



(12)

BREVET DE INVENȚIE

(21) Nr. cerere: **a 2009 00011**

(22) Data de depozit: **12.01.2009**

(45) Data publicării mențiunii acordării brevetului: **30.01.2013** BOPI nr. 1/2013

(41) Data publicării cererii:
28.08.2009 BOPI nr. 8/2009

(73) Titular:

- **DUMITRACHE CONSTANTIN**,
STR.LT.AV.BELLER RADU NR.6, BL.20,
SC.A, AP.51, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B,
RO;
- **SUPEANU IULIAN**,
STR. AUREL VLAICU NR.8, AP.1,
SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;
- **SUPEANU ALEXANDRU**,
STR. AUREL VLAICU NR.8, AP.1,
SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;
- **VLĂDULESCU IOAN-DUMITRU**,
BD.DECEBAL NR.8, BL.S 9, SC.1, ET.7,
AP.19, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;
- **VLĂDULESCU IOANA, ALEEA NICULIȚEL**
NR.1, BL.D 4, SC.4, ET.2, AP.52,
SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;
- **DARAGIU DELIA-ELENA, ȘOS.PANDURI**
NR.19, BL.P 9, ET.3, AP.19, SECTOR 5,
BUCUREȘTI, B, RO;
- **FLOREA ADRIANA CORINA**,
BD.MIHAI VITEAZU NR.2, BL.V 4, SC.A,
ET.8, AP.32, SIBIU, SB, RO;
- **FLOREA VIOREL RADU**,
BD.MIHAI VITEAZU NR.2, BL.V 4, SC.A,
ET.8, AP.32, SIBIU, SB, RO;
- **GALETESCU EMANUEL- MUGUREL**,
STR.NERVA TRAIAN NR.15, BL.M 69, SC.1,
ET.9, AP.34, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B,
RO;
- **STRĂMBU VICTOR DAN EUGEN**,
STR. TROTUȘULUI NR.4, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO

(72) Inventatori:

- **DUMITRACHE CONSTANTIN**,
STR.LT.AV.BELLER RADU NR.6, BL.20,
SC.A, AP.51, SECTOR 1, BUCUREȘTI, B,
RO;
- **SUPEANU IULIAN**, STR.AUREL VLAICU
NR.8, AP.1, SECTOR 2, BUCUREȘTI, B,
RO;
- **SUPEANU ALEXANDRU**,
STR. AUREL VLAICU NR.8, AP.1,
SECTOR 2, BUCUREȘTI, B, RO;
- **VLĂDULESCU IOAN-DUMITRU**,
BD.DECEBAL NR.8, BL.S 9, SC.1, ET.7,
AP.19, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B, RO;
- **VLĂDULESCU IOANA, ALEEA NICULIȚEL**
NR.1, BL.D 4, SC.4, ET.2, AP.52,
SECTOR 4, BUCUREȘTI, B, RO;
- **DARAGIU DELIA-ELENA, ȘOS.PANDURI**
NR.19, BL.P 9, ET.3, AP.19, SECTOR 5,
BUCUREȘTI, B, RO;
- **FLOREA ADRIANA CORINA**,
BD.MIHAI VITEAZU NR.2, BL.V 4, SC.A,
ET.8, AP.32, SIBIU, SB, RO;
- **FLOREA VIOREL RADU**,
BD.MIHAI VITEAZU NR.2, BL.V 4, SC.A,
ET.8, AP.32, SIBIU, SB, RO;
- **GALETESCU EMANUEL- MUGUREL**,
STR.NERVA TRAIAN NR.15, BL.M 69, SC.1,
ET.9, AP.34, SECTOR 3, BUCUREȘTI, B,
RO;
- **STRĂMBU VICTOR DAN EUGEN**,
STR.TROTUȘULUI NR.4, SECTOR 1,
BUCUREȘTI, B, RO

(56) Documente din stadiul tehnicii:
WO 2006/078796 A2

(54) ECHIPAMENT PENTRU CRIOCONSERVAREA CELULELOR STEM

(57) Rezumat:

Invenția se referă la un echipament pentru crioconservarea celulelor stem umane, recuperate din cordonul ombilical la naștere, utilizat în chirurgia transplantului de celule stem. Echipamentul conform invenției este alcătuit dintr-un modul destinat transportului unui cordon ombilical de la locul recoltării până la locul destinat procesării, un modul stabilizator de temperatură, destinat procesării termice a celulelor stem recoltate din cor-

donul ombilical, un biocontainer de punct termic, destinat crioconservării celulelor stem, precum și un modul revitalizor de celule stem, destinat procesării termice a celulelor stem, în vederea realizării unui transplant.

Revendicări: 4
Figuri: 1

Examinator: ing. CRISTUDOR DANA



Orice persoană are dreptul să formuleze în scris și motivat, la OSIM, o cerere de revocare a brevetului de invenție, în termen de 6 luni de la publicarea mențiunii hotărârii de acordare a acesteia

RO 123500 B1

1 Prezenta invenție se referă la un echipament destinat crioconservării celulelor stem
umane, recuperate din cordonul ombilical, la naștere, utilizate în chirurgia transplantului de
3 celule stem, în cazurile în care tratamentele clasice îndelungate nu au avut succes
terapeutic, iar boala este pe cale să genereze complicații majore.

5 Echipamentul pentru crioconservarea de foarte lungă durată a celulelor stem este
necesar în tratamentul consacrat al leucemiilor și a altor boli deosebit de grave, pentru
7 tratarea unor cazuri clinice în care transplantul de celule stem este unica șansă de supra-
viețuire și de vindecare a pacienților.

9 Echipamentele actuale, utilizate pentru crioconservarea celulelor stem recuperate,
la naștere, din sângele cordonului ombilical, se bazează pe metodologiile, principiile și
11 protocoalele stabilite și testate pentru crioconservarea celulelor stem, recuperate din măduva
osoasă sau sângele periferic aparținând pacientului. Dezavantajele majore ale echipa-
13 mentelor și metodelor utilizate în stadiul actual constau în aceea că nu utilizează temperaturi
riguros stabilizate și se practică temperaturi cuprinse în domenii relativ mari, respectiv, între
15 2 și 8°C, ca temperatură pentru stabilizarea termică a celulelor. Se practică rate de scădere
a temperaturii cu valori cuprinse între 1 și 2,5°C. Procedurile de crioconservare utilizează
17 pentru crioprotecție soluții relativ toxice, de tipul dimetilsulf oxid, Me₂SO, diluată în proporții
de 10 - 15 - 20 și chiar 25%. Aceste concentrații sunt foarte mari, la limita rezistenței
19 membranei celulare și pot leza membrana celulară, ducând la moartea celulei. Pentru
crioconservare, se utilizează temperaturi extrem de scăzute, la limita maximă de temperatură
21 a azotului lichid, de -196°C.

În stadiul actual al tehnicii, pentru crioconservarea celulelor stem, se folosesc
23 echipamente standard, cu destinație generală, folosite pentru crioconservarea și a altor tipuri
de celule, țesuturi umane sau material biologic. Parametrii tehnici ai acestor echipamente
25 cu destinație generală utilizați în activitatea de crioconservare nu sunt riguros stabiliți și
nu corespund cerinței obligatorii de procesare termică a duratei de timp și a ratei de creștere
27 sau scădere a temperaturii celulelor.

Problema tehnică pe care o rezolvă prezenta invenție constă în crioconservarea
29 celulelor stem, pentru foarte mare durată de timp, în deplină siguranță și asepsie, cu
respectarea riguroasă a valorilor procesării termice, chimice și a duratelor de timp, în
31 vederea menținerii viabilității celulelor utilizate în transplant.

Echipamentul destinat crioconservării celulelor stem umane, recuperate din cordonul
33 ombilical, la naștere, conform invenției, elimină dezavantajele menționate mai sus, prin
aceea că, în vederea menținerii viabilității celulelor utilizate în transplant, este compus dintr-
35 un modul pentru transport, destinat transportului cordonului ombilical de la locul recoltării
până la locul destinat procesării, un stabilizator de temperatură, care realizează scăderea
37 temperaturii flacoanelor cu celule stem, de la temperatura de +18 la temperatura de +4°C,
în 23 min, cu o rată de scădere a temperaturii de 0,6°C/min și care menține această
39 temperatură pe o durată de timp de 120 min, un revitalizator de celule stem, în care are loc
procesarea termică, unde temperatura este de -180°C, în vapori de azot lichid, un
41 biocontainer de punct termic, în care se realizează transferul termic al flacoanelor cu celule
stem de la temperatura de -180 la temperatura de +37°C, în vederea transplantului, și dintr-o
43 conexiune, care conectează biocontainerul de punct termic cu revitalizatorul de celule stem
și cu stabilizatorul de temperatură, determinând interdependența funcțională a modulelor.

45 Avantajele care decurg din aplicarea invenției sunt:

47 - procesarea termică, chimică și a duratelor de timp a celulelor stem simultan, cu o
foarte mare acuratețe, pentru ca toate celulele stem recuperate din sângele cordonului
ombilical și crioconservate să rămână viabile în vederea transplantului;

RO 123500 B1

- se menține temperatura programată aceeași durată de timp și aceeași valoare a ratei de creștere sau scădere a temperaturii, indiferent de masa încărcăturii, pentru întreaga durată de utilizare.	1 3
Se dă, în continuare, un exemplu de realizare a invenției, în legătură cu figura care reprezintă schema de principiu a echipamentului pentru crioconservarea celulelor, conform invenției.	5
Protocolul de utilizare al echipamentului conform invenției, destinat crioconservării celulelor stem în vederea transplantului, constă în aceea că realizează trei activități deosebit de importante, simultan.	7 9
Aceste activități, conform invenției, în ordine, sunt: procesarea termică, procesarea chimică și procesarea duratelor de timp, ale celulelor stem.	11
În acest scop, echipamentul pentru crioconservarea celulelor stem este compus din următoarele module:	13
- modul pentru transport, A;	
- modul stabilizator de temperatură, B;	15
- modul revitalizator de celule stem, C;	
- modul biocontainer de punct termic, D.	17
Modulul pentru transport A este destinat transportului cordonului ombilical de la locul recoltării până la locul destinat procesării. Are în componere, ca element principal, o cuvă sterilizabilă din oțel inoxidabil medical, termoizolată 51 .	19
Cuva 51 este răcită la temperatura de +18°C, cu ajutorul unor elemente semiconductoare tip Peltier 52 , conectate la termostatul electronic 56 , care procesează temperatura din interiorul cuvei 51 . Această temperatură este măsurată cu traductorul de temperatură 55 , de tipul platină-rodium 100 . Comparatorul de temperatură 57 compară temperatura programată de către programatorul 58 cu temperatura realizată în interiorul cuvei 51 . Modulul pentru transport se alimentează electric și de la rețea, cu ajutorul alimentatorului 53 , și pe durata deplasării, de la acumulatorii 54 .	21 23 25 27
Stabilizatorul de temperatură B are în componere: o cuvă din oțel inoxidabil medical, termoizolată 1 , stuțuri pentru admisia aerului rece 2 , 3 , ștuț pentru evacuare aer rece 4 , electromagnet pentru acționarea clapetei de admisie aer rece 5 , clapeta etanșă pentru admisie aer rece 6 , electromagnet pentru acționarea clapetei pentru compensare termică 7 , clapeta pentru admisie aer rece pentru compensare termică 8 , vaporizator compresor frigorific pentru compensare termică 9 , vaporizator pentru compresor frigorific pentru răcirea aerului din cuva 10 , rezistențe electrice în tub metalic pentru decongelarea automată a vaporizatoarelor 11 , 12 , electroturbine pentru dirijarea aerului rece din incintele vaporizatoarelor 13 , 14 , compresor frigorific pentru compensare termică 15 , compresor frigorific pentru răcirea aerului din cuva 16 , condensator frigorific pentru compensare termică 17 , compensator frigorific pentru răcire 18 , termorezistență din platină rodium - 100 , pentru măsurarea temperaturii flacoanelor cu celule stem 19 , programator temperatură 20 , comparator de temperatură 21 , programator pentru durata de timp 22 , tub pentru evacuare aer rece din cuva 23 , incintă vaporizator compresor frigorific pentru răcire 24 , incintă vaporizator compresor frigorific pentru compensație termică 25 , flacoane cu celule stem 26 .	29 31 33 35 37 39 41
Stabilizatorul de temperatură funcționează în următorul mod, conform invenției.	43
Condiția de performanță impusă este ca modulul B să realizeze scăderea temperaturii flacoanelor cu celulele stem, de la temperatura de +18 la temperatura de +4°C, în 23 min, cu o rată de scădere a temperaturii de 0,6°C/min și să mențină această temperatură pe o durată de timp de 120 min. Pentru a realiza precizia ratei de scădere a temperaturii din interiorul cuvei 1 , de 0,6°C/min, vor funcționa permanent ambele agregate frigorifice 15 și 16 .	45 47 49

RO 123500 B1

1 Cu ajutorul electromagnetului **5**, care deschide clapeta etanșă **6**, se introduce, în
regim continuu, aer rece din incinta **24**, în cuva **1**. Când comparatorul de temperatură **21**
3 detectează o diferență de temperatură între temperatura programată cu ajutorul progra-
matorului **22** și cea efectiv realizată, comandă electromagnetul **7**, care deschide clapeta
5 etanșă **8**, care va rămâne deschisă atât timp cât este necesar, pentru a aduce valoarea
temperaturii din cuva **1**, la valoarea programată.

7 Când temperatura a ajuns la valoarea programată, electromagnetul **7** închide clapeta
etanșă **8**.

9 Acest procedeu de compensare termică se repetă la interval de 60 s, pentru a
menține rata de scădere programată a temperaturii, de 0,6°C/min. În acest mod, aerul rece
11 din incinta vaporizatorului frigorific **25**, pentru compensare termică, nu mai pătrunde în cuva
1, a stabilizatorului de temperatură **A**.

13 Revitalizatorul de celule stem **C** utilizează, ca agent pentru transfer termic, apa sterilă.
Are în compunere, ca element principal, o cuvă din oțel inoxidabil, sterilizabilă, cu capac **27**,
15 umplută cu apă sterilă, în care se introduc flacoanele cu celule stem **38**, supuse procesului
termic de revitalizare în vederea transplantului. Încălzirea deosebit de rapidă, în 60 s, a
17 flocoanelor cu celule stem, de la temperatura de -180 la temperatura de +37°C, se realizează
utilizând ca agent de transfer termic apa sterilă. Cuvă revitalizatorului de țesut **27** se încarcă
19 cu o cantitate de 5 l de apă sterilă, care se supune procesului de încălzire, cu ajutorul
termorezistențelor **32** și **33**, în schimbătoarele de temperatura **30** și **31**. Temperatura
21 necesară revitalizării celulelor stem se programează din programatorul de temperatură **39**,
la valoarea de +37°C și rata de creștere a temperaturii din programatorul ratei de creștere
23 a temperaturii **41**, la valoarea de 108°C/min. Valoarea temperaturii atinse se măsoară cu
ajutorul traductorului de temperatură **37**, de tipul platină rodium **100**, plasat în interiorul cuvei
25 **27**. Flacoanele cu celule stem **38**, supuse revitalizării, se introduc în cuva **27**, în apa deja
încălzită la temperatura de +37°C. Datorită temperaturii extrem de scăzute a flacoanelor cu
27 celule stem, de -180°C, scoase din biocontainerul de punct termic **D**, temperatura lichidului
de încălzire are tendința să se răcească și o singură termorezistență electrică pentru
29 încălzire nu ar putea compensa termic valoarea temperaturii pierdute, cu respectarea ratei
de creștere a temperaturii. Revitalizatorul de celule stem este prevăzut cu două
31 schimbătoare de căldură **30** și **31**. În momentul când au fost introduse flacoanele cu celule
stem în lichidul de încălzire, diferența de temperatură dintre valoarea temperaturii progra-
33 mată și valoarea temperaturii efectiv realizată este compensată de către cel de-al doilea
schimbător de căldură **31**, prin alimentarea electrică a termorezistenței **33**, comandată de
35 comparatorul de temperatură **40**. Pentru uniformizarea temperaturii apei distilate, în cuva **27**,
se recirculă lichidul de încălzire cu electropompa **36**, pe toată durata procesului de
37 revitalizare a celulelor stem, în vederea transplantului.

39 Biocontainerul de punct termic **D** are în compunere un vas tip Dewars **42**, încărcat
cu azot lichid **46**. În vasul Dewars, se introduc doi cilindri din oțel inoxidabil **43**. Pentru a
menține flacoanele **43**, cu celule stem, în vapori de azot lichid, la temperatura de -180°C, s-
41 au montat, în interiorul flacoanelor, dispozitive de plutire fabricate din polistiren expandat de
mare densitate **45**, dispozitive care plutesc la suprafața azotului lichid. În dispozitivele de
43 plutire **45**, s-au practicat locașuri în care se introduc flacoanele cu celule stem **44**.
Termometrul electronic **48** măsoară temperatura din interiorul vasului Dewars, cu celule stem
45 crioconservate. Nivelul azotului lichid este măsurat cu ajutorul indicatorului de nivel **50** și
semnalat acustic și optic prin semnalizatorul **49**. Conexiunea **59** este un cablu electric
47 multifilar care conectează biocontainerul de punct termic **A**, cu revitalizatorul de celule stem
C și cu stabilizatorul de temperatură **B**, determinând interdependența funcțională a
49 modulelor.

RO 123500 B1

Prin cablul 59 , se transportă un semnal electric stabilizat de la termometrul electronic 48 al biocontainerului de punct termic D , cu valoarea de 5 V și un curent de 100 mA. Temperatura azotului lichid este o temperatură stabilă și este utilizată drept etalon pentru măsurători fizice. Senzorul de temperatură 47 , al biocontainerului de punct termic D , este de tipul platină-rodium 100 și este scufundat în azot lichid. Senzorul de temperatură 47 funcționează pe baza proprietății de modificare a rezistenței ohmice în funcție de temperatură. Platina este materialul cel mai des utilizat, pentru că este cel mai stabil și liniar dintre toate metalele și are un domeniu de lucru foarte larg: - 268°C + + 1064°C. Semnalul electric obținut din montajul în punte activă al senzorului de temperatură 47 generează un curent constant, cu valoarea de 100 mA, care asigură stabilitatea semnalului de referință al sursei de curent constant, la termometrele electronice 48 și termostatele electronice ale stabilizatorului de temperatură B și ale revitalizatorului de celule stem C .	1 3 5 7 9 11
În acest mod, se poate controla, stabili și procesa cu precizie temperatura de lucru a întregului echipament, și se realizează interdependența funcțională a modulelor.	13
Prin urmare, esențial pentru prezenta invenție, este memorarea secvențială, în comparatorul de temperatură 21 , a temperaturii realizate, când incinta B este goală, și compararea, la fiecare minut, cu temperatura efectiv realizată în interiorul acesteia, când este încărcată cu flacoane cu celule stem.	15 17
Diferența dintre cele două valori, a temperaturii programate și a valorii realizate, este sesizată de comparatorul de temperatură 21 , transformată în semnal electric și în funcție de valoare, se suplimentează aportul de aer rece în cuva stabilizatorului de temperatură B , până când valoarea temperaturii programate este egală cu valoarea temperaturii realizate.	19 21
Un exemplu de mod de funcționare a echipamentului conform invenției este prezentat în continuare.	23
Se alimentează electric stabilizatorul de temperatură B , fără încărcătură, programat pentru temperatura de +4°C, cu o rată de scădere a temperaturii de 0,6°C/min.	25
Se constată că cuva stabilizatorului de temperatură B a ajuns la temperatura programată, de +4°C, în 23 min.	27
Se încarcă cuva stabilizatorului de temperatură B cu un set de flacoane cu celule stem și se programează la temperatura de + 4°C, cu o rată de scădere a temperaturii de 0,6°C/min.	29 31
S-a constatat că timpul necesar pentru a ajunge la temperatura programată a fost de 29 min.	33
Repetând experimental, cu un număr diferit de flacoane cu material biologic, s-a constatat că timpul necesar atingerii temperaturii programate este de fiecare dată diferit, în funcție de încărcătura cu material biologic a stabilizatorului de temperatură B .	35
Această perioadă de timp, necesară stabilizării termice a celulelor stem, este diferită, în funcție de încărcătură, față de valoarea programată, și această diferență poate compromite viabilitatea celulelor stem necesare în transplant.	37 39
Așa cum s-a menționat mai sus, protocolul de utilizare al echipamentului conform invenției, destinat crioconservării celulelor stem în vederea transplantului, are la bază trei activități deosebit de importante, care se desfășoară simultan.	41
Aceste activități sunt: procesarea termică a celulelor stem, procesarea chimică și procesarea duratelor de timp.	43
În ordine, prima activitate de procesare termică presupune trecerea temperaturii cordonului ombilical proaspăt recoltat de la valoarea de +37°C la temperatura de +18°C, în modulul destinat transportului A .	45 47

RO 123500 B1

1 De la temperatura de +18°C, celulele stem, separate din cordonul ombilical, sunt
trecute, la temperatura de +4°C, în modulul pentru stabilizare termică B.

3 Următoarea etapă de procesare termică este la temperatura de -180°C, în vapori de
azot lichid, în biocontainerul de punct termic C.

5 Ultima etapă, de procesare termică, realizează transferul termic al flacoanelor cu
celule stem, de la temperatura de -180 la temperatura de +37°C, în vederea transplantului.

7 În același timp are loc și o procesare chimică a celulelor stem.
În etapa de recoltare și pe durata transportului cordonului ombilical se utilizează
9 soluții chimice pe bază de heparină și soluție Ringer, pentru a asigura întârzierea procesului
de coagulare a sângelui.

11 În etapa de separare a celulelor stem din cordonul ombilical, se utilizează soluții
chimice de tipul EDTA (etilen diamino tetra acid acetic) și PBS++ (soluție salină fosfatată).

13 În etapa de stabilizare termică, se utilizează soluții chimice pe bază de glicerină
anhidră, diluată în soluție Ringer.

15 În etapa de criogenare, celulele stem sunt supuse unui tratament cu soluții de
crioprotecție pe bază de glicerină în diluție cu soluție Ringer.

17 În etapa de revitalizare a celulelor stem, se utilizează soluții chimice pe bază de
dextran și medii de cultură.

19 Procesarea duratelor de timp, a etapelor obligatorii conservării celulelor stem este
deosebit de importantă, pentru faptul că celulele stem, separate din sângele cordonului
21 ombilical, se află deja în mediu hipoxic, ostil și toate operațiunile trebuie să se desfășoare
în intervale de timp optime, pentru a se evita pierderea viabilității.

23 Această operațiune de monitorizare a duratelor de timp obligatorii de respectat se
realizează cu ajutorul unui cronometru electronic, încorporat în fiecare comparator de
25 temperatură, care este setat să determine duratele de timp strict definite fiecărei etape.

27 Rezumând, prima operațiune în vederea crioconservării de lungă durată a celulelor
stem, recuperate din cordonul ombilical, este procesarea termică, urmată de cea chimică,
precum și de procesarea duratelor de timp în momentul recoltării. Prima operațiune de
29 procesare termică se realizează într-un container special destinat, sterilizabil și termostatat
la temperatura de +18°C. Containerul pentru transport este prevăzut cu un termometru și cu
31 un cronometru electronic, cu alarmă acustică, care indică durata de timp parcursă din
momentul recoltării până în momentul începerii procedurilor de conservare. Pe întreaga
33 durată a transportului, cordonul ombilical recoltat la naștere este menținut la temperatura de
+18°C, într-un mediu steril, cu soluție Ringer și soluții chimice pe bază de heparină. Durata
35 de timp alocată transportului nu trebuie să depășească 240 min.

37 Etapa a doua a procesului de crioconservare a celulelor stem este reprezentată de
separarea celulelor stem din cordonul ombilical prin gradient de densitate, centrifugate la o
turație de 13.000 RPM, pentru o durată de timp de 30 min.

39 După separarea din sângele cordonului ombilical, celulele stem sunt supuse unui
tratament termic, în echipamentul numit stabilizator de temperatură, care procesează termic
41 celule stem, în vederea crioconservării, pentru durată lungă de timp.

43 Temperatura necesară stabilizării termice este de +4°C și durata de timp este de 120
min, iar soluția chimică necesară este pe bază de glicerină și soluție Ringer în proporție de
18%.

45 După parcurgerea acestor etape obligatorii, flacoanele cu celule stem sunt transferate
în biocontainerul de punct termic, în mediu de vapori de azot lichid, la temperatura de -180°C
47 și crioconservate pentru o durată lungă de timp, aproximativ 20 ani.

RO 123500 B1

Acest procedeu conform invenției are avantajul de a menține în limitele programate, atât valoarea temperaturii flacoanelor, a duratei de timp, ca și a ratei de scădere a temperaturii programate, indiferent de cantitatea și masa materialului biologic introdus în incinta stabilizatorului de temperatură. 1 3

În cazul procesării termice a celulelor stem, această diferență dintre temperatura programată și temperatura realizată, a ratei de scădere a temperaturii, sau diferența dintre duratele de timp pentru a atinge temperatura programată, oricât de mici ar putea fi, pot compromite total viabilitatea celulelor stem. 5 7

Sistemul de termoreglare a cuvelor, stabilizatorului de temperatură și a revitalizatorului de celule stem, conform invenției, compară, la fiecare minut, valoarea temperaturii realizate în interiorul cuvei, cu valoarea temperaturii de referință, memorată în comparatorul de temperatură și diferența de valoare termică este mereu completată. Principiul de funcționare al echipamentului conform invenției constă în aceea că incintele termostatate pentru diferite temperaturi nu se încălzesc și nu se răcesc în mod uniform, nu mențin temperatura programată, datorită fenomenului de convecție și de inerție termică, și nu respectă rata de creștere sau scădere ale temperaturilor necesare, indiferent de încărcătură. Pe durata procesului termic, apar gradiente de temperatură semnificative între valorile de temperatură programate și cele efectiv realizate și ale ratei de creștere sau de scădere a temperaturii. În funcție de importanța aplicației, aceste gradiente de temperatură și de durată de timp sunt mai mult sau mai puțin importante, dar în cazul crioconservării celulelor stem, pentru foarte mare durată de timp, în vederea transplantului, acești parametri sunt deosebit de importanți. Echipamentul pentru crioconservarea celulelor stem pentru transplant, conform invenției, beneficiază de un sistem complex pentru controlul temperaturii realizate de către stabilizatorul de temperatură și revitalizatorul de celule, care principial funcționează în următorul mod. Se supune procesului termic de încălzire incinta termostatată a stabilizatorului de temperatură, la o anumită temperatură prestabilită și la o rată de scădere a temperaturii determinate, care nu are niciun fel de încărcătură în interior. Se memorează, în memoria comparatorului de temperatură, rata de încălzire și durata de timp necesară atingerii valorii temperaturii programate. La atingerea temperaturii programate, se constată că aceasta s-a realizat într-o durată de timp specifică. 9 11 13 15 17 19 21 23 25 27 29

Se repetă experimentul, încărcând incinta stabilizatorului de temperatură cu o cantitate nedeterminată de flacoane care conțin material biologic de aceeași densitate ca a celulelelor stem. 31 33

Când temperatura a ajuns la valoarea programată, se va constata că durata de timp și rata de scădere necesară atingerii valorii temperaturii programate au fost mai mari decât atunci când incinta era goală. De câte ori vom modifica cantitatea de material biologic introdusă în incinta termoreglată, durata de timp și rata de creștere sau scădere a temperaturii necesare atingerii valorii programate se va modifica. Pentru a se menține valoarea temperaturii programate, durata de timp necesară atingerii acestei valori, cât și valoarea ratei de creștere sau scădere a temperaturii, indiferent de cantitatea de material introdusă în incintă, puterea calorică a incintei va trebui compensată, proporțional cu valoarea temperaturii pierdute. 35 37 39 41

Compensarea termică a cuvelor, pentru a se menține temperatura programată, aceeași durata de timp și aceeași valoare a ratei de creștere sau de scădere a temperaturii, indiferent de încărcătură, reprezintă cea mai importantă problemă tehnică pe care o rezolvă prezenta invenție. 43 45

RO 123500 B1

1 Echipamentul conform invenției este caracterizat prin aceea că realizează compen-
sarea termică a cuvelor stabilizatorului de temperatură **1** și a revitalizatorului de celule **27**,
3 pentru a menține temperatura programată, aceeași durată de timp și aceeași valoare a ratei
de creștere sau de scădere a temperaturii, indiferent de masa încărcăturii cu material
5 biologic, pentru întreaga durata de procesare.

În stadiul actual al tehnicii, pentru crioconservarea celulelor stem, recuperate din
7 cordonul ombilical, la naștere, se utilizează echipamente standard, cu destinație generală,
folosite pentru crioconservarea și altor tipuri de celule, țesuturi umane sau material biologic.

9 Parametrii tehnici ai acestor echipamente cu destinație generală, utilizați în activitatea
de crioconservare, nu sunt riguros stabiliți și nu corespund cerinței obligatorii de procesare
11 termică, a duratei de timp și a ratei de creștere sau scădere a temperaturii celulelor stem în
vederea crioconservării.

13 Pentru a elimina aceste dezavantaje, echipamentul conform invenției realizează
procesarea termică, a ratelor de creștere și descreștere a temperaturilor, și a duratelor de
15 timp, cu mare precizie, pentru ca toate celulele stem recuperate din sângele cordonului
ombilical și crioconservate să rămână viabile în vederea autotransplantului.

17 Echipamentul pentru crioconservarea celulelor stem, conform invenției, elimină
aceste dezavantaje majore, prin memorarea, în comparatoarele de temperatură **21** și **40**, a
19 valorilor temperaturii realizate când incintele sunt goale și compararea, la fiecare minut, cu
valoarea temperaturii efectiv realizată în interiorul incintelor, când sunt încărcate cu flacoane
21 cu celule stem.

Diferența dintre cele două valori, ale temperaturii programate și a valorii efectiv
23 realizate, este sesizată de comparatoarele de temperatură **21** și **40**, transformată în semnal
electric, și în funcție de valoare, se suplimentează aportul de aer rece în cuva stabilizatorului
25 de temperatură **1**, sau lichid de încălzire în cuva **27**, a revitalizatorului de celule, până când
valoarea temperaturii efectiv realizată este egală cu valoarea temperaturii programate.

27 Pierderea de temperatură din stabilizatorul de temperatură **B** este compensată cu
ajutorul celui de-al doilea agregat frigorific **15**, care introduce aer rece în interiorul cuvei **1**,
29 până la atingerea de temperaturii programate, păstrând aceeași durată de timp și aceeași
rata de scădere a temperaturii.

31 Pierderea de temperatură din cuva de revitalizare **27**, a celulelor stem din modulul
revitalizator **C**, este compensată prin alimentarea electrică a celei de-a doua termorezistențe
33 **33**, pentru o durată de timp atât cât este necesar, ca să se atingă, în timpul cel mai scurt,
temperatura programată, păstrând aceeași durată de timp și aceeași rata de creștere a
35 temperaturii.

Acest echipament conform invenției are avantajul că menține în limitele programate,
37 atât valoarea temperaturii flacoanelor cu celule stem, a duratei de timp, cât și a ratei de
scădere sau de creștere a temperaturii programate, indiferent de cantitatea și masa
39 flacoanelor cu celule stem, introdusă în incinta stabilizatorului de temperatură **B** sau a
revitalizatorului de celule **C**.

41 În cazul procesării termice a celulelor stem în vederea crioconservării, diferențele de
valori dintre temperatura programată și temperatura realizată, a ratei de scădere ori de
43 creștere a temperaturii, sau diferența dintre duratele de timp pentru a atinge parametrii
programați, oricât de mici ar fi, pot compromite total viabilitatea celulelor stem.

45 Biocontainerul de punct termic **D**, conform invenției, ne furnizează două temperaturi
foarte stabile.

RO 123500 B1

Temperatura de -196°C a azotului lichid este temperatura de referință care este transformată în semnal electric și se utilizează la stabilizarea generatoarelor de curent constant ale comparatoarelor de temperatură electronice **21** și **40**, a stabilizatorului de temperatură și a revitalizatorului de celule. Semnalul electric este transportat din termometrul electronic **48**, al biocontainerului de punct termic, prin cablul de legătură **59**, prin care se realizează și interconectarea modulelor. 1
3
5

Temperatura de -180°C , necesară crioconservării celulelor stem pentru durată foarte lungă de timp, se realizează în vaporii azotului lichid, la o înălțime de cinci centimetri față de nivelul azotului lichid din container, care menține temperatura constanta de -180°C , indiferent de nivelul azotului lichid din biocontainerul de punct termic. 7
9

Beneficiind de o temperatură stabilă cu valoarea de -180°C , indiferent de nivelul azotului lichid din containerul de punct termic, flacoanele cu celule stem sunt plasate în dispozitivele **45**, care plutesc pe suprafața azotului lichid la înălțimea de cinci centimetri, unde este o temperatură constantă de -180°C . 11
13

RO 123500 B1

Revendicări

1
3
5
7
9
11
13
15
17
19
21
23
25
27
29
31
33
35
37
39
41
43
45
47

1. Echipament pentru crioconservarea celulelor stem umane, recuperate din cordonul ombilical, la naștere, utilizate în transplantul autolog, pentru foarte mare durată de timp, în deplină siguranță și aseptie, cu respectarea riguroasă a valorilor procesării termice, chimice și a duratelor de timp, în vederea menținerii viabilității celulelor utilizate în transplantul autolog, **caracterizat prin aceea că** este compus dintr-un modul pentru transport (A), destinat transportului cordonului ombilical de la locul recoltării până la locul destinat procesării, un stabilizator de temperatură (B) care realizează scăderea temperaturii flacoanelor cu celulele stem, de la temperatura de +18 la temperatura de +4°C, în 23 min, cu o rată de scădere a temperaturii de 0,6°C/min și care menține această temperatură pe o durată de timp de 120 min, un revitalizator de celule stem (C) în care are loc procesarea termică, unde temperatura este de -180°C, în vapori de azot lichid, un biocontainer de punct termic (D) în care se realizează transferul termic al flacoanelor cu celule stem de la temperatura de -180 la temperatura de +37°C, în vederea transplantului, și dintr-o conexiune (59) care conectează biocontainerul de punct termic (A) cu revitalizatorul de celule stem (C) și cu stabilizatorul de temperatură (B), determinând interdependența funcțională a modulelor.

2. Echipament conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** realizează compensarea termică a stabilizatorului de temperatură (B), care are în alcătuire:

- o cuvă din oțel inoxidabil medical, termoizolată (1);
- niște ștuțuri pentru admisia aerului rece (2, 3) și un ștuț pentru evacuare aer rece (4);
- un electromagnet pentru acționarea clapetei de admisie aer rece (5) și o clapetă etanșă pentru admisie aer rece (6);
- un electromagnet (7) pentru acționarea clapetei pentru compensare termică și clapeta (8) pentru admisie aer rece, pentru compensare termică;
- un vaporizator compresor frigorific (9) pentru compensare termică și un vaporizator (10) pentru compresor frigorific pentru răcirea aerului din cuvă;
- niște rezistențe electrice (11, 12) în tub metalic, pentru decongelarea automată a vaporizatoarelor;
- niște electro turbine (13) pentru dirijarea aerului rece din incintele (14) ale vaporizatoarelor;
- un compresor frigorific (15) pentru compensare termică și compresor frigorific (16) pentru răcirea aerului din cuvă;
- un condensator frigorific (17) pentru compensare termică și un compensator frigorific pentru răcire (18);
- o termorezistență din platină-rodium (19), pentru măsurarea temperaturii flacoanelor cu celule stem;
- un programator temperatură (20), un comparator de temperatură (21) și un gramator pentru durata de timp (22);
- un tub pentru evacuare aer rece din cuva (23);
- o incintă vaporizator compresor frigorific (24) pentru răcire și o incintă vaporizator compresor frigorific (25) pentru compensație termică și flacoane cu celule stem (26).

3. Echipament conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** realizează compensarea termică a modulului revitalizator de celule stem (C), care are alcătuire:

- o cuvă din oțel inoxidabil, sterilizabilă, cu capac (27), umplută cu apă sterilă, în care se introduc flacoanele cu celule stem (38), supuse procesului termic de revitalizare în vederea transplantului;

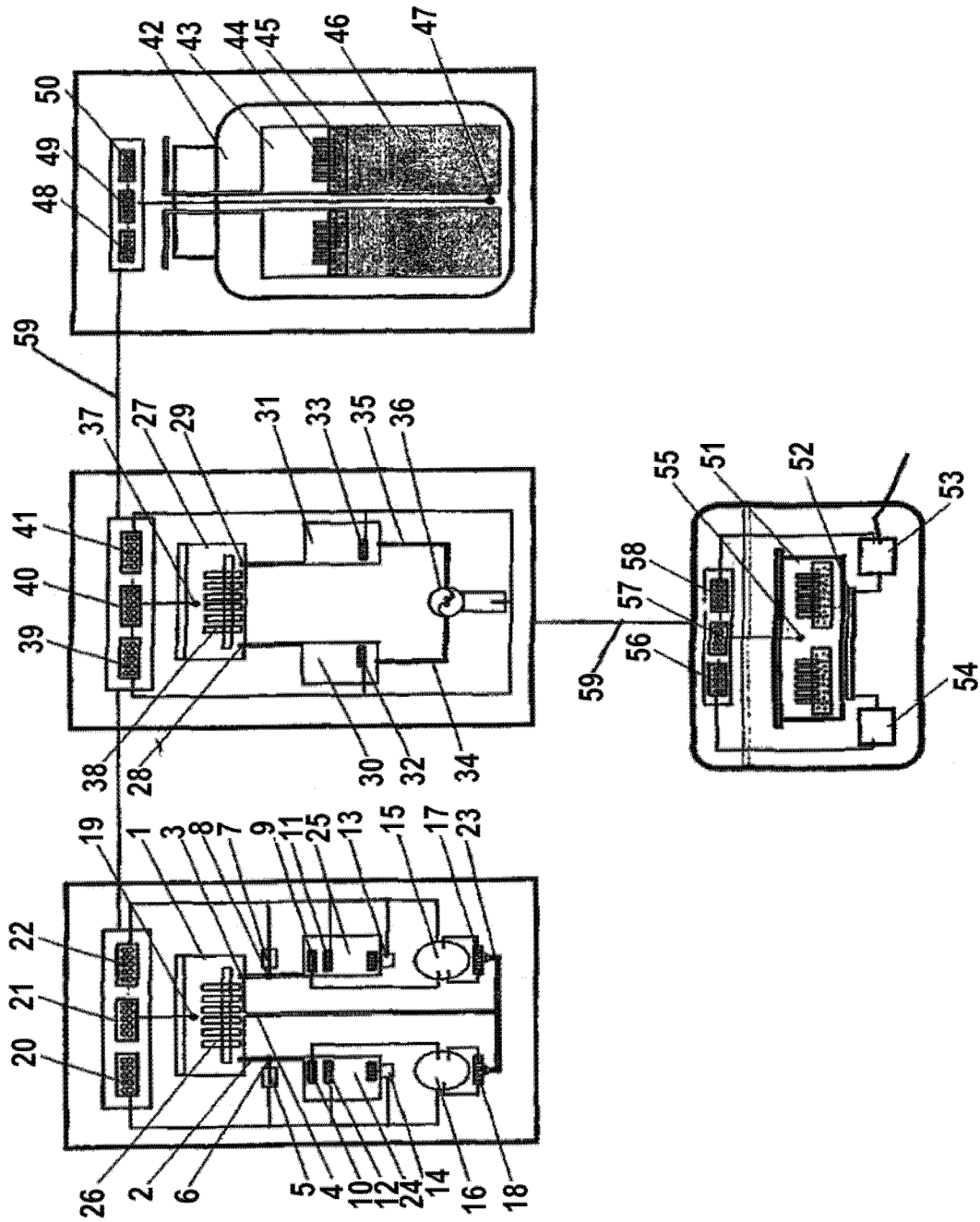
RO 123500 B1

- niște termorezistențe (32 și 33) de încălzire apă sterilă, încărcată în cuva revitalizatorului de țesut (27) prin niște schimbătoare de temperatură (30 și 31); 1
- un programator de temperatură (39) care programează temperatura necesară revitalizării celulelor stem, la valoarea de +37°C; 3
- un programator (41) rată de creștere a temperaturii la valoarea de 108°C/min, temperatură care se măsoară cu ajutorul unui traductor de temperatură (37), de tipul platină rodiiu, plasat în interiorul cuvei (27); 5 7
- două schimbătoare de căldură (30 și 31) care realizează diferența de temperatură dintre valoarea temperaturii programată și valoarea temperaturii efectiv realizată, prin alimentarea electrică a termorezistenței (33), comandată de un comparator de temperatură (40); 9 11
- o electropompă (36) pentru recircularea lichidului de încălzire pe toată durata procesului de revitalizare a celulelor stem în vederea transplantului. 13
- 4. Echipament conform revendicării 1, **caracterizat prin aceea că** realizează compensarea termică a modulului de punct termic (D), care are alcătuire: 15
- un vas tip Dewars (42), încărcat cu azot lichid (46), vas în care se introduc doi cilindri din oțel inoxidabil (43); 17
- niște dispozitive de plutire (45) pentru a menține flacoanele (43) cu celule stem în vapori de azot lichid la temperatura de -180°C și în care s-au practicat locașuri în care se introduc flacoanele cu celule stem (44); 19
- un termometru electronic (48) care măsoară temperatura din interiorul vasului Dewars, cu celule stem crioconservate; 21
- un indicator de nivel (50) care măsoară nivelul azotului lichid, care este semnalat acustic și optic printr-un semnalizator (49). 23

(51) Int.Cl.

A01N 1/02 (2006.01),

A61M 37/00 (2006.01)



Editare și tehnoredactare computerizată - OSIM
 Tipărit la: Oficiul de Stat pentru Invenții și Mărci
 sub comanda nr. 1/2013