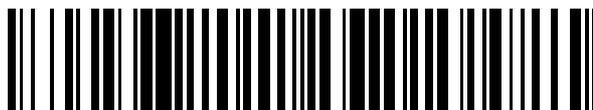


19



OFICINA ESPAÑOLA DE  
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 529 429**

51 Int. Cl.:

**B01D 61/20** (2006.01)

**B01D 61/22** (2006.01)

**B01D 65/08** (2006.01)

**B01D 65/02** (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **07.02.2012 E 12703101 (1)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **19.11.2014 EP 2673072**

54 Título: **Sistema de separación de células de membrana de presión neumática alterna**

30 Prioridad:

**10.02.2011 EP 11153995**

**10.02.2011 US 201161463095 P**

**03.10.2011 EP 11183676**

**18.10.2011 US 201161627812 P**

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

**20.02.2015**

73 Titular/es:

**CRUCCELL HOLLAND B.V. (100.0%)**

**Archimedesweg 4**

**2333 CN Leiden, NL**

72 Inventor/es:

**PRALONG, ALAIN y**

**DELLENBACH, HANS ULRICH**

74 Agente/Representante:

**LINAGE GONZÁLEZ, Rafael**

ES 2 529 429 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

Sistema de separación de células de membrana de presión neumática alterna

- 5 La presente invención se refiere a sistemas de filtración. Más específicamente, la invención se refiere a un sistema de separación de células neumática alterna (PACS, por las siglas del término inglés *Pneumatic Alternating Cell Separation*) para fluidos, en particular fluidos biológicos que comprenden células.

## Antecedentes

- 10 La filtración típicamente se lleva a cabo para separar, clarificar, modificar y/o concentrar una solución, mezcla o suspensión de fluidos. En las industrias biotecnológica y farmacéutica, la filtración es vital para la producción, procesamiento y ensayo satisfactorios de nuevos fármacos, productos de diagnóstico y otros productos biológicos. Por ejemplo, en el proceso de fabricación de productos biológicos, usando cultivo de células animales, la filtración se  
15 hace para la clarificación, eliminación selectiva y concentración de algunos constituyentes del medio de cultivo, o para modificar el medio antes del procesamiento posterior. La filtración también se puede usar para potenciar la productividad manteniendo un cultivo en perfusión con alta concentración de células. La invención proporciona un medio mejorado para el fraccionamiento de una mezcla o suspensión de moléculas o partículas, basado en propiedades físicas y/o químicas.

- 20 Se han desarrollado varios filtros y métodos de filtración especializados para separar materiales de acuerdo con sus propiedades químicas y físicas. Los filtros que se han desarrollado en la técnica incluyen filtros de superficie plana, filtros plisados, casetes multiunidad y formas tubulares tales como fibras huecas. Sin embargo, muchos de estos filtros tienen vidas de funcionamiento cortas y cuando se usan para filtrar suspensión de cultivo celular u otros fluidos biológicos tienden a obstruirse con células muertas, restos celulares, agregados u otros constituyentes del fluido.

- 30 Las células animales crecen sustancialmente más despacio que la mayoría de los microorganismos, y al carecer de pared celular protectora también son más frágiles. Algunos métodos conocidos para aumentar la productividad de la producción de cultivos microbianos incluyendo velocidades de agitación mayores y suministro energético de gases en el cultivo, no son factibles con células animales. Por lo tanto, la producción está limitada a condiciones de cultivo muy suaves y concentraciones bajas de células. Un modo de aumentar la concentración de células, manteniendo todavía condiciones de cultivo suaves es por el método de perfusión.

- 35 En el método de perfusión para células en crecimiento, el medio de cultivo, cuyos nutrientes se han consumido y que contiene niveles mayores de productos residuales dañinos, se separa continuamente del cultivo y se sustituye por medio de nueva aportación. La adición constante de medio de nueva aportación a la vez que se eliminan los productos residuales proporciona a las células los nutrientes necesarios para lograr concentraciones celulares altas. A pesar de las condiciones de cambio constante durante el método de producción de cultivo discontinuo, el método de perfusión ofrece los medios para lograr y mantener un cultivo en estado de equilibrio.

- 40 En los procesos de producción de cultivos discontinuos normales, las células primero se inoculan en un medio de nueva aportación y las células entran rápidamente en una fase de crecimiento logarítmico. A medida que consumen los nutrientes del medio y se acumulan productos residuales, las células pasan a una fase estacionaria seguida de una fase deterioro. Aunque se han desarrollado varios métodos para optimizar la producción de cultivos discontinuos, en cada caso, estos procesos experimentan ciclos de crecimiento y deterioro rápidos. Sin embargo, en la perfusión, puesto que los productos residuales generados por el cultivo son separados continuamente y el cultivo se vuelve a rellenar continuamente con medio de nueva aportación, se puede lograr un estado de equilibrio en el que se mantengan la concentración y la productividad de células. Típicamente, se intercambia aproximadamente 1 volumen de cultivo al día y la concentración celular alcanzada en la perfusión típicamente es de 2 a más de 10 veces  
50 la alcanzada en el máximo del cultivo discontinuo.

- 55 Se han descrito previamente en la técnica sistemas de filtración para fluidos biológicos. Un tipo de sistemas de perfusión de filtración externa se describe, por ejemplo, en la patente de EE.UU. 6.544.424 o en el documento WO 2010/036338. El sistema de filtración de fluidos comprende un recipiente de almacenamiento de fluido conectado con un compartimento que contiene un filtro que está conectado con una bomba de diafragma. La bomba de diafragma aspira alternativamente el fluido fuera del recipiente a través del filtro y expulsa el fluido a través del extremo del retenido del filtro, de vuelta al recipiente. Haciendo esto, el sistema crea un flujo tangencial alterno del fluido a través del elemento de filtro.

- 60 Un inconveniente principal de dicho sistema es que la bomba de diafragma contiene piezas móviles que son propensas al desgaste y a menudo se pueden romper durante el proceso. Cuando el diafragma se rompe el sistema de filtración ya no está cerrado y se vuelve susceptible a la contaminación. Por lo tanto, debe detenerse el proceso de filtración, conduciendo a costes altos en el caso, por ejemplo, de procesos para la producción de productos biofarmacéuticos. Realmente, puesto que los procesos para la producción de moléculas biofarmacéuticas tardan  
65 varios días, a veces hasta varias semanas, la rotura de una bomba durante la ejecución del proceso conduciría a

costes altos y tiempo de inactividad largo en una instalación de producción. Se tarda hasta dos días para conseguir un nuevo proceso en ejecución. Estos cultivos de perfusión se llevan a cabo principalmente en la última etapa del proceso de producción, lo que significa que se pierde mucho tiempo y dinero debido a este fallo. Normalmente se tarda de 3 a 5 semanas antes de alcanzar la etapa de perfusión. Los costes implicados pueden aumentar fácilmente a más de 100.000 euros.

Un segundo inconveniente es que la bomba de diafragma descrita en el documento US 6.544.424 consiste en una camisa de acero inoxidable que contiene un diafragma normalmente hecho de caucho o silicona. Antes de cada ejecución, los elementos de dicha bomba de diafragma deben limpiarse, ensamblarse y esterilizarse. Además, cuando el sistema se usa para la producción de productos farmacéuticos, dichos procedimientos de limpieza y esterilización deben validarse. Dicha validación implica procedimientos y ensayos largos, que son muy costosos y requieren tiempo.

Un tercer inconveniente de los sistemas que se usan actualmente es que usan tecnología de sensores invasiva en la que los sensores están en contacto con el producto y en la que los sensores no se pueden sustituir durante el proceso.

La presente invención se dirige a proporcionar sistemas de filtración de fluidos mejorados que tienen menos o eliminan estos inconvenientes.

**Sumario de la invención**

La invención proporciona un nuevo sistema de filtración que se puede denominar separador de células neumático alterno (PACS), componentes útiles del mismo en forma de montajes o kits de piezas que se pueden usar para construir el sistema y el uso del sistema para filtrar fluidos, por ejemplo en sistemas de perfusión de cultivos celulares. La presente invención proporciona un sistema de filtración que comprende un recipiente conectado a un extremo de entrada de un compartimento que contiene un filtro, el cual en el extremo de salida está conectado a una cámara de expansión, que está conectada a un controlador de flujo de gas. Dicho controlador de flujo de gas proporciona alternativamente presión positiva y negativa en la cámara de expansión permitiendo que el fluido contenido en el recipiente de almacenamiento sea aspirado alternativamente a través del elemento de filtro a la cámara de expansión y expulsado de la cámara de expansión, a través del filtro, de vuelta al recipiente. Al hacer esto, el sistema crea un flujo tangencial alterno de fluido a través del elemento de filtro. Dicho flujo de fluido puede ser guiado además a través de un puerto de recogida de fluido a un contenedor de recuperación. El sistema es útil para llevar a cabo una filtración de flujo tangencial rápida, de baja cizalladura. Dicho sistema tiene aplicaciones en la perfusión de células de animales cultivadas así como en otras aplicaciones de filtración variadas.

El sistema de la presente invención ofrece los beneficios de la filtración de flujo tangencial sin algunos de sus inconvenientes. Como será evidente, algunos de los beneficios no ofrecidos por otros sistemas en la técnica incluyen la ausencia de piezas móviles, que son necesarias en sistemas similares para proporcionar el flujo de líquido alterno. Realmente, algunos sistemas conocidos en la materia comprenden una bomba de diafragma que aspira alternativamente el fluido fuera del recipiente a través del compartimento que contiene el filtro y expulsan el fluido a través del extremo del retenido del filtro, de vuelta al recipiente. Dicho diafragma, que es una membrana de caucho frágil se puede romper fácilmente cuando se usa extensamente.

El sistema de la presente invención no requiere una bomba de diafragma que se puede romper fácilmente, ni ninguna pieza móvil que son propensas al desgaste debido al uso extenso del sistema. El sistema de la presente invención comprende una cámara de expansión, con al menos dos aberturas, que por un lado (primera abertura) está conectada al extremo de salida de un compartimento que contiene filtro, permitiendo que el líquido de dicho compartimento entre en la cámara, y por el otro lado (segunda abertura) a un controlador de flujo de gas que proporciona alternativamente presión negativa y positiva en la cámara de expansión, aspirando así fluido desde el extremo de salida del compartimento que contiene filtro y expulsando el fluido de vuelta al extremo de salida del compartimento que contiene filtro.

Con esto, la cámara de expansión en el presente sistema comprende una interfase directa de gas-líquido sin medio de separación, estando formada dicha interfase por el líquido contenido en el sistema que está en contacto directo con la fase gaseosa proporcionada por el controlador de flujo de gas. La cámara de expansión en la presente invención no contiene ningún medio de separación entre la primera y la segunda aberturas de la cámara. La cámara de expansión comprende un recinto o espacio y no está separado en dos o más compartimentos. La ausencia de medio de separación tal como un diafragma o cualquier otra pieza móvil aumenta el tiempo de vida del sistema y minimiza los riesgos de detención prematura de un ciclo de proceso.

Además, el sistema de filtración de acuerdo con realizaciones preferidas de la presente invención, no requiere la costosa validación de la limpieza y esterilización. En su lugar, comprende en dichas realizaciones, elementos desechables que están preesterilizados y listos para usar. Esto ofrece una gran ventaja considerando los costes de validación y el tiempo de montaje.

En realizaciones preferidas adicionales, una tercera ventaja notable del presente sistema es que usa sensores no invasivos. El sistema de filtración de acuerdo con la presente invención requiere sensores que no están en contacto con producto y los cuales se pueden sustituir en el proceso cuando se rompen. Esto permite un entorno del proceso más controlado durante toda la duración de la ejecución del proceso.

5 La invención proporciona un sistema de filtración de fluidos como se define en la reivindicación 1, que comprende:

a) al menos un recipiente de almacenamiento de fluido;

10 b) al menos un compartimento que contiene filtro;

c) al menos un conducto de transferencia de fluido que conecta el recipiente de almacenamiento con un extremo de entrada de un compartimento que contiene filtro, cuyo conducto de transferencia de fluido es capaz de dirigir un fluido desde el recipiente de almacenamiento al extremo de entrada del compartimento que contiene filtro;

15 d) al menos una cámara de expansión con al menos dos aberturas, en la que una primera abertura está conectada a un extremo de salida del compartimento que contiene filtro y en la que una segunda abertura está conectada con un controlador de flujo de gas, y en donde la cámara de expansión no contiene medio de separación entre la primera y segunda aberturas;

20 e) al menos un controlador de flujo de gas para proporcionar alternativamente a la cámara de expansión presión positiva y negativa;

25 f) al menos un puerto de recogida de fluido conectado al compartimento que contiene filtro, para separar el fluido filtrado del compartimento que contiene filtro.

En una realización, la cámara de expansión está conectada con el controlador de flujo de gas por un conducto de gas. En una realización, dicho conducto de gas comprende un filtro estéril entre la cámara de expansión y el controlador de flujo de gas. En una realización, dicho filtro estéril se proporciona con un calentador.

30 En una realización de la presente invención, el recipiente de almacenamiento de fluido es un biorreactor.

En una realización, el compartimento que contiene filtro contiene un filtro de fibra hueca. En otra realización, el compartimento que contiene filtro contiene un filtro de tamiz.

35 En otra realización más, el sistema de filtración de fluidos de acuerdo con la invención, comprende al menos un sensor de nivel montado sobre o en la superficie de la cámara de expansión.

40 El sistema de filtración de fluidos comprende al menos un sensor montado sobre o en la cámara de expansión, preferiblemente en el que están montados al menos dos sensores de nivel sobre o en la cámara de expansión, y preferiblemente en el que el sensor de nivel o los sensores de nivel están montados sobre la superficie (es decir, en el exterior) de la cámara de expansión.

45 En una realización, dichos sensores de nivel son capaces de medir un nivel de fluido mínimo y uno máximo en la cámara de expansión, y están funcionalmente acoplados con el controlador de flujo de gas.

50 En una realización, el sistema de filtración de fluidos de acuerdo con la invención puede aspirar alternativamente el fluido del sistema desde el recipiente de almacenamiento, a través del compartimento que contiene filtro a la cámara de expansión, y expulsar el fluido de dicha cámara de expansión a través del compartimento que contiene filtro de vuelta al recipiente de almacenamiento. La aspiración de fluido se lleva a cabo aplicando presión negativa en la cámara de expansión y la expulsión de fluido se lleva a cabo aplicando presión positiva en la cámara de expansión.

55 Preferiblemente, dicha presión negativa se obtiene creando un vacío en la cámara de expansión y la presión positiva se obtiene inyectando gas, por ejemplo aire comprimido, en la cámara de expansión.

En una realización preferida, el sistema de filtración de fluidos de acuerdo con la presente invención comprende a) al menos un recipiente de almacenamiento de fluido;

60 b) al menos un compartimento que contiene filtro; en el que el filtro comprende una pluralidad de fibras huecas en haces cuyos ejes se extienden longitudinalmente desde el extremo de entrada al extremo de salida del compartimento que contiene filtro.

65 c) un conducto de transferencia de fluido conectado por un extremo del mismo al recipiente de almacenamiento y unido por otro extremo del mismo a un extremo de entrada del compartimento que contiene filtro, cuyo conducto de transferencia de fluido puede dirigir un fluido del recipiente de almacenamiento al extremo de entrada del compartimento que contiene filtro;

d) al menos una cámara de expansión conectada a un extremo de salida del retenido del compartimento que contiene filtro; cuya cámara de expansión puede alternativamente aspirar fluido del extremo de salida del retenido del compartimento que contiene filtro y expulsar el fluido de vuelta al extremo de salida del retenido del compartimento que contiene filtro; estando dicha cámara de expansión conectada a un controlador de flujo de gas capaz de aplicar alternativamente presión negativa y positiva a la cámara de expansión y formar así una interfase directa de gas-líquido sin medio de separación en la cámara de expansión; y

e) al menos un puerto de recogida de fluido conectado con el compartimento que contiene filtro para separar el fluido filtrado del extremo de salida de permeado del compartimento que contiene filtro, estando conectado opcionalmente dicho puerto de recogida por un conducto de permeado a una bomba de fluido.

En algunas realizaciones, el compartimento que contiene filtro y/o la cámara de expansión son desechables, es decir, hechas de materiales desechables, y en realizaciones preferidas adicionales el recipiente de almacenamiento de fluido y/o el conducto de transferencia de fluido también son desechables. Preferiblemente, el sistema de filtración de fluidos completo es desechable.

Otro aspecto de la invención se refiere a un montaje que comprende una cámara de expansión ensamblada con un compartimento que contiene filtro en un lado y con un filtro de aire en el otro lado. Preferiblemente, dicho montaje se puede acoplar funcionalmente a un conducto de gas que puede proporcionar presión positiva y negativa a la cámara de expansión. Preferiblemente, los componentes ensamblados comprenden exclusivamente materiales desechables.

La presente invención proporciona también un proceso para filtrar un fluido como se define en la reivindicación 12, que comprende las etapas de a) proporcionar un sistema de filtración de fluidos que comprende al menos un recipiente de almacenamiento de fluido; al menos un compartimento que contiene filtro; un conducto de transferencia de fluido que conecta el recipiente de almacenamiento a un extremo de entrada del compartimento que contiene filtro, cuyo conducto de transferencia es capaz de dirigir un fluido desde el recipiente de almacenamiento en el extremo de entrada del compartimento que contiene filtro;

al menos una cámara de expansión conectada en un lado a un extremo de salida del compartimento que contiene filtro que permite que el líquido de dicho compartimento entre en la cámara, y en el otro lado a un controlador de flujo de gas que proporciona alternativamente presión negativa y positiva en la cámara de expansión, aspirando de esta forma el fluido del extremo de salida del compartimento que contiene filtro y expulsando el fluido de vuelta al extremo de salida del compartimento que contiene filtro, formando una interfase directa de gas-líquido sin medio de separación en la cámara de expansión; y al menos un puerto de permeado conectado con el compartimento que contiene filtro para separar el fluido filtrado del compartimento que contiene filtro; b) filtrar un fluido haciendo que el fluido fluya desde el recipiente de almacenamiento a través del compartimento que contiene filtro a la cámara de expansión aplicando presión negativa en la cámara de expansión; c) volver a filtrar el fluido haciendo que al menos una parte del fluido fluya desde la cámara de expansión a través del filtro de nuevo al recipiente de almacenamiento aplicando presión positiva en la cámara de expansión; d) repetir las etapas b y c; y e) separar el fluido filtrado del sistema de filtración.

La invención también proporciona un proceso para filtrar un fluido de acuerdo con la invención, en el que el proceso se lleva a cabo usando un sistema de filtración de fluidos de acuerdo con la invención.

En una realización preferida de dicho proceso, el compartimento que contiene filtro y/o la cámara de expansión son desechables. Preferiblemente, el compartimento que contiene filtro, la cámara de expansión, el recipiente de almacenamiento de fluido y el conducto de transferencia de fluido son desechables.

En otra realización, la presión positiva y negativa, durante el proceso, es regulada por sensores de nivel que miden el nivel de fluido en la cámara de expansión. Dichos sensores de nivel preferiblemente están montados en la cámara de expansión.

## Descripción de los dibujos

La figura 1 muestra una primera realización de un sistema de filtración de flujo tangencial alterno de acuerdo con la invención, que muestra un puerto de recogida en el lado inferior del recipiente conectado con la parte lateral inferior de un compartimento con filtro.

La figura 2 muestra un montaje que comprende una cámara de expansión, un compartimento que contiene filtro y un filtro de aire.

La figura 3 muestra una curva de crecimiento celular en un biorreactor de 10 litros acoplado con un sistema PACS.

La figura 4 muestra una curva de crecimiento celular en un biorreactor de 10 litros acoplado con un sistema PACS.

### Descripción detallada

La presente invención se refiere a un sistema de filtración de fluidos que comprende en general, al menos un recipiente de almacenamiento de fluido, un conducto de transferencia de fluido para dirigir el fluido desde el recipiente a través de un compartimento que contiene filtro, al menos una cámara de expansión conectada al compartimento que contiene filtro en un lado mediante un conector de fluido y a un controlador de flujo de gas en el otro lado mediante un conducto de gas, y al menos un puerto de recogida de fluido que sale del compartimento que contiene filtro. Dicho controlador de flujo de gas proporciona alternativamente vacío o aire comprimido a la cámara de expansión, con el fin de impulsar el fluido en direcciones alternas a través del compartimento que contiene filtro. Con esto, se forma una interfase directa de gas-líquido en la cámara de expansión entre el fluido en el sistema y el aire comprimido proporcionado por el controlador de flujo de gas. No es necesario un medio de separación entre la fase líquida y gaseosa en el presente sistema, al contrario que los sistemas conocidos en la materia, que comprenden, por ejemplo, una bomba de diafragma que expulsa y aspira el fluido dentro y fuera del compartimento que contiene filtro. La ausencia en la presente invención de una bomba de diafragma u otras piezas móviles aumenta el tiempo de vida del sistema y minimiza los riesgos de detención prematura de un ciclo de proceso, ya que la bomba de diafragma u otras piezas móviles pueden romperse fácilmente.

El sistema ofrece un tratamiento suave de los materiales frágiles tales como células animales y biomoléculas. Se puede generar un flujo uniforme a través del filtro entero, proporcionando con esto un medio para generar un flujo tangencial rápido, de baja cizalladura. El sistema tiene aplicaciones en perfusión de células animales cultivadas, así como otras aplicaciones de filtración variadas. Los filtros de tipo fibra hueca (HF) proporcionan tiempos de operación más largos, y están disponibles en muchos tamaños, configuraciones, materiales, tamaños de poro y porosidad. Además, no es necesario que el proceso se limite al uso de filtros de fibra hueca. Se pueden insertar otros dispositivos de separación en la carcasa de las fibras huecas. Uno de dichos dispositivos es un módulo de tamiz, que consiste en una malla tamiz como matriz de separación. Todos dichos módulos de separación se denominarán, colectivamente, como el elemento de filtro o simplemente como el filtro.

En relación con la figura 1, se muestra un sistema de filtración de fluidos de acuerdo con la invención. Un recipiente del proceso o recipiente de almacenamiento de líquido (1) está conectado por un conducto de transferencia de fluido (4) a un compartimento que contiene filtro (6). El recipiente (1) puede ser cualquier recipiente adecuado para un fluido que se va a filtrar. Por ejemplo, puede ser un biorreactor, un fermentador o cualquier otro recipiente, incluyendo, no exclusivamente, cubas, barriles, tanques, botellas, matraces, contenedores, y similares, que pueden contener líquidos. El recipiente puede estar compuesto de cualquier material adecuado tal como polietileno de ultrabaja densidad (ULDPE), polietileno de baja densidad (LDPE), materiales de multicapas como la película CX5-14, poliéster, capa barrera de unión, alcohol vinílico-etileno (EVOH), capa barrera de unión y un elastómero de poliéster (PE)) o un material de multicapas que contiene PET, PA, EVOH y ULDPE, metal tal como acero inoxidable, vidrio o similares.

El conducto de transferencia de fluido (4), también denominado conector, o conector de fluido, sirve para dirigir el fluido (que se va a filtrar y por lo tanto puede contener material en partículas, por ejemplo, células, pero para abreviar se hará referencia en el presente documento como "fluido") desde el recipiente de almacenamiento (1) a un extremo de entrada (7) del compartimento que contiene filtro (6). El conducto de transferencia de fluido (4) puede comprender un puerto del recipiente, adecuado para el flujo del fluido hacia dentro y fuera del recipiente (1), unido a una junta que a su vez está conectada al extremo de entrada (7) del compartimento que contiene filtro (6). Los puertos adecuados incluyen, no exclusivamente, cualquier válvula sanitaria estanca conocida en la materia, tal como válvulas de compresión, Ingold estándar o una válvula de tipo sanitario. Las juntas adecuadas incluyen, no exclusivamente, tuberías, tubos, tuercas, ensamblajes de junta hueca, y similares. La junta puede variar de un sistema a otro, basándose en la configuración y los requisitos del recipiente y el proceso. En una realización preferida, el conducto de transferencia de fluido (4) está conectado al extremo de entrada (7) del compartimento que contiene filtro (6) mediante conexiones de tubos, tales como conexiones de caucho de silicona, C-flex, biopreno o asépticas seco-a-seco, como por ejemplo, conexiones Readymate de GE Healthcare, o conectores estériles Kleenpack de Pall. El conducto de transferencia de fluido (4) también puede estar conectado al recipiente (1) y al compartimento que contiene filtro (6) mediante válvulas y abrazaderas adecuadas, tales como válvulas sanitarias Triclamp o similares. Esto no excluye el uso de otras conexiones adecuadas.

En una realización, el sistema de filtración de fluidos comprende una tubería como conducto de transferencia de fluido conectada entre el recipiente de almacenamiento de fluido (1) y el compartimento que contiene filtro (6).

En una realización, dicho conducto de transferencia de fluido (4) está conectado por un extremo del mismo al recipiente de almacenamiento por una válvula, y unido por el otro extremo del mismo a un extremo de entrada (7) del compartimento que contiene filtro (6) por una válvula.

El compartimento que contiene filtro (6) preferiblemente tiene un extremo de entrada (7) y un extremo de salida o extremo del retenido (9). El nombre extremo del retenido significa que el fluido (con posible material en partículas) que se está filtrando y permanece en el lumen del filtro, es decir, no pasa por los poros del filtro al otro lado de la

membrana, cuyo fluido se llama el retenido, puede pasar este extremo. El material que pasa a través de los poros del filtro se llama el permeado o también el filtrado, y por lo tanto, se puede proporcionar otro posible extremo de salida del compartimento con filtro, denominado puerto de permeado (10) o puerto de recogida de fluido, en el compartimento que contiene filtro, cuyo puerto de permeado permite recuperar o recoger el flujo de fluido tangencial.

5 En algunas realizaciones, el sistema de filtración de fluidos comprende al menos una bomba de permeado (12) o bomba de filtrado conectada al puerto de permeado (10). El extremo de entrada (7) del compartimento que contiene filtro está conectado al conducto de transferencia de fluido (4). El extremo de salida del retenido (9) del compartimento que contiene filtro (6) está conectado con una cámara de expansión (17). El compartimento que contiene filtro (6) puede estar conectado a la cámara de expansión (17) directamente por una conexión adecuada, o  
10 por ejemplo, por intermedio de un conducto de transferencia de fluido (14) (como se muestra en la figura 1). En una realización, el extremo de salida (9) está conectado directamente a la cámara de expansión (17) mediante una conexión aséptica de seco-a-seco, por ejemplo, conexiones Readymate de GE Healthcare, y una abrazadera (no se muestra). En otra realización, el extremo de salida (9) está conectado a la cámara de expansión (17) mediante un conducto de transferencia de fluido (14). Preferiblemente dicho conducto de transferencia de fluido (14) está en  
15 forma de un montaje de tubos, pero también son adecuados otros tipos de conectores. Dicho montaje de tubos debe comprender medios de conexión adecuados para conectar el compartimento que contiene filtro y la cámara de expansión, como por ejemplo, conexiones asépticas de seco-a-seco, por ejemplo, conexiones Readymate de GE Healthcare. Esto no excluye el uso de otras conexiones adecuadas.

20 Los materiales adecuados para el compartimento que contiene filtro (6) incluyen, no exclusivamente, plásticos tales como polisulfona, metal o vidrio. En realizaciones preferidas, los materiales adecuados para la esterilización por irradiación gamma y preferiblemente usados normalmente como materiales desechables (es decir, en general para usar una vez) son materiales adecuados. El experto en la materia sabe qué materiales se usan normalmente y son adecuados para esta aplicación. Lo más preferiblemente, el compartimento que contiene filtro está hecho de material  
25 desechable, y los ejemplos preferidos incluyen polisulfona. El compartimento que contiene filtro (6) comprende un filtro (8). Los elementos de filtro adecuados incluyen, no exclusivamente, filtros de fibra hueca, filtros de tamiz, y similares. Lo más preferiblemente, el elemento de filtro es un filtro de fibra hueca o los filtros constan de una malla tamiz. Las membranas de filtración de fibra hueca o filtros de tamiz adecuados están normalmente disponibles en varios proveedores, por ejemplo, Ready para proceso de fibras huecas de GE Healthcare o WaterSep; fibras huecas Krosflo de Spectrum, fibras huecas Microza de Pall. En algunas realizaciones preferidas, el filtro está colocado longitudinalmente desde el extremo de entrada (7) al extremo de salida (9) del compartimento que contiene filtro (6), lo que permite el flujo tangencial del fluido a lo largo del filtro. Cuando el filtro es un filtro de fibra hueca, los ejes de las fibras huecas preferiblemente se extienden longitudinalmente desde el extremo de entrada (7) al extremo de  
30 salida (9) del compartimento que contiene filtro (6).

35 La cámara de expansión (17) está conectada con el extremo de salida (9) del compartimento que contiene filtro (6) en un lado y a un controlador de flujo de gas (28) en el otro lado. La cámara de expansión (17) es capaz de aspirar y recibir el fluido del recipiente (1) a través del filtro (8) en la cámara de expansión (17) y alternativamente expulsar el fluido de la cámara de expansión (17) de vuelta al recipiente (1) a través del filtro (8). De esta forma, se genera un  
40 flujo tangencial alterno del fluido a través del filtro (8). Dicho flujo tangencial se puede recoger por un puerto de recogida de fluido (10) en un conducto de permeado (11). En una realización preferida, dicho conducto de permeado (11) comprende una bomba de permeado (12) que regula el flujo tangencial.

45 El filtro (8) puede ser un filtro de fibra hueca, un filtro de malla o similar. En el caso en el que el filtro (8) sea un filtro de fibra hueca, ambos extremos, el extremo de entrada y el extremo de salida del filtro (8) están sellados contra la pared de la carcasa del compartimento que contiene filtro (6) para prevenir la mezcla del lado del retenido y el lado del permeado (filtrado) del filtro. El lado del retenido de la fibra es el lado del lumen de la fibra hueca y el lado del permeado (filtrado) es el lado de la cubierta de la fibra hueca. Dicho sellado estanco se puede formar mediante una serie de métodos conocidos en la técnica, que incluye juntas tóricas, juntas de estanqueidad o cualquier otro medio  
50 que forme una barrera impenetrable entre la circunferencia en cada extremo del filtro y la pared interior de la carcasa. El flujo alterno del retenido entre la cámara de expansión (17) y el recipiente (1) es a través del lado del lumen del filtro (8) en el compartimento que contiene filtro (6).

55 La cámara de expansión (17) tiene un extremo de entrada, llamado también primera abertura (16) a través del cual el fluido fluye desde el extremo de salida (9) del compartimento que contiene filtro (6). El extremo de salida de la cámara de expansión, llamado también segunda abertura (24) está operativamente conectado con un controlador de flujo de gas (28) por un conducto de gas (22). En una realización preferida, dicho conducto de gas (22) es un conducto de entrada-salida reversible. En otras realizaciones, se proporcionan conductos de gases de entrada y salida separados (no se muestra). El fluido contenido en el recipiente de almacenamiento de fluido (1) y el  
60 compartimento que contiene filtro (6), es alternativamente introducido en la cámara de expansión (17) y expulsado de la misma. El movimiento de ida y vuelta del fluido es accionado mediante la aplicación alternativa de presión positiva y negativa suficiente en la cámara de expansión. Dicha presión positiva que se define como presión más alta que la presión en el compartimento que contiene filtro (6) preferiblemente se obtiene por alimentación de gas, tal como aire comprimido, a través del conducto de gas (22). La presión negativa, que se define como una presión más  
65 baja que la presión en el compartimento que contiene filtro (6), se obtiene preferiblemente aplicando presión baja o vacío en la cámara de expansión. La presión positiva y negativa se puede aplicar usando medios y métodos que son

bien conocidos para el experto en la materia, y no es necesario desarrollar más aquí dichos medios y métodos.

La cámara de expansión (17) puede ser cualquier tipo de contenedor que tenga cualquier tipo de forma como por ejemplo, una forma cilíndrica, cuadrada o circular (no limitado). En algunas realizaciones, dicha cámara tiene una forma cilíndrica. La cámara de expansión de acuerdo con la presente invención no contiene medio de separación, tal como un diafragma o cualquier otra pieza móvil o barrera física, entre la primera y la segunda abertura. La cámara de expansión comprende un solo recinto y no está separado en dos o más compartimentos. En el funcionamiento, la cámara de expansión comprende una interfase directa de gas-líquido, sin medio de separación, que se forma por el líquido contenido en el sistema que está en contacto directo con la fase gaseosa proporcionada por el controlador de flujo de gas.

La cámara debe ser adecuada para contener tanto el líquido proporcionado por el recipiente, como el gas proporcionado por el controlador de flujo de gas por el conducto de gas (22). Los materiales adecuados para la cámara de expansión incluyen, no exclusivamente, plásticos tales como polisulfona. Alternativamente, la cámara está hecha de metal tal como acero inoxidable. En realizaciones preferidas, los materiales que son adecuados para la esterilización por irradiación gamma se usan como materiales adecuados. En realizaciones preferidas adicionales, los materiales que se usan habitualmente como materiales de un solo uso se usan como materiales adecuados. En realizaciones preferidas adicionales, los materiales que son adecuados para la esterilización por irradiación gamma y que se usan normalmente como materiales de un solo uso, se usan como materiales adecuados. El experto en la materia sabrá qué materiales se usan normalmente y son adecuados para esta aplicación. Los materiales de un solo uso, como indica el nombre, en general son adecuados para usar una sola vez. Normalmente son esterilizados una vez, posteriormente se usan y se desechan. A diferencia de los materiales tradicionales tales como, por ejemplo, acero inoxidable, no requieren ser lavados, ensamblados y esterilizados repetidamente. El uso de componentes hechos de materiales de un solo uso, llamados también desechables, en la industria farmacéutica, ofrece la ventaja de no tener que llevar a cabo la validación muy costosa de los procesos de limpieza, ensamblado y esterilización de dichos componentes. Los sistemas desechables en general son más baratos y un sistema gastado se puede sustituir fácilmente por un sistema no usado, incluso durante el proceso.

La cámara de expansión (17) preferiblemente está hecha al menos en parte (por ejemplo, comprende una "ventana") o sustancialmente completamente, de un material transparente con el fin de visualizar el nivel de líquido en la cámara. El líquido que se hace entrar en la cámara preferiblemente no debe superar un determinado nivel máximo dentro del contenedor. Dicho nivel de líquido máximo se mide con un sensor de nivel (24) como se indica en la figura 1, montado sobre la superficie del contenedor. Dicho sensor de nivel (24) se llama "sensor de nivel alto-alto" (LSHH). En la realización preferida indicada en la figura 1, el contenedor opcionalmente indica dos niveles sobre su superficie: sensor de nivel bajo (LSL) y sensor de nivel alto (LSH), que se miden mediante un sensor de nivel bajo (25) y un sensor de nivel alto (26). En realizaciones preferidas, durante el proceso de filtración, el nivel de líquido normalmente debería fluctuar aproximadamente entre dicho LSL y LSH. Cuando es expulsado de la cámara de expansión (17), el líquido preferiblemente no debería disminuir por debajo de aproximadamente el nivel LSL. Cuando es aspirado del recipiente de almacenamiento de fluido (1) a la cámara de expansión (17), el líquido preferiblemente no debería ir por encima de aproximadamente el nivel LSH.

En realizaciones preferidas, la cámara de expansión (17) se proporciona además con dos sensores de nivel, preferiblemente montados sobre la superficie de la cámara de expansión, lo que determina el nivel de fluido en la cámara de expansión (17) y proporciona retroalimentación al controlador de flujo de gas (28), que a su vez activa el ciclo de presión positiva y negativa alterna en la cámara de expansión. Los sensores de nivel pueden estar alternativamente dentro de la cámara de expansión (17), pero se prefiere montarlos sobre su superficie (es decir, en el lado exterior de la cámara de expansión), puesto que entonces se evita el contacto con el fluido filtrado (que está dentro y puede ponerse en contacto con un lado interior de la cámara de expansión). Los sensores de nivel como tales son conocidos en la materia y pueden usar una variedad de parámetros para medir el nivel de fluido en la cámara de expansión, por ejemplo, K1R87xXT2 de Wenglor que se basa en dispersión de la luz, o el sensor de Aquasant Messtechnik basado en mediciones de capacidad. En una realización preferida, se usan emisores de microondas, por ejemplo Vegamip de Vega para la detección del nivel. Dichos sensores son particularmente precisos en presencia de espuma en la superficie del medio.

El extremo de salida (18) de la cámara de expansión (17) está conectado con el conducto de gas (22), que a su vez está conectado con el controlador de flujo de gas (28). Preferiblemente, el conducto de gas (22) comprende un filtro estéril (21) con el fin de proporcionar gas estéril, por ejemplo, aire comprimido, a la cámara de expansión. Con esto, se minimiza el riesgo de contaminación de la fase líquida en la cámara de expansión. En una realización preferida, dicho filtro estéril (21) es un filtro de aire que preferiblemente es proporcionado con un calentador con el fin de prevenir el bloqueo del filtro debido al humedecimiento por el vapor generado en la cámara de expansión. Cuando el conducto de gas (22) comprende un filtro estéril (21), como se representa en la figura 1, el filtro además está conectado a la cámara de expansión (17) por medio de un conducto de gas adicional (20).

El controlador de flujo de gas (28) proporciona presión positiva y negativa a través del conducto de gas (22), que preferiblemente es un conducto de entrada/salida reversible. La presión positiva se puede generar, por ejemplo, directamente, por ejemplo por un suministro de aire comprimido. La presión negativa se genera en el controlador,

por ejemplo creando un vacío. El vacío se puede generar por una bomba de vacío, o por ejemplo, un inyector de vacío. Un inyector de vacío es un dispositivo de tipo bomba que usa el efecto Venturi de un inyector convergente-divergente para convertir la energía de presión de un fluido motor en energía de velocidad que crea una zona de baja presión que introduce y arrastra un fluido de aspiración. Después de pasar por la garganta del inyector, el fluido  
 5 mezclado se expande y la velocidad se reduce lo que produce la recompresión de los fluidos mezclados convirtiendo otra vez la energía de velocidad en energía de presión. El fluido motor puede ser un líquido, vapor o cualquier otro gas. El fluido de aspiración arrastrado puede ser un gas, un líquido, una suspensión o una corriente de gas cargada de polvo. En una realización preferida, el controlador de flujo de gas no requiere un suministro de vacío separado. Alternativamente a un inyector de vacío, se pueden usar otros medios y métodos para crear una presión baja en la  
 10 cámara de expansión (17). En lugar de aire comprimido, se pueden usar otros gases o mezclas de gases, por ejemplo, mezclas de nitrógeno/oxígeno o nitrógeno/oxígeno/dióxido de carbono, etc.

Durante el proceso de filtración, el líquido contenido en el recipiente de almacenamiento de fluido (1) es aspirado fuera del recipiente (1), a través del filtro (8), a la cámara de expansión (17) y expulsado alternativamente desde esta  
 15 de vuelta al recipiente (1). Cuando el líquido es aspirado fuera del recipiente (1), se aplica presión negativa hasta que el sensor de nivel LSH (26) responde, es decir hasta que el líquido es introducido en la cámara de expansión (17) y el nivel de la cámara (17) alcanza un límite superior (LSH). Esto produce un cambio para aplicar presión positiva. Se aplica entonces la presión positiva hasta que el detector de nivel LSL (25) responde, es decir, hasta que el líquido es expulsado de la cámara de expansión (17) y el nivel de líquido en la cámara (17) alcanza un límite inferior (LSL). Esto produce otra vez el cambio para aplicar presión negativa. Como resultado, el fluido en el sistema fluye hacia atrás y hacia delante a través del filtro (8) de una forma controlada, proporcionando un flujo de fluido tangencial en el conducto de permeado (11).

Los controladores de gas como tales son conocidos y se pueden usar de acuerdo con métodos conocidos como  
 25 tales por los expertos, de acuerdo con la presente descripción. El controlador de flujo de gas (28) proporciona presión positiva y negativa en la cámara de expansión (17). En algunas realizaciones, el controlador de flujo de gas (28) puede comprender un dispositivo de medición de la presión (32), tal como un sensor de presión que sirve para controlar y/o regular la presión en el conducto de gas (22). Además, el controlador de flujo de gas puede comprender un dispositivo de medición de la presión (30) que sirve para medir la presión en el conducto de permeado (11). En  
 30 algunas realizaciones, el controlador de flujo de gas (28) está conectado con un suministro de aire u otro gas, que proporciona al controlador de flujo de gas aire o gas, a partir del cual la presión opcionalmente se puede reducir con un reductor de presión (46). El gas que puede tener el flujo reducido después se dirige a través de un controlador de presión (44) y una válvula de control (40) hacia el conducto de gas (22) con el fin de proporcionar presión positiva; o alternativamente a través de un controlador de presión (42) e inyector de vacío (36) con el fin de proporcionar  
 35 presión negativa en el conducto de gas (22) y la cámara de expansión (17). Además, el controlador de flujo de gas puede comprender una válvula de cierre (38), que está funcionalmente en contacto con los sensores de nivel (25, 26) y que se cierra cuando el fluido en la cámara de expansión (17) ha alcanzado el nivel máximo (LSH). El controlador de flujo de gas (28) comprende además una válvula conmutadora (34), que está en contacto con los sensores de nivel (25, 26) y que determina si se aplica en el conducto de gas (22) aire comprimido (que tiene una  
 40 presión mayor que la presión en el compartimento que contiene filtro) o vacío o baja presión (comparado con la presión en el compartimento que contiene filtro).

En una realización, el nivel del líquido en la cámara de expansión es controlado por los sensores de nivel, tal como  
 45 conmutadores de luz o emisores de microondas. Varios de dichos sensores de nivel están colocados a lo largo de la cámara de expansión y permiten calcular la velocidad del frente del medio en la cámara de expansión. La velocidad del medio se puede determinar midiendo continuamente el tiempo consumido ( $\Delta t$ ) por el medio entre el nivel LSL y el nivel LSH. Variaciones en la velocidad pueden indicar que la membrana de fibra hueca está a punto de obstruirse o que se ha obstruido. Al medir la velocidad, se puede controlar automáticamente el ciclo de presión positiva y negativa y con esto ajustar el caudal del medio o ajustar el ciclo de aspiración/expulsión del medio, con el fin de  
 50 desobstruir la fibra hueca que muestra signos de obstrucción.

En otra realización, el ciclo de presión positiva y negativa en la cámara de expansión se puede regular basándose en la distribución del tamaño de partículas y la carga de la suspensión celular. La distribución del tamaño de partículas y la carga se pueden medir con un medidor de tamaño de partículas, por ejemplo, un contador Casy®. Los  
 55 valores resultado de la distribución del tamaño de partículas y la carga se pueden dirigir al controlador de flujo de gas con el fin de regular el ciclo de presión positiva y negativa. Esta realización permite la posibilidad de preparar una curva de calibración que correlaciona el rendimiento de la fibra hueca con la densidad celular y permite el control de flujo automático de acuerdo con la entrada de datos de la densidad celular.

Esto tiene una ventaja significativa frente a los sistemas de filtración usados actualmente en los que solo puede proceder manualmente un operador una vez que la fibra hueca muestra signos de obstrucción. Por lo tanto, el sistema de acuerdo con la invención funciona automáticamente y proactivamente.

Todas estas características de control no están disponibles en los sistemas de filtración actualmente disponibles  
 65 (tales como el sistema ATF actualmente disponible en el comercio y descrito en el documento US 6.544.424). El número de ciclos es el único parámetro que es controlado en dichos sistemas. El tiempo por ciclo es adaptado

manualmente por un operador basándose en sensaciones instintivas.

El compartimento que contiene filtro (6) está provisto además de un puerto de permeado (10), que permite recuperar el flujo de fluido tangencial. El permeado sale del compartimento que contiene filtro por el puerto de permeado (10) a un conducto de permeado (11). En la realización más preferida, una bomba de permeado (12) está conectada con el conducto de permeado (11). La bomba de permeado (12) es adecuada como un medio para controlar la separación del fluido filtrado (permeado) del sistema y para servir como una válvula de comprobación para regular el flujo no restringido de permeado del compartimento (6). La presión en el conducto de permeado se puede controlar mediante un sensor de presión (30), mostrado en la figura 1.

Aunque se ha descrito una sola realización de la invención con detalle, están contempladas muchas otras variaciones. Por ejemplo, en otra realización de la invención, se puede usar un módulo de filtro de malla de tamiz en lugar del módulo de filtro de fibra hueca descrito antes. Una malla de tamiz que es adecuada en la presente invención se describió por ejemplo en el documento US 6.544.424.

En algunas aplicaciones puede ser conveniente penetrar en el recipiente del proceso (1) por una abertura distinta de la abertura lateral inferior descrita antes. No se muestra un puerto de penetración superior a través de una placa frontal del recipiente del proceso (1). En este caso, la relación entre los componentes del sistema que incluyen el conducto de transferencia de fluido (4), el compartimento que contiene filtro (6), la cámara de expansión (17) y el controlador de flujo de gas (28) sigue siendo la misma. Obsérvese, no obstante, que para generar flujo tangencial alterno, debe usarse entonces un tubo de inmersión (no se muestra) para conectar el sistema de filtración con el líquido en el recipiente del proceso (1). La recogida de filtrado (permeado) se recogería igualmente del compartimento que contiene filtro (6), a través de un puerto de permeado (10) al conducto de permeado (11). El volumen de líquido que se separa del sistema (por el conducto de permeado) se puede restablecer en el sistema mediante un mecanismo de control del nivel que activa una bomba de adición con el fin de bombear líquido en el recipiente.

También son posibles otras variaciones de la invención. Por ejemplo, se pueden conectar compartimentos que contienen múltiples filtros en paralelo a un solo recipiente. Cada compartimento que contiene filtro se puede conectar a una cámara de expansión separada. Cuando los compartimentos que contienen múltiples filtros están dispuestos en formación en paralelo y un primer filtro se bloquea, el proceso continúa con un segundo o tercer compartimento que contiene filtro. Con esto se garantiza la continuidad del proceso.

Un aspecto adicional de la presente invención se refiere a un montaje como se representa en la figura 2, que comprende una cámara de expansión (17) ensamblada con un compartimento que contiene filtro (6) en un lado y con un filtro de aire (21) en el otro lado, en donde dichos componentes ensamblados preferiblemente están hechos de materiales desechables, y preferiblemente son estériles (al menos en el interior que se pretende se ponga en contacto con el fluido que se va a filtrar). Los materiales de un solo uso (o desechables) se han definido previamente y el experto en la materia sabrá qué materiales son adecuados para este propósito.

La cámara de expansión (17) de este montaje tiene un extremo de entrada, denominado también primera abertura (16) que está acoplado con un extremo de salida o extremo de retenido (9) del compartimento que contiene filtro (6). Ambos componentes están conectados directamente entre sí o por un montaje de tubo intermedio (14), como se muestra en la figura 2. Cuando están directamente conectados entre sí, una conexión adecuada es, por ejemplo, una conexión aséptica de seco-a-seco, como por ejemplo una conexión Readymate de GE Healthcare, o una conexión Kleenpack de Pall. Cuando se usa un montaje de tubo intermedio, dicho montaje de tubo preferiblemente comprende una tubería de silicona, biopreno, C-flex o similar. Cada extremo de tubo comprende un medio de conexión con el fin de conectar adecuadamente el montaje de tubo intermedio (14) con el compartimento que contiene filtro (6) y la cámara de expansión (17). Las conexiones adecuadas pueden ser, por ejemplo, una conexión aséptica de seco-a-seco, como por ejemplo conexiones Readymate o similares.

El extremo de salida, denominado también segunda abertura (18) de la cámara de expansión está conectado a un filtro de aire (21). Ambos componentes están conectados directamente entre sí o por un montaje de tubo intermedio (20), como se muestra en la figura 2. Las conexiones adecuadas son similares a las que conectan la cámara de expansión al compartimento que contiene filtro.

En una realización de la presente invención, la cámara de expansión del montaje no contiene medio de separación, tal como un diafragma o cualquier otra pieza móvil o barreras físicas, entre la primera y la segunda aberturas. La cámara de expansión comprende un solo recinto y no está separado en dos o más compartimentos. Con esto, la cámara de expansión, cuando se construye en dicho montaje y cuando se conecta con un caudalímetro de gas y un recipiente de almacenamiento de fluido de acuerdo con la invención, comprende una interfase directa de gas-líquido sin medio de separación, que es formada por el líquido contenido en el sistema que está en contacto directo con la fase gaseosa proporcionada por el controlador de flujo de gas.

En una realización, el montaje se esterilizará, preferible por irradiación gamma, y envasará para almacenar. El montaje preesterilizado se puede conectar de forma estéril con un recipiente de fluido y un controlador de flujo de

gas con el fin de realizar la filtración tangencial de acuerdo con la invención. La ventaja de dicho montaje es que no contiene piezas móviles y por lo tanto no tiene tendencia a desgastarse o romperse del sistema durante el proceso de filtración. En segundo lugar, el montaje que está previamente esterilizado, permite que el proceso de filtración empiece justo después de que se haya conectado. No se requieren procedimientos costosos de validación de limpieza y esterilización.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un método para preparar un montaje como se ha descrito previamente que comprende las etapas de ensamblar un compartimento que contiene filtro con una primera abertura de una cámara de expansión y ensamblar un filtro de aire en una segunda abertura de dicha cámara de expansión.

Otro aspecto de la presente invención se refiere a un kit de piezas que comprende un compartimento que contiene filtro, una cámara de expansión y un filtro de aire estéril, que se puede usar para proporcionar un montaje como se describe en el presente documento (figura 2). Los componentes del kit de piezas preferiblemente son desechables. El kit de piezas proporciona un montaje muy fuerte y económico para usar en un sistema para la filtración de flujo tangencial de acuerdo con la invención.

El sistema de la presente invención se puede usar para filtrar, concentrar, clarificar o acondicionar de otra forma un fluido o medio de proceso, cuando se usa con el elemento de filtro adecuado. El sistema también se puede usar como un aparato de toma de muestras, adecuado para extraer corriente filtrada de un recipiente de proceso, mientras que permite el control y análisis continuo del proceso. El flujo hacia atrás y hacia delante del medio entre el recipiente y el filtro permite el equilibrio continuo del medio del proceso entre estos dos compartimentos. En algunas realizaciones, la corriente filtrada puede entonces considerarse representativa del contenido en el recipiente.

El sistema de la presente invención se usa lo más preferiblemente para filtrar fluidos, los más preferiblemente fluidos biológicos. Los ejemplos no exclusivos de fluidos biológicos incluyen cultivos en suspensión, cultivos basados en microportadores, sangre y otros fluidos que contienen células animales, microbianas o de plantas. Aunque se describe una realización preferida de la presente invención en relación con la filtración de un fluido biológico, se entiende que la presente invención se puede usar para filtrar otros líquidos.

En una realización preferida, el sistema de la presente invención se puede usar para producir productos biológicos como proteínas recombinantes, como se describe, por ejemplo, en el documento WO 2008/006494, o tal como virus, como se describe en el documento WO 2010/060719. El sistema de filtración usado en dichas referencias podría sustituirse por el sistema PACS.

#### **Ejemplo 1: Uso del sistema PACS para cultivar células en perfusión**

Se precultivaron células PER.C6 en medio Permexcis® en un sistema de movimiento oscilante Cultibag. Posteriormente dichas células se transfirieron para inoculación a un biorreactor de 10 litros agitado que estaba conectado a un sistema PACS de acuerdo con la presente invención. La retirada del permeado usando el sistema PACS se inició cuando se había alcanzado una densidad celular de aproximadamente  $2 \times 10^6$  células viables/ml (2 días después de inoculación). Después de 9 días de perfusión, el cultivo celular alcanzó una densidad celular de más de  $60 \times 10^6$  células viables/ml, como se muestra en la figura 3. Este experimento muestra que el sistema PACS se puede usar con éxito para cultivar células en perfusión.

#### **Ejemplo 2: Uso del sistema PACS para cultivar células a altas densidades y propagar adenovirus**

Se descongelaron y multiplicaron células PER.C6 en medio de cultivo exento de suero en un Wave bioreactor® de 20 litros con un volumen de trabajo de 10 litros. Las células se multiplicaron a 37°C con capa de CO<sub>2</sub> y aire de 0,18 l/min y 20 ml/min respectivamente. Los recuentos de células se llevaron a cabo diariamente. El día 4 después de inoculación del Wave bioreactor® se realizó una dilución de nuevo. El día 7 después de inoculación, la suspensión celular se usó para inocular un biorreactor agitado de 10 litros, acoplado con un sistema PACS, con una densidad celular de  $0,57 \times 10^6$  células totales/ml. Las células se multiplicaron en el biorreactor de 10 litros a 37°C, DO de 40% y un pH de 7,3. El sistema PACS se inició directamente después de inoculación del biorreactor, la perfusión se inició 2 días después de la inoculación con una densidad celular de aproximadamente  $2 \times 10^6$  células viables/ml. Después de 8 días de perfusión, se alcanzó una densidad celular de  $83,2 \times 10^6$  células viables/ml. El crecimiento celular se presenta en la figura 4.

El día 10 después de inoculación, la suspensión contenida en el biorreactor de 10 litros se transfirió a un biorreactor desechable de 50 litros que contenía 40 litros de medio de nueva aportación. Esto dio como resultado una densidad celular de  $20,94 \times 10^6$  células totales/ml (90% de viabilidad, por lo tanto  $18,86 \times 10^6$  células viables/ml) en la inoculación.

Posteriormente, el biorreactor de 50 litros, que estaba conectado a un sistema PACS, se infectó con un adenovirus Ad35 con una MDI de 70 partículas de virus/célula (PV/célula) y se incubó a 36°C, pH 7,3 y DO de 40%. El sistema PACS se inició 5 h después de infección con una tasa de renovación de medio de 2 volúmenes de recipiente por día durante las siguientes 40 horas. El día 3 después de infección, se tomó una muestra del biorreactor de 50 litros para

5 medir la producción de virus por AEX-HPLC. Para liberar el virus de las células, se mezcló 1 ml de muestra con 100  $\mu$ l de Triton X-100 al 10% y se incubó a 37°C durante 30 min. Después de incubación, la muestra se mezcló con 2,42  $\mu$ l de benzonasa/MgCl<sub>2</sub> seguido de una etapa de incubación posterior de 30 min a 37°C. Se añadieron finalmente 100  $\mu$ l de sacarosa al 50% a las muestras. Después de una etapa de centrifugación de 5 min a 2500g, las muestras se almacenaron a una temperatura inferior a -65°C hasta el análisis por AEX-HPLC. Los resultados de AEX-HPLC mostraron que se alcanzó un rendimiento de  $2,08 \times 10^{12}$  PV/ml el día 3 después de infección.

10 Estos resultados demuestran que el sistema PACS se puede usar para el cultivo de células con densidades celulares muy altas, de hasta más de  $80 \times 10^6$  células viables/ml. Además, estos resultados muestran que el sistema PACS se puede usar para propagar virus en cultivos de alta densidad y aumentar los rendimientos volumétricos casi 10 veces comparado con un proceso discontinuo.

**REIVINDICACIONES**

1. Un sistema de filtración de fluidos que comprende:
- 5 a) al menos un recipiente de almacenamiento de fluido;
- b) al menos un compartimento que contiene filtro;
- 10 c) al menos un conducto de transferencia de fluido que conecta el recipiente de almacenamiento con un extremo de entrada de un compartimento que contiene filtro, cuyo conducto de transferencia de fluido es capaz de dirigir un fluido desde el recipiente de almacenamiento al extremo de entrada del compartimento que contiene filtro;
- d) al menos una cámara de expansión con al menos dos aberturas, en la que una primera abertura está conectada a un extremo de salida del compartimento que contiene filtro y en la que una segunda abertura está conectada con un controlador de flujo de gas;
- 15 e) al menos un controlador de flujo de gas para proporcionar alternativamente a la cámara de expansión presión positiva y negativa;
- 20 f) al menos un puerto de recogida de fluido conectado al compartimento que contiene filtro, para separar el fluido filtrado del compartimento que contiene filtro;
- caracterizado porque la cámara de expansión no contiene medio de separación entre la primera y la segunda aberturas; y en el que está montado al menos un sensor de nivel sobre o en la cámara de expansión.
- 25 2. Un sistema de filtración de fluidos de acuerdo con la reivindicación 1, en el que la cámara de expansión está conectada con el controlador de flujo de gas con un conducto de gas.
3. Un sistema de filtración de fluidos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-2, en el que el conducto de gas comprende un filtro entre la cámara de expansión y el controlador de flujo de gas, preferiblemente en el que el filtro es un filtro estéril, y opcionalmente en el que el conducto de gas comprende un filtro estéril con calentador.
- 30 4. Un sistema de filtración de fluidos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-3, en el que el recipiente de almacenamiento de fluido es un biorreactor.
- 35 5. Un sistema de filtración de fluidos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-4, en el que el compartimento que contiene filtro contiene un filtro de fibra hueca.
- 40 6. Un sistema de filtración de fluidos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-5, en el que hay montados al menos dos sensores de nivel sobre o en la cámara de expansión, y preferiblemente en el que el sensor de nivel o los sensores de nivel están montados sobre la superficie de la cámara de expansión.
- 45 7. Un sistema de filtración de fluidos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-6, en el que dichos sensores de nivel son capaces de medir un nivel de fluido mínimo y uno máximo en la cámara de expansión, y están funcionalmente acoplados con el controlador de flujo de gas.
8. Un sistema de filtración de fluidos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-7, capaz de alternativamente aspirar el fluido del sistema desde el recipiente de almacenamiento, a través del compartimento que contiene filtro a la cámara de expansión, y expulsar el fluido de dicha cámara de expansión a través del compartimento que contiene filtro de vuelta al recipiente de almacenamiento, en el que la aspiración de fluido se lleva a cabo aplicando presión negativa en la cámara de expansión y la expulsión de fluido se lleva a cabo aplicando presión positiva a la cámara de expansión.
- 50 9. Un sistema de filtración de fluidos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-8, en el que dicha presión negativa se obtiene creando un vacío en la cámara de expansión y la presión positiva se obtiene inyectando gas, por ejemplo aire comprimido, en la cámara de expansión.
- 55 10. Un sistema de filtración de fluidos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-9, en el que el filtro en el compartimento que contiene filtro comprende una pluralidad de fibras huecas en haces cuyos ejes se extienden longitudinalmente desde el extremo de entrada al extremo de salida del compartimento que contiene filtro.
- 60 11. Un sistema de filtración de fluidos de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 1-10, en el que el compartimento que contiene filtro y la cámara de expansión son desechables, preferiblemente en el que el compartimento que contiene filtro, la cámara de expansión, el recipiente de almacenamiento de fluido y el conducto de transferencia de fluido son desechables.
- 65

12. Un proceso para filtrar un fluido que comprende:

- 5 a) proporcionar un sistema de filtración de fluidos que comprende al menos un recipiente de almacenamiento de fluido; al menos un compartimento que contiene filtro; un conducto de transferencia de fluido que conecta el  
10 recipiente de almacenamiento a un extremo de entrada del compartimento que contiene filtro, cuyo conducto de transferencia es capaz de dirigir un fluido desde el recipiente de almacenamiento al extremo de entrada del compartimento que contiene filtro; al menos una cámara de expansión conectada en un lado a un extremo de salida del compartimento que contiene filtro que permite que el líquido de dicho compartimento entre en la cámara, y en el  
15 otro lado a un controlador de flujo de gas que proporciona alternativamente presión negativa y positiva en la cámara de expansión, aspirando de esta forma el fluido desde el extremo de salida del compartimento que contiene filtro y expulsando el fluido de vuelta al extremo de salida del compartimento que contiene filtro, formando una interfase directa de gas-líquido sin medio de separación en la cámara de expansión; y al menos un puerto de permeado conectado al compartimento que contiene filtro para separar el fluido filtrado del compartimento que contiene filtro;
- 15 b) extraer fluido del recipiente de almacenamiento a través del filtro a la cámara de expansión aplicando presión negativa en la cámara de expansión;
- 20 c) expulsar el fluido de la cámara de expansión a través del filtro de vuelta al recipiente de almacenamiento aplicando presión positiva en la cámara de expansión;
- d) repetir las etapas b y c, generando un flujo tangencial alterno de fluido a través del filtro; y
- 25 e) separar el fluido filtrado del sistema de filtración.

13. Un proceso para filtrar un fluido de acuerdo con la reivindicación 12, en el que el recipiente de almacenamiento de fluido es un biorreactor.

30 14. Un proceso para filtrar un fluido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 12-13, en el que el compartimento que contiene filtro y/o la cámara de expansión son desechables, preferiblemente en el que el compartimento que contiene filtro, la cámara de expansión, el recipiente de almacenamiento de fluido y el conducto de transferencia de fluido, son desechables.

35 15. Un proceso para filtrar un fluido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 12-14, en el que la presión positiva y negativa son reguladas por los sensores de nivel que miden el nivel de fluido en la cámara de expansión.

40 16. Un proceso para filtrar un fluido de acuerdo con la reivindicación 15, en el que los sensores de nivel se montan sobre la cámara de expansión.

17. Un proceso para filtrar un fluido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 12-16, en el que el compartimento que contiene filtro contiene un filtro de fibra hueca.

45 18. Un proceso para filtrar un fluido de acuerdo con una cualquiera de las reivindicaciones 12-17, en el que dicha presión negativa se obtiene creando un vacío en la cámara de expansión y la presión positiva se obtiene inyectando gas, por ejemplo aire comprimido, en la cámara de expansión.

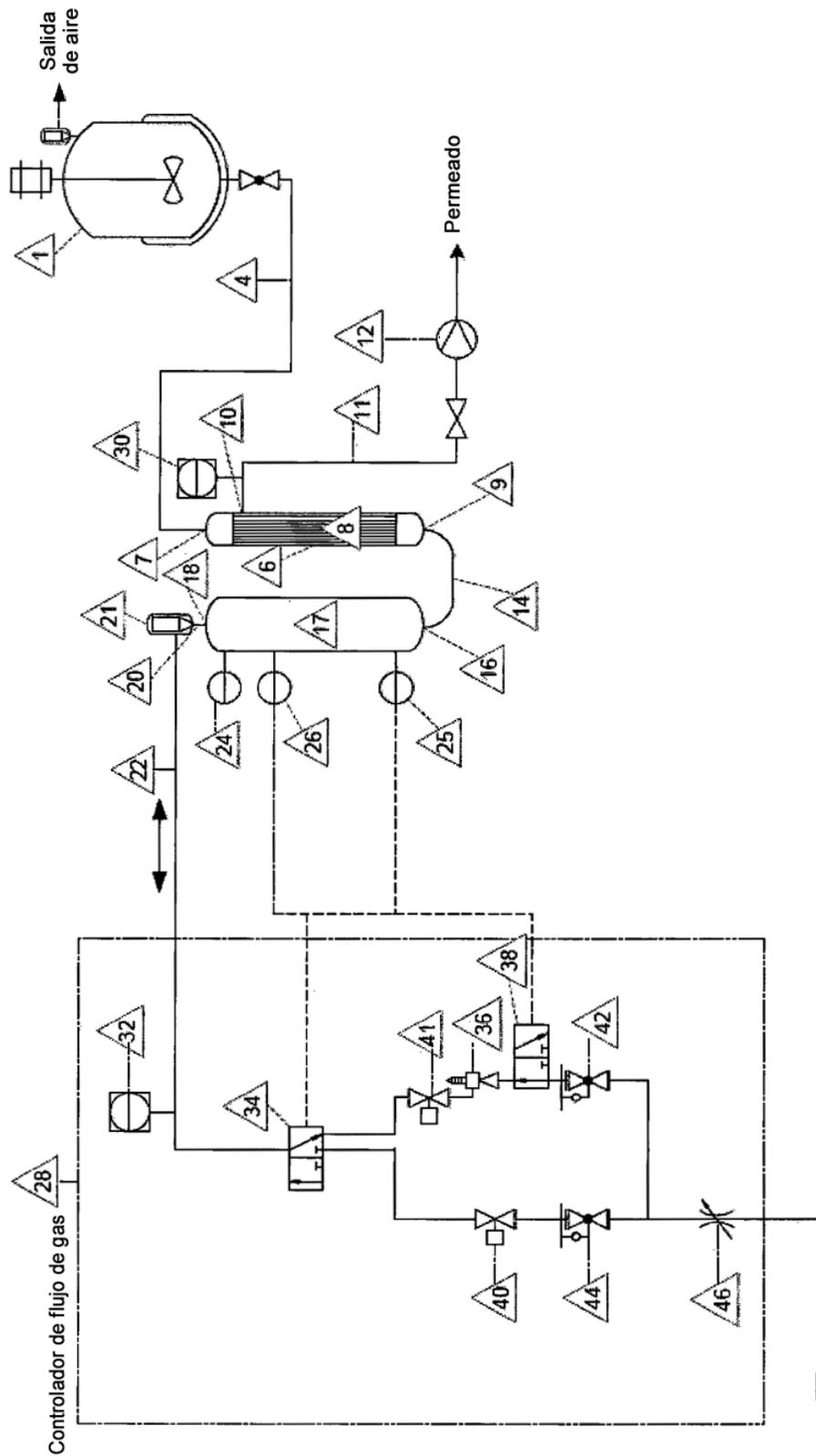


Fig. 1

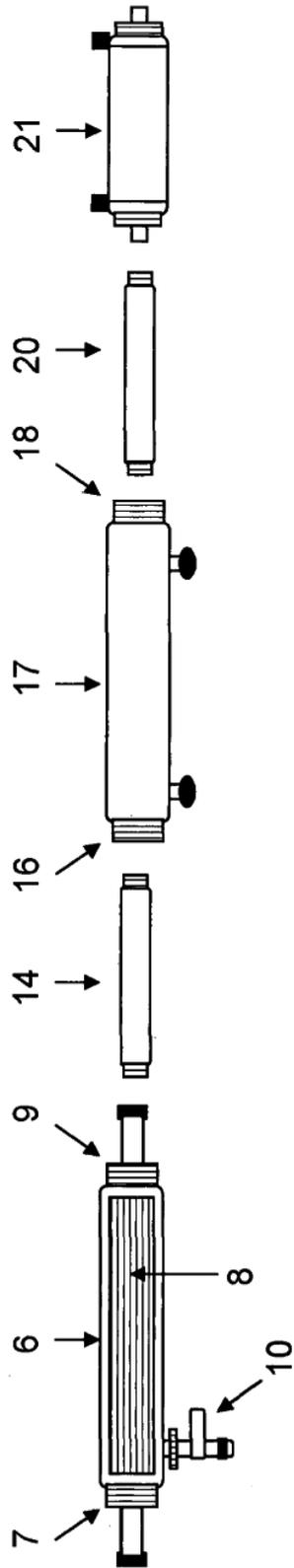


Fig. 2

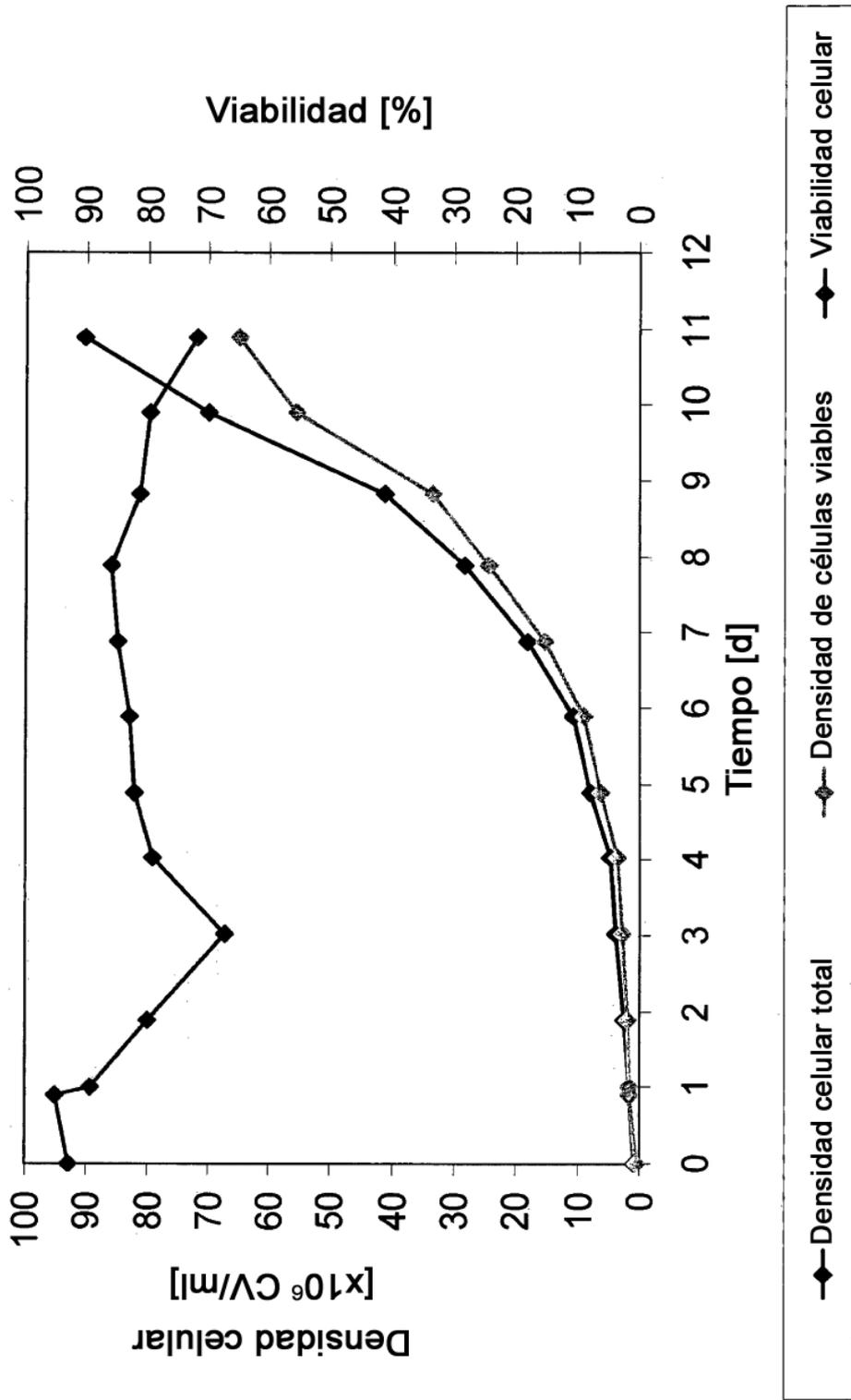


Fig. 3

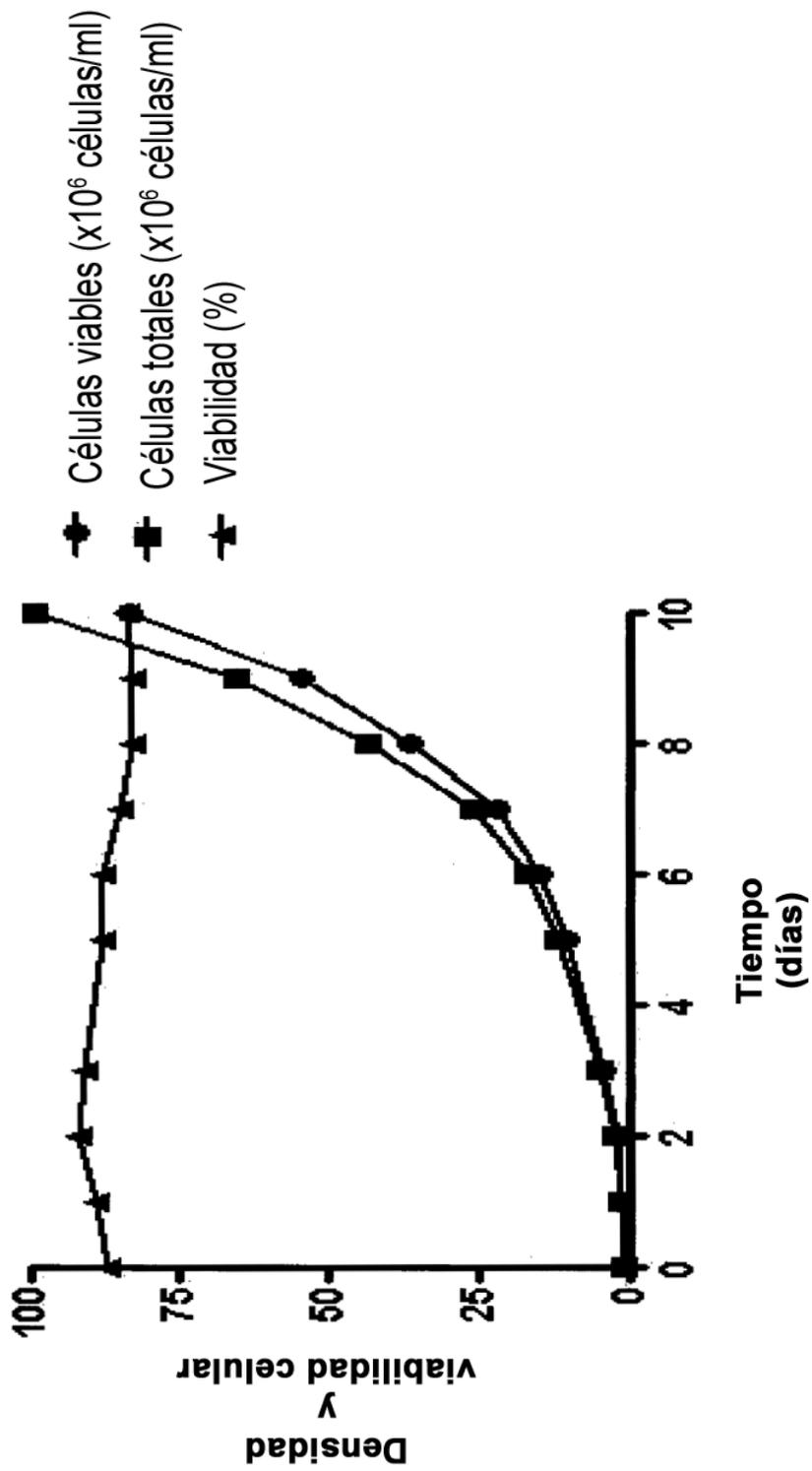


Fig. 4