

República Federativa do Brasil  
Ministério do Desenvolvimento, Indústria  
e do Comércio Exterior  
Instituto Nacional da Propriedade Industrial.

(21) **PI0609573-9 A2**



\* B R P I O 6 0 9 5 7 3 A 2 \*

(22) Data de Depósito: 23/03/2006  
(43) Data da Publicação: 20/04/2010  
(RPI 2050)

(51) *Int.Cl.:*  
A61M 1/02 (2010.01)  
A61M 1/36 (2010.01)

(54) Título: **SISTEMA INTEGRADO PARA COLETAR, PROCESSAR E TRANSPLANTAR SUBCONJUNTOS DE CÉLULAS, INCLUINDO CÉLULAS-TRONCO ADULTAS, PARA MEDICINA REGENERATIVA**

(30) Prioridade Unionista: 23/03/2005 IB PCT/IB2005/000747

(73) Titular(es): BIOSAFE S.A.

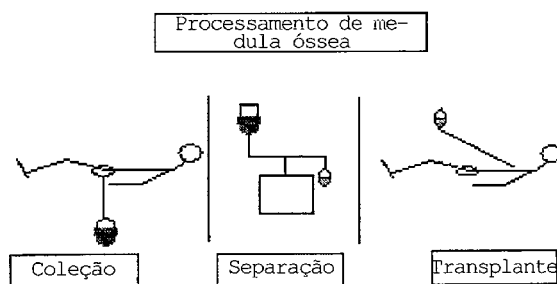
(72) Inventor(es): CLAUDE FELL

(74) Procurador(es): Nellie Anne Daniel Shores

(86) Pedido Internacional: PCT IB2006050895 de 23/03/2006

(87) Publicação Internacional: WO 2006/100651 de 28/09/2006

(57) Resumo: SISTEMA INTEGRADO PARA COLETAR, PROCESSAR E TRANSPLANTAR SUBCONJUNTOS DE CÉLULAS, INCLUINDO CÉLULAS-TRONCO ADULTAS, PARA MEDICINA REGENERATIVA. Um sistema para a extração, a coleta, o processamento e o transplante de subconjuntos de células, incluindo células-tronco adultas e plaquetas, em especial para o reparo de tecido na medicina regenerativa, compreende um kit de elementos descartáveis de transporte de fluidos que sejam pré-conectados ou que incluam conectores assépticos para fazer interconexões entre eles em uma maneira asséptica ou são adaptados para ser conectados asépticamente. O kit inclui geralmente três jogos de elementos estéreis descartáveis, um kit de coleta, um kit de processamento, e um kit de transplante embalado em uma cartela em uma sustentação tal como uma bandeja, tendo um compartimento para receber cada kit interconectável do kit. O kit inclui um dispositivo extrator, incluindo, por exemplo, uma agulha para a punção do osso ou a punção da veia, para extrair a medula óssea ou as outras fontes de subconjuntos de células de um paciente.





"SISTEMA INTEGRADO PARA COLETAR, PROCESSAR E TRANSPLANTAR SUBCONJUNTOS DE CÉLULAS, INCLUINDO CÉLULAS-TRONCO ADULTAS, PARA MEDICINA REGENERATIVA"

Campo da Invenção

5           Esta invenção relaciona-se à coleta, processamento automatizado e o transplante de subconjuntos de células como as encontradas na medula óssea, no sangue periférico, no sangue do cordão umbilical ou no tecido adiposo com o objetivo de reinjetar localmente estas células para reparar te-  
10       cidos. Os subconjuntos de células são tipicamente células-tronco adultas ou plaquetas, mas incluem mais geralmente todas as sub-populações de células como as células sanguíneas vermelhas e as células sanguíneas brancas. Tais procedimentos podem ser executados em um hospital ou em instalações  
15       médicas que não tenham nenhum laboratório de processamento celular, e que possam ser executados por técnicos não-especializados. A invenção inclui também um tipo novo de sensor ótico para monitorar os subconjuntos de células que passam através de um tubo transparente.

20           Histórico da Invenção

          As células-tronco são definidas como as células que têm potencialidades clonogênicas e auto-renovadoras e que se diferenciam em linhagens celulares múltiplas. Visto que as células-tronco embrionárias são derivadas de embriões  
25       mamíferos no estágio de blastócito e têm a capacidade de gerar qualquer célula terminalmente diferenciada no corpo, as células-tronco adultas são parte de células específicas ao tecido do organismo pós-natal no qual são destinadas a se

diferenciar. As células-tronco adultas oferecem vantagens práticas sobre as células-tronco embrionárias. Ao contrário das últimas, não levantam nenhum questionamento ético, e podem ser extraídas do próprio paciente. Estão em fonte abundante e são intrínsecas aos vários tecidos do corpo humano. As fontes mais acessíveis de células-tronco adultas são a medula óssea, o sangue periférico, o sangue do cordão umbilical e possivelmente os tecidos adiposos, como indicado por estudos recentes. Estas células são capazes de manter, de gerar e de substituir células terminalmente diferenciadas dentro de seu próprio tecido específico como consequência do retorno celular fisiológico ou dano tecidual devido a um ferimento. Tal potencialidade, conhecida como plasticidade celular, conduziu ao desenvolvimento de aplicações terapêuticas que objetivam a regeneração de tecidos defeituosos, com o objetivo de restaurar a fisiologia e a funcionalidade do órgão afetado. As células-tronco adultas podem originar células hematopoéticas como conhecidas há muitas décadas, mas, que como descoberto em anos recentes, pode também originar os vasos sangüíneos, os músculos, o osso, a cartilagem, a pele, os neurônios, etc. Tais células são conhecidas como células-tronco mesenquimais. Além disso, as plaquetas preparadas como concentrado de plaquetas podem ser usado para acelerar a cicatrização de um ferimento, e conseqüentemente podem desempenhar um papel na medicina regenerativa para ajudar na reconstrução de tecidos como o osso, a pele ou outros tecidos.

As células-tronco Hematopoéticas foram usadas am-

plamente para os pacientes transplantados que se submeteram à quimioterapia a fim de restaurar sua hematopoiese. Extraído inicialmente da medula óssea, foram extraídos mais recentemente de fontes como o sangue periférico ou o sangue umbilical, estes últimos tendo a capacidade mais elevada de proliferação. As células para o transplante requerem processamento especial como a separação das células, seguida às vezes por processos de seleção e / ou de expansão. Até o momento, tais manipulações foram executadas dentro dos laboratórios de processamento celular bem equipados por pessoal altamente treinado que seja competente em biologia e em hematologia celular. Tais manipulações requerem preparações laboratoriais de trabalho intenso que envolvem a centrifugação em tubos, a separação por gradiente de densidade, frequentemente executados em um sistema aberto com o risco de contaminação por bactérias, etc.

As novas perspectivas oferecidas por células-tronco no campo da medicina regenerativa são desafiadas por introduções práticas de manipulação destas células em ambientes que são estranhos a estas técnicas. Uma das questões principais é a falta de quartos desinfetados permitindo o processamento seguro das células. Pode-se citar como exemplos as áreas de cardiologia, ortopedia e neurologia, que estão todas experimentando terapias baseadas em células-tronco, mas entretanto faltam faculdades de processamento celular adequadas. Conseqüentemente há uma necessidade de sistemas simples que possam processar as células-tronco adultas ou geralmente quaisquer subconjuntos de células auto-

maticamente, em um sistema fechado e a fim de fornecer rapidamente um sistema de processamento de células em linha próximo ao leito do paciente.

#### Divulgação da Invenção

5           A invenção fornece um sistema que permite a extração, a coleta, o processamento e o transplante dos subconjuntos de células que alvejam o reparo tecidual na medicina regenerativa. Tal sistema pode ser oferecido em uma sustentação como uma bandeja que inclua kits individuais para executar o procedimento. Os kits individuais podem ser previamente  
10           conectados ou podem ser equipados com os conectores assépticos para fazer interconexões entre eles em uma maneira asséptica, ou podem ser conectados usando um dispositivo de conexão estéril como o SCD de Terumo, operando por solda.

15           A invenção fornece um sistema simples para processar / concentrar automaticamente subconjuntos de células em um sistema fechado que possa fornecer um sistema de processamento de células em linha próximo ao leito do paciente, como determinado na reivindicação 1. As modalidades da invenção são de-  
20           terminadas nas reivindicações dependentes.

          Em uma modalidade, o recipiente de coleta usado para coletar os subconjuntos de células do paciente pode ser projetado de tal maneira a fim de ser usado também como uma câmara de separação. Similarmente, o receptáculo usado para  
25           coletar as células separadas pode ser projetado em tal maneira a fim de servir como um recipiente de reinfusão para distribuir as células de volta ao paciente. A separação das células pode objetivar uma coleta de creme leucocitário ou

ser executada usando um processo baseado na separação por gradiente de densidade, seguida por uma lavagem de células, baseada no sistema como descrito em EP-B-912 250 (Claude Fell) e PCT / IB99 / 020523 (Biosafe). Uma outra maneira de processar as células é usar microesferas revestidos com os anticorpos monoclonais como descrito em WO03 / 009889 (Cell-Genix / Biosafe).

O uso combinado de um detector ótico que possa medir a absorção e a reflexão devidas às células que fluem em um tubo transparente permite coletar mais precisamente um subconjunto particular de células como plaquetas para produzir um concentrado de plaquetas. Tal concentrado de plaquetas pode ser obtido em um procedimento em separado ou como um sub-produto durante um procedimento que objetive um subconjunto de células. A invenção contempla também o uso do sistema descrito para preparar um concentrado de plaquetas para uso em separado.

A invenção fornece assim um sistema inteiramente integrado para a intervenção próxima ao leito que minimize os riscos de contaminação usando um sistema fechado. Oferece um grande nível de automatização e não se baseia em nenhuma perícia em processamento celular especial. É apropriado para assegurar qualquer fonte de células (tais como células-tronco adultas, plaquetas), mas particularmente para a preparação de células-tronco da medula óssea, em um contexto autólogo ou alogênico.

#### Breve Descrição dos Desenhos

A invenção será descrita ainda, por meio de exem-

plos, em referência aos desenhos esquemáticos anexos em que:

A Figura 1 é um diagrama que ilustra a instalação geral de um kit de processamento de medula óssea de acordo com a invenção;

5 A Figura 2 mostra os símbolos usados nas Figuras 3 a 7 para ilustrar os diferentes componentes dos kits ilustrados de acordo com a invenção;

As Figuras 3A e 3B mostram duas modalidades de um kit de coleta, um sem e outro com uma unidade de filtro;

10 A Figura 4 mostra um kit de processamento que pode ser conectado por um conector asséptico a um kit de coleta como mostrado nas Figuras 3A ou 3B ou a um kit de transplante como mostrado nas Figuras 5A ou 5B;

15 A Figura 5 A mostra elementos individuais de um kit de transplante e a Figura 5B mostra uma combinação dos elementos que compõem um kit de transplante;

A Figura 6 ilustra diferentes combinações dos kits para compor um sistema completo;

20 A Figura 7 é um diagrama de um kit de processamento de medula óssea completo no qual uma câmara de processamento rotativa constitui uma seringa de separação que seja usada também para a coleta e o transplante das células;

25 As Figuras 7A, 7B e 7C mostram as configurações operativas dos componentes do kit de 7 para a coleta, o processamento e o transplante, respectivamente;

As Figuras 8A, 8B e 8C mostram o princípio da detecção das células por um sensor de linha ótica usando as propriedades de absorção e reflexão das células;

A Figura 8D mostra uma vista vertical do sensor de linha ótica com a posição dos dispositivos LED e receptor; e

A Figura 9 mostra sinais de saída típicos do sensor de linha ótica de 8.

5                    Descrição Detalhada

A invenção se relaciona a um sistema integrado permitindo a coleta de subconjuntos de células, seu processamento / concentração e reinfusão de um produto rico do subconjunto de células em particular com o objetivo de reparar ou regenerar um tecido ferido ou defeituoso.

O processo será descrito em um contexto autólogo, significando que as células são extraídas e reinfundidas ao mesmo paciente. Prefere-se tal tratamento autólogo geralmente porque não há nenhuma reação imunológica ou efeito adverso devido a incompatibilidades entre o doador e os receptores. Entretanto o princípio permaneceria o mesmo em um contexto alogênico.

As células-tronco, e mais especificamente as células-tronco mesenquimais são encontradas na medula óssea de acordo com o conhecimento atual, embora os estudos indiquem que as células-tronco mesenquimais existam também no sangue do cordão umbilical, sangue periférico ou mesmo em tecidos gordurosos. Embora o princípio se aplique também a estas várias fontes de células-tronco, o processo descrito aqui se relaciona ao processamento da medula óssea.

O processo consiste primeiramente em uma extração da medula óssea da zona pélvica, sob uma anestesia local. O osso é perfurado usando um extrator de medula óssea, por e-

xemplo, do tipo Tyco. A medula é aspirada usando um ou diversas seringas, que são pré-enchidas com algum anticoagulante, geralmente heparina ou uma solução de citrato / fosfato. Um volume de 50 mL é tipicamente coletado, mas poderia ser um valor diferente. A medula óssea aspirada é geralmente transferida em uma sacola de coleta de PVC, tanto filtrada como não, e pode ser posta sobre um agitador. a sacola de coleta de PVC é então conectado, usando técnicas assépticas, preferivelmente no sistema descrito em EP-B-912 250 e PCT / IB99 / 02052, e a separação e a concentração de células-tronco são então executadas de acordo. Outras câmaras centrífugas de processamento podem ser usadas (por exemplo, onde o eixo de rotação não seja paralelo ao eixo de uma câmara de processamento cilíndrica) ou usando recipientes flexíveis.

EP-B-O 912 250 (CFELL), cujo conteúdo é incorporado neste por a referência, descreve um sistema para o processamento e a separação de líquidos biológicos em componentes, compreendendo um kit de recipientes para receber o líquido biológico a ser separado e os componentes separados, e opcionalmente um ou mais recipientes adicionais para soluções aditivas. Uma câmara centrífuga de processamento oca é rotativa sobre um eixo de rotação pelo acoplamento da câmara de processamento a uma unidade de movimentação giratória. A câmara de processamento tem entrada / saída axial para que o líquido biológico seja processado e para os componentes processados do líquido biológico. Esta entrada / saída conduz em um espaço de separação de volume variável onde todo o

processamento centrífugo do líquido biológico ocorre. A câmara de processamento compreende uma parede geralmente cilíndrica que se estende de uma parede da extremidade da câmara de processamento, esta parede geralmente cilíndrica que define na mesma a câmara de processamento oca que ocupa um espaço cilíndrico aberto oco coaxial com o eixo de rotação, a entrada / saída axial sendo fornecida na referida parede da extremidade coaxial com a parede geralmente cilíndrica para abrir na câmara de processamento oca. A câmara de processamento contém dentro da parede geralmente cilíndrica um membro axialmente móvel tal como um pistão. O espaço da separação de volume variável é definido em uma parte superior da câmara de processamento pela parede geralmente cilíndrica e pelo membro axialmente móvel contido na parede geralmente cilíndrica da câmara de processamento, onde o movimento axial do membro móvel varia o volume do espaço de separação, o membro móvel sendo axialmente móvel dentro da câmara de processamento à entrada de uma quantidade selecionada do líquido biológico a ser processado no espaço de separação através da entrada antes ou durante o processamento de centrifugação e para expressar componentes do fluido biológico processado do espaço de separação através da saída durante ou após o processamento de centrifugação. Os meios são fornecidos para monitorar a posição do membro móvel para controlar desse modo a quantidade do líquido biológico que entra e a expressão de componentes separados. O sistema ainda compreende um arranjo de válvulas de distribuição para estabelecer uma comunicação seletiva entre a câmara de processamento e os reci-

pientes selecionados ou para manter a câmara e os recipientes de processamento fora de comunicação.

De acordo com PCT / IB99 / 02052, tal sistema é arranjado para operar em uma modalidade de transferência de separação e de não separação, que forneça maiores possibilidades para o uso do sistema incluindo as novas aplicações que não foram contempladas previamente, como a separação de células-tronco hematopoéticas e no processamento laboratorial geral. Assim, o sistema pode ser arranjado para operar, de forma que:

no modo de separação os líquidos possam ser colocados na câmara de processamento enquanto a câmara esteja em rotação ou estacionária, o líquido colocado na câmara é centrifugado e separado em componentes, e os componentes separados expressos enquanto a câmara girar ou, opcionalmente, para o último componente separado, enquanto a câmara for estacionária; e

no modo de transferência o líquido é colocado na câmara de processamento e expressa o líquido com a câmara estacionária. O arranjo da atuação da válvula é na verdade para transferir quantidades de líquido de um recipiente a outro através da câmara de processamento, movendo o membro, sem centrifugação ou separação do líquido em componentes, e os meios para monitorar a posição do membro do móvel controlam as quantidades de líquidos não separados transferidos. Na nova aplicação de acordo com a presente invenção, que usa vantajosamente a câmara de separação de acordo com EP-B-912 250 e PCT / IB99 / 02052, a separação pode objetivar uma co-

leta do creme leucocitário que permita a maior recuperação em células-tronco sem nenhum objetivo específico de subconjunto de células. O produto inicial, cuja fonte é aquela descrita acima, é introduzido na câmara de separação abaixando o pistão. Uma vez que o produto foi carregado na câmara de separação - isto é detectado pelo sensor de linha ótica colocado perto da entrada da câmara de separação - um ciclo de sedimentação de tipicamente 5 a 10 minutos, produz uma camada de creme leucocitário entre o plasma e a camada de células sangüíneas vermelhas. Na extração, o plasma é extraído primeiramente movendo o pistão para cima. Um sensor de linha ótica, por exemplo, aquele descrito na referência 8, detecta as células que pertencem ao creme leucocitário e adaptam os diferentes parâmetros (velocidade de extração, volume extraído, velocidade de centrifugação) para otimizar a recuperação de células, dependendo das limitações de volume desejado e de tempo de processamento. As células do creme leucocitário são extraídas para a sacola ou tubo dedicado (dependendo da configuração do kit de processamento). As células sangüíneas vermelhas restantes são extraídas a uma sacola dedicado ou mantidas na câmara (para conservar o tempo de processo). Dependendo dos parâmetros otimizados durante a fase de extração do creme leucocitário, uma sedimentação sucessiva / ciclos de extração como o descrito acima pode se reiniciar. Isto completará o volume extraído de creme leucocitário o que otimiza suas características dependendo da aplicação final do produto celular.

Para seleccionar uma sub-população mais específica

de células, o princípio descrito acima (enchimento / sedimentação / extração) pode ser usado pelo mesmo tipo de sensor de linha ótica que detecta pela reflexão e pela absorção um subconjunto mais específico de células. Durante a extração do plasma, a absorção e a reflexão do líquido são muito baixas. Quando as células começam a fluir no tubo, a absorção e a reflexão do produto efluente aumentam. A reflexão é também dependente do tipo e do tamanho das células. Esta dependência permite a seleção de um subconjunto particular de células. Finalmente quando a concentração de células é elevada, a absorção está no nível máximo e a reflexão não é mais possível. Isto pode ser usado para detectar os subconjuntos de células que têm tamanhos diferentes como plaquetas e criar um concentrado de plaquetas.

Para obter uma seleção do subconjunto de células, um método preferido é usar meios de gradiente de densidade que alvejem mais especificamente uma sub-população definida de células. Isto aumentará a pureza do produto, reduzindo a contaminação de células sangüíneas vermelhas e outros subconjuntos de células indesejadas. Os meios de gradiente de densidade são escolhidos de acordo com o subconjunto alvejado. Por exemplo, para objetivar o subconjunto mononuclear, os meios baseados em Ficoll™ podem ser usados. Em tal caso, os meios de gradiente de densidade são introduzidos primeiramente na câmara de separação. A medula óssea é introduzida então lentamente abaixando o pistão, tipicamente em uma taxa de 5 mL / min, a fim de depositar as células na camada dos meios de gradiente de densidade. As células vermelhas e os

granulócitos tenderão a atravessar a camada de meios de gradiente de densidade, quando as células mononucleares e as plaquetas permanecerão na frente da camada. Quando o volume inteiro da medula óssea é introduzido, como detectado por um sensor de linha ótica (8) no alto da máquina, o pistão é pa-  
5 parado e uma etapa de sedimentação de, por exemplo, 10 a 20 minutos é iniciada. Uma diluição adicional podia ser automaticamente executada pelo sistema após a aspiração completa do produto, graças a uma solução isotônica conectada ao sistema. A velocidade centrífuga pode ser aumentada para redu-  
10 zir este tempo de sedimentação. A coleta começa então movendo o pistão para cima. O sobrenadante líquido contém somente o plasma. As primeiras células seguem então, fazendo com que a tubulação efluente torne-se opaca, como detectado pelo sensor de linha ótica. Isto provoca a coleta das células mo-  
15 nonucleares, que abrangem as células-tronco alvejadas. Após um volume predefinido pelo menu do operador, ou quando a linha efluente clareia outra vez, a coleta de células para, e o índice restante do volume da câmara de separação é coletado em uma sacola de descarte até que a câmara esteja comple-  
20 tamente vazia. Neste estágio, a câmara de separação é enxaguada de todas as células sanguíneas vermelhas residuais graças a uma solução isotônica. As células coletadas são reintroduzidas na câmara de separação, seguidas, ou precedidas, por uma solução de lavagem como a solução salina / albumina (alternativas com solução tampão de fosfato ou outras podem também ser usadas). As células e a solução de lavagem  
25 são misturadas. O pistão parará após um volume predetermina-

do ou quando a câmara estiver completamente cheia. Uma etapa nova de sedimentação é executada então, durante a qual, a sacola de coleta pode ser lavado usando o sobrenadante produzido durante a sedimentação para remover os traços de meios de gradiente de densidade. O sobrenadante (consistindo na  
5 solução de lavagem de meios de gradiente de densidade) é então expresso. O processo é parado quando as primeiras células aparecem outra vez na linha efluente, ou pode ser repetido para obter uma melhor lavagem. As células são finalmente coletadas em um recipiente de coleta que pode ser especialmente projetado para facilitar um uso ainda das células coletadas. Quando necessário, a câmara é enxaguada. Tais células estão prontamente disponíveis para a reintrodução no órgão alvejado do paciente, ou podem ainda ser manipuladas  
10 para fins de seleção ou de expansão. Para este efeito, o sistema poderia ressuspender as células diretamente no meio de cultura desejado. Uma separação mais refinada do que usar meios de gradiente de densidade consiste em incubar a medula óssea em um meio que contenha as microesferas revestidas com os anticorpos monoclonais. Tal método de separação é descrito na publicação W003 / 009889 (CellGenix / Biosafe). O procedimento é então como segue. Um produto contendo as microesferas ligadas a um anticorpo específico é misturado ao produto de sangue contendo as células de interesse. Após algumas horas de incubação, as microesferas aderirão à superfície das células alvejadas, fazendo com que a sua densidade mude. A mistura é vertida então na câmara de separação e uma separação de densidade do sobrenadante é iniciada como des-  
25

crita nas patentes anteriores. Quando a sedimentação é completo, o sobrenadante é extraído da câmara no saco de descarte, e então as células vermelhas são rejeitadas também. As células de interesse, as marcadas com as microesferas e conseqüentemente tendo a densidade maior, serão as últimas a serem retiradas da câmara. Podem ser coletadas em um recipiente apropriado e, se necessário, ser lavadas subseqüentemente para remover a solução do anticorpo.

No caso da reintrodução imediata após processamento ser executada, as células coletadas podem ser conectadas, usando técnicas assépticas, ao dispositivo permitindo seu transplante ao paciente. Para aplicações em cardiologia, tal dispositivo pode ser um cateter de balão como usado na angiografia para reinjetar localmente estas células, como, por exemplo, na associação com tratamentos agudos do enfarto do miocárdio. Neste caso, uma quantidade de 10 mL de células-tronco concentradas nas etapas de 3 mL é reinjetado, inflando o balão em intervalos regulares, permitindo a propagação das células-tronco. Tal método foi descrito por Zeiher et al em um periódico específico (TOPCARE - Circulation, outubro de 2002).

Em caso de uma coleta do concentrado de plaquetas, os plaquetas colhidos podem ser usadas sozinhas ou em associação com a trombina obtida possivelmente também do plasma do paciente, para formar um gel de plaquetas que facilite a cicatrização de um ferimento. Tal gel de plaquetas contém os fatores de crescimento que podem vantajosamente estimular o reparo do tecido sozinhos ou em associação com células-

tronco.

O processo inteiro pode ser executado próximo ao leito do paciente, e é considerado conseqüentemente como um processo em linha, como ilustrado esquematicamente na Figura 1. Isto fornece vantagens significativas, na segurança, logística e tempo de resposta, e não se baseia em nenhuma perícia específica de processamento de células. A coleta de vários subconjuntos alvejados de células pode ser feita durante o mesmo procedimento de coleta mas com o objetivo de usar tais subconjuntos de células em diferentes intervalos de tempo durante a mesma operação.

A invenção fornece um sistema ou "um pacote feito sob encomenda" que já contenha os kits estéreis descartáveis individuais para executar a coleta, a separação e o transplante respectivamente. Tal pacote pode ser apresentado em uma "blíster" tendo 3 compartimentos cada um contendo um kit ou um kit descartável: um kit para a extração da medula óssea, um kit para a separação da medula óssea, preferivelmente de um tipo baseado no sistema descrito em EP-B-912250 e PCT / IB99 / 020523 e um kit para a reinjeção das células. Cada kit pode ter algumas variações, a que tem a maior versatilidade sendo o kit de transplante, porque depende do tecido alvejado a ser tratado (por exemplo osso, músculo, vaso sangüíneo, etc.). As configurações do kit individual são ilustradas nas Figuras 2 a 7.

Possivelmente estes kits podem ser pré-conectados completamente ou dois dos três podem ser pré-conectados, se, por exemplo, alguém quiser usar um sistema inteiramente fe-

chado. Caso não sejam pré-conectados, uma solução prática consiste em usar conectores assépticos especialmente projetados, como o sistema Medlock oferecido por PALL (ref. ACD) e descrito na Patente US nº 3.650.093, 5.868.433, 6.536.805 e 6.655.655, para assegurar que as conexões sejam executadas sob conexões assépticas, assim mantendo os critérios de um sistema fechado. Uma outra possibilidade seria conectar o kit usando um dispositivo de conexão estéril. Algumas das configurações acima - pré-conectadas, ou conectadas com um dispositivo de conexão asséptico ou um dispositivo de conexão estéril - fornecerão um sistema funcionalmente fechado. Tais sistemas funcionalmente fechados eliminam a necessidade de quartos desinfetados ou sistemas de fluxo laminar, uma vantagem muito importante no quarto de operação ou nos ambientes de unidade intervencional, que geralmente não são equipados para ir de encontro a estas exigências.

Um outro refinamento da invenção consiste em um recipiente de aspiração da medula óssea que aja como a câmara de separação no segundo estágio, referido como uma câmara de processamento. Seu projeto é similar à câmara de separação como descrito em PCT / IB99 / 020523, e pode ser ajustado com uma agulha especial para perfurar o osso pélvico. É pré-enchido com anticoagulante ou pode ser aprontado com o anticoagulante antes de começar a coleta. Uma vez que o osso tenha sido perfurado, a medula óssea é aspirada abaixando o pistão da câmara de processamento, ativado por uma fonte de vácuo manual ou elétrica. A câmara de processamento é introduzida então no centrifugador da máquina, e um kit que con-

siste em uma disposição de uma tubulação em linha e de sacos é conectado à câmara. A separação pode então ser iniciada de acordo com o processo descrito acima, usando, por exemplo, um protocolo de centrifugação do creme leucocitário. Um outro refinamento da invenção consiste em coletar as células separadas em um recipiente especial que possa ser facilmente conectado ou ajustado ao sistema que reinfunde as células de volta ao paciente. Tal recipiente pode ser uma seringa graduada ajustada com um conector de Y tendo uma extremidade conectada ao kit de separação, e a outra extremidade equipada com um conector luer lock para a conexão subsequente a um cateter.

A Figura 3A mostra um kit de coleta sem filtro e a Figura 3B com filtro. O kit de coleta incorpora tudo que é necessário para executar a aspiração da medula:

a. O ponto da entrada será, por exemplo, um extractor de medula óssea (por exemplo do tipo TYCO) e inclui tipicamente uma agulha para a punção do osso ou uma agulha para a punção da veia. Pode ser diretamente conectado ao resto do kit através de uma válvula stopcock ou de outra válvula.

b. Uma ou mais seringas (1...n) como necessário para executar a aspiração.

c. Um filtro pode ser introduzido no kit de coleta para filtrar a medula após a coleta, como ilustrado na Figura 3B.

d. A medula coletado (filtrada ou não filtrada) é então armazenada em saco de transferência antes do processamento.

e. Uma seringa adicional pode ser usada para adicionar um produto da diluição à medula e / ou enxaguar o filtro se aplicável.

f. Um conector asséptico (Pall ACD ou similar) pode ser usado.

O kit de coleta pode, por exemplo, ser configurado como segue:

C11 kit de coleta sem filtro c com agulha óssea a pré-conectada ao kit de processamento. Quantidade X de seringas b.

C12 kit de coleta sem o filtro com agulha óssea a não pré-conectado no kit de processamento. Quantidade X de seringas b.

C21 kit de coleta com filtro c com agulha óssea a pré-conectada ao kit de processamento. Quantidade X de seringas b.

C22 kit de coleta com filtro c com agulha óssea a não pré-conectada ao kit de processamento. Quantidade X de seringas b.

Em todas estas configurações a agulha óssea pode ser substituída por uma agulha para a punção da veia.

A Figura 4 mostra um kit de processamento que é adaptado para ser conectado ao kit de coleta previamente descrito através de uma conexão asséptica.

a. A conexão asséptica poderia ser executada através de um conector asséptico (tal como Pall ACD ou outro) ou de um conector de ponto sob circunstâncias assépticas.

b. Uma câmara opcional de gotejamento poderia ser

usada para impedir que bolhas participem no trajeto de processamento.

c. O sentido do trajeto fluido pode ser escolhido por uma rampa da válvula stopcock que monta três stopcocks neste exemplo, ou por um outro tipo de válvula, por exemplo, uma válvula multiport.

d. Uma câmara de separação, por exemplo, como descrita em EP-B-912 250 e em PCT / IB99 / 02052 é usada para o processo da separação.

10 e. Produtos adicionais (solução, meio de cultura isotônico, ...) é / são entrados por uma linha equipada com uma ou mais conexões (conectores de ponto, ... - 1 ... n).

15 f. uma sacola satélite ou de descarte é usada para produto descartados e para a entrada dos meios de gradiente de densidade.

g. Uma linha de saída com uma sacola intermediária opcional guia o produto ao kit de transplante.

h. Um conector asséptico (Pall ACD ou similar) poderia ser usado nesta linha.

20 As principais variantes do kit de processamento incluem:

P1 que processa o kit sem saco intermediário

P2 que processa o kit com saco intermediário.

25 A Figura 5A mostra elementos individuais possíveis de um kit de transplante e a Figura 5B mostra uma combinação possível dos elementos que compõem um kit de transplante. O kit de transplante é adaptado para ser conectado ao kit de processamento descrito acima através de uma conexão assépti-

ca e conterà o produto final para o transplante. A conexão asséptica poderia ser executada através de um conector asséptico (tal como o Pall ACD ou outro) ou de um conector de ponto sob circunstâncias assépticas.

5 O kit de transplante poderia incluir:

T1 um saco

T2 um tubo de coleta

T3 uma seringa

T4 um dispositivo específico para o transplante  
10 (por exemplo um cateter para enfarto do miocárdio)

T5 uma combinação de T1 a T4.

Geralmente falando, o kit de transplante como um mínimo incluirá pelo menos um dispositivo específico para o transplante T4 que pode ser combinado com as várias combina-  
15 ções dos outros componentes, por exemplo, uma sacola T1 ou um do tubo de coleta T2, e / ou uma seringa T3.

A Figura 6 ilustra diferentes combinações para compor um sistema completo. O sistema completo pode, por exemplo, ser composto de qualquer combinação de um kit de coleta (C11 a C22), de um kit de processamento (P1 ou P2) e de  
20 um kit do transplante (T1 a T4), como descrito acima.

A Figura 7 é um diagrama de um kit de processamento de medula óssea completo no qual uma câmara de processamento rotativa b3, por exemplo, como descrito em EP-B-912  
25 250 e em PCT / IB99 / 020523 constitui uma seringa de separação que seja usada também para a coleta e o transplante das células. O kit de coleta a consiste no ponto de entrada, por exemplo, um extrator de medula óssea (por exemplo do ti-

po TYCO) ajustado com um conector asséptico para a conexão à câmara de processamento b3. O kit de processamento b compreende uma válvula stopcock b1 conectada a uma sacola de lavagem b2 e aos meios de um gradiente de densidade / saco de descarte b4, assim como a câmara de separação / processamento / transplante b3 que é conectável por um conector asséptico à válvula stopcock b1, ou ao kit de coleta a, ou ao kit de transplante c. O kit de transplante c consiste em um dispositivo específico para o transplante (por exemplo um cateter para enfarto do miocárdio) ajustado com um conector asséptico para a conexão à câmara de processamento b3.

As Figuras 7A, 7B e 7C mostram as configurações operativas dos componentes do kit de 7 para a coleta, o processamento e o transplante respectivamente.

Na Figura 7A, a câmara de coleta a / processamento b3 é conectada por um conector asséptico ao ponto da entrada do sistema de coleta a, de modo que a câmara de processamento sirva para a coleta das células-tronco extraídas. A entrada das células-tronco é controlada pelo deslocamento do pistão da câmara de processando b3.

Na Figura 7B, a câmara de coleta a / processamento b3 é conectado por seu conector asséptico à válvula stopcock b1 que o conecta seletivamente ao saco de lavagem b2 e aos meios de gradiente de densidade / saco de descarte b4 para as operações de processamento acima descritas, que terminam com células-tronco processadas / concentradas sendo retornadas à câmara de processamento b3. Depois disso a câmara de processamento b3 serve como a câmara de reinfusão.

A Figura 7C mostra a câmara de processamento b3, após a desconexão da válvula stopcock b1 do kit de processamento, conectada ao dispositivo de transplante do kit de transplante c por um conector asséptico. Nesta configuração, a reinfusão das células-tronco processadas no paciente pode ser controlada pelo deslocamento do pistão da câmara de processamento / reinfusão b3.

Esta modalidade confia no uso de conectores assépticos para conectar seletivamente a câmara de processamento b3 ao kit da coleta a, ou ao restante do kit de processamento através da válvula stopcock b1, ou ao kit de transplante c para realizar as operações seqüenciais da coleta, do processamento e da reinfusão. Isto fornece um sistema particularmente compacto que não inclui alguns elementos não usados e é conveniente ao uso.

As Figuras 8A, 8B e 8C mostram o princípio da detecção das células por um sensor de linha ótica LS usando a absorção e refletindo propriedades das células através de um tubo transparente. A Figura 8A é a configuração de um tubo que contém o líquido límpido, onde a luz do LS não é refletida e passa diretamente a um detector dianteiro R no eixo de luz. A Figura 8B é a configuração de um tubo que contém células na suspensão em um líquido límpido; neste caso as células refletem a luz em sentidos aleatórios e são capturadas pelo detector dianteiro R e por um detector lateral R disposto a aproximadamente 90 ° do eixo. A Figura 8C é a configuração de um tubo que contém o líquido opaco onde nenhuma luz é refletida. A Figura 8D mostra uma vista vertical

do sensor de linha ótica com a posição dos dispositivos LED e receptor, em especial que mostra as posições da luz azul dianteira (Fblue), azul lateral (Lblue), luz vermelha dianteira (Fred) e vermelha (Lred).

5                   A Figura 9 mostra os sinais típicos do sensor de linha ótica, que são gravadas dos sensores "dianteiros" e "laterais". A informação obtida dos sinais refletidos "laterais" pode ser usada como disparadores para começar ou terminar a coleta. O valor de saída do sensor (eixo Y) está a  
10 um volume de extração do creme leucocitário (CL) na porcentagem de nível máximo. O eixo X contém a informação do volume que passa através do tubo (também na porcentagem de volume total).

                  Deve ser compreendido que esta invenção pode ser  
15 incorporada em diversas formas diferentes sem partir de seu espírito ou características essenciais. O âmbito da invenção é definido nas reivindicações adicionadas, melhor do que na descrição específica que as precede. Pretende-se que todas as modalidades que recaem dentro do significado e da escala  
20 de equivalência das reivindicações sejam conseqüentemente englobadas pelas reivindicações.

## REIVINDICAÇÕES

1. Sistema para a extração, a coleta, processar e o transplante de subconjuntos de células, incluindo células-tronco adultas e plaquetas, em especial para o reparo de órgãos na medicina regenerativa, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende um kit de elementos para o transporte de fluido estéril descartável que são pré-conectados ou que incluem conectores assépticos ou são adaptados fazendo interconexões entre eles em uma maneira asséptica, o kit incluindo:

- um dispositivo extrator, por exemplo, incluindo uma agulha para a punção do osso ou da veia, para extrair a medula óssea ou as outras fontes de subconjuntos de células de um paciente;

- pelo menos uma câmara para a coleta, o processamento e a reinfusão dos subconjuntos de células extraídos do paciente, incluindo uma câmara de coleta pré-conectada ou conectável ao dispositivo extrator para coletar as células extraídas do paciente pelo dispositivo extrator; uma câmara de processamento adaptada para cooperar com o equipamento de processamento para executar operações de processamento e transferência nas células colhidas; e uma câmara de reinfusão para armazenar as células processadas a serem distribuídas de volta ao paciente; onde as câmaras de coleta, processamento e de reinfusão são separadas e são pré-conectadas ou interconectáveis, ou onde uma câmara de processamento multi-uso fornece as funções combinadas de uma câmara de processamento de coleta, de uma câmara de processamento de reinfusão

ou de uma câmara de processamento de coleta e reinfusão; e

- um dispositivo de transplante pré-conectado ou conectável à câmara de reinfusão para distribuir células processadas de volta ao paciente.

5           2. Sistema, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o kit de elementos descartáveis é embalado em uma embalagem blíster em uma sustentação tal como uma bandeja, a embalagem blíster tendo um compartimento para receber o kit interconectado inteiro ou diversos  
10 compartimentos cada um recebendo uma parte do kit que inclui um conector asséptico para a conexão a uma outra parte do kit.

          3. Sistema, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o kit de elementos descartáveis compreende três kits de elementos descartáveis, de um  
15 kit de coleta, de um kit de processamento, e de um kit de transplante.

          4. Sistema, de acordo com a reivindicação 3, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o kit de coleta compreende um  
20 dispositivo extrator de medula óssea sozinho ou em associação com: pelo menos uma seringa; uma sacola de transferência formando a câmara de coleta, e opcionalmente um conector asséptico para a conexão ao kit de processamento.

          5. Sistema, de acordo com a reivindicação 4, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o kit de coleta ainda compreende um filtro conectado ou conectável entre uma seringa e  
25 uma sacola de transferência.

          6. Sistema, de acordo com a reivindicação 3, 4 ou

5, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o kit de processamento compreende uma câmara de processamento e pelo menos um recipiente descartável conectados à câmara de processamento através de pelo menos uma válvula stopcock ou uma válvula multiport permitindo a transferência seletiva dos líquidos para a e da câmara de processamento e para os e dos recipientes descartáveis, a câmara de processamento sendo conectada ao kit de coleta ou tendo um conector asséptico para a conexão ao kit de coleta ou sendo adaptada para fazer uma conexão asséptica, e a câmara de processamento sendo também conectada ao kit de transplante ou tendo um conector asséptico para a conexão ao kit de transplante ou que sendo adaptada fazendo uma conexão asséptica.

7. Sistema, de acordo com a reivindicação 6, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o kit de processamento compreende ainda uma linha equipada com um ou mais conectores para conectar recipientes adicionais à válvula stopcock ou à válvula multiport.

8. Sistema, de acordo com quaisquer das reivindicações 3 a 8, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o kit de transplante compreende pelo menos um dispositivo de transplante ou uma combinação de pelo menos um dispositivo de transplante com pelo menos um de: uma sacola de coleta; um tubo de coleta; e uma seringa.

9. Sistema, de acordo com qualquer reivindicação precedente, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a câmara de processamento é uma câmara centrífuga de processamento oca que tem uma entrada / saída para as células a serem processadas

e para as células processadas, a câmara de processamento contendo um membro móvel que define um espaço de separação de tamanho variável para receber as células, o membro sendo móvel para a entrada de uma quantidade da células selecionadas a serem processadas na câmara de separação através da referida entrada e para expressar as células processadas da câmara de separação através da referida saída.

10. Sistema, de acordo com a reivindicação 9, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a câmara centrífuga de processamento é geralmente cilíndrica e é rotativa sobre o eixo do cilindro, e o membro móvel é um pistão móvel montado firmemente ao líquido na câmara centrífuga de processamento.

11. Sistema, de acordo com qualquer reivindicação precedente, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende:

15 - um dispositivo para extrair a medula óssea ou as outras fontes de subconjuntos de células de um paciente, o referido dispositivo sendo conectável por uma conexão asséptica à câmara de processamento para coletar as células-tronco extraídas pelo dispositivo na câmara de processamento;

20 - pelo menos um recipiente descartável conectado à câmara de processamento através de pelo menos uma válvula stopcock ou de uma válvula multiport permitindo a transferência seletiva dos líquidos para a e da câmara de processamento e para os e dos recipientes descartáveis, a câmara de processamento sendo conectável à válvula stopcock ou multiport através de um conector asséptico; e

- pelo menos um dispositivo de transplante conec-

tável à câmara de processamento por uma conexão asséptica, para a câmara de processamento para atuar como a câmara de reinfusão para a distribuição de células processadas no mesmo ao paciente.

5           12. Sistema, de acordo com qualquer reivindicação precedente, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a câmara de processamento é arranjada para produzir um produto enriquecido de um subconjunto de células particular (incluindo células-tronco adultas e plaquetas).

10           13. Sistema, de acordo com qualquer reivindicação precedente, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a câmara de processamento é arranjada para separar as células-tronco usando um processo baseado densidade-gradiente seguido pela lavagem de células.

15           14. Sistema, de acordo com qualquer reivindicação precedente, **CARACTERIZADO** pelo fato de que é arranjado para processar as células-tronco usando microesferas revestidas com os anticorpos monoclonais.

20           15. Sistema, de acordo com alguma reivindicação precedente, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende um sensor de linha ótica para detectar a reflexão diferencial de luz por um subconjunto de células que passa através de uma tubulação transparente.

25           16. Uso, do sistema de acordo com alguma reivindicação precedente, **CARACTERIZADO** pelo fato de que é para preparar um concentrado de plaquetas para uso separado.

          17. Método de coletar e de processar um subconjunto de células extraído de ser humano para o transplante no

ser humano, em especial para o reparo de órgãos na medicina regenerativa, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreender a coleta das células extraídas em uma câmara de coleta conectada a um dispositivo de extração através do qual as células em particular medula óssea contendo células-tronco são extraídas, processando as células em uma câmara centrífuga de processamento que seja a mesma que a câmara de coleta ou que seja conectada à câmara de coleta, e coletando as células processadas em uma câmara que seja a mesma que a câmara de processamento ou seja conectada à câmara de processamento, a câmara de reinfusão sendo conectada a um dispositivo de transplante conectado à câmara de reinfusão para distribuir subconjuntos processados de células de volta ao paciente.

18. Método, de acordo com a reivindicação 17, **CARACTERIZADO** pelo fato de que é realizado usando um sistema de acordo com quaisquer das reivindicações 1 a 15.

19. Sensor óptico, **CARACTERIZADO** pelo fato de que pode medir a absorção e a reflexão de um subconjunto de células que passa através de uma tubulação transparente.

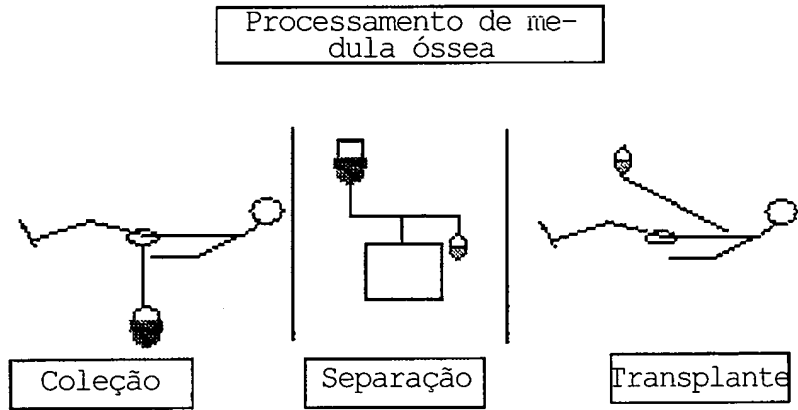


Fig. 1

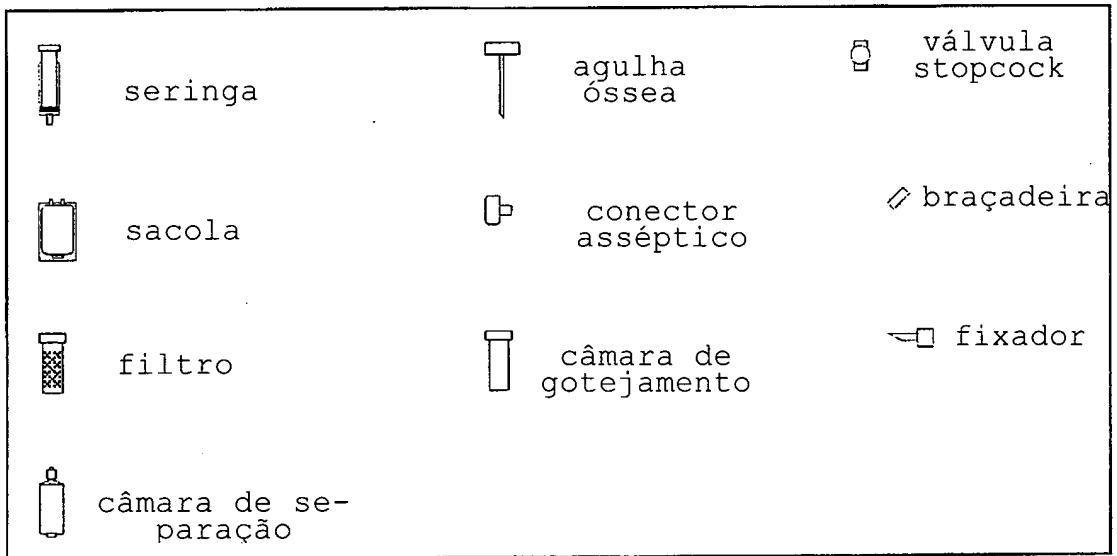


Fig. 2

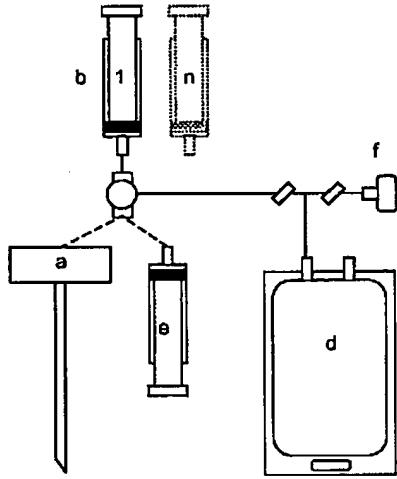


Fig. 3A

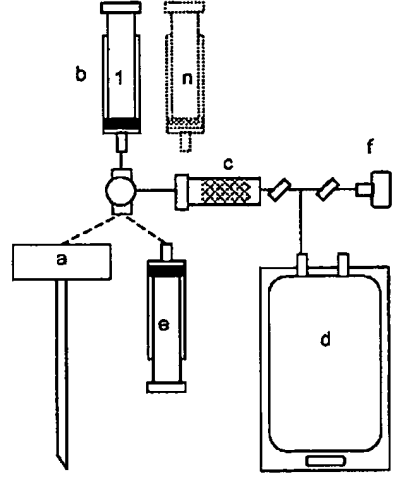


Fig. 3B



Fig. 6

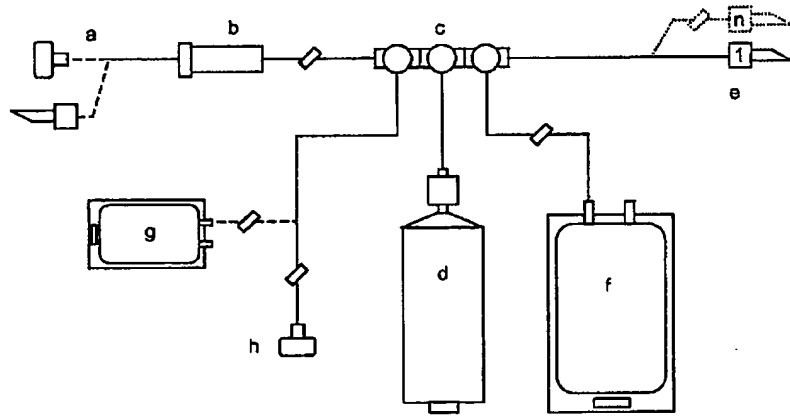


Fig. 4

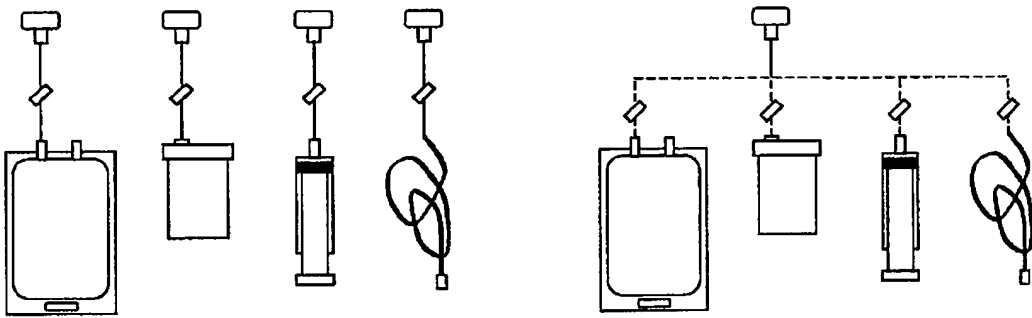


Fig. 5A

Fig. 5B

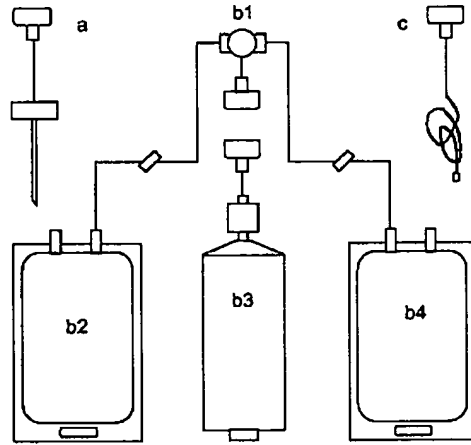


Fig. 7

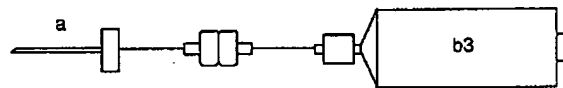


Fig. 7A

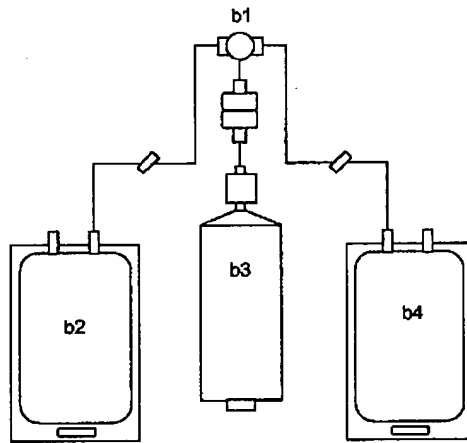


Fig. 7B

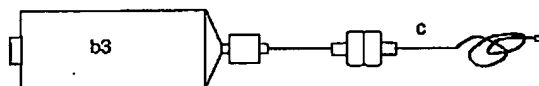


Fig. 7C

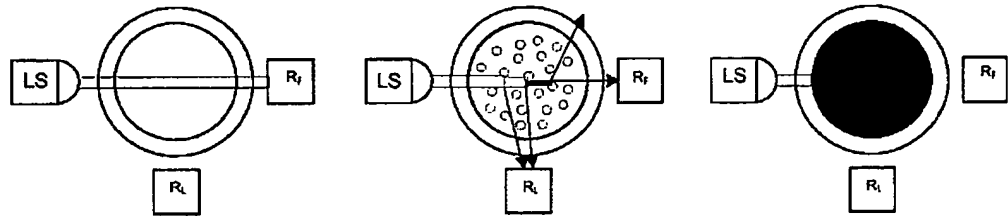


Fig. 8A

Fig. 8B

Fig. 8C



Fig. 8D

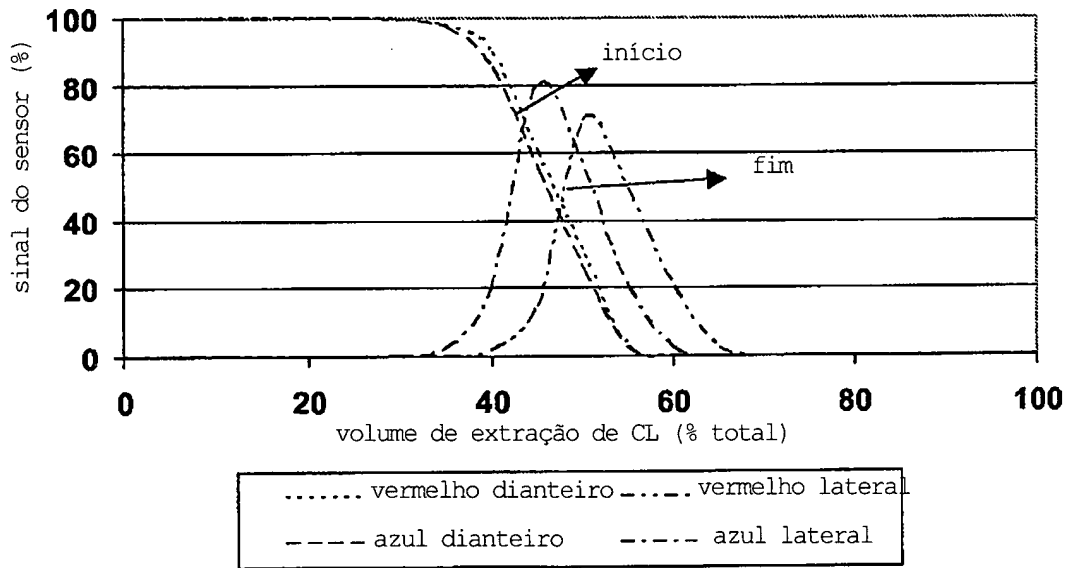


Fig. 9

## RESUMO

"SISTEMA INTEGRADO PARA COLETAR, PROCESSAR E TRANSPLANTAR SUBCONJUNTOS DE CÉLULAS, INCLUINDO CÉLULAS-TRONCO ADULTAS, PARA MEDICINA REGENERATIVA"

5 Um sistema para a extração, a coleta, o processamento e o transplante de subconjuntos de células, incluindo células-tronco adultas e plaquetas, em especial para o reparo de tecido na medicina regenerativa, compreende um kit de elementos descartáveis de transporte de fluidos que sejam  
10 pré-conectados ou que incluam conectores assépticos para fazer interconexões entre eles em uma maneira asséptica ou são adaptados para ser conectados assepticamente. O kit inclui geralmente três jogos de elementos estéreis descartáveis, um kit de coleta, um kit de processamento, e um kit de trans-  
15 plante embalado em uma embalagem blíster em uma sustentação tal como uma bandeja, tendo um compartimento para receber cada kit interconectável do kit. O kit inclui um dispositivo extrator, incluindo, por exemplo, uma agulha para a punção do osso ou a punção da veia, para extrair a medula óssea ou  
20 as outras fontes de subconjuntos de células de um paciente.

tronco.

O processo inteiro pode ser executado próximo ao leito do paciente, e é considerado conseqüentemente como um processo em linha, como ilustrado esquematicamente na Figura 1. Isto fornece vantagens significativas, na segurança, logística e tempo de resposta, e não se baseia em nenhuma perícia específica de processamento de células. A coleta de vários subconjuntos alvejados de células pode ser feita durante o mesmo procedimento de coleta mas com o objetivo de usar tais subconjuntos de células em diferentes intervalos de tempo durante a mesma operação.

A invenção fornece um sistema ou "um pacote feito sob encomenda" que já contenha os kits estéreis descartáveis individuais para executar a coleta, a separação e o transplante respectivamente. Tal pacote pode ser apresentado em uma "cartela" tendo 3 compartimentos cada um contendo um kit ou um kit descartável: um kit para a extração da medula óssea, um kit para a separação da medula óssea, preferivelmente de um tipo baseado no sistema descrito em EP-B-912250 e PCT / IB99 / 020523 e um kit para a reinjeção das células. Cada kit pode ter algumas variações, a que tem a maior versatilidade sendo o kit de transplante, porque depende do tecido alvejado a ser tratado (por exemplo osso, músculo, vaso sanguíneo, etc.). As configurações do kit individual são ilustradas nas Figuras 2 a 7.

Possivelmente estes kits podem ser pré-conectados completamente ou dois dos três podem ser pré-conectados, se, por exemplo, alguém quiser usar um sistema inteiramente fe-

## REIVINDICAÇÕES

1. Sistema para a extração, coleta, processamento e o transplante de subconjuntos de células, incluindo células-tronco adultas e plaquetas, em especial para o reparo de órgãos na medicina regenerativa, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende um kit de elementos para o transporte de fluido estéril descartável que são pré-conectados ou que incluem conectores assépticos ou são adaptados fazendo interconexões entre eles em uma maneira asséptica, o kit incluindo:

- um dispositivo extrator, por exemplo, incluindo uma agulha para a punção do osso ou da veia, para extrair a medula óssea ou as outras fontes de subconjuntos de células de um paciente;

- pelo menos uma câmara para a coleta, o processamento e a reinfusão dos subconjuntos de células extraídos do paciente, incluindo uma câmara de coleta pré-conectada ou conectável ao dispositivo extrator para coletar as células extraídas do paciente pelo dispositivo extrator; uma câmara de processamento adaptada para cooperar com o equipamento de processamento para executar operações de processamento e transferência nas células colhidas; e uma câmara de reinfusão para armazenar as células processadas a serem distribuídas de volta ao paciente; onde as câmaras de coleta, processamento e de reinfusão são separadas e são pré-conectadas ou interconectáveis, ou onde uma câmara de processamento multiuso fornece as funções combinadas de uma câmara de processamento de coleta, de uma câmara de processamento de reinfusão

ou de uma câmara de processamento de coleta e reinfusão; e

- um dispositivo de transplante pré-conectado ou conectável à câmara de reinfusão para distribuir células processadas de volta ao paciente.

5           2. Sistema, de acordo com a reivindicação 1, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o kit de elementos descartáveis é embalado em uma cartela em uma sustentação tal como uma bandeja, a cartela tendo um compartimento para receber o kit interconectado inteiro ou diversos compartimentos cada  
10 um recebendo uma parte do kit que inclui um conector asséptico para a conexão a uma outra parte do kit.

          3. Sistema, de acordo com a reivindicação 1 ou 2, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o kit de elementos descartáveis compreende três kits de elementos descartáveis, de um  
15 kit de coleta, de um kit de processamento, e de um kit de transplante.

          4. Sistema, de acordo com a reivindicação 3, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o kit de coleta compreende um dispositivo extrator de medula óssea sozinho ou em associa-  
20 ção com: pelo menos uma seringa; uma sacola de transferência formando a câmara de coleta, e opcionalmente um conector asséptico para a conexão ao kit de processamento.

          5. Sistema, de acordo com a reivindicação 4, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o kit de coleta ainda compre-  
25 ende um filtro conectado ou conectável entre uma seringa e uma sacola de transferência.

          6. Sistema, de acordo com a reivindicação 3, 4 ou 5, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o kit de processamento

compreende uma câmara de processamento e pelo menos um recipiente descartável conectados à câmara de processamento através de pelo menos uma válvula stopcock ou uma válvula multiport permitindo a transferência seletiva dos líquidos para a e da câmara de processamento e para os e dos recipientes descartáveis, a câmara de processamento sendo conectada ao kit de coleta ou tendo um conector asséptico para a conexão ao kit de coleta ou sendo adaptada para fazer uma conexão asséptica, e a câmara de processamento sendo também conectada ao kit de transplante ou tendo um conector asséptico para a conexão ao kit de transplante ou que sendo adaptada fazendo uma conexão asséptica.

7. Sistema, de acordo com a reivindicação 6, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o kit de processamento compreende ainda uma linha equipada com um ou mais conectores para conectar recipientes adicionais à válvula stopcock ou à válvula multiport.

8. Sistema, de acordo com quaisquer das reivindicações 3 a 8, **CARACTERIZADO** pelo fato de que o kit de transplante compreende pelo menos um dispositivo de transplante ou uma combinação de pelo menos um dispositivo de transplante com pelo menos um de: uma sacola de coleta; um tubo de coleta; e uma seringa.

9. Sistema, de acordo com qualquer reivindicação precedente, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a câmara de processamento é uma câmara centrífuga de processamento oca que tem uma entrada / saída para as células a serem processadas e para as células processadas, a câmara de processamento

contendo um membro móvel que define um espaço de separação de tamanho variável para receber as células, o membro sendo móvel para a entrada de uma quantidade das células selecionadas a serem processadas na câmara de separação através da referida entrada e para expressar as células processadas da câmara de separação através da referida saída.

10. Sistema, de acordo com a reivindicação 9, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a câmara centrífuga de processamento é geralmente cilíndrica e é rotativa sobre o eixo do cilindro, e o membro móvel é um pistão móvel montado firmemente ao líquido na câmara centrífuga de processamento.

11. Sistema, de acordo com qualquer reivindicação precedente, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende:

- um dispositivo para extrair a medula óssea ou as outras fontes de subconjuntos de células de um paciente, o referido dispositivo sendo conectável por uma conexão asséptica à câmara de processamento para coletar as células-tronco extraídas pelo dispositivo na câmara de processamento;

- pelo menos um recipiente descartável conectado à câmara de processamento através de pelo menos uma válvula stopcock ou de uma válvula multiport permitindo a transferência seletiva dos líquidos para a e da câmara de processamento e para os e dos recipientes descartáveis, a câmara de processamento sendo conectável à válvula stopcock ou multiport através de um conector asséptico; e

- pelo menos um dispositivo de transplante conectável à câmara de processamento por uma conexão asséptica,

para a câmara de processamento para atuar como a câmara de reinfusão para a distribuição de células processadas no mesmo ao paciente.

12. Sistema, de acordo com qualquer reivindicação precedente, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a câmara de processamento é arranjada para produzir um produto enriquecido de um subconjunto de células particular (incluindo células-tronco adultas e plaquetas).

13. Sistema, de acordo com qualquer reivindicação precedente, **CARACTERIZADO** pelo fato de que a câmara de processamento é arranjada para separar as células-tronco usando um processo baseado em gradiente de densidade seguido pela lavagem de células.

14. Sistema, de acordo com qualquer reivindicação precedente, **CARACTERIZADO** pelo fato de que é arranjado para processar as células-tronco usando microesferas revestidas com os anticorpos monoclonais.

15. Sistema, de acordo com alguma reivindicação precedente, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreende um sensor de linha ótica para detectar a reflexão diferencial de luz por um subconjunto de células que passa através de uma tubulação transparente.

16. Uso do sistema, conforme definido em qualquer reivindicação precedente, **CARACTERIZADO** pelo fato de que é para preparar um concentrado de plaquetas para uso separado.

17. Método de coletar e de processar um subconjunto de células extraído de ser humano para o transplante no ser humano, em especial para o reparo de órgãos na medicina

regenerativa, **CARACTERIZADO** pelo fato de que compreender a coleta das células extraídas em uma câmara de coleta conectada a um dispositivo de extração através do qual as células em particular medula óssea contendo células-tronco são extraídas, processando as células em uma câmara centrífuga de processamento que seja a mesma que a câmara de coleta ou que seja conectada à câmara de coleta, e coletando as células processadas em uma câmara que seja a mesma que a câmara de processamento ou seja conectada à câmara de processamento, a câmara de reinfusão sendo conectada a um dispositivo de transplante conectado à câmara de reinfusão para distribuir subconjuntos processados de células de volta ao paciente.

18. Método, de acordo com a reivindicação 17, **CARACTERIZADO** pelo fato de que é realizado usando um sistema conforme definido em quaisquer das reivindicações 1 a 15.

19. Sensor ótico, **CARACTERIZADO** pelo fato de que pode medir a absorção e a reflexão de um subconjunto de células que passa através de uma tubulação transparente.

## RESUMO

"SISTEMA INTEGRADO PARA COLETAR, PROCESSAR E TRANSPLANTAR SUBCONJUNTOS DE CÉLULAS, INCLUINDO CÉLULAS-TRONCO ADULTAS, PARA MEDICINA REGENERATIVA"

5 Um sistema para a extração, a coleta, o processamento e o transplante de subconjuntos de células, incluindo células-tronco adultas e plaquetas, em especial para o reparo de tecido na medicina regenerativa, compreende um kit de elementos descartáveis de transporte de fluidos que sejam  
10 pré-conectados ou que incluam conectores assépticos para fazer interconexões entre eles em uma maneira asséptica ou são adaptados para ser conectados assepticamente. O kit inclui geralmente três jogos de elementos estéreis descartáveis, um kit de coleta, um kit de processamento, e um kit de trans-  
15 plante embalado em uma cartela em uma sustentação tal como uma bandeja, tendo um compartimento para receber cada kit interconectável do kit. O kit inclui um dispositivo extractor, incluindo, por exemplo, uma agulha para a punção do osso ou a punção da veia, para extrair a medula óssea ou as  
20 outras fontes de subconjuntos de células de um paciente.