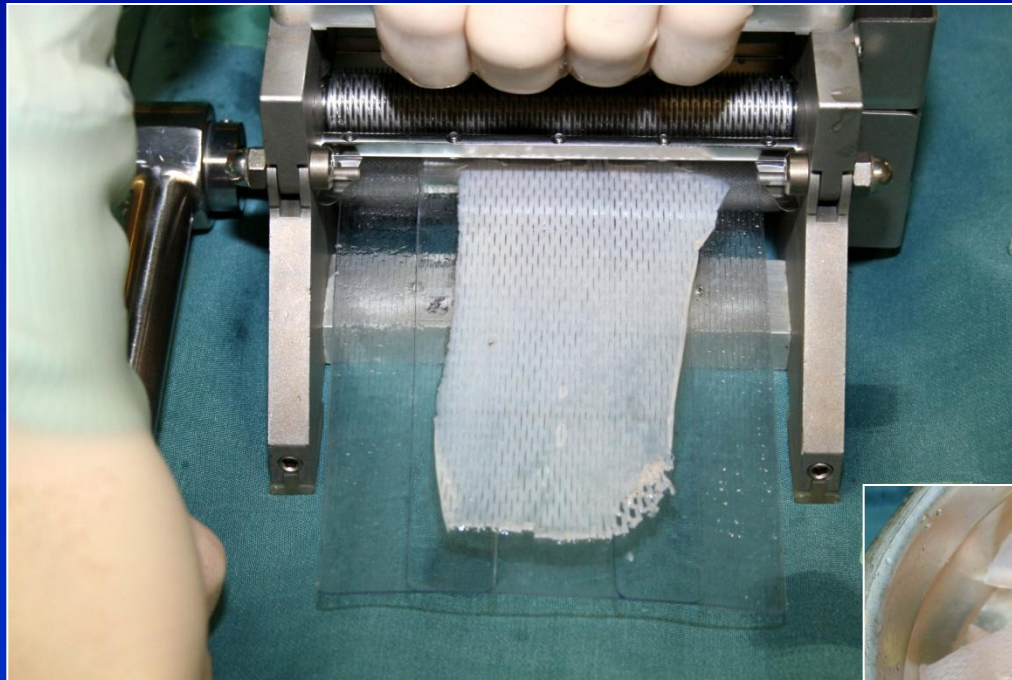


- **Cryo - preserved**
  - “Thinner”
  - Viable
  - Immunogenic
  - Storage < -135°C
- **Glycerol - preserved**
  - “Thick”, “Stiff”
  - Non viable
  - Less immunogenic
  - Storage at 2-4°C





# "Meshed" Graft



# APPLICATION



# Demande d'autogreffe



LabMCT  
Huid- en keratinocytenbank

RF 7.2.301.9 – versie 5  
Datum van ingebruikname: 18/12/2009

## Demande de livraison externe d'allogreffes

*Veuillez faire votre demande d'allogreffes au moins 48 heures avant l'utilisation, et ceci du lundi 8h00 au vendredi 16h30*

À: Banque de peau (N° d'agréation: 7-19001-60-212)  
Banque de kératinocytes (N° d'agréation: 7-19001-60 -219)  
A l'attention du gestionnaire du matériel corporel humain de l'établissement  
Hôpital Militaire Reine Astrid  
Rue Bruyn 1, B-1120 Bruxelles, Belgique  
Tel. 02/ 264 48 54 - Fax: 02/ 264 48 33

### DEMANDEUR:

Médecin responsable de la demande: \_\_\_\_\_  
Centre médicale: \_\_\_\_\_  
Adresse de livraison: \_\_\_\_\_  
Signature: \_\_\_\_\_ Date: \_\_\_\_\_ Fonction: \_\_\_\_\_  
Adresse de facturation et responsable: \_\_\_\_\_  
Téléphone: \_\_\_\_\_ Fax: \_\_\_\_\_ E-mail: \_\_\_\_\_

### DONNEES DU PATIENT (compléter ou coller vignette de la mutuelle):

Nom du patient: \_\_\_\_\_ Date de naissance: \_\_\_\_\_  
Adresse: \_\_\_\_\_  
Mutuelle: \_\_\_\_\_ Numéro de mutuelle: \_\_\_\_\_

### INDICATION:

Type de plaie: ☐ Ulcère ☐ Brûlure ☐ Autre: \_\_\_\_\_  
Traitement pr c dent: \_\_\_\_\_  
Surface désirée (de kératinocytes): ☐ \_\_\_\_\_ x 150 cm  ☐ \_\_\_\_\_ x 50 cm   
Surface désirée (de peau): ☐ \_\_\_\_\_ cm   
Livraison désirée le: date: \_\_\_\_\_ (jj/ mm/ aa)   \_\_\_\_\_ h (hh:mm)  
Application prévue le: date: \_\_\_\_\_ (jj/ mm/ aa)   \_\_\_\_\_ h (hh:mm)  
Remarques: \_\_\_\_\_

Le clinicien a la responsabilité de recevoir les allogreffes et de vérifier si l'utilisation sur son patient est opportune. Le clinicien est également responsable de l'évaluation d'éventuels risques liés à l'application des allogreffes. L'heure convenue de livraison vous sera encore confirmée.

Le prix appliqué est celui comme annoncé dans l'AM de 14/10/2009. Il sera indexé chaque année. Les prix actuels sont disponibles sur le site web suivant de l'INAMI: <http://www.inami.fgov.be/insureur/fr/index.htm#assus>

### ANNULATION DE LA DEMANDE:

L'annulation de la demande doit se faire par téléphone au 02/ 264 48 54 (ou 02/ 264 48 48 en dehors des heures ouvrables), de préférence 24h avant l'heure convenue de livraison.

*Réservé au LabMCT*

Référence de la demande: \_\_\_\_\_  
Approbation par le gestionnaire du matériel corporel humain de la livraison? ☐ QUI ☐ NON  
Nom: \_\_\_\_\_ Date: \_\_\_\_\_ Signature: \_\_\_\_\_

**Téléphone**  
**02/764.58.54**  
**FAX 48.33**

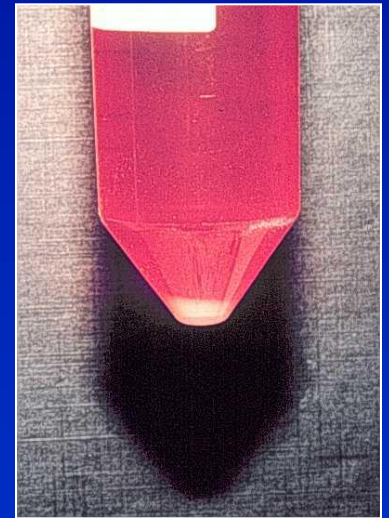
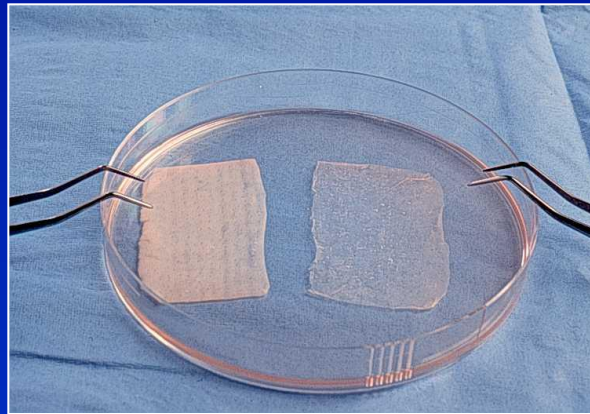
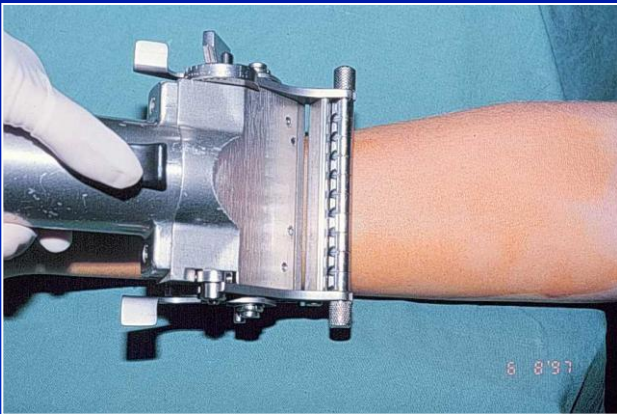


# Human Keratinocyte Bank





# Donor Keratinocytes

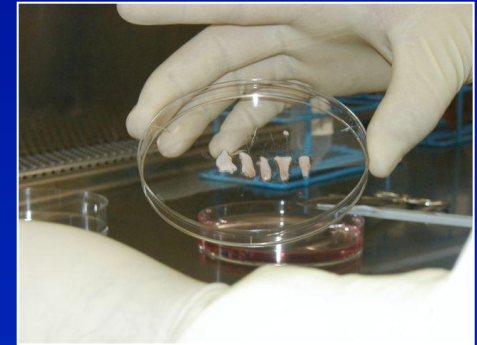


# Donor Keratinocytes



## Foreskin Collection - Cell Banking - Donor 02-006

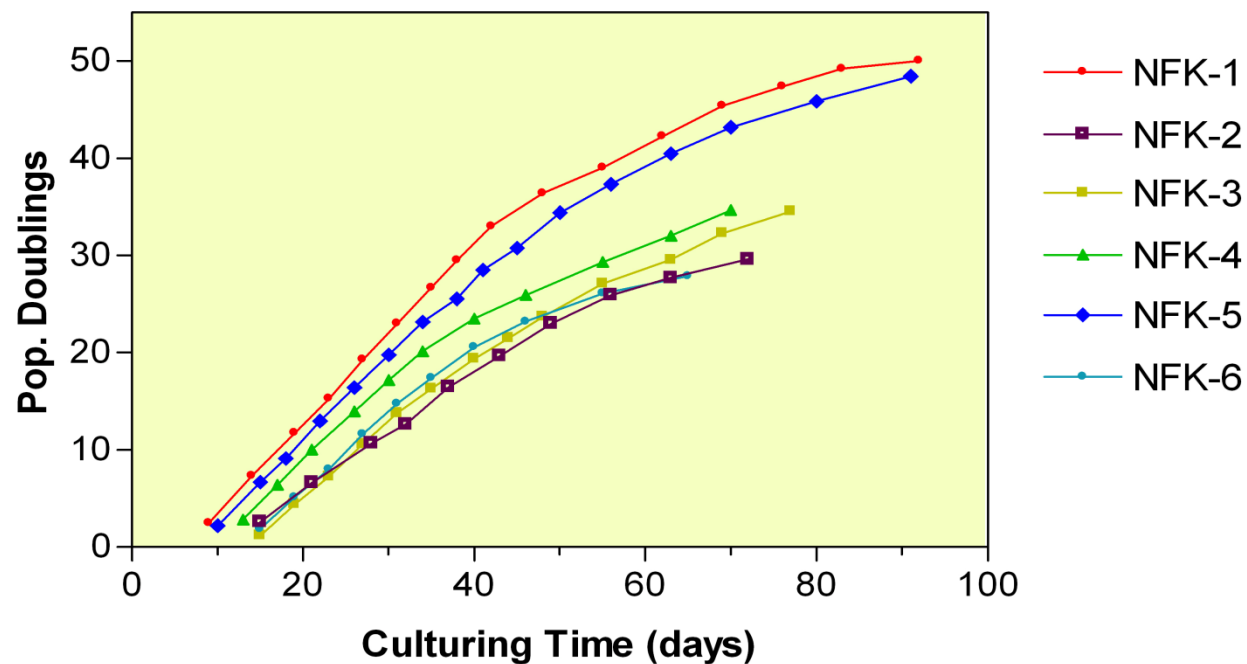
- Donor Skin Collection 02-006
  - Neonatal foreskin donor
  - Circumcision performed 1 day after birth
  - Donor's mother tested at birth and after 15 months
  - Serological testing
    - HIV1/2, HCV, HBV, HTLVII, CMV, EBV, Syphilis
  - Health + life style questionnaire
- Cell Banking 02-006
  - 1 Master Cell Bank (MCB)
  - Working Cell Bank (WCB) manufactured from Master Cell Bank
  - Extensive viral screening (PCR - in vitro tests - in vivo tests)



# Donor Keratinocytes



**Growth Curves Neonatal Foreskin Keratinocytes**  
6 selected donors



# Donor Keratinocytes



## Donor Testing 02-006 (Testing mother)

Test	Visit 1 (0-14 d after birth)	Visit 2 (6-8 m after birth)	Visit 3 (15 m after birth)
anti- HAV	Negative		
HBsAg	Negative		Negative
anti-HBs	Negative.		Negative
anti-HBc	Negative.		Negative
HBV-DNA (PCR)	Negative		
anti-HCV	Negative		Negative
HCV-RNA (PCR)	Negative		
anti-HIV	Negative		Negative
HIV-Ag	Negative		
HIV-RNA (PCR)	Negative		
anti- HTLV1&2	Negative		
TPHA	Negative		
anti-CMV IgG	Negative		
anti-CMV IgM	Negative	Negative	
anti-EBV IgG	Positive		
anti-EBV IgM	Negative		
GPT	Negative		

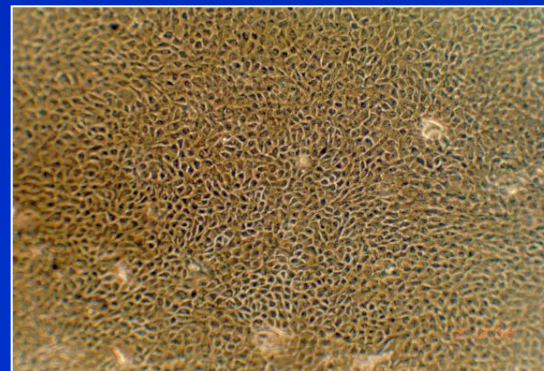
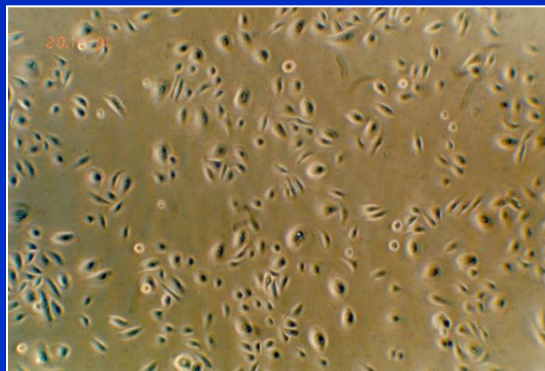
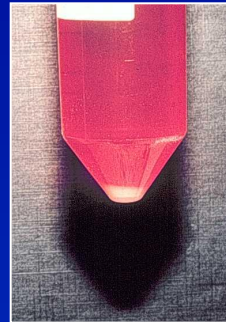
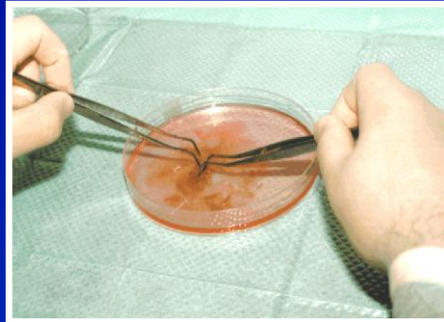
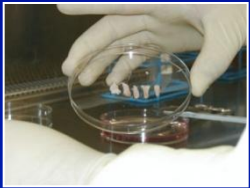
## Master Cell Bank Testing 02-006

Test	MCB
Sterility	Negative
Mycoplasma	Negative
Mycobacterium	Negative
TEM	Negative
PERT	Negative
In vitro assay for viral contaminants (MRC-5, Vero and Hela Cell line)	Negative
In vivo assay for viral contaminants	Negative
Human viruses (PCR)	
- CMV	Negative
- HAV	Negative
- HBV	Negative
- HCV	Negative
- Papilloma	Negative
- Polyoma	Negative
- HIV-1&2	Negative
- EBV	Negative
In vitro assay for porcine viruses	Negative
Extended assay for bovine viruses	Negative
Bovine viruses (PCR)	
- Polyoma	Negative
- Papilloma	Negative





# Donor Keratinocytes



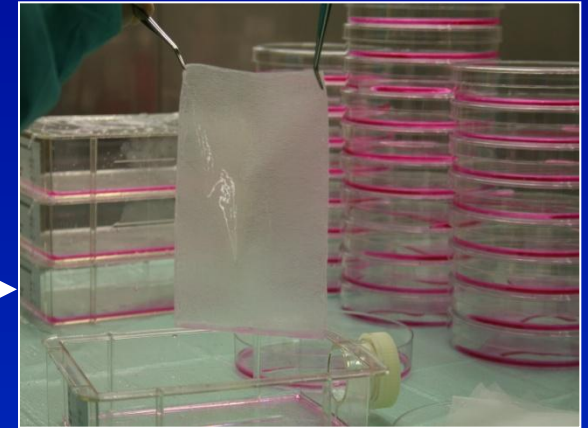
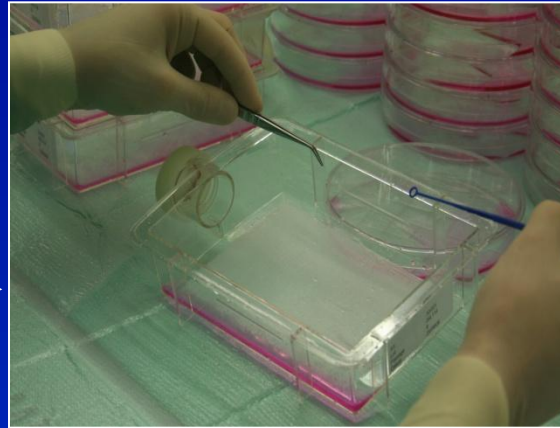
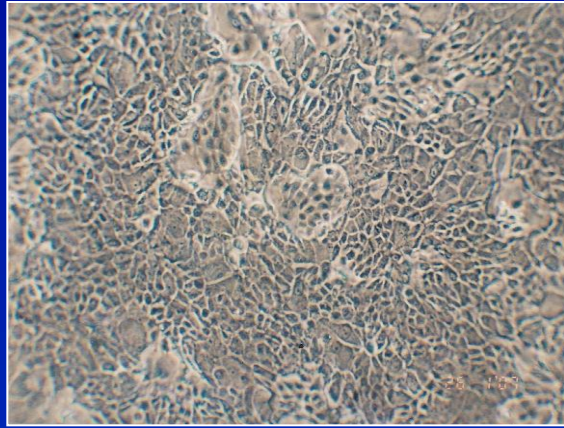
**Confluent**

**Multi - Layered**

**Differentiated**

**Sterile**

# Donor Keratinocytes



Certified by QA/QC/RA Manager – Senior Scientist (Biologist)

→ → →

Released by Dir. Ker. Bank (M.D.)



# Donor Keratinocytes



Fixation - Grid  
Aluminium - foil  
Cultured Sheet (Flapped Around Gauze)  
Nylon Carrier  
Inner Blister



- For use on defined patients / defined burns
- For stimulating donors site healing (& more re-harvesting)
- For stimulating closure of meshed autografts (or Meek-wall)
- For closing chronic skin ulcers (venous, diabetic, arterial)

# Ker. Application



**Do not slide sheets on wound bed / No cyto-toxic topicals on top of cells / Keep dressing closed for 5 days (hence infection) / Cutting sheet is possible / Fragile**



# Ker. Application



**Spray trypsin-treated keratinocyte sheets on wound bed / No cyto-toxic topicals on top of cells / Keep dressing closed for 5 days (hence infection) / Fragile**