

19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 517 468**

51 Int. Cl.:

G01N 21/64 (2006.01)

C12M 1/34 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **23.03.2012 E 12161078 (6)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **08.10.2014 EP 2503320**

54 Título: **Conjunto de sensores de material compuesto para biorreactores de un solo uso**

30 Prioridad:

25.03.2011 US 201161465849 P
31.05.2011 US 201113134157

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
03.11.2014

73 Titular/es:

FINESSE SOLUTIONS, INC. (100.0%)
71 Daggett Drive
San Jose, CA 95134-2109, US

72 Inventor/es:

SELKER, MARK;
JOHNSTON, TIMOTHY y
PALDUS, BARBARA

74 Agente/Representante:

UNGRÍA LÓPEZ, Javier

ES 2 517 468 T3

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

DESCRIPCIÓN

Conjunto de sensores de material compuesto para biorreactores de un solo uso.

5 **Antecedentes de la invención**

La creciente popularidad de los sistemas de un solo uso para el bioprocesamiento es evidente en el mercado y se puede entender fácilmente considerando una planta de fabricación biotecnológica típica. La infraestructura necesaria para implementar una instalación utilizando biorreactores vítreo/acero, mezcladores y sistemas de purificación tradicionales es sustancial, y el tiempo y los gastos necesarios para la construcción de este tipo de sistemas de bioproceso pueden ser inmensos. El requisito de que tanto el propio equipo como también las tuberías de entrada y salida utilizan materiales inertes, tales como acero inoxidable electropulido 316L, requiere de una gran inversión inicial y de biorreactores, mezcladores (es decir, recipientes de bioproceso) y equipos de procesamiento aguas abajo (por ejemplo, patines de cromatografía, sistemas de filtración) ocupan todos un espacio considerable. En contraste, el tamaño y el factor de forma de las plataformas de un solo uso permite en general más fácil almacenamiento y re-configurabilidad en comparación con las soluciones vítreo/acero rígidas tradicionales. Otras ventajas de los sistemas de un solo uso incluye una infraestructura de soporte inferior y el ahorro de tiempo respecto a los diseños tradicionales, incluyendo específicamente la reducción del tiempo de preparación y esterilización, la menor necesidad de agua purificada para la limpieza del recipiente después de una carrera, y el tiempo de mantenimiento posterior a la carrera significativamente reducido. Adicionalmente, los sistemas de un solo uso y sus tuberías de plástico asociadas se prestan para re-configurarse y validarse de forma rápida y eficientemente a medida que cambian los requisitos de fabricación o del proceso. En el contexto de la presente invención nos centraremos principalmente en biorreactores de un solo uso, pero los principios aplican genéricamente a cualquiera de los equipos de un solo uso antes mencionados utilizados en el bioprocesamiento, tanto en las arenas de procesamiento aguas arriba (USP) como de procesamiento aguas abajo (DSP).

Aunque un número de diferentes estilos de biorreactores de un solo uso se han concebido e introducido en el mercado, dos tipos predominan actualmente. El primer tipo de biorreactor de un solo uso en hacerse comercialmente popular se denomina generalmente como el estilo de bolsa "almohada" o "basculante", y se describe, por ejemplo, en la Patente de Estados Unidos N° 6.190.913. Este estilo de bolsa se puede construir a partir de una variedad de diferentes materiales poliméricos, pero en términos generales, el polietileno de baja o de ultra baja densidad (LDPE) y los copolímeros de etileno/acetato de vinilo (EVA) se encuentran actualmente entre los materiales más comunes para al menos la capa más interior de la bolsa, es decir, la superficie de la bolsa que está en contacto con el medio de crecimiento acuoso. Otros materiales a veces utilizados en la construcción de los recipientes de biorreactores de un solo uso incluyen polietileno de alta densidad (HDPE) y Kevlar (tereftalamida de poliparafenileno). El biorreactor de un solo uso de tipo almohada o basculante utiliza un movimiento de onda inducido por el movimiento de una plataforma de soporte de bolsa que generalmente bascula alrededor de un solo eje tanto para mezclar como para inducir burbujas (airear) el contenido del biorreactor. Si bien la bolsa del biorreactor de un solo uso de tipo basculante ha gozado de cierto éxito en el mercado, hasta la fecha, una cuestión importante ha sido la falta de sensores robustos, de un solo uso que se puedan integrar en estas bolsas basculantes y que preferentemente se puedan esterilizar por radiación junto con la bolsa. Por robusta, queremos decir radiación gamma o beta exacta estable y capaz de utilizarse en tiempo real (tiempo real dentro de las velocidades o respuestas de tiempo requeridas para el bioprocesamiento) por ejemplo, dado el segundo muestreo de 1-3 segundos para el monitoreo y control de procesos durante al menos 21 días. La bolsa de almohada o basculante no es el único tipo de recipiente del biorreactor de un solo uso utilizado hoy en día. Existen también biorreactores de carcasa dura poliméricos de un solo uso que imitan funcionalmente recipientes vítreo de pequeña escala, y también bolsas de revestimiento de plástico de un solo uso de mayor escala, que caben dentro de biorreactores de tanque agitado vítreo/acero inoxidable de piloto rígido y escala de producción (véase, por ejemplo, la Patente de Estados Unidos 7.384.783). Las bolsas de revestimiento más grandes se construyen típicamente de laminados de película de múltiples capas, que también utilizan polietileno de densidad ultra baja o EVA para al menos su capa más interior. A modo de ejemplo, la Figura 6 muestra la construcción de la película CX-14 utilizada por Thermo Fisher Scientific para los recipientes de biorreactores. Los sensores se introducen generalmente en estos biorreactores de un solo uso de mayor tamaño a través de lumbreras laterales. Tanto las bolsas de almohada (basculante) como las bolsas de revestimiento se pueden considerar como "recipientes de biorreactores poliméricos" a efectos de la utilización del conjunto de monitorización de bioproceso de la presente invención.

Una de las cuestiones clave que afectan a los recipientes de biorreactores poliméricos y a otros tipos de equipos de un solo uso en aplicaciones tanto aguas arriba como aguas abajo ha sido generalmente el método por el que introducir sensores y equipos o conjuntos de monitoreo auxiliares que requieren múltiples materiales diferentes (por ejemplo: conjuntos mecánicos). Los sensores (tanto de un solo uso como de múltiples usos tradicionales) se introducen a menudo a través del tipo de lumbrera de la técnica anterior mostrada en la Figura 1 (véase, por ejemplo la solicitud publicada US2006/0240546) o como se muestra en la Figura 2 de esta solicitud específicamente para su uso con una bolsa basculante. La lumbrera que se muestra en la Figura 1 se puede utilizar para introducir en el recipiente un conjunto de monitoreo que permite el uso de diferentes tipos de elementos de detección mientras que la lumbrera que se muestra en la Figura 2 se restringe generalmente a sistemas de sensores de un solo uso, en base a fibra óptica. Utilizamos el término "lumbrera" en el presente documento para denotar una parte de nuestro

conjunto para dejar claro que estamos reemplazando estos conjuntos de lumbrera y componentes de la técnica anterior comprometidos de estos componentes por separado. Cabe señalar, sin embargo, en la invención descrita en el presente documento que realmente ya no hay una lumbrera o un componente de monitoreo separado que entra en el recipiente a través de dicha lumbrera. El concepto de una lumbrera se remonta a biorreactores vítreo y

5 acero inoxidable donde las lumbreras estaban compuestas de aberturas roscadas en la placa de cabeza o en la pared del recipiente real y en las que los sensores u otros componentes eran asegurados por una tapa roscada con una junta tórica. Una analogía más precisa aquí sería si los conjuntos se soldasen a la pared del biorreactor de

La lumbrera de la técnica anterior que se muestra en la Figura 1 se hace típicamente de un material que es similar a

10 la superficie de la bolsa con la que está en contacto, ya que esto permite que se fusione fácilmente (por ejemplo, se suelde térmicamente o por ultrasonidos) a la superficie de la bolsa. La lumbrera que se muestra en la Figura 1 se compone de un tubo cilíndrico 10 y una brida 11. Este tipo de lumbrera utiliza un sello mecánico para evitar fugas alrededor del sensor normalmente cilíndrico u otro objeto introducido en la porción de tubo de la lumbrera. Este sello mecánico puede ser un ajuste por fricción creado por el contacto de superficie a superficie sobre un área relativamente grande, como se muestra en la Figura 3 (véase la solicitud publicada US 2006/0240546). La Figura 3 muestra con más detalle cómo un objeto cilíndrico (por ejemplo, una sonda electroquímica de pH u O₂ (DO) disuelto de 12 mm diámetro convencional o conector aséptico como un Kleenpak™) 34 encaja en el miembro tubular 31 con una gran área de contacto 33. Esta lumbrera de la técnica anterior tiene una característica 32 que emula una junta tórica y una brida anular 35 que se suelda al revestimiento del recipiente del biorreactor de un solo uso. Del mismo modo, la lumbrera en realidad puede utilizar un sello de junta tórica como se muestra en la Figura 4, que muestra un conjunto en un conjunto óptico de espacio libre, de un solo uso (por ejemplo, la vaina del sensor de un solo uso) 41 instalado en el miembro de lumbrera tubular 42 con una brida de polímero soldable 43. La juntas tóricas 44 se muestran como residiendo en las ranuras 45 en el miembro de lumbrera tubular. Aunque estos diseños de lumbrera generalmente pueden proporcionar un sello hermético al aire y al agua entre la lumbrera y los conjuntos introducidos, se requiere una cantidad significativa de tiempo para calificar y muestrear estos conjuntos (por ejemplo: validarlos para su uso cGMP) y no pueden montarse simple y directamente cuando se fabrican recipientes de biorreactores poliméricos de un solo uso recipientes. Adicionalmente, hay circunstancias en las que es difícil diseñar un conjunto de lumbrera adecuado para soportar el conjunto de sensores. Esto es especialmente cierto en el caso de bolsas de biorreactores de un solo uso de tipo basculante en las que hay inconvenientes durante la utilización de sensores de un solo uso en base a fibra óptica, pero introducir un conjunto de sensores ópticos en base al espacio libre óptimamente diseñado como se describe en la patente de Estados Unidos 7.489.402, puede requerir una lumbrera más grande. Sin embargo, un gran lumbrera puede poner tensión sobre los materiales de bolsa y por lo tanto es difícil de construir de tal manera que la integridad de la bolsa se puede asegurar al tiempo que se mantiene un sello libre de fugas.

Un método preferible para la introducción de conjuntos de sensores, (u otro tipo de conjunto de monitorización) en los recipientes de biorreactores de un solo uso sería simplemente soldar estos conjuntos directamente a las bolsas de manera similar a la forma en que las lumbreras y orificios de ventilación de la técnica anterior se fijan en la actualidad a los revestimientos de bolsa de un solo uso. Hasta la fecha, esto no ha sido generalmente factible para la mayoría de los sensores o conjuntos de sensores. Las razones de la imposibilidad de poner en práctica una solución de este tipo para la introducción de sensores y otros accesorios en recipientes de biorreactores de un solo uso u otros equipos de un solo uso incluyen el hecho de que las bolsas o revestimientos se hacen generalmente de películas donde la capa interior es típicamente un polímero de la alta tensión superficial tal como LDPE o EVA de densidad ultra-baja; mientras que el material utilizado para los conjuntos de sensores (por ejemplo: si es un sensor óptico o sensor eléctrico de espacio libre) necesita ser generalmente un polímero tal como un policarbonato, cicloolefina, copoliéster, u otro termo-plástico que pueda ser sustancialmente rígido, transparente u opaco puede cumplir con las normas USP de Clase VI y, en particular, puede soportar la radiación gamma o beta de 50 kG como se utiliza normalmente para la esterilización sin un cambio significativo en sus propiedades físicas u ópticas (por ejemplo, los materiales no pueden llegar a ser frágiles o cambiar su opacidad). Las películas laminadas utilizadas para hacer las bolsas o revestimientos de los recipientes se pueden soldar fácilmente entre sí, y aunque las lumbreras de la técnica anterior que típicamente se construyen a partir de materiales que coinciden con la capa interior del biorreactor de un solo uso (por ejemplo: LDPE, EVA, PVDF, u otra poliolefina) se pueden soldar también a la bolsa o revestimiento, el material óptimo para el conjunto de sensores en sí no se puede soldar fácilmente a los materiales de revestimiento de película o a una lumbrera del mismo material que el revestimiento (Véase: "Materiales de Construcción para Sistemas de Bioprocesamiento de Un solo uso", William Hartzel, Innovaciones en Tecnología Farmacéutica, pág. 46, abril de 2007). Hemos encontrado que los dos materiales, es decir, el conjunto de sensores y el revestimiento de la bolsa no se pueden fundir o pegar entre sí sin alterar la superficie de al menos la capa de contacto del revestimiento y, generalmente, sin alterar ambas superficies de los materiales. Por lo tanto, la capacidad, como se posibilita por la presente invención, para la construcción de conjuntos complejos que se pueden soldar directamente a la bolsa proporciona nuevas e importantes posibilidades para colocar sensores o conjuntos en los recipientes de biorreactores de un solo uso y aborda las muchas cuestiones actuales con los diseños de lumbrera de sensor existentes. Además, con el fin de habilitar completamente el paradigma de un solo uso y la optimización de procesos en una escala global, el software de automatización, el hardware, y los sensores de un solo uso se deben expandir de la unidades de procesamiento aguas arriba (USP) tales como mezcladores y biorreactores para abarcar también las herramientas de bioprocesamiento aguas abajo (DSP) tales como los conjuntos de cromatografía y patines de filtración que utilizan películas similares. La llegada de equipos flexibles y

modulares con históricos de datos integrados permitiría la recogida de un conjunto unificado de datos de proceso desde la mezcla tampón hasta la ultrafiltración final del producto de bioproceso. La disponibilidad de datos de los sensores procedentes de los módulos específicos del proceso (por ejemplo, mezclador, biorreactor, y diferentes configuraciones de proceso, especialmente en el lado aguas abajo), permitiría a los usuarios desarrollar modelos para cada paso del proceso y las interacciones en el mismo. Una vez que se disponga de información suficiente a partir de la base de datos, el ingeniero de bioproceso podría optimizar todo el proceso de punta a punta e implementar un modelo de rendimiento.

El documento WO 2010/010313 desvela un biorreactor de un solo uso que incluye una cámara y un dispositivo de sensor. El dispositivo de sensor se fija a través de una pared de la cámara a fin de incorporarse en una porción de la misma.

De acuerdo con la presente invención, se proporciona un conjunto de sensores de material compuesto para su uso con un recipiente de bioproceso polimérico como se define en las reivindicaciones adjuntas.

Como se utiliza en el presente documento, la expresión recipiente de bioproceso pretende incluir tanto las herramientas tanto USP como DSP. En DSP, el equipo implementaría idealmente sensores de un solo uso fabricado utilizando los procesos de fabricación de la presente invención como se describe en el presente documento ya sea para reemplazar los sensores tradicionales y/o habilitar nueva capacidad analítica adicional. El equipo de DSP que utiliza la tecnología de película similar a la utilizada en los recipientes de bioproceso poliméricos de USP se describe en la patente de Estados Unidos 7.935.253. Sensores "inteligentes" ideales para el DSP, así como para el USP, tendrían la capacidad de pre-calibrarse y de esterilizarse por irradiación gamma o beta junto con el propio recipiente de bioproceso. De esta manera los sensores llegarían encerrados en el contenedor de transporte junto con el recipiente de bioproceso. Por tanto, todo el sistema llega estéril, minimizando de este modo el tiempo del operador durante la configuración de proceso. Por ejemplo, en aplicaciones aguas abajo, también hay una necesidad significativa para medir el pH y la temperatura, así como la densidad óptica y la pureza del producto (por ejemplo, carga viral, impurezas biológicas). En el diseño del sensor DSP, la capacidad de combinar los materiales compuestos es particularmente importante ya que los requisitos ópticos en el intervalo ultravioleta limitan aún más significativamente las opciones de materiales, y donde los requisitos de extraíbles y lixiviables son cada vez más estrictos. Por otra parte, debido a que el tamaño de los mezcladores, biorreactores, y equipos de un solo uso aumenta para satisfacer la capacidad de DSP, el riesgo de fuga de una configuración de sensor/lumbrera estándar aumenta con la mayor presión en el interior del contenedor. Esta capacidad, como se ha proporcionado por la presente invención, para utilizar combinaciones de materiales que antes eran considerados incompatibles desde una perspectiva de unión a fin de proporcionar un sello impermeable es un factor importante tanto en el DSP como en el USP.

Breve descripción de los dibujos

Las Figuras 1-7 son de la técnica anterior mientras que las Figuras 8-17 son ilustrativas de la presente invención.

La Figura 1 muestra un diseño de lumbrera de la técnica anterior.

La Figura 2 muestra el método de la técnica anterior típico de introducir sensores en base a fibra óptica en una bolsa basculante de un solo uso.

La Figura 3 muestra un diseño de lumbrera de la técnica anterior con un sello en base a un ajuste de fricción.

La Figura 4 muestra un diseño de lumbrera de la técnica anterior con un sellado en base a un sello de compresión de junta tórica.

La Figura 5 muestra otra versión de una lumbrera de la técnica anterior que utiliza suministro de fibra óptica y recogida de la señal óptica.

La Figura 6 muestra las capas de la construcción de la película del biorreactor Thermo Fisher CX-14.

La Figura 7 es un diagrama que muestra otra versión adicional de una lumbrera de la técnica anterior que utiliza suministro de fibra óptica y recogida de la señal óptica.

La Figura 8 es una vista lateral superior de una unidad de sensores para las bolsas basculantes de acuerdo con la presente invención que incluye ventanas de sensores tanto ópticos como térmicos.

La Figura 9 es una vista en sección transversal de una unidad de sensor de acuerdo con la presente invención

La Figura 10 muestra un conjunto de sensores de material compuesto es decir, la unidad de sensor y la lumbrera de acuerdo con la presente invención que se suelda térmicamente a una bolsa del biorreactor de un solo uso.

La Figura 11 muestra una vista interior parcial de un conjunto de sensores de óptica de espacio libre de acuerdo con la presente invención que puede reemplazar ventajosamente los diseños de lumbrera de la técnica actual en una bolsa de revestimiento de tanque agitado de un solo uso.

La Figura 12 es una vista exterior del conjunto de sensores de la Figura 11.

La Figura 13 es una vista de perfil de un conjunto de sensores ópticos de acuerdo con la presente invención adecuado para mediciones de dispersión o de absorción óptica.

La Figura 14 es una vista en sección transversal de un conjunto de sensores ópticos de material compuesto de acuerdo con la presente invención, (en este caso un dispositivo espectroscópico ATR).

La Figura 15 es una vista en sección transversal de un conjunto de sensores ópticos de material compuesto de acuerdo con la presente invención, tal como un ISFET donde el dispositivo óptico está en contacto con los contenidos del recipiente del biorreactor.

La Figura 16 es una vista en sección transversal de otro tipo de conjunto de sensores ópticos de material compuesto de acuerdo con la presente invención adecuado para la utilización del interrogatorio espectroscópico NIR o Raman de los contenidos del recipiente.

5 La Figura 17 es una vista en sección transversal del conjunto de accionamiento de la patente de Estados Unidos 7.384.783. Un conjunto de accionamiento de este tipo se mejora sustancialmente si se fabrica a partir de una combinación de materiales que se pueden unir solamente utilizando el proceso de la presente invención.

Descripción detallada de la invención

10 Se sabe que los sensores fluorescentes en base a fibra óptica que se utilizan actualmente en biorreactores de un solo uso sufren de una serie de limitaciones, como las siguientes:

1. Foto-degradación acelerada que conlleva a una vida útil limitada y/o medición de la exactitud/capacidad;
2. Sensibilidad a la luz ambiente;
- 15 3. Sensibilidad al movimiento o perturbación física.

Los revestimientos de biorreactores de un solo uso de tanque agitado utilizan actualmente lumbreras configuradas, por ejemplo, como se muestra en las Figuras 3 y 4 para introducir sensores y/o sistemas de muestreo. Sin embargo, estas lumbreras limitan el factor de forma y la forma del sensor que se puede utilizar.

20 En el caso específico bolsas de un solo uso de tipo basculante, los sensores en base a fibra óptica sufren importantes limitaciones debido al método por el que se introducen en la bolsa. Como se muestra en la Figura 2, los puntos de sensores fluorescentes de DO (oxígeno disuelto) y pH se fijan al extremo de los conjuntos de fibra óptica 22 y 23. Estas fibras se introducen a través de la pared de la bolsa basculante 21, típicamente cerca del eje de giro 24. Como se muestra en la Figura 2, los cables de fibra óptica se llevan generalmente a través de la parte superior de la bolsa basculante y el sensor en el extremo del cable de fibra óptica se encuentra inmerso en los medios de bioproceso en la parte inferior de la bolsa, de manera similar a una línea de filtro en un tanque de combustible. A medida que el recipiente bascula de ida y vuelta hasta el ángulo máximo, el fluido 25 se mueve hacia uno u otro de los extremos del recipiente y, por lo tanto, puede hacer que los puntos de sensores se cubran. Como se puede observar, esta disposición puede hacer que el punto de sensor quede expuesto al gas en la cámara de aire (en lugar de sumergirse continuamente en el medio de bioproceso acuoso) durante un ciclo de basculación, así como a la exposición a la luz ambiente que puede acelerar la foto-degradación del sensor. Esto es porque los recipientes basculantes están generalmente llenos hasta menos de la mitad de su capacidad de modo que el líquido se acumula en las esquinas de la bolsa durante los puntos finales de transición del ciclo de basculación abandonando los sensores ópticos situados cerca de la mitad de la bolsa no cubiertos durante una fracción de cada período de basculación.

40 Los "puntos" de sensores se componen típicamente de tintes fluorescentes (véase J. Lakowicz, Principios de Espectroscopía de Fluorescencia, tercera edición, Springer, 2006) impregnados en materiales inertes, porosos como celulosa o vidrio ormosil, y el analito diana se difunde en cuestión en el punto de sensor y cambia las propiedades fluorescentes del tinte o tintes. La difusividad de un gas en el punto de sensor es mucho mayor que la de un líquido, por lo que incluso una breve exposición (temporal) al gas de la cámara de aire puede afectar significativamente a la lectura del sensor y de ese modo causar imprecisiones de medición significativas. Por ejemplo, si el tiempo de respuesta (respuesta del 90%) del punto de sensor en el líquido es de 30 segundos y la concentración de DO en el líquido es del 30% Sat (saturado), y el tiempo de respuesta en la fase gaseosa (cámara de aire) es de 3 segundos y el DO es > al 100% Sat es fácil ver cómo incluso una breve exposición a la cámara de aire puede tener un efecto adverso en la gran exactitud del valor de DO medido.

50 Previamente se han hecho varios intentos para hacer frente a las cuestiones antes mencionadas. Una solución propuesta (véase por ejemplo la patente de Estados Unidos 7.824.902) para la emisión de luz ambiente en biorreactores de un solo uso que utiliza sensores en base a fibra óptica se muestra en la Figura 5. Aquí 51 es el tinte fluorescente sensible al oxígeno, 52 es un material biocompatible tal como polietileno de baja densidad que comprende una lumbrera que se suelda en el revestimiento del biorreactor 56. El cable de fibra óptica se muestra como 54 mientras que 55 es un apantallamiento que busca evitar que la luz ambiente incida directamente sobre el tinte fotosensible mientras que todavía permite que el fluido fluya libremente alrededor del punto de sensor. La fibra, 54, se muestra como bloqueo para un casquillo, 57, que es parte del conjunto de lumbrera, mientras que 58 indica las aberturas en un recipiente de recepción que se encuentra por encima del revestimiento de la bolsa. Esta solución permite fijar el conjunto de fibra óptica y el punto de sensor al biorreactor de un solo uso y permite también un apantallamiento de luz para limitar la luz ambiente que incide sobre el punto. Esto tendría una importancia específica en puntos de sensores como puntos de pH que normalmente no pueden soportar un recubrimiento opaco, ya que hay pocos, si alguno revestimiento USP de clase VI opacos y cualificados que permiten que los iones (por ejemplo, H⁺) pasen a través del punto de sensor.

65 Las bolsas de tipo basculante y los recipientes de un solo uso de tipo revestimiento se construyen generalmente a partir de películas laminadas, como se muestra en la Figura 6. Esta Figura muestra la película Thermo Fisher CX-14 donde la capa en contacto con el líquido del bioproceso es A1 (polietileno de baja densidad, 0,26mm (10,4

milésimas de pulgada) de espesor) seguido por la capa A2 (una "capa de unión" de 0,02mm (0,9 milésimas de pulgada) de espesor que une A1 y A3), y la capa A3 (copolímero de etileno-alcohol vinílico "EVOH", 0,03mm (1,0 milésimas de pulgada) de espesor), y la capa A4 (otra "capa de unión" de 0,02mm (0,9 milésimas de pulgada) de espesor que une A3 y A5), y, finalmente, A5 (poliéster, 0,02 (0,8 milésimas de pulgada) de espesor). Referencia: 5 Thermo Scientific Hyclone BPC Products and Capabilities 2008/2009. No todas las películas laminadas empleadas en aplicaciones de un solo uso deben emplear estos materiales o este número de capas.

Otros intentos de la técnica anterior se han realizado utilizando un método similar para minimizar el tiempo que el sensor está descubierto en una bolsa basculante de un solo uso llevando los sensores de fibra óptica a través de 10 una lumbrera en la parte inferior de la bolsa como se muestra en la Figura 7 (tomado de: *Bolsas de Bioprocesos Integralmente Equipadas con Sensores de Oxígeno o pH*, Mark Timmins, Si Chen, Aaron Loren, Steven Archibald, Kurt Christoffersen, Jean-François Hamel, y James Kane). El cable de fibra óptica, 64, se conecta a un conector de fibra óptica estándar, 63, que se inserta en una lumbrera 62 que se suelda térmicamente a la capa de película interior (normalmente LDPE o EVA o capa inerte similar) del biorreactor de un solo uso 61. El punto de sensor, 60, 15 se fija al extremo del cable de fibra óptica. Los puntos se encuentran en, o ligeramente por encima de la parte inferior de la bolsa. Sin embargo, hemos encontrado que con este diseño para volúmenes de líquido bajos los puntos todavía pueden llegar a descubrirse en el máximo ángulo y velocidad de basculación. También, en este enfoque no hay protección para los puntos de sensores contra los efectos de la luz ambiente. Por lo tanto, en este enfoque los puntos de sensores pueden todavía estar expuestos tanto al gas de la cámara de aire como a la luz 20 ambiente permitiendo de este modo que la fidelidad medición se vea comprometida y que el punto de sensor se vea sometido a la foto-degradación.

Un sistema óptimo que evitaría los problemas conocidos de sensores ópticos en base a cables de fibra óptica: sería minimizar la exposición a la luz ambiente, y también eliminaría la posibilidad de tener los valores medidos por el 25 sensor cuando se sumerge en el líquido que está siendo dañado por la exposición a contribuciones en fase gaseosa de la cámara de aire. Idealmente, el sistema también sería capaz de fijarse a la bolsa durante el curso normal de la construcción utilizando el mismo equipo (por ejemplo: equipo de soldadura térmica, selladores de uniones) que se utiliza para hacer la bolsa. La presente invención aborda con éxito estas cuestiones.

Se ha encontrado que las cuestiones de foto-degradación en base a la iluminación se pueden abordar mediante el 30 uso de un diseño de sensor en base a la óptica de espacio libre base. El uso de la óptica de espacio libre y los detalles de tales sensores y sus ventajas se describen en la Patente de Estados Unidos 7.489.402. Un concepto fundamental expuesto en esta patente, es que la desviación en la precisión de medición en los sistemas de sensor de fase fluorimétrica debido a la foto-degradación se puede reducirse significativamente (en muchos casos hasta un 35 nivel que no es medible) reduciendo al mínimo la cantidad de luz utilizada para iluminar el punto o puntos de sensores. La óptica de espacio libre y un foto-detector de tamaño apropiado pueden, en prácticamente todas las circunstancias, recoger más luz de un punto de sensor fluorescente que lo que un cable de fibra óptica puede. Como es sabido, los sistemas de fibra óptica están limitados por leyes físicas fundamentales en cuanto a la cantidad de luz que pueden recoger. La ley fundamental de la física que describe este problema se conoce como "la conservación 40 de brillo". Esta limitación se aplica también a la óptica de espacio libre, pero los efectos de la limitación son en ninguna parte casi tan graves. Dado que un sistema óptico de espacio libre puede recoger mucha más luz (fácilmente mayor que un factor de 10 frente a un cable de fibra óptica) requiere, por tanto, de mucho menos luz para iluminar el sensor fluorescente y causar, por tanto, un ritmo mucho más lento de foto-degradación. Sin embargo, para obtener resultados exactos de manera óptima se necesita un método para minimizar o eliminar la 45 exposición del punto a la fase gaseosa y asegurar también que todo el punto permanezca siempre sumergido, incluso para bajos volúmenes de relleno y también para proteger el punto de la exposición a la luz ambiente.

Un diseño de sensor de acuerdo con la presente invención, que es particularmente adecuado para su uso en bolsas 50 basculantes, y que se puede realizar físicamente e implementarse prácticamente para evitar los problemas antes mencionados, se muestra en las Figuras 8 a 10.

El conjunto de sensores de material compuesto de la presente invención es adecuado para su uso con un recipiente de bioproceso polimérico y también con el equipo de bioprocesamiento aguas abajo, y comprende:

- 55 i) una lumbrera que comprende un termoplástico de alta tensión superficial, tal como LDPE o EVA que tiene una porción tubular hueca y una porción de placa base, siendo la placa base sellable por fusión al recipiente del biorreactor en un orificio en la pared del mismo;
- ii) una unidad de sensor polimérico (monitorización) que incluye al menos un componente de medición eléctrico y/u óptico (generalmente opaco cuando se utilizan solo ópticos). La unidad de sensor se ajusta dentro del 60 agujero de la porción tubular hueca de la lumbrera, y se retiene en su interior mediante adhesivo utilizando un proceso especial de acuerdo con la presente invención como se describe más adelante. Preferentemente, una pluralidad de componentes de medición estará presente en la unidad de monitorización.

A lo largo de la presente memoria descriptiva "alta tensión superficial" significará preferentemente al menos 30 65 dinas/cm para la mayoría de aplicaciones, aunque alguna variación de esa cifra podría aplicar dependiendo de las composiciones de polímero exactas y de la rugosidad de la superficie. En algunas circunstancias valores de al

menos 35 o de al menos 40 dinas/cm pueden ser preferidos.

Si bien la lumbrera se muestra como teniendo forma cilíndrica y se describe como siendo "tubular", tal terminología no se interpretará como una exigencia que, o bien la porción tubular (hueca) de la lumbrera de la unidad de sensor tenga que ser circular en sección transversal. Específicamente, la unidad de sensor y la porción (lumbrera) tubular de la unidad pueden tener cualquier forma geométrica, siempre que la unidad de sensor se pueda fijar herméticamente a la lumbrera y que la placa de base tenga un orificio que proporcione acceso a los contenidos del bio-recipiente. La lumbrera hace que los componentes de la unidad de sensor tengan acceso a los contenidos del recipiente del biorreactor, componentes que incluyen medios para proporcionar señales ópticas y/o eléctricas entrantes y medios para recoger y transmitir las señales de medición emitidas por los componentes del conjunto de sensores. Para su uso con una bolsa basculante, la unidad de sensor es preferentemente (pero no necesariamente) generalmente circular y en forma de plato e incluye una porción de base y un borde concéntrico que se extiende por encima de la base. La unidad de sensor tiene preferentemente depresiones en forma de copa en la superficie interior de la base de la misma. Cada uno de los componentes de monitorización se sitúa en una depresión en forma de copa separada en la base de dicha unidad de sensor y cada uno de dichas depresiones en forma de copa incluye preferentemente un reborde circundante que se extiende por encima de la superficie interior de la base de la unidad de sensor. Las copas que contienen los componentes (monitorización) de sensores ópticos tendrán preferentemente un apantallamiento de luz situado sobre la parte superior de los mismos. En la práctica actual, aunque no es particularmente necesario en una unidad de sensor de óptica de espacio libre diseñada para su uso con una bolsa de revestimiento, la sonda será, frecuentemente, sustancialmente cilíndrica y estará contenida con el agujero de la porción tubular de la lumbrera como se muestra en las Figuras 11 y 12 con la unidad de sensor estando de nuevo retenida de forma adhesiva en su interior mediante un proceso especial tal como se describe en lo sucesivo.

La Figura 8 muestra la unidad de sensor óptico de espacio libre en la que los puntos de DO y pH se montan en las "copas" empotradas 72 y 73 que ayudan a mantener el fluido de bioproceso que cubre los puntos en todos los ángulos normales de basculación y a las velocidades de basculación. La temperatura se mide a través de una copa que tiene una placa de acero inoxidable pulida eléctricamente de 316L fina que se muestra como 71.

La Figura 9 es una vista en sección transversal de una unidad de sensor de acuerdo con la presente invención para su uso con una bolsa basculante que muestra las secciones ópticamente opacas de la unidad de sensor 82, así como las secciones ópticamente transparentes 83. La opacidad se logra normalmente mediante la incorporación del colorante de absorción USP de Clase VI en un polímero normalmente transparente o translúcido. Como se muestra, cada unidad de sensor se encuentra por debajo de la superficie del fluido en su propia copa 85. Cabe señalar que cada una de las copas 85 tiene, preferentemente, su propia cresta 86 que altera el flujo de líquido a través de la copa y que reduce, por tanto, la recogida de desechos en la copa dado que la crestas crean un patrón de flujo propicio para barrer los desechos. Cabe señalar que toda la unidad de sensor en ciertas realizaciones preferidas tendrá también una cresta periférica 84 que sirve para retener el fluido dentro de la unidad de sensor. Un beneficio adicional de la cresta es que crea una trayectoria de flujo de fluido que minimiza la recogida de desechos de partículas (por ejemplo: células muertas u otros precipitados) en las copas que contienen los sensores 85. La copa que contiene el sensor de temperatura 87 es normalmente ligeramente diferente en tamaño y en profundidad en comparación con las copas que contienen los sensores de pH o DO, pero sigue el mismo concepto porque se ha diseñado para retener líquido. En lugar de un sensor óptico de espacio libre, el mismo utiliza una placa electropulida de 316L para una buena conductividad térmica con el fluido del biorreactor y contiene también un RTD, termistor o sensor de temperatura equivalente.

Los materiales elegidos para las porciones poliméricas de la unidad de sensor, incluyendo las copas que retienen los puntos de sensores tendrán ventajosamente las siguientes características:

- Estabilidad (en las propiedades ópticas y mecánicas) después de la exposición a la radiación gamma o beta de esterilización;
- Integridad estructural;
- Bajo coste;
- Capacidad para cumplir con las normas USP de Clase VI;
- Libre de componente de animal derivado;
- Capacidad para ser moldeado;
- Opacidad óptica del cuerpo de la unidad de sensor y transparencia óptica en las porciones que se necesitan para transmitir luz.

La lista de materiales poliméricos que cumplen los criterios anteriores incluyen policarbonatos, copolímeros de ciclo-olefina, co-poliésteres, poliestireno y otros termoplásticos estables de radiación beta o gamma conocidos en a técnica.

Como se ha mencionado anteriormente, la capa más interior de las bolsas basculantes de un solo uso se construye generalmente a partir de LDPE o EVA debido a que estos polímeros son químicamente inertes y no reactivos con materiales biológicos y también están disponibles como una película USP de Clase VI. Capas de refuerzo y/o de

unión exteriores adicionales están también, a veces, presentes de modo que muchas bolsas incluyen capas adicionales de otros polímeros, además de la capa polimérica de EVA o LDPE más interior. De aquí en adelante, generalmente, se hará referencia a LDPE como el material utilizado para construir la bolsa del biorreactor de un solo uso, pero, como alternativa, la bolsa se puede fabricar a partir de uno de los materiales antes mencionados o de otra película termoplástica adecuada que cumpla con las normas USP de Clase VI.

Una cuestión central y problema que se abarcan por la presente invención es que la mayoría de los materiales adecuados para la unidad de sensor no se unen térmicamente o, de otro modo, fácil y eficazmente al LDPE sin someter al menos el LDPE a una preparación superficial, y en muchos casos sometiendo tanto el LDPE como la parte de interfaz de la unidad de sensor a preparación superficial. Es difícil unir LDPE a materiales poliméricos diferentes de manera fiable, robusta ya que todavía permite que la parte unida soporte la esterilización (normalmente mediante radiación gamma o beta) y también cumple todavía con las normas USP de Clase VI. Esto hace que sea difícil utilizar materiales óptimos a partir de una perspectiva de un dispositivo óptico de espacio libre (o dispositivo eléctrico o dispositivo que utiliza óptica, electrónica, y/o transductores químicos) para la unidad de sensor, mientras que al mismo tiempo se mantiene la capacidad para unir esta parte (la unidad de sensor) a la bolsa de un solo uso. Por lo tanto, no es obvio cómo implementar simultáneamente una unidad de sensor que cumpla los requisitos de medición (por ejemplo: larga vida, buena precisión, funcionalidad) e integrarla también de manera estanca en un recipiente del biorreactor de un solo uso.

Con el fin de crear un sistema óptico de espacio libre óptimo para fluorimetría de fase, se deben utilizar materiales que satisfagan los requisitos antes mencionados. Por lo tanto, un método de unión que cumpla con todos los requisitos aplicables se debe emplear para unir el conjunto de sensores al recipiente del biorreactor de un solo uso. Una variedad de métodos de preparación superficial son conocidos y algunos, en teoría, se podrían emplear con LDPE o EVA (véase, por ejemplo, "Mejora de la adherencia de las superficies poliméricas por tratamiento con plasma atmosférico", MJ Shenton, MC Lowell-Hoare, y G C Stevens, Journal of Physics D: Applied Physics, 34 (2001) 2754-2760). Por ejemplo, es posible atacar químicamente las superficies que se tienen que acoplar o, como alternativa, crear un "meta-capas", donde las superficies se dopan con materiales que se unen entre sí más fácilmente. Si bien tales métodos permiten que la bolsa y la porción superficial de interfaz de un conjunto de sensores se unan entre sí, hay muy pocas opciones de soluciones de ataque químico que proporcionarán un producto que cumpla con las normas USP de Clase VI. Hemos encontrado que un método más ventajoso que trabaja para el LDPE, EVA y la mayoría de otras poli-olefinas o copolímeros de etileno utilizado para la capa superficial interior de las bolsas de biorreactor es la preparación superficial de las superficies de acoplamiento de tanto esa porción del conjunto de sensores (que se fabrica a partir de un polímero que se une fácilmente por fusión a la bolsa) como de la estructura de unidad de sensor rígida que contiene la óptica de espacio libre, la electrónica, o una combinación de las mismas por métodos tales como limpieza de plasma, limpieza de ozono o UV u otro enfoque que crea lugares de adsorción en la superficies de contacto. Dado que la mayoría de bolsas de un solo uso se fabrican "soldando" las partes entre sí (utilizando métodos térmicos, ultrasonido, etc.), es por tanto ventajoso crear una parte (es decir, el conjunto de sensores de la presente invención) que se puede soldar sobre el recipiente de la misma manera que las lumbreras y orificios de ventilación convencionales.

La presente invención utiliza, por tanto, una lumbrera fabricada en parte de LDPE, EVA o polímero similar adecuado para su unión mediante los métodos conocidos (por ejemplo, soldadura térmica) a la película de revestimiento o bolsa basculante de un solo uso (por ejemplo, poder unirse fácilmente a la superficie de la capa interior de la bolsa del biorreactor de LDPE) combinado con una unidad de sensor óptico de espacio libre fabricada a partir de uno de los polímeros especiales antes mencionados (por ejemplo, policarbonatos, copolímeros de ciclo-olefina, copoliésteres, y poliestireno). La lumbrera a la bolsa y la lumbrera a la unidad de sensor cuando se fabrican de acuerdo con la presente invención proporcionan un sello aséptico e impermeable a fluidos. Tras el tratamiento superficial antes mencionado de cualquiera de (o preferentemente ambas) de las superficies de contacto de la lumbrera y de la unidad de sensor, se ha encontrado que se pueden unir entre sí de manera eficaz y ventajosamente utilizando adhesivos USP de Clase VI que incluyen una o dos partes de resinas epoxi, epoxis curables por UV, cianoacrilatos, siliconas o poliuretanos. A fin de garantizar que los adhesivos elegidos no se reticulan ni se vuelven frágiles, excesivamente, bajo la esterilización por radiación gamma o beta, se pueden examinar y muestrear después de su exposición a la radiación con el fin de garantizar que están cualificados para esta aplicación de acuerdo con normas USP aplicables.

El conjunto de sensores compuesto que se describe en el presente documento utiliza las técnicas de preparación superficiales antes mencionadas para permitir la unión de un componente óptico/físico a una lumbrera de LDPE o EVA, lumbrera que se puede soldar posteriormente utilizando métodos conocidos en un recipiente de un solo uso fabricado de LDPE (o EVA). Este método permite un mayor grado de libertad en el diseño de los componentes que se pueden sellar en biorreactores de un solo uso (u otro equipo de proceso de un solo uso) que utilizan materiales tales como LDPE o EVA con una alta tensión superficial y que, por tanto, son inertes y también difíciles de unir a materiales diferentes. Esto alivia la necesidad de insertar los componentes a través de lumbreras rígidas o semi-flexibles que están limitadas en forma y extensión espacial. La unidad de acuerdo con la presente invención que se muestra en las Figuras 8 y 9 es un conjunto de sensores de acuerdo con la presente invención que permite el uso de un sensor o sensores ópticos en base a fluorescencia y también, si se desea, un sensor de temperatura (sonda térmica). Por otra parte, este método se puede aplicar a otros tipos de sondas diferentes (dispositivos de

monitorización) que se utilizan ventajosamente con equipos de proceso de un solo uso incluyendo sensores eléctricos (por ejemplo: ISFET) u otros tipos de sensores ópticos en base a métodos espectroscópicos (por ejemplo: infrarrojo cercano o Raman). La Figura 10 muestra un conjunto de sensores compuesto de acuerdo con la presente invención, es decir, la unidad de sensor está integrada con la lumbrera y fusionada a la pared del recipiente del biorreactor. Adicionalmente, este método de unión no se limita a una bolsa de un solo uso de tipo basculante o a bolsas de revestimiento poliméricas dado que el conjunto de material compuesto de la presente invención se puede soldar fácilmente a cualquier recipiente, columna o contenedor polimérico de un solo uso que requiera sensores. Finalmente, este método no pone en peligro la clasificación USP de Clase VI de los materiales, de modo que el producto combinado es todavía adecuado para aplicaciones de bioprocesamiento.

Como se muestra en la Figura 10, el conjunto de sensores que incluye la unidad de sensor que tiene copas de los sensores ópticos (mostradas como 72 y 73 en la Figura 8 y como 83 en la Figura 9) y una placa 91 con alta conductividad térmica (por ejemplo: acero inoxidable electropulido 316L), y que cumple también con las normas USP de Clase VI y por la que la temperatura se puede detectar o medir de este modo, se fijan a la placa base de la lumbrera 92 (preferentemente fabricada de LDPE) con un adhesivo adecuado para la posterior limpieza de plasma como se ha descrito anteriormente, y el conjunto se suelda después térmicamente a la película de la bolsa 93 (mostrada aquí en forma circular). Apantallamientos de luz opcionales, 94 para evitar la interferencia de la señal y el foto-blanqueo se muestran también situados por encima de las copas de los sensores ópticos. El apantallamiento de luz también se utiliza ventajosamente en puntos de sensores fluorescentes que no pueden soportar o que, de otro modo, no se pueden utilizar con un revestimiento opaco tal como un polímero de silicona negro. El apantallamiento de luz permite que el fluido del biorreactor fluya al punto de sensor, pero bloquea un gran porcentaje de la luz ambiente. Esto reduce el potencial para la foto-degradación del punto de sensor y también para la interferencia con la óptica y la amplificación eléctrica utilizada en la detección de la señal fluorescente.

La Figura 11 muestra una versión del conjunto de sensores de material compuesto de la presente invención que sería particularmente adecuado para su uso con una bolsa de revestimiento plástica de tanque agitado, de un solo uso. La unidad de sensor que se muestra como parte del conjunto de sensores en la Figura 11 se compone de una unidad de sensor óptico preferentemente al menos parcialmente opaca que se construye de un material polimérico USP de Clase VI, resistente a la radiación gamma, sustancialmente rígido y libre de componente animal derivado adecuado como se ha descrito anteriormente. Aquí 102 es un componente transparente (por ejemplo: una lente) fabricado de un material similar, pero sin colorante añadido. Un punto de sensor fluorescente (no mostrado) se coloca convenientemente en la parte superior del componente óptico. Otras técnicas de medición del sensor óptico, como la espectroscopia NIR o espectroscopia Raman no requieren ningún punto de sensor. Un área térmicamente conductora adecuada (por ejemplo, una placa de acero inoxidable electropulido 316L para medición de la temperatura) se muestra como 103. La lumbrera 104 se fabrica adecuadamente de un material que se suelda fácilmente a la bolsa de revestimiento de un solo uso y tendrá preferentemente una pestaña circunferencial 105 para facilitar dicha unión a la bolsa del biorreactor. A veces es también deseable disponer de funciones adicionales en la unidad de sensor 101 y/o en la lumbrera 104 (es decir, tener una mayor área superficial de acoplamiento o un saliente) de manera que cuando la superficie de la lumbrera interior (106) y la superficie exterior de la unidad de sensor se preparan a través del tratamiento con plasma, un adhesivo tal como silicona curada con platino 107 se adherirá fácilmente a ambas superficies. El conjunto de sensores de material compuesto como se muestra en las Figuras 11 y 12 (una vista exterior, no en corte del conjunto de sensores de la Figura 11) utiliza una unidad de sensor óptico de espacio libre, pero es igualmente adecuado para su uso con una unidad de sensor eléctrico o químico.

La Figura 13 muestra una vista de perfil de un conjunto óptico de material compuesto especialmente adecuado para mediciones de densidad óptica (mediante UV, infrarrojo cercano, o luz visible) o mediciones de espectroscopia de absorción óptica. En la Figura 13, 120 es el material de revestimiento compatible (por ejemplo: LDPE), y 121 es la película de la bolsa de un solo uso. La parte óptica del conjunto de material compuesto se compone de la pared lateral, 124, que se fija de forma adhesiva al material compatible del revestimiento 120, mientras que 123 es el suelo del conjunto óptico y puede ser convenientemente del mismo material que 124 o no dependiendo de las propiedades ópticas requeridas. Los componentes 122 son prismas ópticos que se utilizan para refractar o reflejar el haz de luz 125 a través de una brecha óptica. Los prismas estarán normalmente revestidos de tal manera que reflejarán el haz de luz 125, como se muestra. La luz que atraviesa la brecha determina, en parte, las propiedades ópticas de los componentes utilizados y, por lo tanto, la selección del material. La separación exacta entre los prismas (longitud de separación óptica) se determina por la absorción y las propiedades de dispersión del material que está destinado a caracterizarse por este sistema. El procesamiento de las señales ópticas puede ser por un foto-detector o medidor de potencia con un filtro en el frente, o puede ser mediante un espectrómetro.

La Figura 14 representa una vista en sección transversal de otro conjunto óptico de material compuesto. En particular, aquí se muestra un dispositivo espectroscópico ATR (reflexión total atenuada). G. Müller, K. Abraham, y M. Schaldach, "Espectroscopia ATR Cuantitativa: algunas consideraciones básicas," Appl. Opt. 20, 1182-1190 (1981). En esta vista en sección transversal, 131 es el revestimiento o la película del biorreactor de un solo uso, 130 es el LDPE u otro material compatible, 134 es otro material polimérico, adecuado que se fija de forma adhesiva al LDPE. El componente 136 es típicamente un material de índice de refracción óptica alta (por ejemplo: Al_2O_3 o YVO_4 , o índice vítreo alto, policarbonato, o material similar). El alto índice se requiere para permitir que la reflexión interior

total frustrada. La luz entrante se muestra aquí como 135, y los lugares evanescentes o "lugares de rebote" se muestran como 136. El índice de refracción óptica exacta y el número de lugares de rebote se determinan por la sensibilidad requerida por el coeficiente de absorción del analito en cuestión a la longitud de onda utilizada y otros factores que son bien conocidos por el experto en la materia.

5 La Figura 15 representa una vista en sección transversal de un conjunto de sensores que incluye un dispositivo eléctrico, 142, (por ejemplo: un ISFET) que está en contacto con el contenido del biorreactor para proporcionar una lectura donde 141 es la película del biorreactor de un solo uso y 140 es el primer material compatible del biorreactor del material compuesto (por ejemplo: LDPE). El segundo material compatible del conjunto de material compuesto
10 143 se fija de forma adhesiva a 140. El elemento eléctrico, 142, se puede moldear directamente en 143, fijarse de forma adhesiva, o retenerse en su lugar con un sello mecánico tal como un ajuste por compresión utilizando una junta tórica o técnica similar dependiendo del dispositivo y sus propiedades particulares. Tenga en cuenta que un dispositivo eléctrico de este tipo podría utilizar también un recubrimiento de material químicamente reactivo como el mecanismo de transducción, o comprender una red de microfluidos superpuesta sobre los sensores eléctricos.

15 La Figura 16 muestra una vista en sección transversal de otro tipo de conjunto de sensores de material compuesto, donde 151 es la película de recipiente de un solo uso, y 150 es el material compatible de película del conjunto de material compuesto, tal como LDPE. El segundo material compatible del material compuesto se muestra como 154 y se fija de forma adhesiva a 150. El objeto 155 representa una unidad óptica compuesta por una fuente de luz y un sistema de detección que puede utilizar un espectrómetro o un conjunto de filtros para identificar los componentes
20 espectrales de la luz devuelta. La fuente óptica incidirá en 152 que es generalmente tubular y es al menos parcialmente transparente a la fuente de luz. El elemento 152 se construye de manera que el contenido del biorreactor se puede hacer circular continuamente a través del mismo permitiendo un examen preciso, no invasivo *in-situ* de los contenidos del biorreactor. La circulación puede, si se desea, facilitarse por una bomba, 156. El sistema mostrado se puede utilizar también para realizar mediciones espectroscópicas en el infrarrojo cercano de absorción, o mediciones Raman del contenido del biorreactor. Anteriormente se ha indicado la idoneidad y las ventajas de fabricar conjuntos mecánicos de material compuesto para recipientes de biorreactor poliméricos utilizando los
25 procedimientos de unión de la presente invención. Esto es porque muchos de los biorreactores de un solo uso de estilo revestimiento (y mezcladores) se basan en un agitador accionado por motor para mezclar y ayudar a airear el contenido del recipiente. El eje del agitador se debe introducir en el recipiente del biorreactor a través de una lumbrera que limita también el eje. Una limitación fundamental similar impuesta por la compatibilidad del material se encuentra aquí también. En la Figura 17, se muestra una unidad de accionamiento de agitación como se describe en la Patente de Estados Unidos 7.384.783. En la Figura 17, como para la Figura 6 de la citada Patente, se muestra una vista en sección transversal parcial de un conjunto giratorio 601, donde el conjunto giratorio incluye un conjunto de
30 rodamientos 670 dispuesto entre un concentrador 620 y una carcasa interior 660. Adicionalmente, se muestra un rodamiento guía de rodamiento inferior o el conjunto 670 que está en una relación fija con la carcasa interior 660. El concentrador 620 puede girar con relación al rodamiento guía y puede incluir una guía 624a para recibir anillos de ajuste o anillos de retención que pueden ayudar a mantener el concentrador 620 en su lugar. Como se muestra, la carcasa exterior 661 se debe unir a la pared del recipiente de un solo uso 699. Esto requiere que la carcasa 661 se construya de un material compatible con la película del recipiente del biorreactor, o la carcasa 661 se debe sobre-
35 moldear con un material compatible con la película (es decir, adherible a la película). Exigir la compatibilidad del material limita la selección de materiales a los materiales similares al LDPE, lo que entonces limita la capacidad de seleccionar materiales de carcasa con las características óptimas para la aplicación (por ejemplo: resistencia a la tracción, elasticidad, dureza, etc.). El sobre-moldeo limita también los materiales que se pueden utilizar. Aunque el polietileno de densidad ultra baja utilizado para las películas se puede sobre-moldear a veces sobre polietileno de alta densidad (HDPE) más rígido, incluso el HDPE es generalmente sub-óptimo para esta aplicación.

Como se describe aquí, con el tratamiento superficial adecuado muchos materiales más adecuados se pueden utilizar para la unidad mecánica (por ejemplo: el concentrador 620, y/o el conjunto de rodamientos 670) y fijarse de
50 forma adhesiva a la carcasa exterior 661. Esto proporciona una trayectoria alternativa y preferida de acuerdo con la presente invención para la construcción del conjunto de accionamiento del agitador de similar a la unidad de sensor y a la lumbrera como se ha descrito anteriormente.

Los mecanismos adicionales para aplicaciones de bioprocesamiento que se pueden beneficiar de la capacidad de utilizar fundamentalmente diferentes materiales incluyen, pero no se limitan a, rociadores (dispositivos de aireación) y lumbreras de muestreo. Los biorreactores de un solo uso emplean fritas o membranas complejas para proporcionar las aberturas porosas necesarias para convertir el flujo de gas en burbujas de ciertos tamaños para fines de transferir la masa de gas y su diseño puede estar limitado por la selección de materiales y la cuestión de la compatibilidad que afecta los sensores. Las lumbreras de los tomadores de muestra automáticos pueden también
60 requerir múltiples materiales, dado que los materiales que entran en contacto los fluidos de bioproceso a veces tienen que ser transparentes a UV con el fin de esterilizarse *in situ*. Esto es actualmente imposible utilizando el LDPE y materiales similares, ya que se absorben fuertemente en esta región.

Diversas modificaciones y variaciones de la presente invención serán evidentes para los expertos en la materia sin apartarse del alcance y espíritu de la invención. Si bien la invención se ha descrito en conexión con las realizaciones preferidas específicas, se debe entender que la invención, tal como se reivindica, no se debe limitar indebidamente a
65

tales realizaciones específicas. De hecho, las diversas modificaciones de los modos descritos para realizar la invención que son obvias para los expertos en la materia pretenden estar dentro del alcance de las reivindicaciones.

REIVINDICACIONES

1. Un conjunto de sensores de material compuesto para su uso con un recipiente de bioproceso polimérico (93), comprendiendo dicho conjunto de sensores:
- 5
- i) un miembro de lumbrera que tiene una porción hueca y una porción de placa de base (92);
- ii) una unidad de sensor de monitorización polimérica (82) que incluye al menos un componente de medición eléctrico y/o químico y/u óptico, incluyendo dicha unidad de sensor una porción de base y teniendo generalmente forma de plato y dimensionada para encajar dentro del agujero de la porción hueca de dicho miembro de lumbrera, proporcionando dicho miembro de lumbrera a la unidad de sensor de monitorización el componente o componentes de medición con el acceso al contenido de dicho recipiente del biorreactor, componente o componentes que incluyen medios para proporcionar señales ópticas y/o eléctricas entrantes y medios para la recogida y transmisión de las señales de medición emitidas por los componentes; donde:
- 10
- el miembro de lumbrera comprende un termoplástico de alta tensión superficial;
- al menos dicha porción de placa de base comprende un polímero que se puede sellar fusionándose al recipiente de bioproceso en un orificio en la pared del mismo;
- la unidad de sensor se retiene de forma adhesiva en el agujero de la porción hueca de dicho miembro de lumbrera; y
- 15
- al menos una de las superficies de interfaz de dicho miembro de lumbrera y dicha unidad de sensor se han sometido a una preparación superficial por plasma, UV, ozono o química antes de adherirse entre sí.
2. Un conjunto de sensores de acuerdo con la reivindicación 1, donde dicha unidad de sensor de monitorización polimérica incluye una pluralidad de componentes de medición eléctricos y/o químicos y/u ópticos.
- 25
3. Un conjunto de sensores de acuerdo con la reivindicación 1 o 2, donde dicha unidad de sensor de monitorización tiene un borde periférico que se extiende por encima de la base de la misma.
4. Un conjunto de sensores de acuerdo con las reivindicaciones 1, 2 o 3, donde dicha unidad de sensor tiene depresiones en forma de copa en la superficie interior de la base de la misma y/o tiene una forma generalmente circular.
- 30
5. Una unidad de sensor de acuerdo con la reivindicación 2, donde cada uno de dichos componentes de medición se sitúa en una depresión en forma de copa separada en la base de dicha unidad de sensor y donde cada una de dichas depresiones de copa incluye un reborde circundante que se extiende por encima de la superficie interior de la base de la unidad de sensor.
- 35
6. Una unidad de sensor de acuerdo con la reivindicación 5, donde al menos una de dichas depresiones en forma de copa tiene un apantallamiento de luz situado sobre la parte superior de la misma.
- 40
7. Una unidad de sensor de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, donde dicha unidad de sensor comprende un polímero seleccionado del grupo que consiste en policarbonatos, copoliésteres, copolímeros de ciclo-olefina, poliolefinas y poliestireno.
- 45
8. Un conjunto de sensores de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, donde un adhesivo USP de Clase VI está presente entre dichas superficies de interfaz, dicho adhesivo se selecciona preferentemente del grupo que consiste en una o dos partes de resinas epoxis, epoxis curados por UV, cianoacrilatos, siliconas curadas con platino y poliuretanos.
- 50
9. Un conjunto de sensores de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, donde dicho termoplástico de alta tensión superficial comprende polietileno de densidad baja o ultra baja o copolímero de etilenvinilacetato.
10. Un conjunto de sensores de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, donde dicha unidad de sensor de monitorización tiene una configuración sustancialmente tubular y comprende opcionalmente una vaina sustancialmente opaca.
- 55
11. Un conjunto de sensores de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, donde dicha unidad de sensor tiene un apantallamiento de luz.
- 60
12. Un conjunto de sensores de acuerdo con cualquier reivindicación anterior, donde dicho componente de medición comprende: un punto de sensor fluorescente; un componente de medición de densidad óptica de espacio libre; un componente de medición de espectroscopia óptica; o una unidad de ISFET.
- 65
13. Un proceso para la fabricación del conjunto de sensores o de material compuesto de cualquier reivindicación anterior que comprende someter al menos una superficie interior de una porción tubular de la lumbrera o una superficie periférica exterior del conjunto a la limpieza por plasma u ozono o UV antes de adherirse entre sí,

implementándose la adhesión opcional mediante la interposición, entre una o ambas de dichas superficies interior y exterior, de un adhesivo seleccionado del grupo que consiste en una o dos partes de resinas epoxi, epoxis curables por UV, cianoacrilatos, siliconas y poliuretanos.

- 5 14. Un recipiente de bioproceso polimérico que tiene un conjunto de sensores de material compuesto de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1 a 12 sellado de forma fusionada al mismo en un orificio en la pared del mismo.

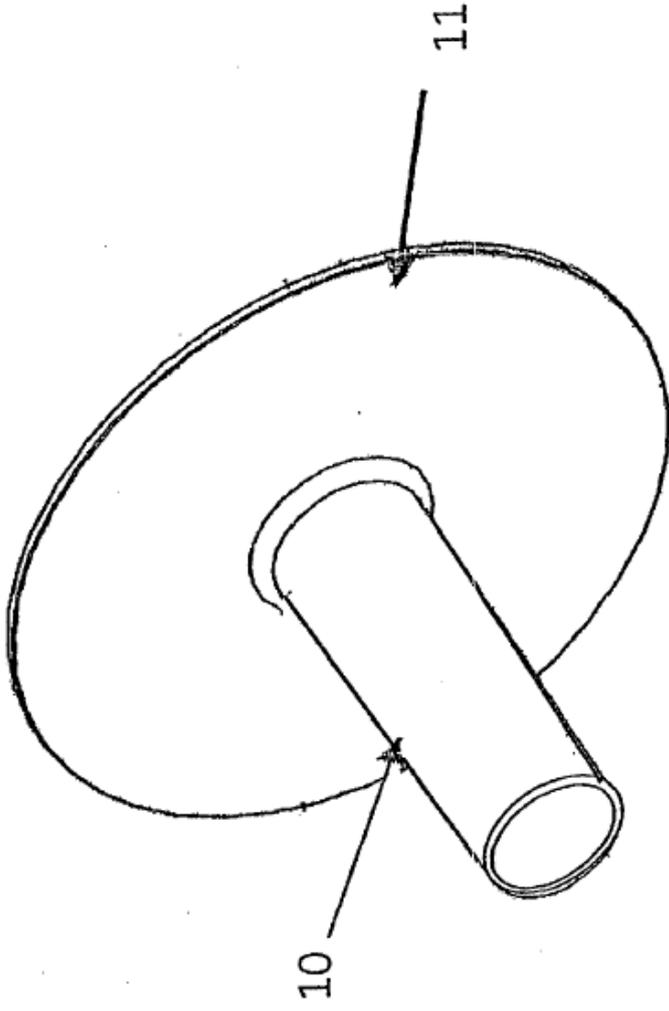


Figura 1

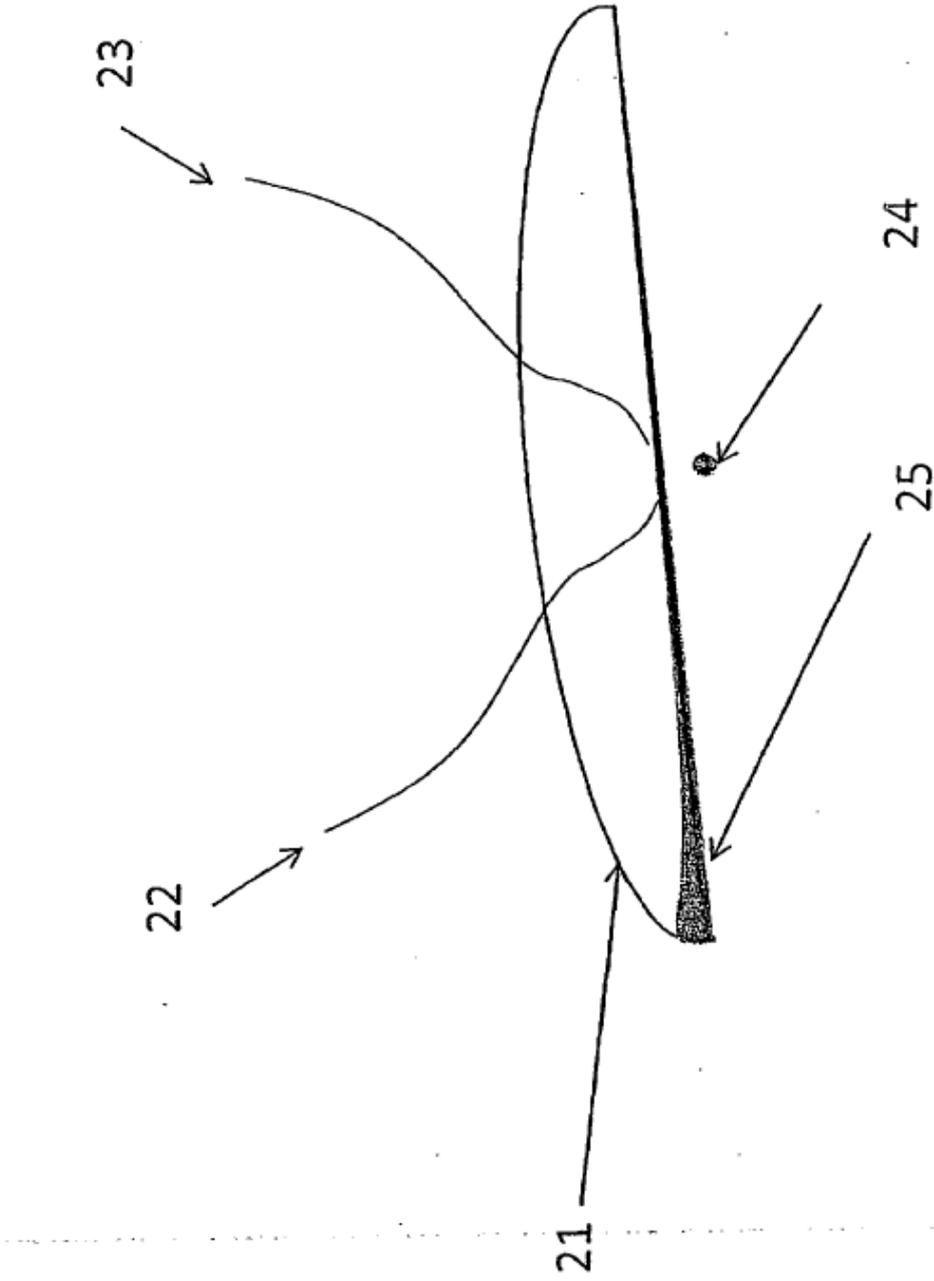


Figura 2

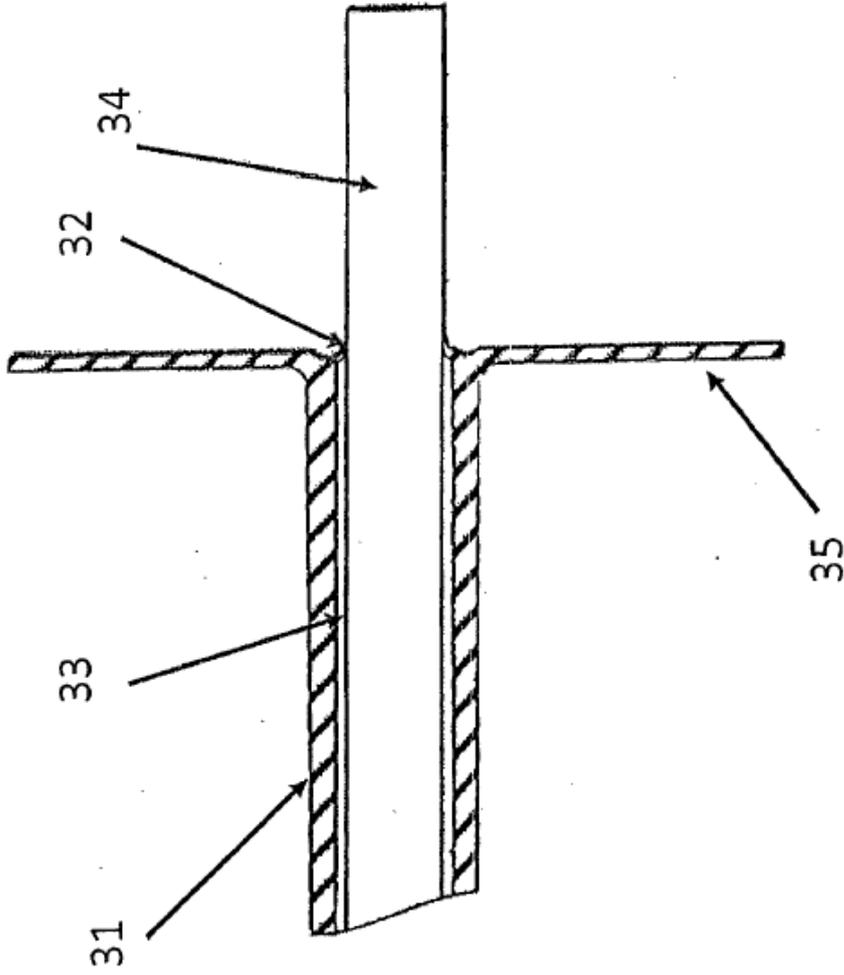


Figura 3

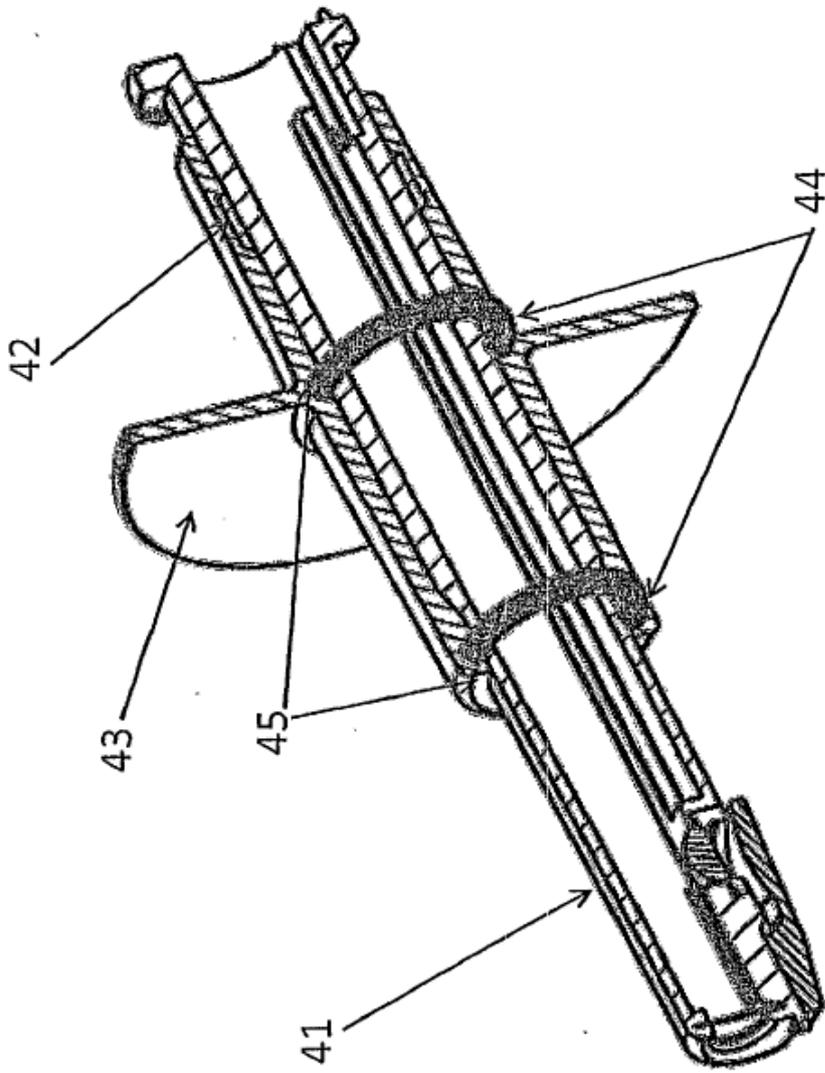


Figura 4

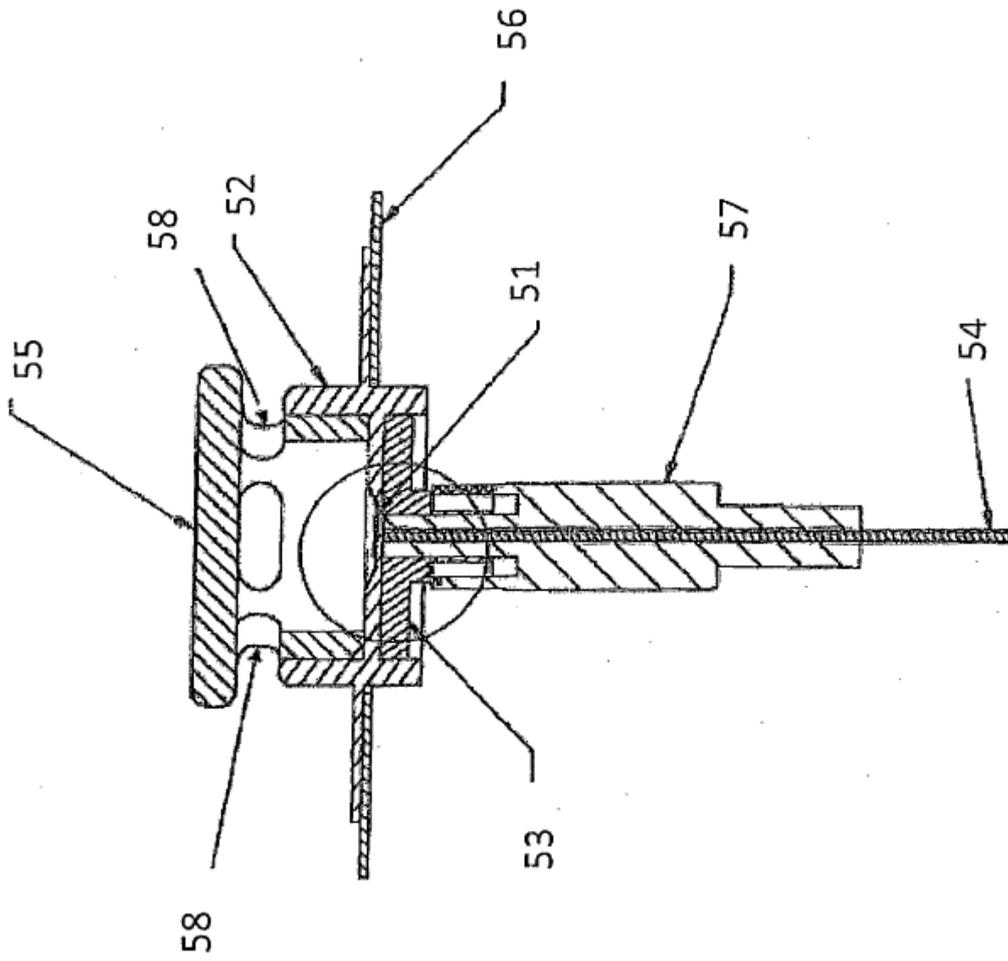


Figura 5

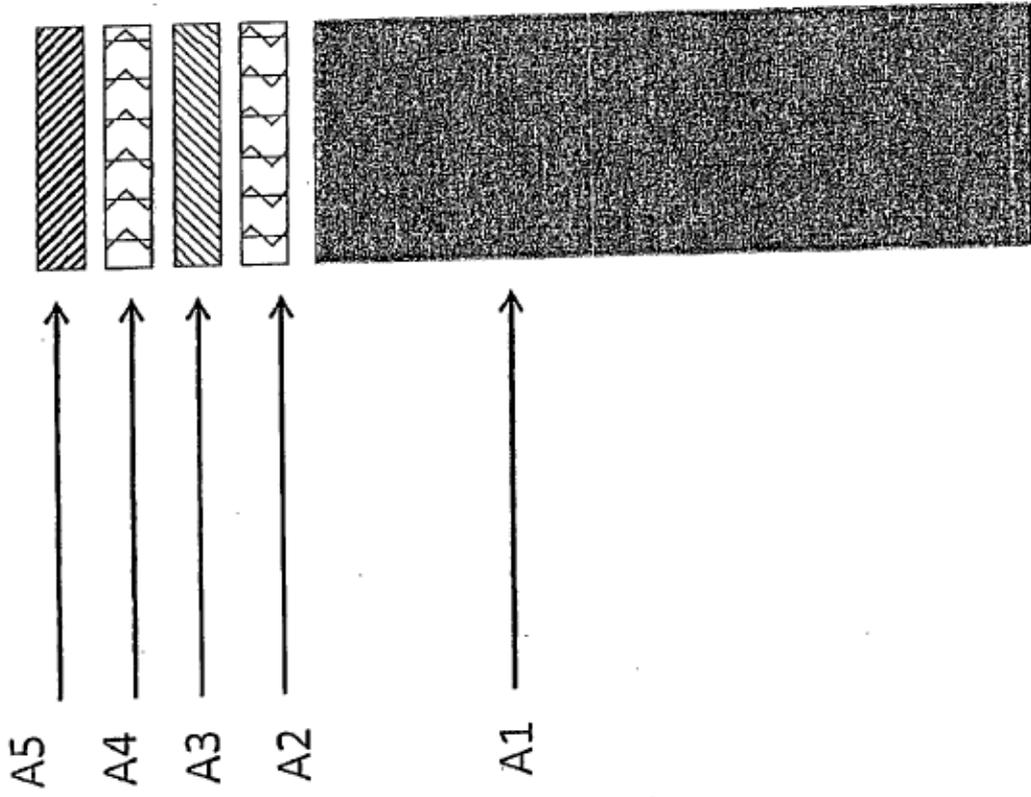


Figura 6

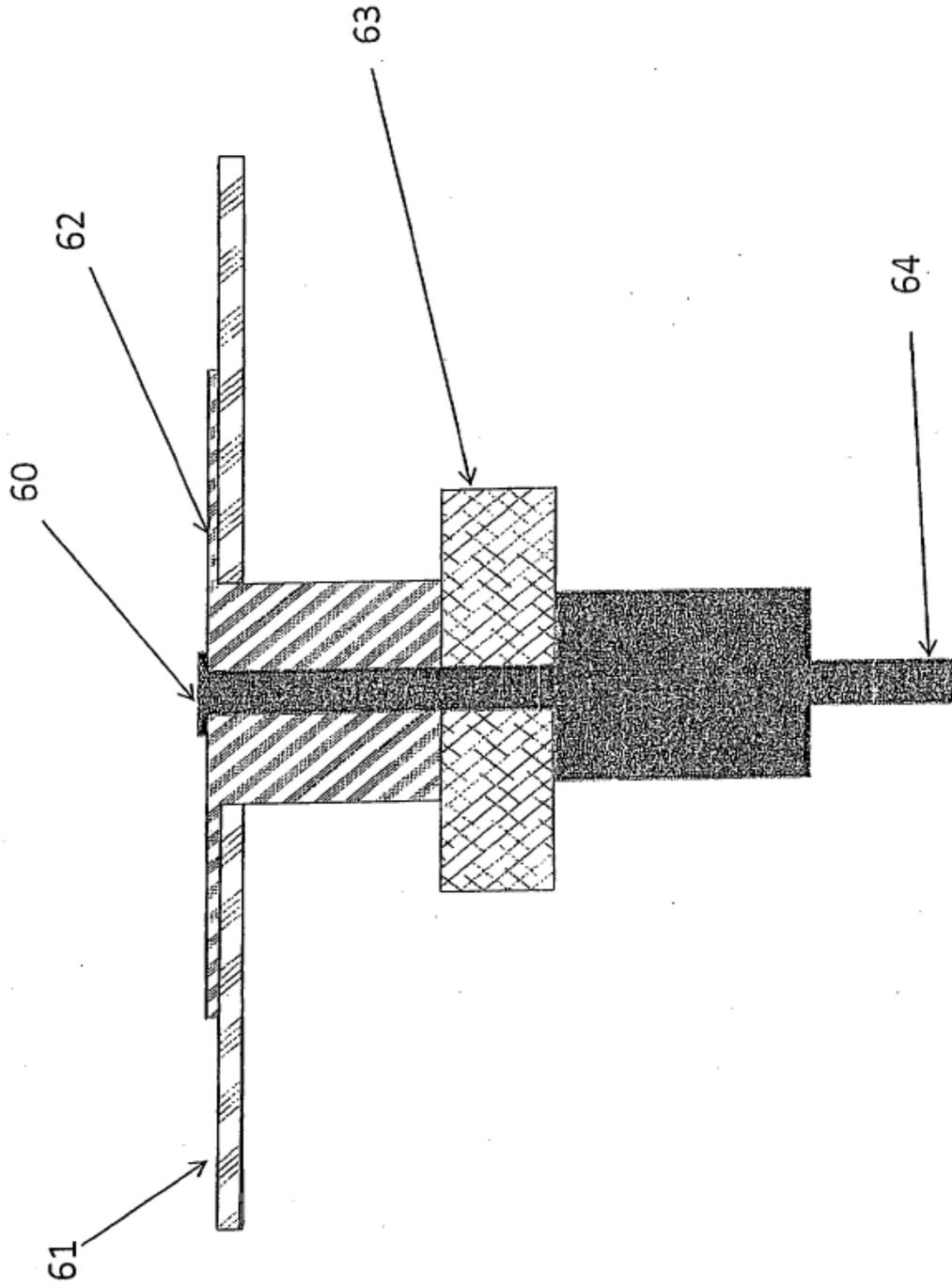


Figura 7

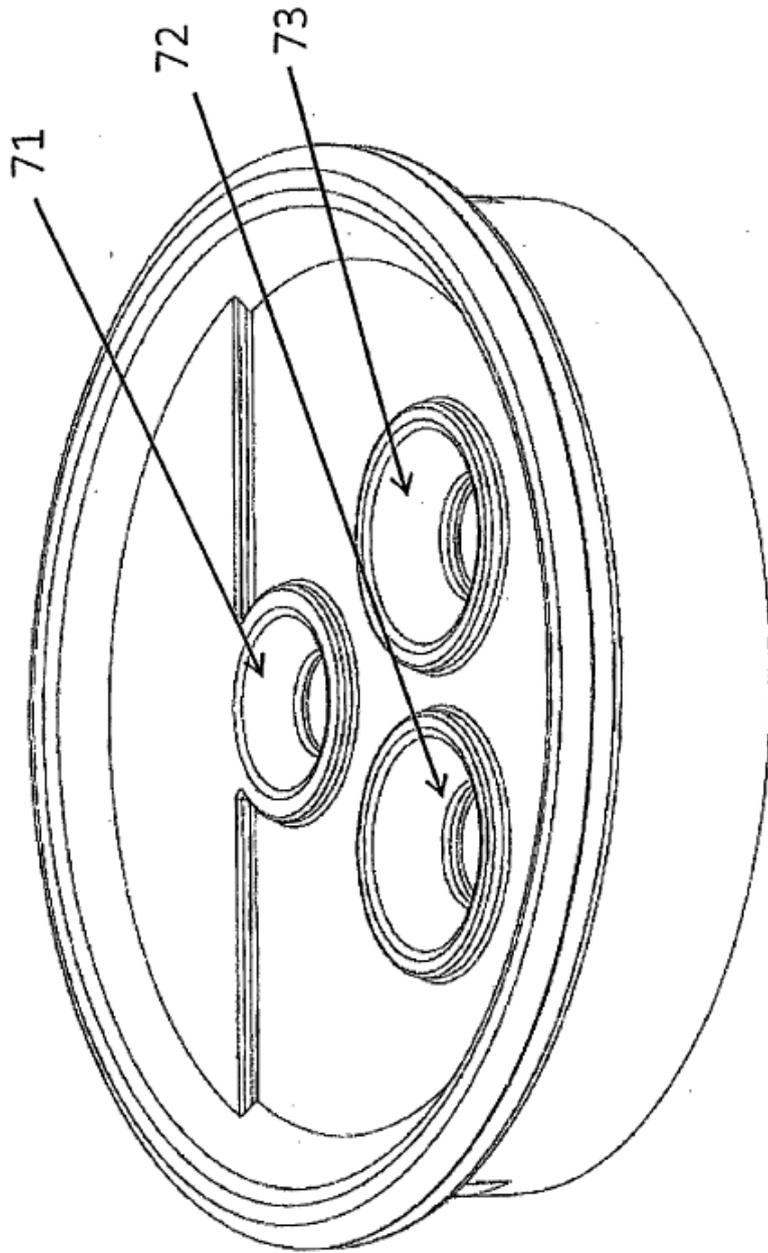


Figura 8

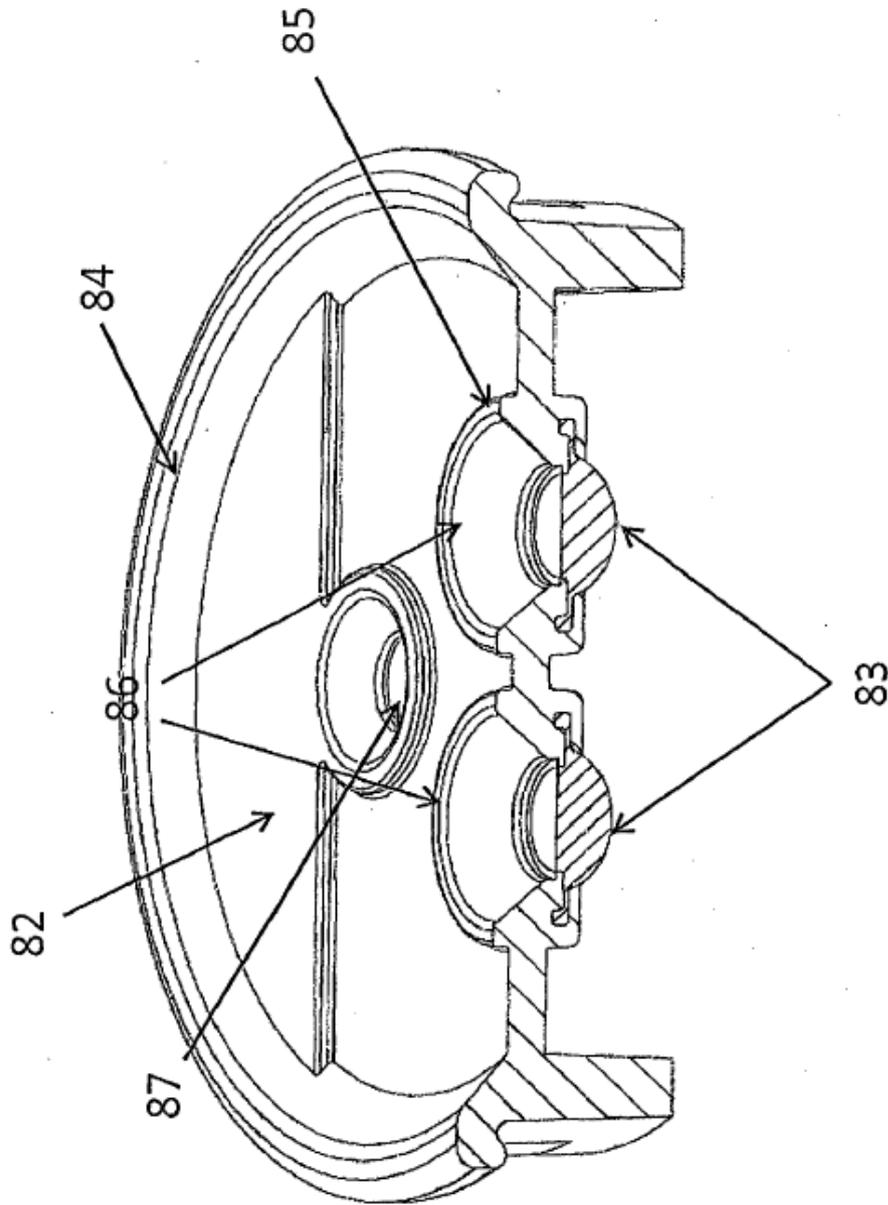


Figura 9

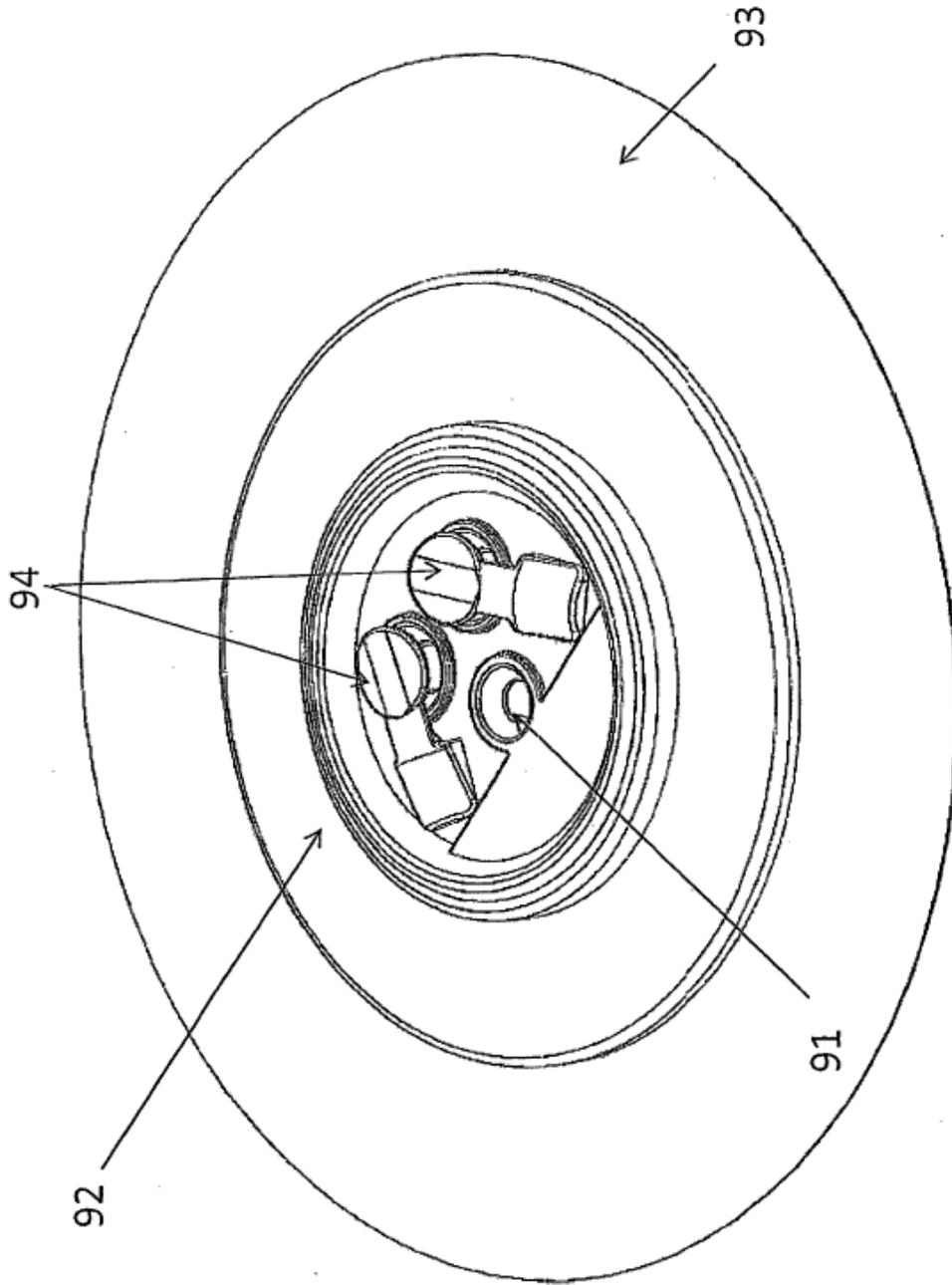


Figura 10

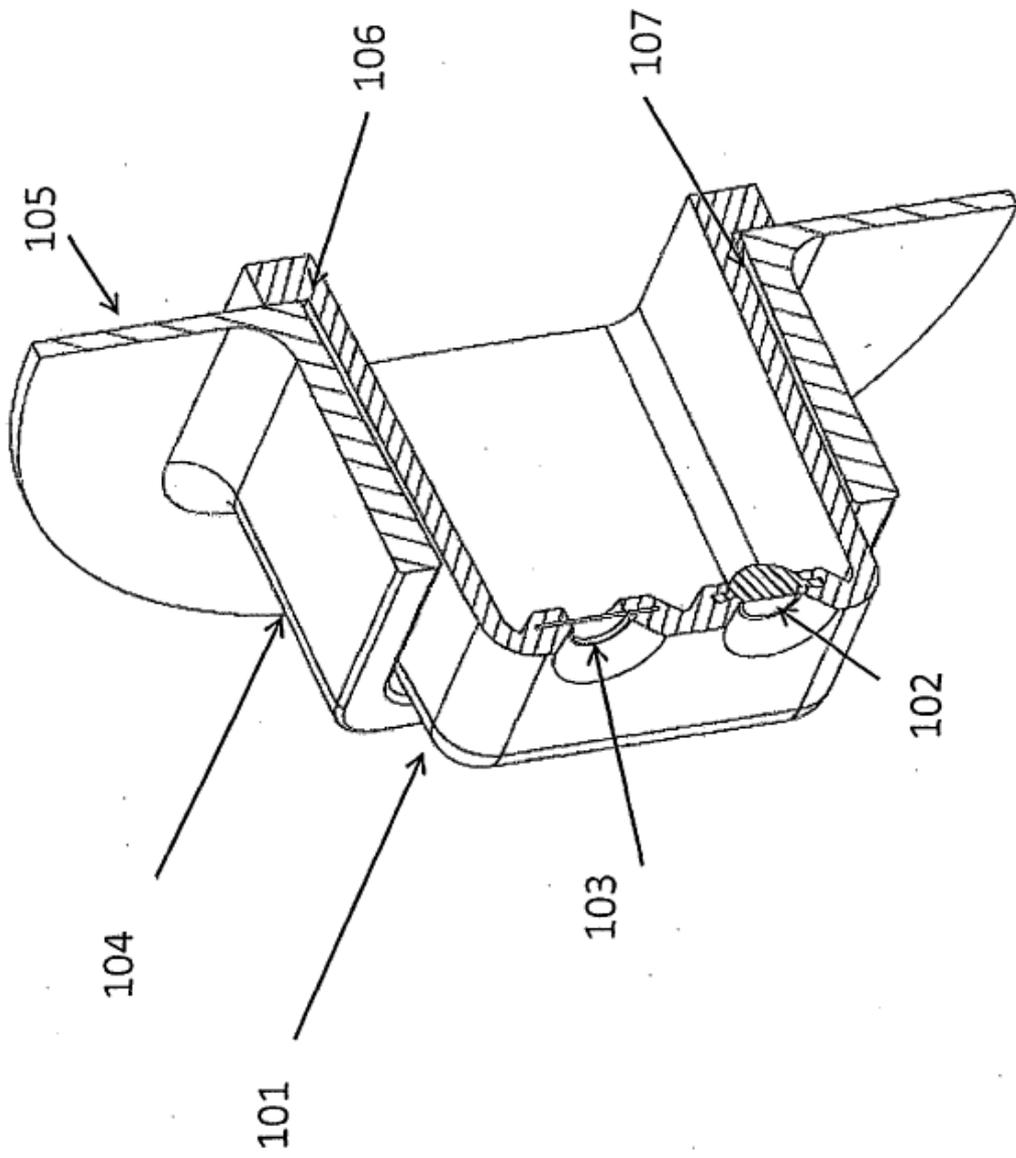


Figure 11

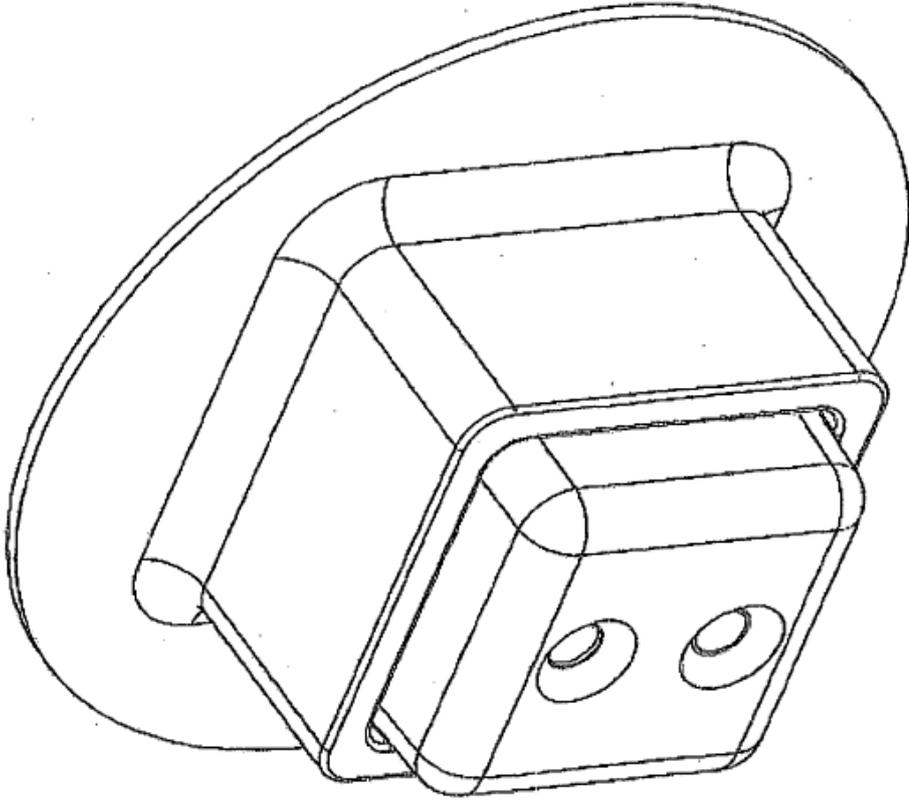


Figura 12

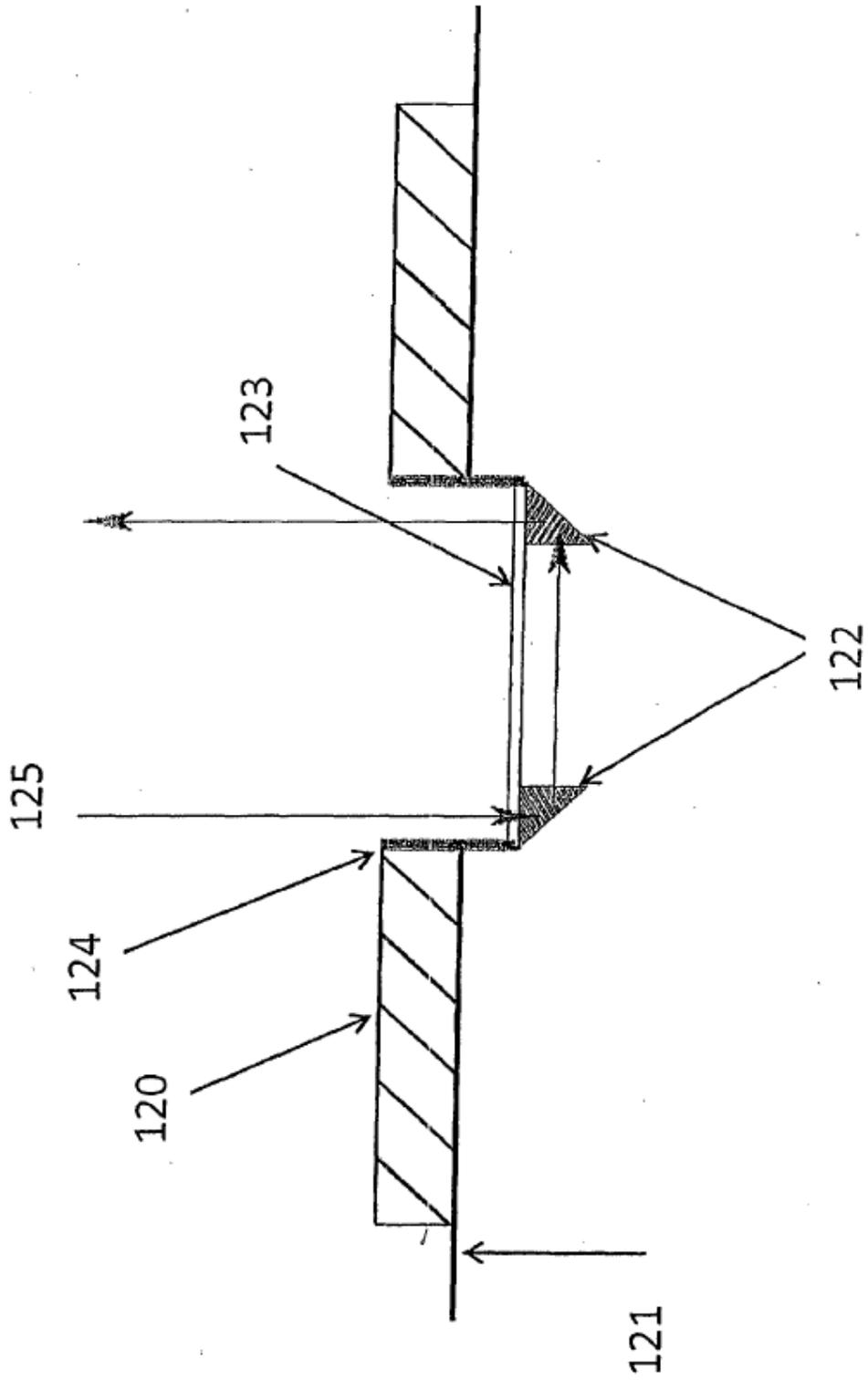


Figura 13

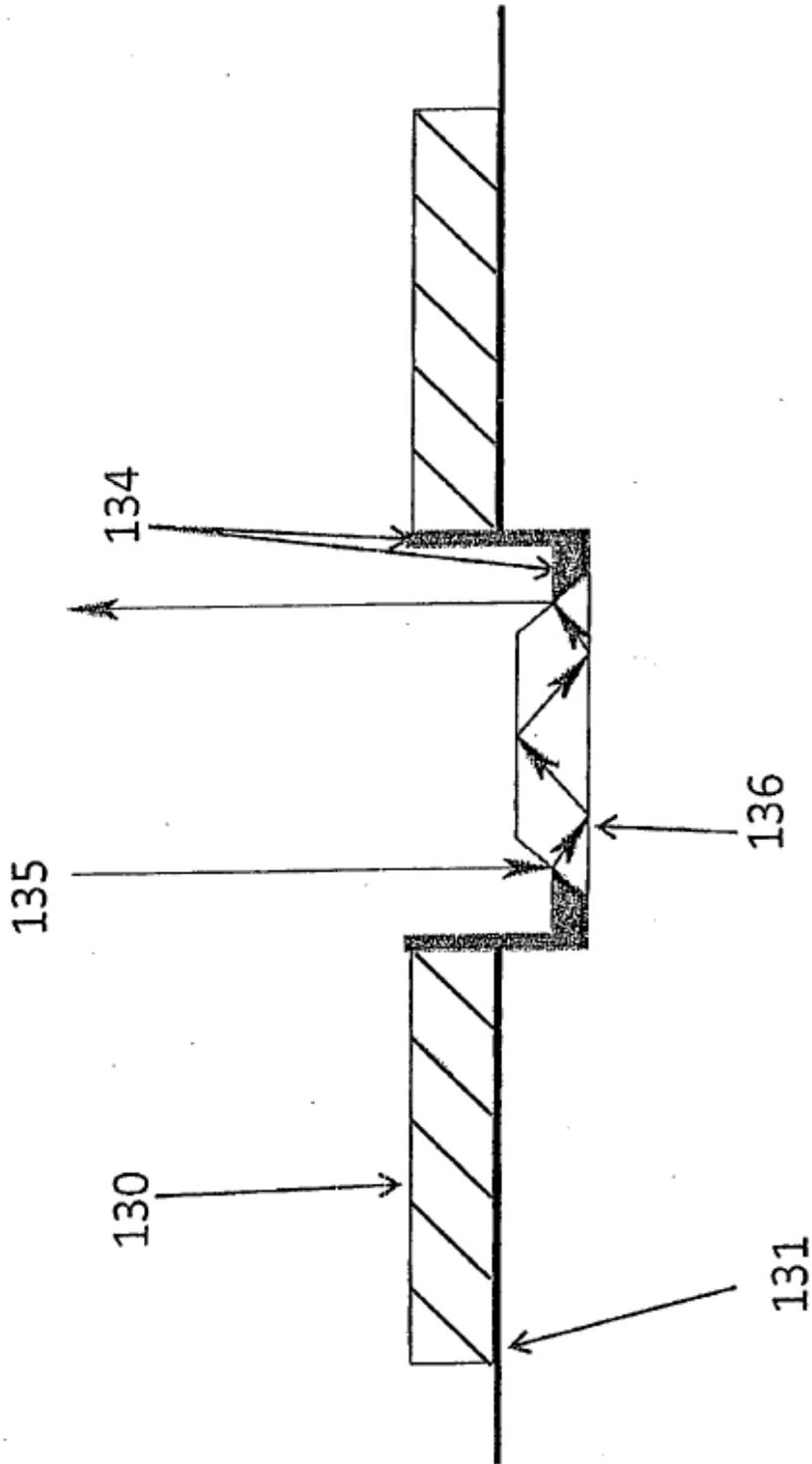


Figura 14

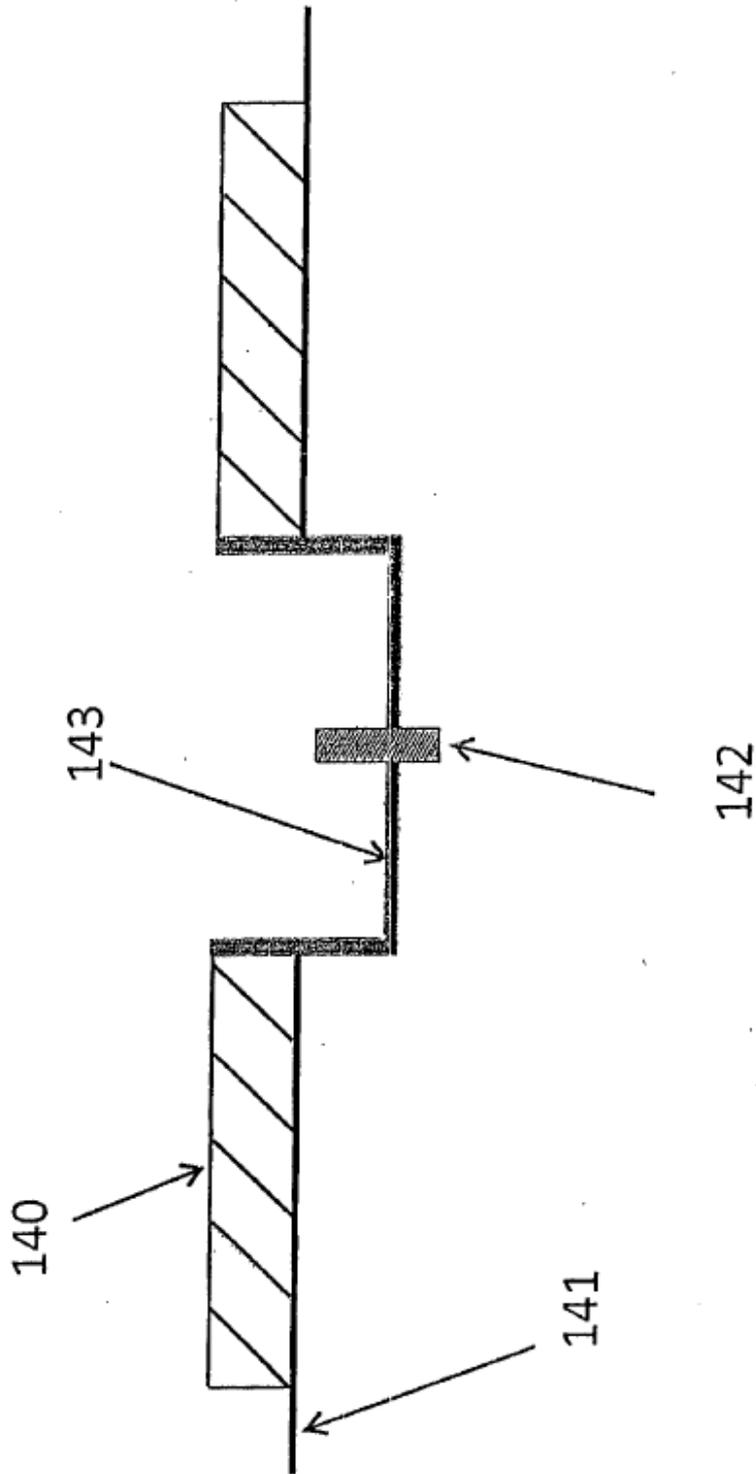


Figura 15

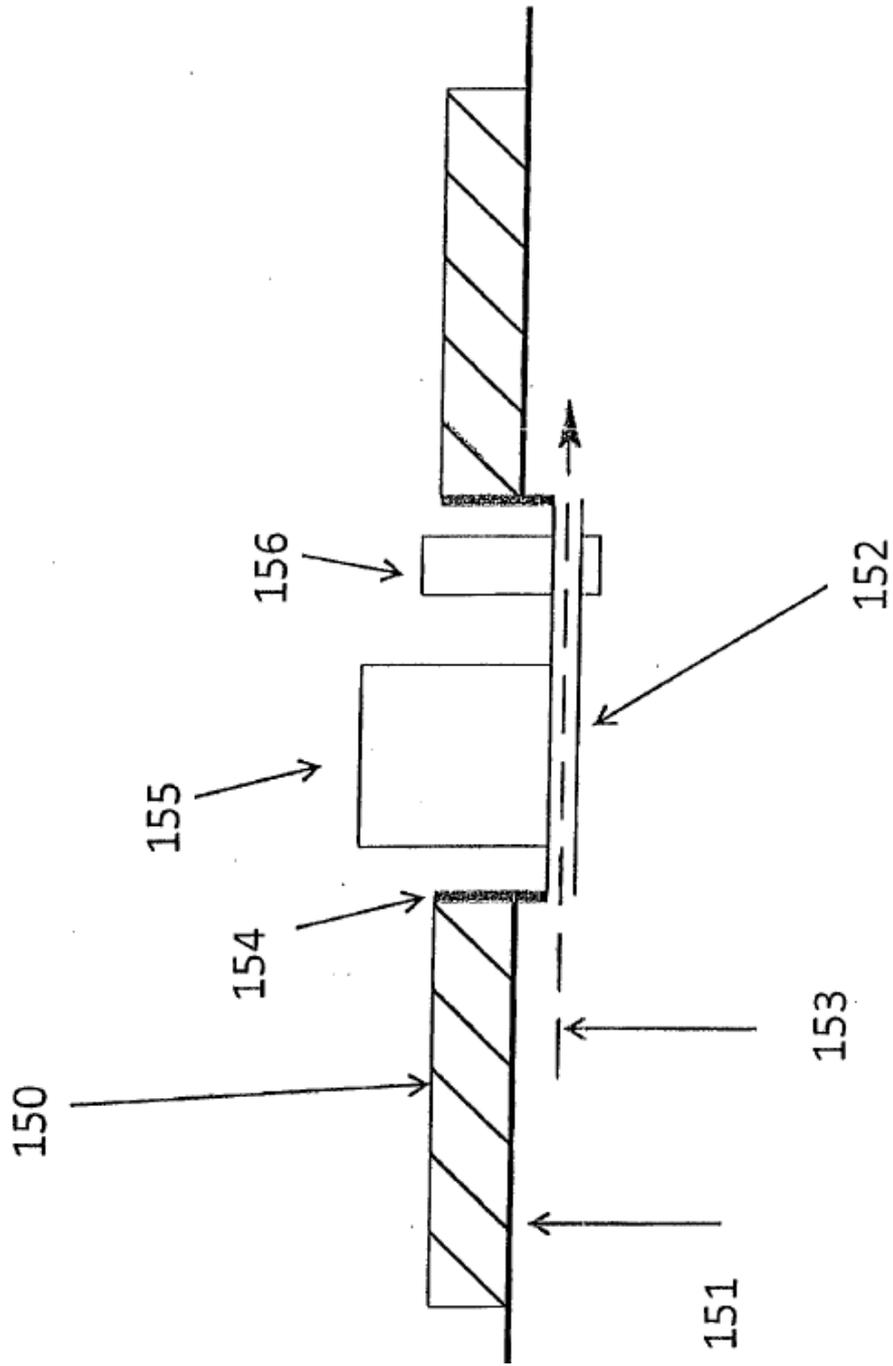


Figura 16

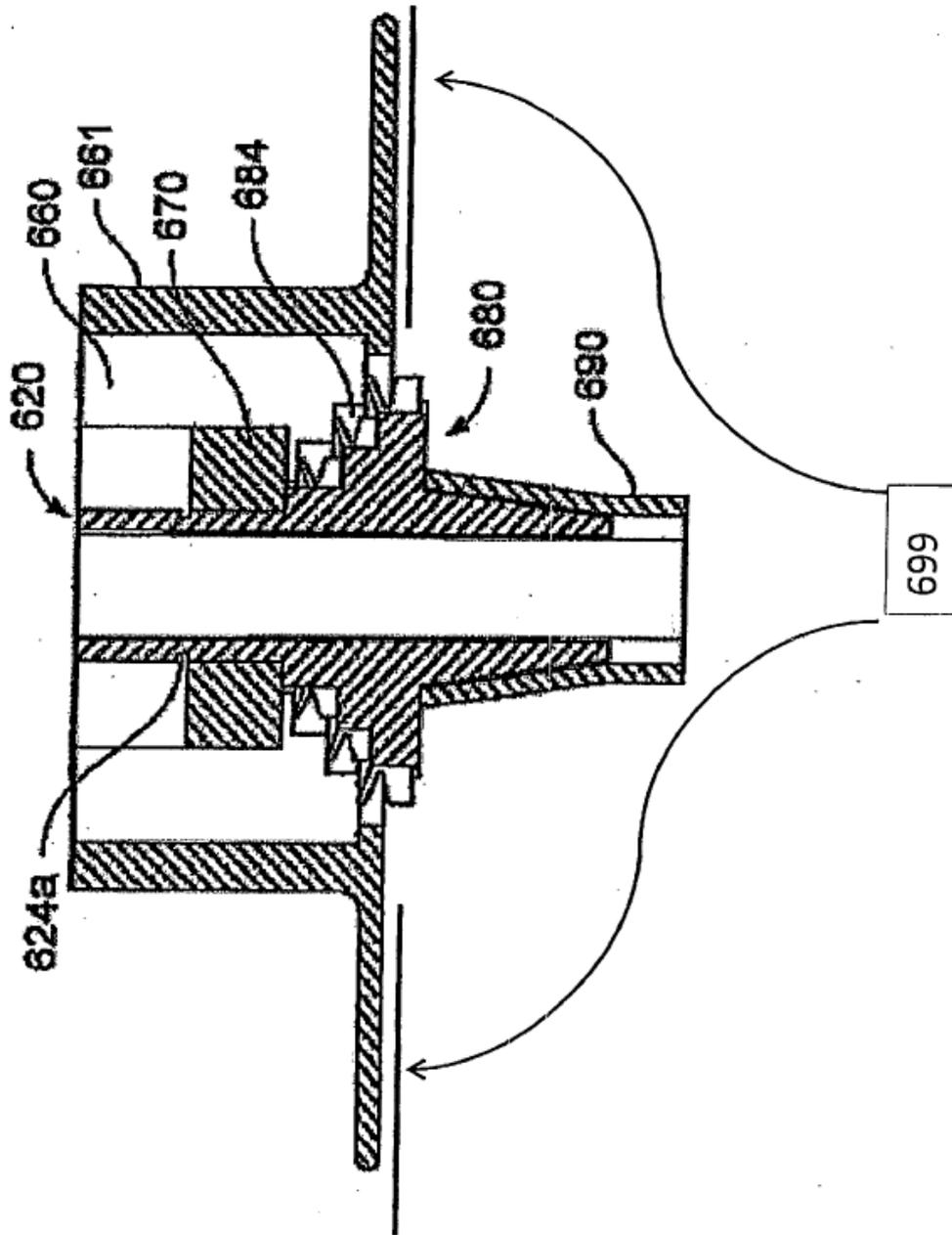


Figura 17