

(19)



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS
ESPAÑA



(11) Número de publicación: **2 774 949**

(51) Int. Cl.:

C12Q 1/70 (2006.01)
C12Q 1/24 (2006.01)
C12M 1/12 (2006.01)
C12R 1/92 (2006.01)
B01D 67/00 (2006.01)

(12)

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

- (86) Fecha de presentación y número de la solicitud internacional: **29.07.2011 PCT/US2011/045905**
(87) Fecha y número de publicación internacional: **16.02.2012 WO12021308**
(96) Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **29.07.2011 E 11816795 (6)**
(97) Fecha y número de publicación de la concesión europea: **18.12.2019 EP 2603611**

(54) Título: **Método para la eliminación de retrovirus**

(30) Prioridad:

10.08.2010 US 372243 P

(45) Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
23.07.2020

(73) Titular/es:

EMD MILLIPORE CORPORATION (100.0%)
400 Summit Drive
Burlington, MA 01803 , US

(72) Inventor/es:

KAS, ONUR, Y.;
KOZLOV, MIKHAIL;
TKACIK, GABRIEL;
MOYA, WILSON;
GODDARD, PHILIP;
LEON, SHERRY ASHBY y
HAO, JIBIN

(74) Agente/Representante:

SÁNCHEZ SILVA, Jesús Eladio

ES 2 774 949 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

- Método para la eliminación de retrovirus
- 5 Campo de la invención
- La presente invención se refiere en general a medios de filtración de líquidos. En ciertas realizaciones, la invención proporciona una esterilla porosa de nanofibras electrohiladas para la filtración de líquidos y métodos para usarla en la retención de retrovirus de un líquido filtrado.
- 10 Antecedentes de la invención
- Las agencias reguladoras de todo el mundo imponen requisitos estrictos a los fabricantes comerciales de compuestos biofarmacéuticos para que proporcionen una garantía de bioseguridad de sus medicamentos. Los fabricantes tienen que incorporar y validar al menos dos pasos ortogonales, es decir, operar mediante dos mecanismos distintos de eliminación de virus en sus procesos, uno de los cuales generalmente es la filtración basada en el tamaño. El LRV combinado (valor de reducción logarítmica) para la eliminación de retrovirus de todos los pasos de eliminación del proceso de purificación combinado debe ser de al menos 17, de los cuales la filtración proporciona al menos 6.
- 20 El retrovirus es un tipo de virus de ARN (como el VIH) que se reproduce al transcribirse a sí mismo en ADN (usando la transcriptasa inversa). El ADN resultante se inserta en el ADN de una célula y es reproducido por la célula. Dos retrovirus particularmente peligrosos para los humanos son el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) y el virus de la leucemia de células T humanas (HTLV). El tamaño de los retrovirus se encuentra en el rango de aproximadamente 80 a 130 nm. En el desarrollo de productos de filtración para la retención de virus es una práctica común la sustitución de los virus de mamíferos por bacteriófagos de tamaño, forma y carga superficial similares. Ejemplos de tales bacteriófagos incluyen Phi-6 y PR772. La práctica muestra que los filtros que exhiben un cierto nivel de retención con estos bacteriófagos generalmente exhiben niveles de retención iguales o superiores con los retrovirus de mamíferos.
- 25 Una descripción detallada de los enfoques de la industria para la eliminación de virus y una lista de productos de eliminación de virus disponibles comercialmente se puede encontrar en "Filtration and Purification in the Biopharmaceutical Industry" por T. Meltzer y M. eds., 2^a edición, Informa Healthcare USA, Inc., 2008, Capítulo 20, págs. 543-577.
- 30 Hay varias membranas disponibles en el mercado validadas para la eliminación de retrovirus. Una membrana de eliminación de retrovirus típica es, por ejemplo, la Retropore® disponible de Millipore Corporation de Billerica, MA. La membrana ha sido ampliamente probada mediante el uso del bacteriófago Phi 6 de 78 nm de diámetro. Este bacteriófago se cultiva fácilmente en retos monodispersos, de tamaño uniforme y de título alto. Se ha observado un LRV > 6,5 regular en varias materias primas y condiciones de procesamiento. La membrana Retropore® se fabrica de acuerdo con la patente de EE.UU. 7,108,791. La membrana Retropore® tiene una estructura de poro asimétrica, con un lado estrecho para la eliminación de virus y un lado de "soporte" microporoso, y se fabrica mediante un proceso de inversión de fase tradicional que se utiliza para hacer una amplia gama de membranas UF y MF.
- 35 Una de las limitaciones inherentes de este proceso es que la porosidad disminuye con la disminución del tamaño de poro. Por ejemplo, una membrana microporosa con un tamaño de poro promedio de aproximadamente 0,5 micras puede tener una porosidad de aproximadamente 75 % a 80 %, mientras que una membrana de ultrafiltración que tiene un tamaño de poro promedio de aproximadamente 0,01 micras a 0,02 micras solo tendrá de aproximadamente 5 % a 30 % de porosidad en su región del tamaño de poro más estrecho. Las membranas de eliminación de retrovirus tienen tradicionalmente baja porosidad y, por lo tanto, un flujo menor; la patente de EE.UU. núm. 7,108,791 define el flujo mínimo deseable de un filtro de "virus grandes" (> 75 nm) con un valor mínimo de 5 a 20 lmh/psi.
- 40 La patente núm. 7,459,085 de Asahi Kasei Medical Co., Ltd., describe una membrana microporosa hidrófila que comprende una resina termoplástica que tiene un tamaño de poro máximo de 0 a 100 nm y está diseñada para una baja contaminación de proteínas en la aplicación de filtración de virus.
- 45 La solicitud de patente publicada de EE.UU. 2008/004205 de Millipore Corp. describe una membrana compuesta multicapa integral que tiene una capa de ultrafiltración diseñada para membranas de ultrafiltración para la eliminación de virus y métodos para fabricar dicha membrana.
- 50 A medida que la producción biofarmacéutica se desarrolla más, la industria busca constantemente formas de racionalizar las operaciones, combinar y eliminar pasos, y reducir drásticamente el tiempo necesario para procesar cada lote del medicamento. Al mismo tiempo, existen presiones regulatorias y del mercado que requieren que los fabricantes reduzcan sus costes. Dado que la filtración de virus representa un porcentaje importante del coste total de la purificación de medicamentos, cualquier enfoque para aumentar el rendimiento de las membranas y reducir el tiempo es valioso. Con la introducción de nuevos medios de prefiltración y el aumento correspondiente en el rendimiento de los filtros de virus, la filtración de cada vez más corrientes de alimentación se ve limitada por el flujo. Por lo tanto, las mejoras grandes en la permeabilidad de los filtros de virus tendrán un efecto directo en el coste del paso de filtración de virus.
- 55 A medida que la producción biofarmacéutica se desarrolla más, la industria busca constantemente formas de racionalizar las operaciones, combinar y eliminar pasos, y reducir drásticamente el tiempo necesario para procesar cada lote del medicamento. Al mismo tiempo, existen presiones regulatorias y del mercado que requieren que los fabricantes reduzcan sus costes. Dado que la filtración de virus representa un porcentaje importante del coste total de la purificación de medicamentos, cualquier enfoque para aumentar el rendimiento de las membranas y reducir el tiempo es valioso. Con la introducción de nuevos medios de prefiltración y el aumento correspondiente en el rendimiento de los filtros de virus, la filtración de cada vez más corrientes de alimentación se ve limitada por el flujo. Por lo tanto, las mejoras grandes en la permeabilidad de los filtros de virus tendrán un efecto directo en el coste del paso de filtración de virus.
- 60 A medida que la producción biofarmacéutica se desarrolla más, la industria busca constantemente formas de racionalizar las operaciones, combinar y eliminar pasos, y reducir drásticamente el tiempo necesario para procesar cada lote del medicamento. Al mismo tiempo, existen presiones regulatorias y del mercado que requieren que los fabricantes reduzcan sus costes. Dado que la filtración de virus representa un porcentaje importante del coste total de la purificación de medicamentos, cualquier enfoque para aumentar el rendimiento de las membranas y reducir el tiempo es valioso. Con la introducción de nuevos medios de prefiltración y el aumento correspondiente en el rendimiento de los filtros de virus, la filtración de cada vez más corrientes de alimentación se ve limitada por el flujo. Por lo tanto, las mejoras grandes en la permeabilidad de los filtros de virus tendrán un efecto directo en el coste del paso de filtración de virus.
- 65 A medida que la producción biofarmacéutica se desarrolla más, la industria busca constantemente formas de racionalizar las operaciones, combinar y eliminar pasos, y reducir drásticamente el tiempo necesario para procesar cada lote del medicamento. Al mismo tiempo, existen presiones regulatorias y del mercado que requieren que los fabricantes reduzcan sus costes. Dado que la filtración de virus representa un porcentaje importante del coste total de la purificación de medicamentos, cualquier enfoque para aumentar el rendimiento de las membranas y reducir el tiempo es valioso. Con la introducción de nuevos medios de prefiltración y el aumento correspondiente en el rendimiento de los filtros de virus, la filtración de cada vez más corrientes de alimentación se ve limitada por el flujo. Por lo tanto, las mejoras grandes en la permeabilidad de los filtros de virus tendrán un efecto directo en el coste del paso de filtración de virus.

Los filtros utilizados en la filtración de líquidos pueden clasificarse generalmente como filtros de medios fibrosos no tejidos o filtros de membrana de película porosa.

- 5 Los medios fibrosos no tejidos para la filtración de líquidos incluyen, pero no se limitan a, medios no tejidos formados a partir de fibras continuas unidas por hilado, fusionadas por soplado o hiladas por centrifugación; medios no tejidos entrelazados hidráulicamente formados a partir de fibra cortada cardada y similares, o alguna combinación de estos tipos. Típicamente, los filtros de medios filtrantes fibrosos no tejidos utilizados en la filtración de líquidos tienen tamaños de poro generalmente mayores que aproximadamente 1 micra (μm).
- 10 Los medios de membrana de película porosa para la filtración de líquidos se usan sin soporte o junto con un sustrato o soporte poroso. Las membranas de filtración porosas tienen tamaños de poro más pequeños que los medios fibrosos no tejidos, y típicamente tienen tamaños de poro menores que aproximadamente 1 μm . Las membranas de película porosa para la filtración de líquidos se pueden usar en: (a) microfiltración, en donde las partículas filtradas de un líquido están típicamente en el rango de aproximadamente 0,1 μm a aproximadamente 10 μm ; (b) ultrafiltración, en donde las partículas filtradas de un líquido, están típicamente en el intervalo de aproximadamente 5 nm a aproximadamente 0,1 μm ; y (c) ósmosis, en donde la materia en partículas que se filtra de un líquido, está típicamente en el rango de aproximadamente 1 Å a aproximadamente 1 μm . Las membranas que retienen retrovirus generalmente se consideran en el extremo de las membranas de ultrafiltración.
- 15 20 Las dos características más deseadas de una membrana de líquidos son alta permeabilidad y retención confiable. Naturalmente, existe un término medio entre estos dos parámetros, y para el mismo tipo de membrana, se puede lograr una mayor retención al sacrificar la permeabilidad de la membrana. Las limitaciones inherentes de los procesos convencionales para fabricar membranas de película porosa impiden que las membranas superen el umbral de porosidad y, por lo tanto, limitan la magnitud de la permeabilidad que se puede lograr en un tamaño de poro dado.
- 25 30 35 40 45 50 55 60 65
- Las esterillas de nanofibras electrohiladas son materiales poliméricos altamente porosos, en donde el tamaño del "poro" es linealmente proporcional al diámetro de la fibra, mientras que la porosidad es relativamente independiente del diámetro de la fibra. La porosidad de las esterillas de nanofibras electrohiladas generalmente cae en el rango de aproximadamente 85 % a 90 %; y se producen esterillas de nanofibras que demuestran una permeabilidad muy mejorada en comparación con las membranas de fundición por inmersión que tienen similar grosor y clasificación del tamaño de poro. Además, esta ventaja en el rango de tamaño de poro más pequeño, como el que generalmente se requiere para la filtración de virus, debido a la reducida porosidad de las membranas UF, se analizó anteriormente.
- La naturaleza aleatoria de la formación de esterillas electrohiladas ha llevado a la suposición general de que no son adecuadas para una filtración crítica de las corrientes líquidas. Las esterillas de nanofibras electrohiladas a menudo se denominan materiales "no tejidos", colocándolos así en la misma categoría que los medios fibrosos fusionados por soplado y unidos por hilado, que se denominan materiales no tejidos "tradicionales".
- Las fibras en los materiales no tejidos tradicionales suelen tener al menos aproximadamente 1000 am de diámetro, por lo que sus tamaños de poro efectivos siempre son de más de aproximadamente una micra. Además, los métodos de fabricación de materiales no tejidos tradicionales conducen a esterillas de fibras muy heterogéneas, lo que limita su aplicabilidad a la filtración de líquidos.
- Los polímeros sintéticos se han conformado en tramas de fibras de diámetro muy pequeño (es decir, del orden de unos pocos micrómetros o menos de 1 μm), utilizando diversos procesos que incluyen fusión por soplado, hilatura electrostática y electrosoplado. Se ha demostrado que dichas tramas son útiles como materiales y filtros de barrera para líquidos. A menudo se combinan con láminas más fuertes para formar compuestos, en donde las láminas más fuertes proporcionan la resistencia para satisfacer las necesidades del producto de filtro final.
- La patente de Estados Unidos núm. 7,585,437 de Jirsak enseña un método sin boquillas para producir nanofibras a partir de una solución de polímero usando hilatura electrostática y un dispositivo para llevar a cabo el método. El documento WO 2010/042647 A2 se refiere a membranas de nanofibras de alta eficiencia de flujo y métodos de producción.
- La solicitud de patente de la OMPI núm. WO/2003/080905, "A Manufacturing Device And Method of Preparing For The Nanofibers Via Electro-Blown Spinning Process", asignado a Nano Technics Co. LTD., enseña un proceso de electrosoplado, en donde la corriente de una solución polimérica que comprende un polímero y un disolvente se introduce desde un tanque de almacenamiento a una serie de boquillas giratorias dentro de una hilera, a la que se aplica un alto voltaje y a través de la cual se descarga la solución polimérica. Mientras tanto, el aire comprimido, que opcionalmente se puede calentar, se libera de las boquillas de aire dispuestas en los lados o en la periferia de la boquilla giratoria. El aire se dirige generalmente hacia abajo como una corriente de gas que sopla y envuelve la solución polimérica recién emitida y ayuda a la formación de la trama fibrosa, que se recoge en una cinta de recogida porosa conectada a tierra por encima de una cámara de vacío. El proceso de electrosoplado permite la formación de cantidades y tamaños comerciales de nanotramas en pesos base que exceden de aproximadamente 1 gsm a más de aproximadamente 40 gsm, en un período de tiempo relativamente corto.
- La publicación de patente de los Estados Unidos núm. 2004/0038014 de Schaefer et al. enseña una esterilla de filtración

- no tejida que comprende una o más capas de una gruesa colección de microfibras y nanofibras poliméricas finas formadas por hilatura electrostática para filtrar contaminantes. El proceso de hilatura electrostática utiliza un aparato de hilatura eléctrica que incluye un depósito en el que está contenida la solución de polímero de formación de fibras finas, una bomba y un dispositivo emisor obtiene la solución de polímero del depósito. En el campo electrostático, una gota de la solución de polímero es acelerada por el campo electrostático hacia un sustrato de medios colectores ubicado en una rejilla. Un potencial electrostático de alto voltaje se mantiene entre el emisor y la rejilla, con el sustrato de recolección colocado entre ellos, por medio de una fuente de voltaje electrostático adecuada.
- La publicación de patente de los Estados Unidos núm. 2007/0075015 de Bates et al. enseña un medio de filtración de líquido que incluye al menos una capa de nanofibras que tienen diámetros promedio inferiores a 1000 nanómetros opcionalmente dispuestos en una capa de malla para filtrar partículas en un líquido. Los medios de filtración tienen tasas de flujo de al menos 0,055 L/min/cm² a niveles relativamente altos de solidez. Aparentemente, los medios tienen tasas de flujo que no disminuyen a medida que las presiones diferenciales aumentan entre 0,14 bar (2 psi) y 1,0 bar (15 psi).
- La publicación de patente de los Estados Unidos núm. 2009/0026137 de Chen enseña la fabricación de un filtro de líquido con un medio compuesto que tiene una nanotrama adyacente y opcionalmente está unida a una membrana microporosa. La membrana se caracteriza por un valor de LRV de 3,7 a un tamaño de partícula nominal, y la nanotrama tiene una eficiencia de filtración fraccional de más de 0,1 en el tamaño de partícula nominal de la membrana. La nanotrama también tiene una relación de eficiencia de espesor de más de 0,0002 a esa eficiencia. La nanotrama actúa para proporcionar filtración profunda a la membrana.
- La patente de Estados Unidos núm. 7,144,533 de Koslow enseña esterillas de nanofibras recubiertas con un agente potenciador de la intercepción microbiológica (como un complejo de metal catiónico) que proporcionan más de 4 LRV de eliminación viral y 6 LRV de eliminación bacteriana.
- La publicación de patente de los Estados Unidos núm. 2009/0199717 de Green enseña un método para formar una capa de fibra electrohilada transportada por la capa de sustrato, la capa de fibras finas incluye una cantidad significativa de fibras con un diámetro de menos de 100 nanómetros.
- Bjorge et al. en Desalination 249 (2009) 942-948 enseñan esterillas de nanofibras de nailon electrohiladas de 50-100 nm de diámetro y 120 um de espesor. El LRV de bacterias medido para las fibras no tratadas en la superficie es 1,6-2,2. Los autores concluyen que la eficiencia de eliminación de bacterias de las esterillas de nanofibras hiladas no es satisfactoria.
- Gopal et al. en Journal of Membrane Science 289 (2007) 210-219, enseñan esterillas de nanofibras de polietersulfona electrohiladas, en donde las nanofibras tienen un diámetro de aproximadamente 470 nm, de modo que durante la filtración de líquidos las esterillas actúan como un tamiz para filtrar partículas por encima de 1 micra y como filtro de profundidad para partículas de menos de 1 micra.
- D. Aussawasathien et al. en Journal of Membrane Science, 315 (2008) 11-19, enseñan nanofibras electrohiladas de 30-110 nm de diámetro utilizadas en la eliminación de partículas de poliestireno (0,5-10 um de diámetro).
- Sería conveniente tener un medio de filtro de nanofibras electrohiladas confiable y adecuado para la eliminación de > 99,9999 % de partículas retrovirales (LRV > 6), a la vez que simultáneamente logre una alta permeabilidad. Estas esterillas de nanofibras tendrían tres ventajas sobre las membranas de eliminación de virus utilizadas tradicionalmente: (1) mayor permeabilidad como resultado de una mayor porosidad, (2) naturaleza independiente (es decir, no se requiere una estructura microporosa de soporte) y (3) potencial para ser utilizado en formato de capa única. Las dos últimas ventajas ofrecen una flexibilidad considerablemente mayor en el diseño y validación de dispositivos de filtración de virus.
- Además, el medio poroso de filtración de nanofibras electrohiladas sería fácilmente escalable, adaptable a volúmenes de procesamiento de fluidos de muestra que van desde mililitros hasta miles de litros, y capaz de usarse con una variedad de procesos y dispositivos de filtración. La invención está dirigida a estos, así como a otros objetivos y realizaciones.
- Resumen de la invención**
- De acuerdo con un primer aspecto de la invención, se proporciona un medio de filtración de nanofibras poroso para eliminar los retrovirus de una muestra líquida, que proporciona un valor de reducción logarítmica (LRV) de retrovirus cuando se analiza contra el bacteriófago PR772 de más de 6, donde el medio comprende: una esterilla de nanofibras porosa formada por nailon electrohilado, la esterilla tiene un grosor de 1 µm a 500 µm; una porosidad del 80 % al 95 %; una permeabilidad al agua a una presión diferencial de 0,69 bar (10 psi) mayor que 1450 LMH/bar (100 LMH/psi) y un diámetro promedio de las fibras de 25-30 nm.
- Preferiblemente, el medio comprende además un punto de burbuja de flujo medio, como se analiza con isopropanol (ASTM E 1294-89) de 8,2 bar (120 psi) a 9,7 bar (140 psi). Convenientemente, la esterilla tiene un grosor de 1 µm a 50 µm. Preferiblemente, el medio comprende además un soporte poroso sobre el cual está dispuesta la esterilla de nanofibras. Convenientemente, el soporte poroso comprende una o más capas seleccionadas del grupo que consiste en materiales no tejidos hilados, materiales no tejidos fusionados por soplado, materiales no tejidos perforados por aguja, materiales no

tejidos hilados por centrifugación, materiales no tejidos tendidos en húmedo, materiales no tejidos unidos con resina, materiales tejidos, tejidos de punto, papel y combinaciones de estos.

5 De acuerdo con un segundo aspecto de la invención, se proporciona un método para eliminar retrovirus de una muestra líquida que comprende los pasos de: a) proporcionar una muestra líquida que contiene retrovirus, b) proporcionar un medio de filtración poroso que contiene nanofibras como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5; y c) hacer pasar la muestra líquida que contiene los retrovirus a través del medio de filtración dando como resultado la retención de retrovirus.

10 Convenientemente, el retrovirus es el virus de la inmunodeficiencia humana (VIH) o el virus de la leucemia de células T humanas (HTLV).

15 De acuerdo con un tercer aspecto de la invención, se proporciona un dispositivo de filtración de líquido que tiene un LRV para retrovirus mayor que 6, cuando se analiza contra el bacteriófago PR772, para usar en la retención de retrovirus extraídos de una muestra líquida que pasa a través del dispositivo, el dispositivo de filtración comprende: i) un medio de filtración poroso de nanofibras electrohiladas como se reivindica en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3; y ii) un soporte poroso, en donde el medio de filtración de nanofibras está dispuesto sobre el soporte poroso.

Preferiblemente, el medio de filtración de nanofibras electrohiladas tiene un tamaño de poro medio de 0,05 µm a 3 µm.

20 20 Convenientemente, el soporte poroso comprende una o más capas seleccionadas del grupo que consiste en materiales no tejidos hilados, materiales no tejidos fusionados por soplado, materiales no tejidos perforados por aguja, materiales no tejidos hilados por centrifugación, materiales no tejidos tendidos en húmedo, materiales no tejidos unidos con resina, materiales tejidos, tejidos de punto, papel y combinaciones de estos.

25 25 Las características y ventajas adicionales de la invención se expondrán en la descripción detallada y en las reivindicaciones siguientes. Debe entenderse que la descripción general anterior y la siguiente descripción detallada, las reivindicaciones, así como los dibujos adjuntos son solo ilustrativos y explicativos, y están destinados a proporcionar una explicación de varias realizaciones de las presentes enseñanzas. Las realizaciones específicas descritas en este documento se ofrecen solo a modo de ejemplo y no pretenden ser limitantes de ninguna manera.

30 30 Breve descripción de los dibujos

Los dibujos adjuntos, que se incorporan y constituyen una parte de esta descripción, ilustran las realizaciones de la invención contempladas en la presente y, junto con la descripción, sirven para explicar los principios de la invención.

35 35 La figura 1 es un esquema del proceso de electrohilado de una nanofibra de acuerdo con una realización de la invención. La figura 2 es una micrografía electrónica de barrido frontal de fibras de nailon de una realización de la invención ejemplificada en el Ejemplo 1.

La figura 3 es una micrografía electrónica de barrido frontal de fibras de nailon de una realización de la invención ejemplificada en el ejemplo 3.

40 40 La figura 4 es un gráfico de distribución de puntos concentrables para una esterilla de fibras de nailon descrita en el Ejemplo 1 y para una membrana retentiva de retrovirus comercial.

La figura 5 es un gráfico del valor de reducción logarítmica (LRV) del bacteriófago PR772 en función del tiempo de centrifugado de una esterilla de nanofibras.

45 45 Descripción de las realizaciones

Para los propósitos de esta memoria descriptiva y de las reivindicaciones adjuntas, a menos que se indique lo contrario, todos los números que expresan cantidades de ingredientes, porcentajes o proporciones de materiales, condiciones de reacción y otros valores numéricos utilizados en la memoria descriptiva y en las reivindicaciones, deben entenderse como modificados en todos los casos por el término "aproximadamente".

50 50 En consecuencia, a menos que se indique lo contrario, los parámetros numéricos establecidos en la siguiente memoria descriptiva y en las reivindicaciones adjuntas son aproximaciones que pueden variar dependiendo de las propiedades deseadas que se pretenden obtener con la presente invención. Como mínimo, y sin intentar limitar la aplicación de la doctrina de equivalentes al alcance de las reivindicaciones, cada parámetro numérico debe interpretarse al menos según el número de dígitos significativos indicados y mediante la aplicación de técnicas de redondeo ordinarias.

60 60 A pesar de que los intervalos numéricos y los parámetros que establecen el amplio alcance de la invención son aproximaciones, los valores numéricos establecidos en los ejemplos específicos se indican con la mayor precisión posible.

Sin embargo, cualquier valor numérico contiene inherentemente ciertos errores que resultan necesariamente de la desviación estándar encontrada en sus respectivas mediciones de ensayo. Además, debe entenderse que todos los intervalos descritos en el presente documento abarcan todos los subintervalos incluidos en los mismos. Por ejemplo, un rango de "1 a 10" incluye todos y cada uno de los subintervalos entre (e incluyendo) el valor mínimo de 1 y el valor máximo de 10, es decir, todos y cada uno de los subintervalos tienen un valor mínimo igual o mayor que 1 y un valor máximo igual o inferior a 10, por ejemplo, 5,5 a 10.

Antes de describir la presente invención con más detalle, se definirán varios términos. El uso de estos términos no limita el alcance de la invención, sino que solo sirven para facilitar la descripción de la invención.

5 Como se usa en la presente memoria, las formas singulares "un", "una" y "el/la" incluyen los referentes plurales a menos que el contexto indique claramente lo contrario.

El término "nanofibras" se refiere a fibras que tienen diámetros que varían desde unas pocas decenas de nanómetros hasta varios cientos de nanómetros, pero generalmente menos de un micrómetro.

10 Los términos "medio de filtro" o medios de filtro" se refieren a un material, o colección de materiales, a través del cual pasa un fluido que transporta un microorganismo contaminante, en donde el microorganismo se deposita en o sobre el material o colección de materiales.

15 Los términos "flujo" y "velocidad de flujo" se usan indistintamente para referirse a la velocidad a la que pasa un volumen de fluido a través de un medio de filtración de un área dada.

El medio de filtración de la presente invención incluye una esterilla porosa de nanofibras electrohiladas para la filtración de líquidos. Las nanofibras tienen un diámetro medio de la fibra de aproximadamente 10 nm a aproximadamente 100 nm. El medio de filtración tiene un tamaño de poro medio que varía de aproximadamente 0,05 um a aproximadamente 1 um.

20 El medio de filtración tiene una porosidad que varía de aproximadamente 80 % a 95 %. El medio de filtración tiene un espesor que varía de aproximadamente 1 µm a aproximadamente 500 µm, preferiblemente de aproximadamente 10 µm y aproximadamente 100 µm. El medio de filtración tiene una permeabilidad a los líquidos mayor que aproximadamente 1450 LMH/bar (100 LMH/psi)

25 Los polímeros adecuados para su uso en las nanofibras de la invención incluyen polímeros termoplásticos y termoendurecibles. Los polímeros adecuados incluyen, entre otros, nílon, poliimida, poliamida alifática, poliamida aromática, polisulfona, acetato de celulosa, polietersulfona, poliuretano, poli(urea uretano), polibencimidazol, polieterinida, poliacrilonitrilo, poli(tereftalato de etileno), polipropileno, polianilina, poli(óxido de etileno), poli(naftalato de etileno), poli(tereftalato de butileno), caucho de estireno butadieno, poliestireno, poli(cloruro de vinilo), poli(alcohol vinílico), poli(fluoruro de vinilideno), poli(vinil butileno), copolímeros, compuestos derivados y mezclas de estos, y combinaciones de estos.

30 El proceso para fabricar la esterilla de nanofibras electrohiladas del medio de filtración se describe en los documentos WO 2005/024101, WO 2006/131081, WO 2008/106903, y cada uno asignado a Elmarco SRO, de Liberec, República Checa.

35 En una realización de la presente invención tal como se representa en la figura 1, el medio de filtración comprende una esterilla porosa 60 hecha de una nanofibra única, en donde la nanofibra individual se obtiene por una sola pasada de un aparato de recogida móvil 30 colocado entre un tambor giratorio 20 y un colector 35 a través del proceso de electrohilado.

40 Se apreciará que la trama fibrosa puede estar formada por uno o más tambores giratorios 20 que se ejecutan simultáneamente sobre el mismo aparato de recogida móvil 30.

En la figura 1, el aparato de recogida móvil 30 es preferiblemente una cinta de recogida móvil situada dentro de un campo electrostático 50 entre el tambor giratorio 20 y el colector 35, en donde una solución de polímero 10 puede someterse a un potencial eléctrico de una fuente de alto voltaje 40, de modo que se produce una fibra polimérica electrohilada en el campo eléctrico 50.

45 En una realización de la invención, se obtiene una esterilla fibrosa depositando nanofibra(s) a partir de una solución de nílon. La esterilla de nanofibra tiene un peso base de entre 1 g/m² y aproximadamente 10 g/m², medido en seco, es decir, después de que el disolvente residual se haya evaporado o se haya eliminado.

50 En una realización de la invención, cualquiera de una variedad de sustratos o soportes porosos de una o varias capas se puede disponer en una cinta de recogida móvil para recoger y combinar con el medio de esterilla de nanofibras electrohiladas, formando un dispositivo de filtración compuesto.

55 Los ejemplos de sustratos o soportes porosos de una o varias capas incluyen, entre otros, materiales no tejidos hilados, materiales no tejidos fusionados por soplado, materiales no tejidos perforados con aguja, materiales no tejidos hilados por centrifugación, materiales no tejidos tendidos en húmedo, materiales no tejidos unidos con resina, materiales tejidos, materiales de punto, papel y combinaciones de estos.

60 En otra realización de la invención, el medio de esterilla de nanofibras electrohiladas que se enseña en la presente memoria puede unirse a un sustrato o soporte poroso. La unión puede lograrse mediante métodos conocidos en la técnica, que incluyen, entre otros, calandrado térmico entre rodillos de presión lisos calentados, unión ultrasónica y unión por gas pasante. La unión del medio de nanofibras electrohiladas a un soporte aumenta la resistencia y la resistencia a la compresión del medio, de modo que el medio pueda resistir las fuerzas asociadas con el manejo, como cuando el medio poroso se forma en un filtro útil y/o se instala en un dispositivo de filtración. Además, las propiedades físicas del medio

poroso de nanofibras electrohiladas como el grosor, la densidad y el tamaño y la forma de los poros pueden verse afectados dependiendo de los métodos de unión utilizados.

5 Por ejemplo, el calandrado térmico puede usarse para reducir el grosor y aumentar la densidad y reducir la porosidad del medio de esterilla de nanofibras electrohiladas, y reducir el tamaño de los poros. Esto a su vez disminuye la velocidad de flujo a través del medio a una presión diferencial aplicada dada.

10 En general, la unión ultrasónica se unirá a un área más pequeña del medio poroso de nanofibras electrohiladas que el calandrado térmico, y por lo tanto tiene un efecto menor sobre el grosor, la densidad y el tamaño de poro.

15 La unión por gas generalmente tiene un efecto mínimo sobre el grosor, la densidad y el tamaño de poro del medio poroso de nanofibras electrohiladas, por lo tanto, este método de unión puede ser preferible en aplicaciones en las que se desea mantener una mayor velocidad de flujo.

20 15 Cuando se utiliza el calandrado térmico, se debe tener cuidado de no unir en exceso el material poroso de nanofibras electrohiladas, de modo que las nanofibras se fundan y ya no conserven su estructura como fibras individuales. En el extremo, la unión excesiva daría como resultado que las nanofibras se fundieran por completo de manera que se formara una película. Uno o los dos rodillos de presión utilizados se calientan a una temperatura de entre aproximadamente la temperatura ambiente, por ejemplo, aproximadamente 25 °C y aproximadamente 300 °C. El medio poroso de nanofibras y/o el soporte o sustrato poroso se pueden comprimir entre los rodillos de presión a una presión que varía de 0 lb/pulg a aproximadamente 1000 lb/pulg (178 kg/cm). El medio poroso de nanofibras se puede comprimir a una velocidad de línea de al menos aproximadamente 10 pies/min (3 m/min).

25 25 Las condiciones de calandrado, por ejemplo, la temperatura del rodillo, la presión en la línea de contacto y la velocidad de línea, se pueden ajustar para lograr la solidez deseada. En general, la aplicación de temperatura, presión y/o tiempo de residencia más altos a temperatura y/o presión elevadas dan como resultado un aumento de la solidez.

30 30 Opcionalmente, se pueden incluir otros pasos mecánicos, tales como estirar, enfriar, calentar, sinterizar, recocer, enrollar, desenrollar y similares, en el proceso general de formación, conformación y fabricación del medio de la esterilla de nanofibras electrohiladas, según se deseé.

35 Por ejemplo, el medio de esterilla de nanofibras electrohiladas que se enseña en la presente memoria puede estirarse en un solo paso o en una pluralidad de pasos, según se deseé. Según el método de estiramiento utilizado para estirar el medio de esterilla de nanofibras electrohiladas, el estiramiento puede ajustar las propiedades físicas de la esterilla, incluido el grosor, la densidad y el tamaño y la forma de los poros formados en la esterilla. Por ejemplo, si la esterilla de nanofibras electrohiladas se estira en una sola dirección (estiramiento uniaxial), el estiramiento puede realizarse mediante un solo paso de estiramiento o una secuencia de pasos de estiramiento hasta que se alcance la relación de estiramiento final deseada.

40 40 De manera similar, si el medio de la esterilla de nanofibras electrohiladas se estira en dos direcciones (estiramiento biaxial), el estiramiento puede realizarse mediante un solo paso de estiramiento biaxial o una secuencia de pasos de estiramiento biaxial hasta alcanzar las relaciones de estiramiento finales deseadas. El estiramiento biaxial también se puede lograr mediante una secuencia de uno o más pasos de estiramiento uniaxial en una dirección, y uno o más pasos de estiramiento uniaxial en otra dirección. Los pasos de estiramiento biaxial donde la esterilla de nanofibras electrohiladas se estira simultáneamente en dos direcciones y los pasos de estiramiento uniaxial se pueden realizar en secuencia en cualquier orden.

45 50 Los métodos para estirar la esterilla no están particularmente limitados, y se puede hacer uso de métodos comunes como estiramiento por sujeción, en rodillos o inflado o una combinación de dos o más de estos. El estiramiento puede realizarse de forma uniaxial, biaxial, etc. En el caso del estiramiento biaxial, el estiramiento en la dirección de la máquina y el estiramiento en la dirección transversal pueden realizarse simultáneamente o sucesivamente.

55 55 En la técnica se conocen diversos tipos de aparatos de estiramiento que pueden usarse para lograr el estiramiento de la esterilla electrohilada de acuerdo con la presente invención. El estiramiento uniaxial generalmente se logra estirando entre dos rodillos en donde el segundo rodillo o rodillo en posición posterior gira a una velocidad periférica mayor que el primer rodillo o rodillo en posición anterior. El estiramiento uniaxial también se puede lograr en una máquina de sujeción estándar.

60 60 El estiramiento biaxial se puede lograr estirando simultáneamente en dos direcciones diferentes en una máquina de sujeción. Sin embargo, más comúnmente, el estiramiento biaxial se logra primero estirando uniaxialmente entre dos rodillos de rotación diferencial como se describió anteriormente, seguido de estiramiento uniaxial en una dirección diferente mediante el uso de una máquina de sujeción o estirando biaxialmente mediante el uso de una máquina de sujeción. El tipo más común de estiramiento biaxial es donde las dos direcciones de estiramiento están aproximadamente en ángulo recto entre sí. En la mayoría de los casos en los que se estira una hoja continua, una dirección de estiramiento es aproximadamente paralela al eje largo de la hoja (dirección de la máquina) y la dirección de estiramiento es al menos aproximadamente perpendicular a la dirección de la máquina y está en el plano de la hoja (dirección transversal).

- Después de que la esterilla de nanofibras electrohiladas se haya estirado ya sea de forma uniaxial o biaxial, la esterilla porosa de nanofibras electrohiladas que se ha estirado se puede volver a calandrar. La esterilla de nanofibras electrohiladas estirada puede estar en un par de rodillos de calandrado calentados que actúan cooperativamente para formar una esterilla de espesor reducido en comparación con la esterilla que sale del aparato de estiramiento. Al regular la presión ejercida por estos rodillos de calandrado junto con la temperatura, el tamaño de poro de la esterilla de nanofibras electrohiladas final se puede controlar según se deseé, para así ajustar el tamaño de poro promedio.
- La esterilla de nanofibras electrohiladas puede calentarse mediante cualquiera de una amplia variedad de técnicas antes, durante y/o después del estiramiento. Los ejemplos de estas técnicas incluyen el calentamiento radiativo, como el que proporcionan los calentadores infrarrojos calentados eléctricamente o de gas, el calentamiento convectivo, como el que proporciona la recirculación de aire caliente, y el calentamiento conductivo, como el que proporciona el contacto con rodillos calentados. Las temperaturas que se miden con fines de control de temperatura pueden variar según el aparato utilizado y las preferencias personales.
- En general, la temperatura o las temperaturas se pueden controlar de manera que la esterilla de nanofibras electrohiladas se estire de manera uniforme, de modo que las variaciones, si las hay, en el grosor de la esterilla estirada estén dentro de límites aceptables y que la cantidad de esterilla de nanofibras electrohiladas microporosa estirada fuera de esos límites sea acceptablemente baja. Será evidente que las temperaturas utilizadas para fines de control pueden estar cercanas a las de la esterilla de nanofibras electrohiladas ya que dependen de la naturaleza del aparato utilizado, las ubicaciones de los dispositivos de medición de temperatura y las identidades de las sustancias o los objetos cuyas temperaturas se miden.
- La porosidad puede modificarse como resultado del calandrado. Se puede obtener el rango de porosidad de aproximadamente 5 % a aproximadamente 90 %.
- Si bien el medio de filtración a menudo se usa en una configuración de capa única, a veces es ventajoso proporcionar más de una capa de medio de filtración adyacente entre sí. Las capas en los filtros de membranas para mejorar la retención de partículas se usan comúnmente en la filtración de virus y se llevan a la práctica comercialmente en las líneas de productos Millipore de Viresolve® NFP y Viresolve Pro®. Los medios de filtración en capas de la misma o diferente composición también se utilizan para mejorar el rendimiento del filtro. Ejemplos de filtros en capas son las líneas de productos Millipore's Express® SHC y SHRP.
- Otras consideraciones para elegir un producto de filtración de varias capas incluyen la economía y la conveniencia de la fabricación de medios y dispositivos, la facilidad de esterilización y la validación. Los medios de filtración fibrosos de la presente invención pueden usarse en una configuración de una sola capa o de múltiples capas.
- La configuración de capa preferida a menudo se selecciona en base a consideraciones prácticas. Estas consideraciones tienen en cuenta la relación conocida entre el LRV y el grosor, de manera que el LRV generalmente aumenta con el grosor. Un profesional puede seleccionar múltiples formas de lograr el nivel deseado de LRV, por ejemplo, utilizando menos capas de mayor grosor o un mayor número de capas más delgadas.
- #### Métodos de prueba
- El peso base se determinó por ASTM D-3776, que se incorpora en la presente memoria como referencia y se informa en g/m².
- La porosidad se calculó dividiendo el peso base de la muestra en g/m² por la densidad del polímero en g/cm³, por el espesor de la muestra en micrómetros, multiplicando por 100, y restando el número resultante de 100, es decir, porosidad = 100 - [peso base/(densidad x espesor) x 100].
- El diámetro de la fibra se determinó de la siguiente manera. Se tomó una imagen de microscopio electrónico de barrido (SEM) con un aumento de 60 000 veces de cada lado de la muestra de la esterilla de nanofibras. Se midió el diámetro de diez (10) nanofibras claramente distinguibles de cada imagen SEM y se registró. No se incluyeron defectos (es decir, grumos de nanofibras, gotas de polímero, intersecciones de nanofibras). Se calculó el diámetro promedio de las fibras de ambos lados para cada muestra.
- El espesor se determinó según ASTM 1777-64, que se incorpora en la presente memoria como referencia, y se informa en micrómetros.
- El punto de burbuja de flujo medio se midió de acuerdo con ASTM Designación E 1294-89, "Standard Test Method for Pore Size Characteristics of Membrane Filters Using Automated Liquid Porosimeter" mediante el método de punto de burbuja automatizado de ASTM Designación F 316 utilizando un porosímetro de flujo capilar personalizado, en principio similar a un aparato comercial de Porous Materials, Inc, (PMI), Ithaca, NY. Las muestras individuales de 25 mm de diámetro se humedecieron con alcohol isopropílico. Cada muestra se colocó en un soporte, y se aplicó una presión diferencial de aire y el fluido se retiró de la muestra. La presión diferencial a la que el flujo húmedo es igual a la mitad del flujo seco (flujo sin disolvente humectante) se usa para calcular el tamaño medio de poro del flujo utilizando el software

suministrado.

La velocidad de flujo (también conocida como flujo) es la velocidad a la que el fluido pasa a través de la muestra de un área determinada y se midió haciendo pasar agua desionizada a través de muestras de medio de filtro que tienen un diámetro de 47 mm (9,6 cm² de área de filtración). El agua fue forzada a través de las muestras mediante el uso de presión hidráulica (presión de la columna de agua) o presión neumática (presión de aire sobre el agua).

El tamaño de poro efectivo de una esterilla electrohilada se puede medir utilizando técnicas de membrana convencionales como el punto de burbuja, la porometría líquido-líquido y la prueba de desafío con partículas de cierto tamaño. Se sabe que el tamaño de poro efectivo de una esterilla fibrosa generalmente aumenta con el diámetro de la fibra y disminuye con la porosidad.

La prueba de punto de burbuja proporciona una forma conveniente de medir el tamaño efectivo de poro. Se calcula a partir de la siguiente ecuación: $P = \frac{2\gamma}{r} \cos \theta$ donde P es la presión del punto de burbuja, γ es la tensión superficial del fluido de la sonda, r es el radio de poro y θ es el ángulo de contacto líquido-sólido.

Los fabricantes de membranas asignan clasificaciones nominales del tamaño de poro a los filtros de membrana comerciales, que se basan en sus características de retención.

La retención de retrovirus se probó siguiendo un método de prueba de Millipore. La corriente de desafío con bacteriófagos PR772 se preparó con un título mínimo de $1,0 \times 10^7$ pfu/ml en una solución salina tamponada con fosfato (PBS). Los medios porosos a ensayar se cortaron en un disco de 25 mm y se sellaron en dispositivos de polipropileno sobremoldeados. Estos dispositivos fueron desafiados por la corriente mencionada anteriormente a una presión de 0,34 bar (5 psi) después de humedecerse con agua a una presión de 1,7 bar (25 psi). La prueba se terminó después de 100 ml de recolección de filtrado o después de 4 horas de filtración, lo que ocurriera primero. La cuantificación del bacteriófago en la introducción inicial y final se realizó en placas incubadas durante la noche usando una caja de luz y un contador de colonias. Se calcularon los valores de retención logarítmica (LRV) correspondientes.

Los siguientes ejemplos de la presente invención demostrarán que una esterilla de nanofibras electrohiladas puede poseer simultáneamente alta permeabilidad y alta retención de bacterias.

En lo sucesivo, la presente invención se describirá con más detalle en los siguientes ejemplos. La invención se aclarará adicionalmente mediante los siguientes ejemplos que pretenden ser ilustrativos de la invención.

Ejemplos

Ejemplo 1

Las capas de nanofibras se obtuvieron mediante solución de electrohilado del polímero Nylon 6. El nylon 6 fue suministrado por BASF Corp., Florham Park, NJ, EE. UU., bajo la marca comercial Ultramid B24. La solución de hilatura se preparó como una solución madre de nylon al 20 % en una mezcla de ácidos acético y fórmico (relación de peso 2:1) durante 5 horas a 80 °C y la solución madre se diluyó adicionalmente en una solución de polímero al 13 % en peso y relación de disolvente 2:2:1 de ácido fórmico:acético: agua, respectivamente, con las adiciones necesarias de ácido fórmico y agua. La viscosidad de la solución resultante es de aproximadamente 100 cP. La solución se centrifugó inmediatamente mediante el uso de un electrodo giratorio de 6 hilos bajo un campo eléctrico de 82 kV. Se usó un material no tejido con revestimiento antiestático para soportar la esterilla de nanofibra durante el electrohilado. El diámetro de fibra promedio de la esterilla electrohilada producida fue de aproximadamente 25-30 nm. El tiempo de centrifugado fue de 30 minutos, después de lo cual la capa de nanofibras se retiró de la esterilla, se distribuyó en capas y se colocó en dispositivos sobremoldeados para las pruebas de retención.

La Figura 2 representa una micrografía electrónica de barrido frontal de fibras de nylon electrohiladas ejemplificadas en el Ejemplo 1.

La Tabla 1 muestra una comparación lateral de dos muestras "totalmente retenedoras de retrovirus": una es una membrana de fundición por inmersión convencional (Retropore®) y la otra es una esterilla de nanofibras electrohiladas. La permeabilidad al agua se informa para una configuración de 3 capas para Retropore® y una configuración de 2 capas (tiempo de centrifugado de 30 minutos) para los medios de nanofibras, ya que ese es el número correspondiente de capas típicamente necesarias para retener > 6 logs de retención de retrovirus.

Tabla 1. Comparación de muestras totalmente retentivas (LRV> 6,2) en el formato del dispositivo; Membrana NFR frente a nanofibras electrohiladas:

	Membrana Retropore®	Nanofibra electrohilada	
5	Punto de burbuja IPA de flujo medio (psi)	122	132
10	Espesor (um)	438*	40**
15	Porosidad (%)	70	90
	Permeabilidad al agua (LMH/psi)	35*	300**
	Retención de retrovirus (LRV)	> 6,2*	> 6,2**
	Medido en una combinación de tres capas de metnorano		
	** Medido en una esterilla de dos capas		

20 La Figura 4 representa un gráfico de la distribución del punto de burbuja para la esterilla de fibras de nailon llevada a la práctica en el Ejemplo 1 y para una membrana comercial y que retiene retrovirus (Retropore®).

Ejemplo 2. Se siguió el procedimiento del Ejemplo 1. El tiempo de centrifugado varió de 5 a 60 minutos (Figura 5). La 25 retención de PR772 se probó para una sola capa de cada esterilla de nanofibras. La retención del bacteriófago PR772 de las esterillas de nanofibras electrohiladas aumentó con el aumento del tiempo de centrifugado (aumento del grosor de la esterilla).

La figura 5 es un gráfico del valor de reducción logarítmica (LRV) del bacteriófago PR772 en función del tiempo de centrifugado de una esterilla de nanofibras.

30 Ejemplo 3. Se siguió el procedimiento del Ejemplo 1, donde el sistema de disolvente para nailon fue ácido fórmico/agua en una relación de peso 4:1. El diámetro de fibra medido de la esterilla electrohilada producida estaba en el rango de 25-30 nm, y el punto de burbuja IPA promedio en el rango de 8,2 bar (120 psi) a 9,7 bar (140 psi). Las muestras con tiempo 35 de centrifugado de 30 minutos fueron completamente retentivas de retrovirus (LRV) para el bacteriófago PR772> 6,2). La figura 3 representa una micrografía electrónica de barrido frontal de la fibra de nailon como se ejemplifica en el ejemplo 3.

Procedimiento de uso

40 Los medios de filtración de líquidos que contienen nanofibras electrohiladas, de acuerdo con la presente invención, son útiles en las industrias de alimentos, bebidas, productos farmacéuticos, biotecnología, microelectrónica, procesamiento químico, tratamiento de aguas y otros tratamientos de líquidos.

45 Los medios de filtración de líquidos que contienen nanofibras electrohiladas, de acuerdo con la presente invención, pueden usarse para filtrar, separar, identificar y/o detectar microorganismos de una muestra o corriente líquida.

Los medios de filtración de líquidos que contienen nanofibras electrohiladas, de acuerdo con la presente invención, se 50 pueden usar con cualquier método de preparación de muestras líquidas que incluye, entre otros, cromatografía; cromatografía líquida de alta presión (HPLC); electroforesis; filtración en gel; centrifugación de muestras; preparación de muestras en línea; pruebas de kits de diagnóstico; prueba de diagnóstico; tamizaje de alto rendimiento; ensayos de unión por afinidad; purificación de una muestra líquida; separación basada en el tamaño de los componentes de la muestra de fluido; separación basada en las propiedades físicas de los componentes de la muestra de fluido; separación basada en las propiedades químicas de los componentes de la muestra de fluido; separación basada en las propiedades biológicas de los componentes de la muestra de fluido; y combinaciones de estos. Además, los medios de filtración de líquidos que contienen nanofibras 55 electrohiladas, de acuerdo con la presente invención, pueden ser componentes o parte de un dispositivo y/o sistema más grande.

Kits

60 Se describen kits que pueden usarse para eliminar microorganismos de una muestra líquida. El kit puede comprender, por ejemplo, uno o más medios de filtración de líquido que contienen nanofibras electrohiladas de acuerdo con la presente invención, así como uno o más dispositivos de filtración de líquidos, soporte o sustrato para el medio. El kit puede contener uno o más controles, y opcionalmente puede incluir varios tampones útiles en los métodos para llevar a la práctica la invención, tales como tampones de lavado para eliminar reactivos o eliminar material no específicamente retenido o unido 65 puede incluirse opcionalmente en el kit.

- Otros reactivos opcionales del kit incluyen un tampón de elución. Cada uno de los tampones puede proporcionarse en un contenedor separado como una solución. Alternativamente, los tampones pueden proporcionarse en forma seca o en polvo y pueden prepararse como una solución de acuerdo con la aplicación deseada por el usuario. En este caso, los tampones pueden proporcionarse en paquetes. El kit puede proporcionar una fuente de alimentación en los casos en que el dispositivo esté automatizado, así como un medio para proporcionar una fuerza externa, tal como una bomba de vacío. El kit también puede incluir instrucciones para usar el medio de filtración de líquido que contiene nanofibras electrohiladas, el dispositivo, el soporte o el sustrato, y/o para preparar reactivos adecuados para usar con la invención, y métodos para llevar a la práctica la invención. También puede incluirse un software opcional para registrar y analizar los datos obtenidos cuando se llevan a la práctica los métodos de la invención o cuando se usa el dispositivo de la invención.
- 5
- El término "kit" incluye, por ejemplo, cada uno de los componentes combinados en un solo paquete, los componentes empaquetados individualmente y vendidos juntos, o los componentes presentados juntos en un catálogo (por ejemplo, en la misma página o en el pliego de dos páginas del catálogo).
- 10
- La descripción expuesta anteriormente puede abarcar múltiples invenciones distintas con utilidad independiente. Aunque cada una de estas invenciones se ha descrito en su(s) forma(s) preferida(s), las realizaciones específicas de la misma tal como se describen e ilustran en la presente memoria no deben considerarse en un sentido limitante.
- 15

REIVINDICACIONES

1. Un medio de filtración poroso de nanofibras para eliminar retrovirus de una muestra líquida, que proporciona un valor de reducción logarítmica (LRV) de retrovirus cuando se analiza contra el bacteriófago PR772 de más de 6, el medio comprende:
 5 una esterilla porosa de nanofibras formada por nailon electrohilado, la esterilla tiene un espesor de 1 µm a 500 µm; una porosidad del 80 % al 95 %;
 una permeabilidad al agua a una presión diferencial de 0,69 bar (10 psi) mayor que 1450 LMH/bar (100 LMH/psi) y un diámetro promedio de las fibras de 25-30 nm.
 10
2. El medio de conformidad con la reivindicación 1, que comprende además un punto de burbuja de flujo medio, según se analiza con isopropanol (ASTM E 1294-89) de 8,2 bar (120 psi) a 9,7 bar (140 psi).
 15
3. El medio de conformidad con la reivindicación 1 o la reivindicación 2, que tiene un espesor de 1 µm a 50 µm.
 15
4. El medio de conformidad con cualquier reivindicación precedente, que comprende además un soporte poroso sobre el cual se dispone la esterilla de nanofibras.
 20
5. El medio de conformidad con la reivindicación 4, en donde el soporte poroso comprende una o más capas seleccionadas del grupo que consiste en materiales no tejidos unidos por hilado, materiales no tejidos fusionados por soplado, materiales no tejidos perforados con aguja, materiales no tejidos hilados por centrifugación, materiales no tejidos tendidos en húmedo, materiales no tejidos unidos por resina, materiales tejidos, tejidos de punto, papel, y combinaciones de estos.
 25
6. Un método para eliminar retrovirus de una muestra líquida que comprende los pasos de:
 a) proporcionar una muestra líquida que contiene retrovirus,
 b) proporcionar un medio de filtración poroso que contiene nanofibras de acuerdo con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5; y
 c) pasar la muestra líquida que contiene los retrovirus a través del medio de filtración, lo que da como resultado la retención de los retrovirus.
 30
7. El método de conformidad con la reivindicación 6, en donde el retrovirus es el Virus de Inmunodeficiencia Humana (VIH) o el virus de la leucemia de células T humanas (HTLV).
 35
8. Un dispositivo de filtración de líquido que tiene un LRV para retrovirus mayor que 6, cuando se analiza contra el bacteriófago PR772, para usar en la retención de retrovirus extraídos de una muestra líquida que pasa a través del dispositivo, el dispositivo de filtración comprende:
 i) un medio de filtración poroso de nanofibras electrohiladas de conformidad con cualquiera de las reivindicaciones 1 a 3; y
 ii) un soporte poroso,
 en donde el medio de filtración de nanofibras se dispone sobre el soporte poroso.
 40
9. El dispositivo de conformidad con la reivindicación 8, en donde el soporte poroso comprende una o más capas seleccionadas del grupo que consiste en materiales no tejidos unidos por hilado, materiales no tejidos fusionados por soplado, materiales no tejidos perforados con aguja, materiales no tejidos hilados por centrifugación, materiales no tejidos tendidos en húmedo, materiales no tejidos unidos por resina, materiales tejidos, tejidos de punto, papel y combinaciones de estos.
 45

50

55

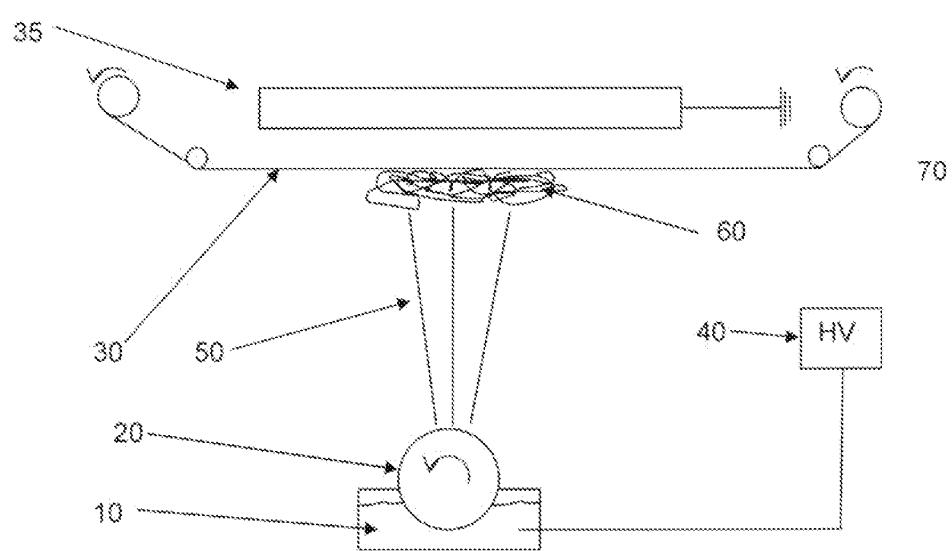


Figura 1

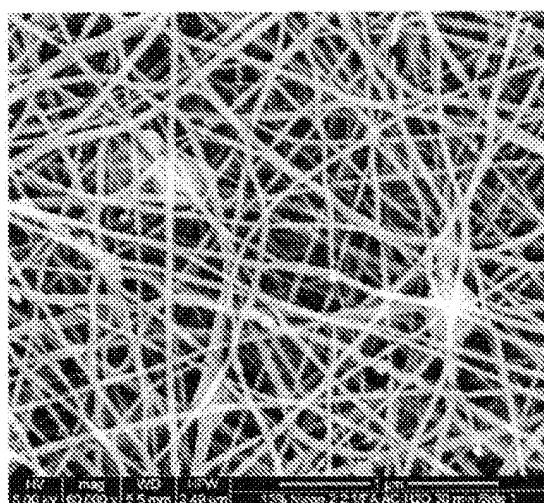


Figura 2

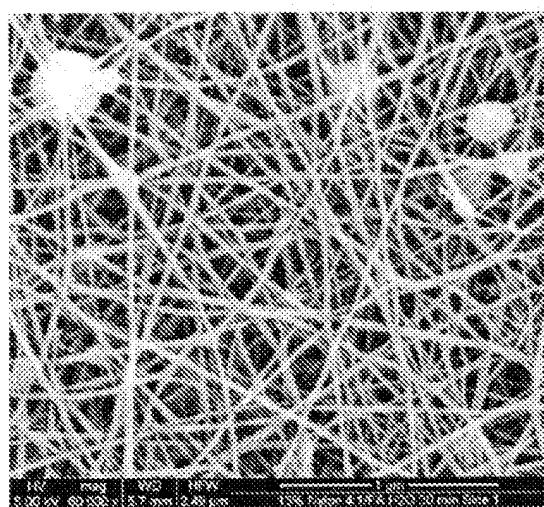


Figura 3

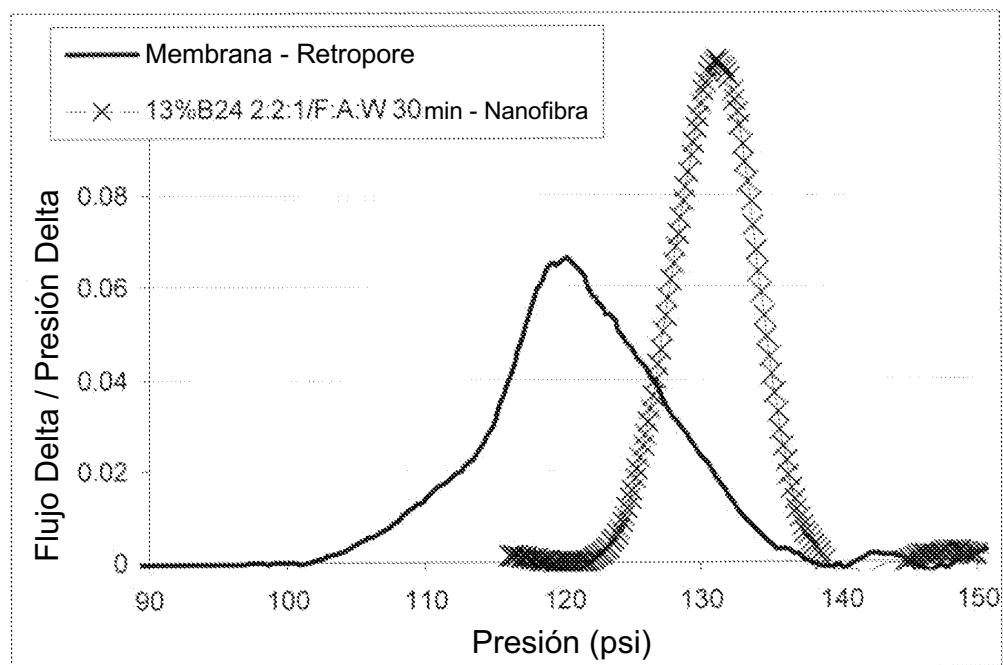


Figura 4

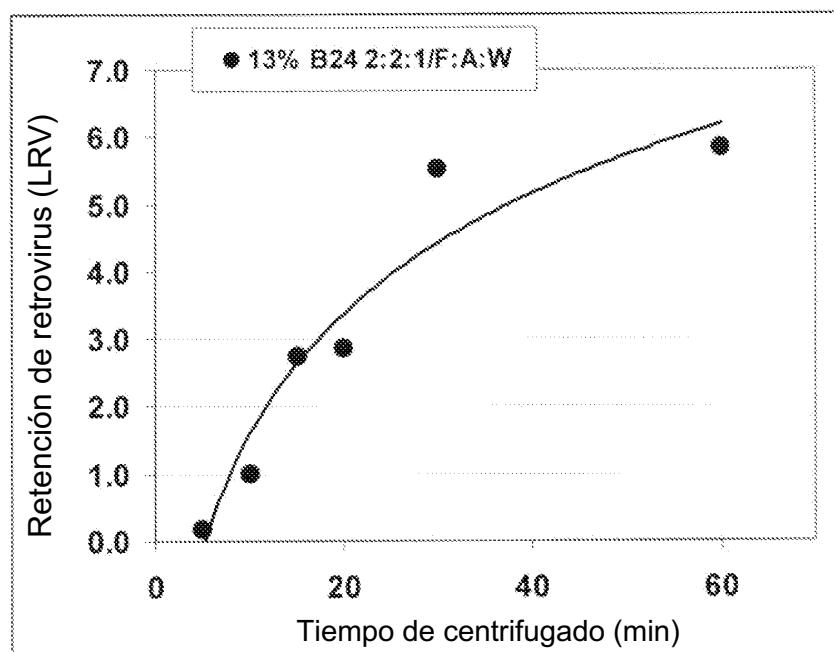


Figura 5