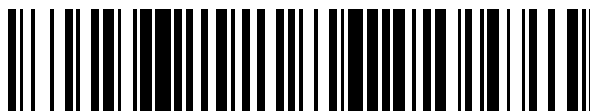


19



OFICINA ESPAÑOLA DE
PATENTES Y MARCAS

ESPAÑA



11 Número de publicación: **2 432 355**

51 Int. Cl.:

B01D 39/16 (2006.01)

B01D 39/18 (2006.01)

12

TRADUCCIÓN DE PATENTE EUROPEA

T3

96 Fecha de presentación y número de la solicitud europea: **04.12.2003** **E 03790347 (3)**

97 Fecha y número de publicación de la concesión europea: **04.09.2013** **EP 1572320**

54 Título: **Dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda**

30 Prioridad:

19.12.2002 US 324774

45 Fecha de publicación y mención en BOPI de la traducción de la patente:
02.12.2013

73 Titular/es:

EMD MILLIPORE CORPORATION (100.0%)
290 CONCORD ROAD
BILLERICA MASSACHUSETTS 01821, US

72 Inventor/es:

YAVORSKY, DAVID, P.;
ROYCE, JONATHAN;
ALEXANDER, MATTHEW y
RAMAN, VEN, ANANTHA

74 Agente/Representante:

DE ELZABURU MÁRQUEZ, Alberto

ES 2 432 355 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

Dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda

Campo

- 5 Por lo general, la presente invención se refiere a un dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda que comprende capas de material de filtración bien adaptadas para la clarificación primaria o secundaria de fluidos biofarmacéuticos elaborados.

Antecedentes

- 10 Los filtros con profundidad (*por ej.*, filtros con profundidad de gradiente de densidad) logran una filtración dentro de la profundidad del material de filtro. Una clase común de tales filtros son aquellos que comprenden una matriz aleatoria de filtros, unida (o de lo contrario fija), para formar una maza tortuosa, compleja, de canales de fibra. La separación de partículas en estos filtros generalmente resulta del atrapamiento de, o la adsorción a, la matriz de fibra. En filtros con profundidad de gradiente de densidad, varios con base en materiales de filtro de fibra (*por ej.*, en formato de estera o almohadilla) con un tamaño de poro nominal diferente se disponen secuencialmente en una retención progresivamente en aumento.

- 15 Las tecnologías actuales relativas a la filtración con profundidad, en particular para aplicaciones que requieren la eliminación de partículas de submicrones, se limitan a capas de material de filtración comparativamente delgadas. Con respecto a aplicaciones biofarmacéuticas comunes, los dos materiales de filtro con profundidad basados en filtro de clarificación más populares son almohadillas de fibra sintética, de gradiente de densidad, secas y láminas de fibra de celulosa húmedas (con o sin auxiliares de filtro inorgánico incrustados). En cualquier caso, la profundidad (o
20 espesor) del material de filtro general está invariablemente restringida a menos que 10 milímetros (0,394 pulgadas), principalmente debido a la alta resistencia hidráulica (*es decir*, caída de la presión nativa por unidad de flujo de fluido por área de unidad) del material de filtro. Por consiguiente, para asegurar una tasa rápida aceptable de rendimiento de fluido, los filtros con profundidad basados en fibras se basan en materiales y formatos de filtro convencionales y se diseñan con un ojo puesto en la maximización del área de filtro de superficie.

- 25 La predisposición convencional hacia el uso de materiales de filtro de gran área de superficie es evidente en la amplia popularidad del diseño lenticular de tipo platillo de los filtros con profundidad basados en fibras convencionales para procesos de clarificación de fluidos farmacéuticos y biofarmacéuticos. Véase *por ej.*, la Figura 7A. En la práctica, varios de estos "platos" con doble cara se apilan dentro de un compartimiento externo para lograr una filtración paralela (*es decir*, contemporáneamente a través de cada "plátón") de fluido traído al
30 compartimiento. Los ejemplos de este diseño de un sistema de filtro común pueden hallarse en, *por ejemplo*, la Patente de los Estados Unidos Núm. 4.783.262, concedida a E.A. Ostreicher et al. el 8 de Noviembre a 1988; y la Patente de los Estados Unidos Núm. 5.055.192, concedida a A. Artinyan et al. el 8 de Octubre de 1991.

- 35 En general, los sistemas de filtro de profundidad de gran área son voluminosos, proclives a una escasa confiabilidad, y a menudo tienen costos de elaboración elevados. A menudo, se requiere una disposición extensiva de sellos de medio para mantener al sistema "ajustado" y/o para que no tenga fugas. Asimismo, a diferencia de los medios de filtro de superficie, -tales como películas o membranas porosas que, típicamente, pueden empacarse en forma efectiva en un cartucho envuelto o plegado debido a su delgadez relativa- los medios de filtro con profundidad no toleran tan bien las tensiones mecánicas típicas de la fabricación de cartuchos de gran área de superficie.

- 40 Los sistemas de filtro con profundidad de gran área también tienden a ser lentos. Es bien sabido que el rendimiento de la filtración del filtro con profundidad basado en fibras convencionales, de acuerdo con lo medido por la capacidad del filtro (*es decir*, carga de sólidos) o retención de partículas o ambos, en general aumenta a medida que se reduce la velocidad o caudal de flujo del fluido. La captura de partículas - por tamaño y cantidad - es generalmente más efectiva cuanto más lento sea el viaje de las partículas a través de un medio de filtro delgado. (Los mecanismos subyacentes a la captura de partículas no son bien comprendidos, pero probablemente incluyen tamizado,
45 adsorción, y compresión). Los caudales lentos (por área de unidad) también minimizan las presiones operantes requeridas que, en cualquier caudal de flujo superior, pueden no ser prácticas para el medio de filtro de alta densidad (baja permeabilidad) empleado en tales aplicaciones.

En vista de lo anterior, actualmente existe una necesidad por un dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda de alta capacidad compacto que sea confiable, robusto, y de elaboración fácil.

- 50 El documento GB 1271867 A describe un dispositivo de filtro que se forma enrollando varios medios de lámina con diámetros o asperezas de malla diferentes para formar una estructura con capas múltiples enrollada. Como una medida para aumentar la capacidad del dispositivo se insertan espaciadores estructurales separados entre los rollos para crear espacios o huecos entre las capas del medio de filtro.

- 55 El documento US 5716522 A) describe un filtro de combustible de medio con profundidad no tejido que se pretende para uso dentro de un tanque de combustible de un vehículo y, en especial, en una entrada de una boba de combustible dentro de un tanque.

El documento US 4714647 A describe un método de formación de un medio de filtro, preferiblemente por el uso de filtros HEPA y pre-HEPA, por la deposición secuencial de capas de fibras termoplásticas sopladas con fundición, en las que todas tienen la misma composición pero tamaños diferentes, sobre un colector. Por lo tanto, un medio de filtro con profundidad o densidad de gradiente se forma con la misma composición de fibra.

- 5 El documento WO 0053286 desvela un medio de filtración de depleción de leucocitos que incorpora fibras altamente fibriladas distribuidas entre una matriz de fibras.

Compendio

- 10 En respuesta a la necesidad anterior, la presente invención proporciona un dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda con las características de la reivindicación 1. Este dispositivo de filtro tiene, en comparación con sus pilares funcionales, un intervalo más "abierto" de tamaño de poro nominal a lo largo de la profundidad de su material de filtración, que, a pesar de la aparentemente mayor permeabilidad intrínseca del mismo, proporciona una capacidad de retención comparablemente buena, debido a (por lo menos en parte) el espesor sin precedentes de dicho material de filtración. Por medio de su énfasis en el espesor del filtro, en lugar del área de superficie, se cree que la presente invención representa una nueva y pionera plataforma para una filtración de profundidad, apartándose notablemente de cualquier enfoque convencional conocido.

15 El filtro de gradiente de densidad profunda de la invención está caracterizado, entre otra características, por las capacidades de retención definidas en forma cuantificable, el espesor colectivo (es decir, mayor que media pulgada) de su material de filtración, y por su incorporación de fibra fibrilada como un material de filtración primario.

- 20 El dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda es definido en particular en esta memoria como que comprende en orden: una zona de prefiltración que comprende capas de material de filtración capaces de retener partículas dentro de un primer intervalo de distribución por tamaño: una zona de filtración primaria que comprende por lo menos una capa de fibra fibrilada que contiene un material capaz de retener partículas dentro de un segundo intervalo de distribución por tamaño menor que dicho primer intervalo de distribución por tamaño; y una zona de pulido que comprende capas de un material de filtración capaz de retener partículas dentro de un tercer intervalo de distribución por tamaño menor que dicho segundo intervalo de distribución por tamaño.

- 25 El dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda tiene una profundidad de por lo menos 0,5 pulgadas (1,27 cm) y es capaz de filtrar un fluido que contiene una distribución de partículas en el intervalo de aproximadamente 25 micrones a aproximadamente 0,2 micrones. La zona de prefiltración comprende capas de un material de filtración y es capaz de retener partículas en el intervalo de 25 micrones a 1 micrón, la zona de filtración primaria comprende materiales de filtración y es capaz de retener partículas en el intervalo de 1 micrón a 0,3 micrones, y la zona de pulido comprende capas de un material de filtración, y es capaz de retener partículas en el intervalo de 0,3 micrones a aproximadamente 0,2 micrones. Las capacidades de retención de la zona de prefiltración, la zona de filtración primaria, y la zona de pulido respectivamente, están establecidas en una velocidad de fluido de por lo menos aproximadamente 100 cm/hr y una permeabilidad hidráulica inicial mayor que 1,45 cm/h/kPa (10cm/hr/ps).

- 35 Si bien los usos potenciales del dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda son varios, en una aplicación preferible, el filtro de gradiente de densidad profunda se utiliza para la clarificación de fluidos biofarmacéuticos que dan lugar a la producción de productos biológicos farmacéuticos y terapéuticos. En particular, para aquellos biofarmacéuticos producidos a partir de células genéticamente modificadas y/o de lo contrario manipuladas, el dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda se utiliza en la cosecha inicial de productos extracelulares (por ej., proteínas solubles) luego de la fermentación y/o la clonación. El dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda se implementa para eliminar esencialmente todos los sólidos suspendidos en la cosecha hasta un nivel suficiente para la filtración estéril directa efectiva posterior o procesamiento cromatográfico (por ej., intercambio de iones, afinidad, etc.).

- 45 A la luz de lo anterior, un aspecto principal de la presente invención es que proporciona un dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda que está bien adaptado para la clarificación primaria o secundaria de un fluido biofarmacéutico elaborado, el dispositivo de filtro es robusto, se puede elaborar e implementar de manera económica, y tiene una buena capacidad y una buena fiabilidad.

- 50 Otro aspecto de la presente invención es que proporciona un dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda, el material de filtro del mismo tiene un espesor de por lo menos media pulgada (en la dirección de la vía de flujo primaria a través de dicho material), y tiene entre sus varias capas de componente, una capa de material de fibra fibrilada.

Otro objetivo de la presente invención es proporcionar un método para la filtración de un fluido biofarmacéutico elaborado en una velocidad de fluido comparativamente alta y estable por el uso de un dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda grueso.

- 55 Para una comprensión más completa de la naturaleza y los objetivos de la presente invención, la siguiente descripción detallada se debe considerar en conjunción con los dibujos adjuntos.

Breve Descripción de los Dibujos

Por lo general, cada una de las Figuras 1 a 7 proporcionan ilustraciones representativas esquemáticas, predominantemente de la invención y/o de sus capacidades. La ubicación relativa, formas, y/o tamaños de los objetos y/o gráficos de datos se pueden exagerar para facilitar la discusión y la presentación en esta memoria.

- 5 La Figura 1 ilustra en forma esquemática un dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda 100, construido de acuerdo con una realización de la presente invención, que comprende una zona de prefiltración 20, una zona de filtración primaria 30, y una zona de pulido 40.

La Figura 2 ilustra en forma esquemática una construcción posible de la zona de prefiltración 20.

La Figura 3 ilustra en forma esquemática una construcción posible de la zona de filtración primaria 30.

- 10 La Figura 4 ilustra en forma esquemática una construcción posible de la zona de pulido 40.

La Figura 5 es un gráfico idealizado que representa los perfiles de retención de partículas atribuibles a dicha zona de prefiltración 20, dicha zona de filtración primaria 30, y dicha zona de pulido 40.

- 15 Las Figuras 6A y 6B son gráficos que ilustran la relación entre la presión y el rendimiento en una unidad de filtro profundo basado en fibras de la técnica anterior y un dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda 100 de acuerdo con la presente invención.

Las Figuras 7A y 7B son ilustraciones esquemáticas de una forma general básica popular de una unidad de filtro profundo basado en fibras de la técnica anterior y la forma de un dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda 100 de acuerdo con la presente invención.

Descripción detallada

- 20 La presente invención proporciona un dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda, caracterizado por su disposición estratificada gruesa de material de filtración por lo general basado en fibras, el dispositivo es útil en particular para la clarificación de fluidos biofarmacéuticos producidos en forma industrial. Entre sus varias variaciones posibles, el dispositivo se puede configurar como una unidad compacta, fácilmente instalable y reemplazable que es capaz de lograr un grado de rendimiento de filtración hallado en la actualidad en filtros de profundidad sustancialmente más grandes, más voluminosos, y más costosos.

- 25 En la realización de la invención ilustrada en la Figura 1, el dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda 100 comprende numerosas capas permeables de fluido de un material de filtración esencialmente basado en fibras dispuestas en intervalos perpendiculares a una dirección de corriente de fluido principal pretendida F, distanciada próxima una detrás de la otra, la pila T es colectivamente mayor que media pulgada de espesor e incluyendo como su material de filtro "primario" una capa de fibra fibrilada (*compárese*, zona de filtración primaria 30). La pila T es deseablemente rígida y densa, pero la invención es más bien robusta en su diseño, y puede tolerar la presencia de ligeros espacios de aire entre las capas.

- 30 Si bien el uso de una fibra altamente fibrilada (en particular, fibra de algodón suelta) como el material de filtración primario en un dispositivo de filtro de gradiente de densidad se considera como sin precedentes en su propio alto rendimiento de filtración se mejora si se configura de acuerdo con los criterios estructurales novedosos (*compárese* espesor) descrito en esta memoria. Los criterios estructurales por lo general producen una pila T unitaria de material de filtración que es notablemente más espesa que cualquier dispositivo de filtro de profundidad comparable basado en fibras conocido hasta la fecha, y en muchas instancias, se parece a un tubo o bote (véase, la Figura 7b), en lugar de la apariencia familiar similar a un platillo o disco de las unidades de filtro individuales (véase, la Figura 7a) que a menudo se utilizan en múltiples en dichos filtros de profundidad comparable. Esto representa un cambio sustancial en la estructura general del filtro de profundidad convencional de uno de profundidad limitada y área de superficie frontal alta a uno de mucha mayor profundidad y proporcionalmente menor área frontal para el mismo volumen de material de filtro.

- 35 La estructura del dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda 100 se puede describir con respecto a su "proporción del área frontal con el volumen". La proporción del área frontal con el volumen se calcula por medio de la división del área de superficie de la capa conductora de material de filtración por el volumen total ocupado por la pila de material de filtración.

- 40 Como se emplea en esta memoria, la "capa conductora" es la capa que primero se afecta cuando el fluido se pasa a través del dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda. Dado que en todas las realizaciones prácticas las capas de material de filtración se apilarán una encima de la otra, el área de superficie de cada capa debe ser sustancialmente la misma, y por lo tanto, la medición de área de superficie se puede obtener de virtualmente cualquier capa dentro de la pila.

La proporción del área frontal con el volumen en la mayor parte de los dispositivos de filtro típicos convencionales de profundidad basados en fibras utilizado para clarificaciones biofarmacéuticas es de aproximadamente 100 a 300 m⁻¹,

lo que proporciona en muchas instancias la estructura comparablemente fina ilustrada en la Figura 7A. De acuerdo con la presente invención, el dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda 100 tiene una proporción del área frontal con el volumen de 20 a 80 m⁻¹, que proporcionará en muchas instancias la estructura comparablemente gruesa ilustrada en la Figura 7B.

- 5 Las ventajas ofrecidas por la presente invención son varias, unas de las cuales, es *decir*, el crecimiento de la presión diferencial lineal, se ilustra en las Figuras 6A y 6B.

El gráfico en la Figura 6A ilustra la relación entre la presión y el rendimiento en un filtro de profundidad basado en fibras típico (es *decir*, dispositivos de área de superficie frontal amplia). En parte debido a la "impermeabilidad" de los elementos de filtro que se emplean en tales filtros, una denominada "torta de filtración" (es *decir*, sedimentación de partículas) se puede desarrollar rápidamente sobre la superficie de tal dispositivo. Tal "suciedad de lado" limita la capacidad de filtración del dispositivo dado que el fluido del proceso ya no accede a los poros y superficies internas del medio de filtro con profundidad. Aunque inicialmente la presión del fluido aparenta permanecer ligera y constante, se eleva lenta y exponencialmente a medida que la restricción al flujo se torna más severa con la acumulación de material de partículas. Dado que la presión aumenta exponencialmente, el punto en el que la presión exceda un límite operable intrínseco puede alcanzarse repentinamente, produciéndose una ruptura catastrófica potencial abrupta y difícil de predecir. En el uso de tales dispositivos, los operadores – con el propósito de precaución – típicamente detendrán la filtración mucho antes del punto crítico. Esto reduce la longevidad práctica del dispositivo, así como requiere el empleo de operadores altamente calificados y vigilantes.

En un dispositivo de acuerdo con la presente invención, las partículas se admiten con mayor facilidad y se capturan en forma creciente dentro de la profundidad del filtro, más que por recolección sobre la superficie. Aunque la presión aumentará durante la operación, como se muestra en la Fig. 6B, es más gradual (es *decir*, lineal), sin la presencia de subas de la presión significativas y abruptas en el final de la vida operativa del dispositivo. Dado que el dispositivo puede utilizarse hasta los límites de presión críticos sin temor de que se produzca una falla repentina y potencialmente catastrófica, la longevidad práctica del dispositivo mejora comparativamente. Asimismo, la vigilancia por parte del operador no necesita ser tan elevada.

Aunque los inventores de la presente no desean suscribir a teoría alguna en la explicación de la presente invención, actualmente se presume que es la combinación de las dimensiones estructurales sin precedentes del dispositivo y la selección y disposición de los materiales de filtro del dispositivo lo que permite que se logre una buena carga de partículas y capacidades de retención en altas velocidades de fluido sin precedentes y en diferenciales de presión modestos. Mientras que bajo paradigmas convencionales, la eficiencia de la filtración se logró por la modulación del área de superficie, la presente invención logra la eficiencia de la filtración por la modulación de la profundidad. Aunque la mecánica de la captura de la partícula por la estructura inventiva más gruesa aún no es muy conocida, se presume que -- en consideración de las condiciones de filtración hasta el momento no practicadas -- la mecánica es diferente de los mecanismos de la técnica anterior (por ej., tamizado, adsorción, y compresión), y puede implicar un mecanismo de captura novedoso.

Aunque la forma del dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda mostrado en la Figura 7B es cilíndrica, la presente invención puede practicarse por el uso de varias otras formas transversales, con la condición de que, por supuesto, se cumplan los otros requerimientos (por ej., espesor, propiedades de retención, material de filtración específico, etc.) de la invención. Entrás las formas transversales alternativas posibles, las formas cuadradas y rectangulares son candidatos destacables. Existen otras. La selección se dictará por consideraciones tales como, por ejemplo, propiedades de flujo, facilidad de elaboración, propensión al "pooling", facilidad de limpieza, y similares.

La recolección de los medios de filtración que constituyen el dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda 100 puede montarse en forma conjunta (es decir, mantenerse en una disposición fija predeterminada) con o sin el uso de un alojamiento externo o recipiente de presión. Los ejemplos de alojamientos externos incluyen, pero sin limitación cartuchos, cápsulas, cajas, cintas, columnas, y similares; y pueden estar hechos a partir de una variedad de materiales que incluyen, pero sin limitación, acero inoxidable, polietileno de alta densidad, aluminio, cloruro de polivinilo, poliestireno, polipropileno, vidrio, y policarbonato. El alojamiento puede tener una forma monolítica unitaria o puede comprender varias partes ensambladas. El alojamiento también se proporcionará con, o siendo conectable con, por lo menos una entrada de fluido y una salida de fluido.

Donde se emplee un alojamiento, dicho medio de filtración se empacará, cerrará, apilará, o de lo contrario se proporcionará, posiblemente junto con otros elementos, tales como espaciadores, cribas, distribuidores de fluido, sellos, y similares. En general, se prefiere que los medios de filtración se dispongan con poco espacio o sin espacio entre estos, en parte, para evitar un "mantenimiento de líquido" no deseable y para optimizar la densidad del empaque. Para aplicaciones biofarmacéuticas, se ha descubierto que la simple apilación conjunta de los medios de manera tal que colinden bajo una presión mecánica modesta es suficiente.

Desde el punto de vista de la simplificación de la estructura del dispositivo 100, y, por consiguiente, la minimización de su costo de elaboración global, el medio de filtración se dispone sin espacios de aire u otro elemento estructural interviniente (compárese, un espaciador) entre estos. Esto no quiere decir que evitar tales espacios o estructuras sea crítico para la práctica de la invención. Puede ser posible incluir algunos bajo ciertas circunstancias sin debilitar

muy ampliamente la funcionalidad del dispositivo. Los practicantes pueden desear experimentar con tales alternativas. Si se emplean espaciadores o estructuras intervinientes, sus espesores no se calculan en la determinación del espesor total (es decir, sumado) del medio de filtración.

No es necesario que se utilice un alojamiento externo en la práctica de la presente invención bajo toda circunstancia.

Al contrario, los inventores de la presente consideran más deseable, en este momento, construir los medios de filtración de manera de evitar la necesidad de un alojamiento externo. Por ejemplo, cada medio de filtración puede elaborarse dentro de un elemento de marco individual, un armazón periférico moldeado por inyección, o estructura similar, de manera tal que cuando se dispongan en forma conjunta – por ejemplo, entre dos placas de compresión opuestas -- se forma la vía de fluido a prueba de agua requerida para el conducto de filtración: de esta manera, un practicante puede prescindir de la obtención, mantenimiento, y limpieza de una unidad de alojamiento potencialmente costosa, y, en cambio, obtener y reemplazar unidades de filtración individual cuando sea requerido.

De acuerdo con lo ilustrado en la Fig.1, cada capa de filtración del dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda 100 puede agruparse en tres zonas. La inspección casual del dispositivo 100 no necesariamente revelará ninguna característica definitiva particular que indique si una capa pertenece a una zona u otra, o donde comienza una zona y termina la otra. De hecho, a un observador casual, cada capa de un dispositivo puede parecer de notablemente similar al resto, y, por lo tanto, puede intentarse imponer sobre el dispositivo "constructos de zona" diferentes, es decir, un dispositivo de "dos zonas", un dispositivo de "una zona", un dispositivo de "cinco zonas", etc. Sin definición adicional, la clasificación de las capas de un dispositivo de capas múltiples en "zonas" está sometida a una variación potencialmente infinita. Sin embargo, en la presente invención, la zonas -- en esta memoria denominada zona de prefiltración 20, zona de filtración primaria 30, y zona de pulido 40 -- están circunscriptas respecto a ciertas características estructurales y funcionales definitivas. La "zona" es una tal que produce o proporciona tales características estructurales y funcionales.

Se apreciará que el dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda 100 es un filtro de gradiente escalonado. La filtración escalonada se logra con la acumulación de partículas más grandes en la capa de filtración superior y la acumulación progresiva de contaminantes más pequeños en las capas posteriores. De tal manera, cada una de las zonas se construye para atrapar, retener, o de lo contrario evitar el paso de partículas dentro de un intervalo de distribución por tamaño predeterminado, disponiéndose las zonas en orden descendiente de especificidad de tamaño. Por lo tanto, la zona de prefiltración 20 se construye con capas de material de filtración que retienen colectivamente partículas dentro de un primer intervalo de distribución por tamaño. La zona de filtración primaria 30 se construye con capas de material de filtración que retienen colectivamente partículas dentro de un segundo intervalo de distribución por tamaño, donde este intervalo involucra partículas que son como grupo menores que las abarcadas por el primer intervalo de distribución por tamaño. Por último, la zona de pulido 40 se construye con capas de material de filtración que retienen colectivamente partículas dentro de un tercer intervalo de distribución por tamaño, donde este intervalo incluye partículas que son como grupo menores que las abarcadas por el segundo intervalo de distribución por tamaño.

Como se emplea en esta memoria, "retención" debe significar "retención efectiva de partículas", es decir, que más del 90% de las partículas alimentadas en un intervalo de tamaño dado se eliminan por el componente de filtro. Varios métodos para determinar la retención se encuentran disponibles para aquellos con experiencia en la técnica. Por ejemplo, se pueden utilizar suspensiones de partículas calibradas o estandarizadas junto con contadores de partículas, tal como las basadas en la dispersión de luz o en la capacitancia o impedancia o eléctrica.

Los intervalos de distribución para cada zona no estarán en la práctica sujetos a ningún límite absoluto. Es la naturaleza de la ciencia de la filtración que un filtro (en particular, filtros con profundidad) calificado para la exclusión de una cierta distribución de partículas, también deje pasar unas pocas partículas dentro de dicha distribución. Por lo tanto, en ciertas realizaciones de la presente invención, los intervalos de distribución de retención de las zonas 20, 30, y 40 pueden superponerse en los límites extremos de los rangos predefinidos respectivos. Una cierta cantidad de tal superposición es esperada y deseable. La Figura 5 proporciona un gráfico en forma esquemática que ilustra los perfiles de retención de partícula superpuestos atribuibles respectivamente a la zona de prefiltración 20, zona de filtración primaria 30, y zona de pulido 40. Esta superposición -- exagerada en un grado en la Figura -- se produce en el intervalo del tamaño de partícula "A" (es decir, entre las zonas 20 y 30) y en el intervalo del tamaño de partícula "B" (es decir, entre las zonas 30 y 40). Independientemente de la posibilidad de tal superposición, cada zona en la práctica se desempeñará sustancialmente de acuerdo con los límites mencionados en esta memoria.

De acuerdo con los límites inventivos más amplios, el dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda 100 no se limita a ningún valor de retención numérico preseleccionado de sus zonas, y está sujeto únicamente al hecho de ser un dispositivo de filtro de gradiente de densidad y a su espesor. Sin embargo, para aplicaciones biofarmacéuticas por ejemplo, se ha descubierto que ciertos valores específicos proporcionan resultados deseables. El dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda 100 de acuerdo con esta realización tiene una configuración cuyo objetivo es filtrar un fluido que contiene una distribución de partículas en el intervalo de 25 micrones a 0,2 micrones, en donde los materiales, la construcción de los componentes y sub-componentes, y el ensamblaje de zonas 20, 30, y 40 permite cubrir ciertas bandas seleccionadas dentro de dicho intervalo. En particular, la zona de prefiltración 20 proporciona una cobertura de retención para partículas en el intervalo de 25 micrones a 1 micrón. La zona de filtración primaria 30 proporciona una cobertura de retención para partículas en el

intervalo de 1 micrón a 0,3 micrones. Y por último, la zona de pulido proporciona una cobertura de retención para partículas en el intervalo de 0,3 micrones a 0,2 micrones.

Es posible obtener la cobertura de retención especificada retención para cada zona por la selección y el uso entre una amplia variedad de materiales, construcciones, y ensamblajes potenciales. Sin embargo, muchos de estos no son adecuados y/o prácticos. Por ejemplo, puede proporcionarse una zona de retención extrema (es decir, muy "ajustada") que comprende varias capas de material de filtración extremadamente denso, que bajo una operación normal, no proporcionarían ninguna de las coberturas mencionadas. Sin embargo, por la suba de la presión del fluido, por ejemplo, de dicha operación de filtración a niveles excesivos, puede ser posible cambiar los valores de retención en una de las bandas especificadas de la invención. Esto se considera inadecuado según los objetivos de la invención. Por lo tanto, en esta realización particular, en cada una de las zonas 20, 30, y 40, los valores de retención – especificados con anterioridad -- se establecen para el paso de fluidos a través de las zonas a una velocidad de por lo menos 100 cm/hr y a una permeabilidad hidráulica inicial mayor que 10 cm/hr/psi.

La Figura 2 ilustra en forma esquemática la zona de prefiltración 20 de la presente invención. De acuerdo con lo allí mostrado, la zona de prefiltración 20 comprende una pluralidad de capas 22. Como su nombre implica, la función general de la zona de prefiltración 20 es pre-filtrar la corriente de fluido, de manera tal que pueda filtrarse más efectivamente por las zonas subsecuentes 30 y 40, minimizando así la suciedad prematura de la superficie y la obstrucción del material de filtración de mayor retención corriente abajo, extendiendo así la vida útil del dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda 10. En varias realizaciones de la presente invención, la filtración de densidad de gradiente profunda se logra por fluidos dentro del intervalo de partículas especificado sin la formación prematura de una denominada "torta de filtración" sobre la superficie de la zona de prefiltración 20. Las partículas que de lo contrario formarían tal "torta de filtración" en los dispositivos de la técnica anterior se capturan en forma efectiva y comparativamente uniforme dentro de la zona de prefiltración 20.

Actualmente se presume que el rendimiento de la zona de prefiltración 20 es atribuible a la "holgura" de su construcción. Pero por su perfil comparativamente más grueso, la estructura comparativamente más "abierta" de utilizarse en el dispositivo de la técnica anterior derivaría en un "flujo a través" inaceptable de los tamaños de partícula especificados. Sin embargo, esta estructura "abierta", en el dispositivo de la presente permite la construcción de una zona de prefiltración mucho más gruesa, que proporciona una longitud de vía lo suficientemente extensa para asegurar eventualmente la captura de las partículas especificadas en el tránsito, sin impedir o frustrar inexplicablemente la buena velocidad del fluido a baja presión.

Al igual que con las zonas del dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda 10, las capas individuales de la zona de prefiltración 20 tienen densidades diferentes (es decir, tamaños de poros) y se apilan en un orden decreciente de tamaños de poros. Un ejemplo de una construcción específica de la zona de prefiltración 20 se muestra en la Figura 2 y en la tabla siguiente.

Capa	Material	Espesor (pulgadas)	Porosidad
Capa 21	Filtro con aguja de polipropileno (clasificación nominal de 25 micrones)	- 0,10 a ~0,15 (~0,254 a ~0,381cm)	Según lo clasificado.
Capa 22	Filtro con aguja de polipropileno (clasificación nominal de 1 micrón)	- 0,10 a ~0,15 (~0,254 a ~0,381cm)	Según lo clasificado.

Aunque la tabla anterior ilustra una zona de prefiltración 20 que comprende una construcción específica, la invención puede practicarse con mucha más flexibilidad. Cada una de las capas 22 también puede estar hecha con los mismos materiales o con materiales diferentes. Preferiblemente, sin embargo, cada capa 22 está hecho el mismo material, y difiere únicamente con respecto a las clasificaciones del tamaño de poros. Los tipos de materiales básicos que pueden emplearse para este propósito incluyen polipropileno, poliéster, vidrio, cloruro de polivinilo, politetrafluoroetileno de policarbonato, fluoruro de polivinilideno, celulosa, asbestos, nylon, poliétersulfona, y otros materiales poliméricos (o no poliméricos).

Más allá de los materiales básicos, también pueden considerarse los materiales de filtros y medios descritos en las siguientes patentes: Patente de los Estados Unidos Núm. 4.645.567, concedida a K.C. Hou et al. el 24 de Febrero de 1987; Patente de los Estados Unidos Núm. 4.606.824, concedida a C.K. Chu et al. el 19 de Agosto de 1986; Patente de los Estados Unidos Núm. 4.511.473, concedida a K.C. Hou el 16 de Abril de 1985; K.C. Hou 4.488.969, concedida a K.C. Hou el 18 de Diciembre de 1984; Patente de los Estados Unidos Núm. 5.283.106, concedida a K. Seller et al. el 1 de Febrero de 1994; Patente de los Estados Unidos Núm. 4.661.255, concedida a G. Aumann et al. el 28 de Abril de 1987; y Patente de los Estados Unidos Núm. 3.353.682, concedida a D.B. Pall et al. el 21 de Noviembre de 1967.

En general, se prefieren materiales fibrosos, dada su versatilidad, facilidad comparativa de deposición, propiedades de facilitación de resistencia, relación de superficie interna a peso, y costo, ya que las fibras pueden orientarse en varias posiciones y ángulos. Además, se encuentra disponible una gran variedad de diámetros de fibras, haciendo así posible que se logre una diversidad de mezclas de fibras de diámetros diferentes para hacer materiales fibrosos

de un intervalo de porosidad, y tales fibras pueden hacerse a partir de un intervalo de longitudes, de manera de tomar ventaja de la mayor cohesión de una capa de fibras largas.

Los materiales fibrosos típicos incluyen vidrio y cuarzo, asbestos, titanato de potasio, óxido de aluminio coloidal, silicato de aluminio, lana mineral, celulosa regenerada, celulosa microcristalina, poliestireno, cloruro de polivinilo, cloruro de poli-vinilideno, poliacrilonitrilo, polietileno, polipropileno, caucho, polímeros de ácido tereftálico y etilen glicol, poliamidas, fibras de caseína, fibras de zeína, acetato de celulosa, rayón viscosa, yute de cáñamo, lino, algodón, seda, lana, angora, papel, fibras metálicas tales como hierro, cobre, aluminio, acero inoxidable, latón, plata, y titanio, y arcillas con partículas aciculares de tipo listón o de tipo aguja, tales como arcillas de este tipo de montmorillonita, sepiolita, paligorsquita, y atapulgita.

La presente invención no se limita a ninguna morfología particular para las capas que constituyen la zona de prefiltración. En cualquier caso, en su realización actualmente preferida, el material se forma como una almohadilla de fieltro con aguja sintético no tejido. Si se utiliza polipropileno, el polipropileno es preferiblemente fibra "virgen". En otras palabras, las fibras están esencialmente libres de aglutinantes, agentes de terminación, y otros adyuvantes que, a menudo, se añaden a o recubren sobre fibras de polipropileno durante o después de su formación. El polipropileno "virgen" esencialmente no contiene aditivos más allá de los inherentes en la síntesis del polipropileno.

La formación de una almohadilla o estera de filtro puede lograrse por varias técnicas convencionales, de las que se utiliza una formación de red mecánica, aerodinámica, o hidrodinámica para fibras y filamentos esenciales naturales y sintéticos y la formación electrostática para fibras con denier muy finos.

Los materiales de filamento continuo preferiblemente se forman a partir de filamentos unidos por fusión de termoplásticos, por ej., polietileno, polipropileno, poliamida, o poliéster, que sustancialmente se consolidan por tejido, un tratamiento de encogimiento, o por la adición de un aglutinante. La ventaja puede alcanzarse por el proceso de filamento continuo en donde los polímeros de formación de filamentos están en una operación de unión por fundición y se enfrían en corrientes de aire, se retiran y luego se colocan directamente en forma de almohadilla o estera. Los materiales no tejidos de filamento continuo a menudo son deseables para uso como un material de filtro debido a sus ventajas comerciales y cualitativas sobre otros no tejidos.

Para materiales basados en celulosa, un método de elaboración comienza por, en primer lugar, la preparación de una suspensión que comprende fibras de celulosa, aditivos de filtro, y un aglutinante termoestable polimérico. La suspensión se recubre con fieltro al vacío y luego se cura a temperatura elevada. La resina catiónica, cuando se cura, forma una estructura rígida interconectada permanente. El resultado es una estructura compuesta que tiene una estructura tortuosa de canales de flujo y que comprende los aditivos de filtro incrustados en una matriz de celulosa.

Los materiales no tejidos utilizados para la elaboración del filtro deseablemente se utilizan en el estado consolidado. Los materiales pueden consolidarse en cualquier forma convencional, por ejemplo por unión térmica bajo presión, en donde el material se somete a un tratamiento de satinación, o por un tratamiento con aguja, o por unión térmica por el uso de aglutinantes, tales como adhesivos de fusión a altas temperaturas, por ejemplo en forma de fibra o polvo, en donde, en tal caso, el adhesivo de fusión a altas temperaturas debe tener un punto de fusión que sea menor que el del material de fibra de la red, o la pre-consolidación puede llevarse a cabo por el uso de una combinación de las medidas mencionadas con anterioridad.

El material de filtro bajo ciertas circunstancias puede beneficiarse por la incorporación de aditivos que no son de fibras, es decir, los denominados "auxiliares de filtro". Estos pueden incorporarse por el uso de resinas de unión aniónicas, catiónicas o no iónicas adecuadas. Los ejemplos de los aditivos incluyen, pero sin limitación, tierra de diatomeas lavada con ácido, perlita, sílice precipitado ahumado (para absorción hidrofóbica); y carbono activado (para absorción de ciertas hormonas y pirógenos). Además, estos auxiliares de filtro, así como perlas cromatográficas convencionales, pueden incorporarse en las películas poliméricas porosas, que pueden utilizarse como parte de una o más zonas del dispositivo de densidad de gradiente profunda densidad 100.

La Figura 4 ilustra la zona de pulido 40 del dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda 100. La zona de pulido, en una realización preferida, comprende varias capas de material de filtración, dispuestas, construidas, y ensambladas, a través de las que se retendrán en forma colectiva sustancialmente partículas sólidas en el intervalo de tamaño de 0,3 micrones a 0,2 micrones, o, más ampliamente, partículas que pasen a través de la zona de filtración primaria 30. Como su nombre implica, la función esencial proporcionada por la zona de pulido es completar la filtración de un fluido, de manera tal que, por ejemplo, en el caso de elaboración biofarmacéutica, el fluido pueda procesarse en forma adicional y efectiva bajo filtración estéril o protocolos cromatográficos posteriores. El intervalo de partícula tolerado por filtración estéril o protocolos cromatográficos típicos está en el orden de aproximadamente 0,2 micrones.

Las capas de material de filtración utilizadas para la zona de pulido 40 pueden hacerse a partir una variedad de materiales. Los materiales pueden ser iguales o diferentes entre las capas constituyentes, pero típicamente serán los mismos, difiriendo las capas respecto de su porosidad. Las capas se disponen en un orden de porosidad decreciente. Cada capa tiene 3 a 5 milímetros de espesor. Colectivamente, la zona de pulido 40 tiene 10 a 20

milímetros de espesor. En una realización preferida, cada capa está hecha a partir de una capa en húmedo de celulosa que contiene una almohadilla o lámina. Un ejemplo de la construcción específica de la zona de pulido 40 se muestra en la siguiente tabla:

Capa	Material	Espesor (pulgadas)	Permeabilidad (LMH/psi)
Capa 41	Almohadilla en húmedo que comprende pulpa de celulosa de madera y tierra de diatomeas (Grado del Elaborador 925)*	0,10 a ~0,15 (~20,307 a ~37,714 LMH/kPa)	140 a ~260
Capa 42	Almohadilla en húmedo que comprende pulpa de celulosa de madera y tierra de diatomeas (Grado del Elaborador 935)*	0,10 a ~0,15 (~9,864 a ~17,406 LMH/kPa)	~68 a ~120
Capa 43	Almohadilla en húmedo que comprende pulpa de celulosa de madera y tierra de diatomeas (Grado del Elaborador 945)*	0,10 a ~0,15 (~43,515 a ~81,23 LMH/kPa)	300 a ~560
Capa 44	Almohadilla en húmedo que comprende pulpa de celulosa de madera y tierra de diatomeas (Grado del Elaborador 955)*	0,10 a ~0,15 (~20,307 a ~37,714 LMH/kPa)	140 a ~260
Capa 45	Almohadilla en húmedo que comprende pulpa de celulosa de madera y tierra de diatomeas (Grado del Elaborador 965)*	0,10 a ~0,15 (~10,154 to ~17,406 LMH/kPa)	~70 a ~120

* Disponible de GusmerCellulo, Inc., de Mountainside, New Jersey 07092.

5 Otros materiales que se pueden utilizar para hacer las capas de la zona de pulido 40 incluyen, por lo general, varios de los mismos materiales, morfologías, y formatos enumerados con respecto a la zona de prefiltración, con la excepción de que los intervalos del tamaño de poro nominal serán sustancialmente menores. También se pueden utilizar múltiples membranas poliméricas microporosas.

10 Gran parte de la eficacia del dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda parece atribuirse a la elaboración, composición, y configuración de la zona de filtración primaria 30. En particular, en tales realizaciones, la zona de filtración primaria 30 comprende por lo menos una capa de material que contiene fibra fibrilada. Al igual que en otras realizaciones, la zona de filtración primaria 30 está interpuesta entre una zona de prefiltración 20 y una zona de pulido 40, cada zona está configurada para retener un intervalo de distribución por tamaño de partículas específico, las zonas se vuelven progresivamente "más estrechas" y "menos abiertas" de un extremo del dispositivo al otro.

15 Como se emplea en esta memoria "fibra fibrilada" significa una fibra que está deshilachada o partida a lo largo de su longitud o una fibra en donde los extremos están partidos y extendidos hacia fuera, lo que da lugar a una multitud de fibrillas muy finas sobre un núcleo de fibra. Las fibras o fibrillas más pequeñas y más delgadas formadas en el núcleo de la fibra por medio del deshilachado o la división se conocen como "fibrillas". Las fibras fibriladas utilizadas en la invención pueden estar formadas a partir de fibras que están axialmente orientadas y están menos fuertemente unidas en la dirección transversal, tales como la madera, y ciertas fibras sintéticas que se describen a continuación.

20 Una fibra comúnmente conocida que se puede fibrilar es la fibra de madera, que se puede fibrilar por medio del control de las condiciones en las que se corta la fibra. La fibrilación de la fibra de madera se explica por parte de Julino Grant en Laboratory Handbook of Pulp and Paper Manufacture, 2da Edición, 1961, Gran Bretaña, at pp. 147 a152.

25 Otra fibra comúnmente conocida que se puede fibrilar es el algodón. Si bien la presente invención no se limita al uso de fibra de algodón altamente fibrilada, se han producido varias realizaciones por el uso de tal fibra y se ha demostrado que proporciona buenos resultados. Tal material está disponible comercialmente. Por ejemplo, la fibra de algodón fibrilada de área de superficie se puede obtener de GusmerCellulo, Inc., de Mountainside, New Jersey 07092. En forma alternativa, la literatura de patente proporciona varias descripciones sobre el proceso para la fibrilación de fibra de algodón. Por ejemplo, la Patente de los Estados Unidos Núm. 4.761.203, emitida por K.D. Vinson el 2 de agosto 2 de 1991, describe la impactación de suspensión fina como un método para expandir en forma mecánica una fibra.

30 Las fibras fibriladas hechas de materiales sintético también están contempladas para su uso en la invención. Los ejemplos de fibras fibriladas sintéticas y los métodos para llevarlas a cabo se describen en la Patente de los Estados

Unidos Núm. 3.097.991, emitida por W. A. Miller et al. el 16 de julio de 1963, y la Patente de los Estados Unidos Núm. 3.560.318, emitida por W. A. Miller et al. el 2 de Febrero de 1971. Los procesos para hacer fibras fibriladas sintéticas en forma típica implican el corte y el batido de una fibra de una película de un polímero orientado en, por ejemplo, un batidor de papel o refinador.

Los polímeros sintéticos se pueden formar en películas orientadas o fibras por medio de métodos conocidos en la técnica. Estos en forma típica implican el control del proceso de extrusión y/o un proceso de estirado para orientar el polímero en la película o fibra. Las fibras o películas orientadas deben ser más fuertes en una dirección axial y más débiles en una dirección transversal (hasta cierto punto) para permitir la fibrilación. En forma opcional, el polímero se puede co-extrusar con un polímero incompatible, como se describe en las patentes citadas con anterioridad, para formar con mayor facilidad una fibra o película que es fuerte en una dirección axial y débil en una dirección transversal. Esto se puede lograr por medio de la adición del polímero incompatible a la masa fundida de polímero o de la solución de polímero o "laca" que se ha de extrusar. Ciertos polímeros tales como poli(imino-1,4-fenileneiminotereftaloilo), que se describe a continuación, se puede formar en un estado altamente orientado con "granos" largos, fuertes, axiales, separados por regiones amorfas más débiles, y puede no requerir el uso de un polímero incompatible para formar fibras fibrilables. La formación de fibra fibrilada a partir de polímeros sintéticos es muy conocida en la técnica.

Las fibras fibriladas utilizadas en la invención se deben fibrilar para proporcionar un área de superficie mayor que aproximadamente 1 metro cuadrado por gramo, preferiblemente mayor que aproximadamente 10 metros cuadrados por gramo. El área de superficie se mide por medio del método B-E-T que se describe en Brunauer, et al. en J. Am. Chem. Soc., 60, 309 (1938).

En una configuración actual, la zona de filtración primaria 30 comprende una única capa de fibra de algodón fibrilada. Más en particular, la fibra de algodón fibrilada "suelta" está "encerrada" entre las capas de almohadillas de fibra sintética no tejida (lado delantero) y láminas de celulosa en húmedo (lado trasero) que forman la zona de prefiltración 20 y la zona de pulido 40, respectivamente. Dado que las fibras fibriladas están sueltas, sólo una única capa (o estrato) está presente. Sin embargo, existen tecnologías disponibles por medio de las cuales las fibras sueltas se pueden ajustar a una estructura similar a una almohadilla. Por ejemplo, se pueden utilizar aglutinantes, preferiblemente en forma escasa, de manera tal que no se deba reducir el área de superficie funcionalmente disponible de las fibras. En forma alternativa, las fibras se pueden empaquetar dentro de un sobre cerrado con malla (*compárese*, una bolsita de té). Si se separa en unidades como tales, las unidades de fibra fibrilada se pueden emplear como una única capa o como múltiples capas.

El dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda, a la vista de la flexibilidad y la capacidad de modificación de su construcción específica se puede emplear en varias aplicaciones de procesamiento de fluido. Entre éstas, un uso novedoso en particular es en la post-fermentación o en la clarificación de fluidos biofarmacéuticos post-cultivo.

El dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda 100 se puede emplear en una amplia variedad de aplicaciones de filtración. Los tipos de aplicaciones industriales incluyen, por ejemplo, la elaboración farmacéutica, el procesamiento de productos de fraccionamiento de plasma o suero sanguíneo, la elaboración de soluciones oftálmicas, la elaboración de químicos de especialidad, y similares. Más allá de tales aplicaciones, el tipo de actividad para la cual el dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda 100 está bien dirigido en particular es en la clarificación primaria o secundaria de suspensiones de cultivos celulares crudos.

Junto con las características únicas de sus realizaciones de producto, la presente invención proporciona un método para la clarificación en forma efectiva y eficiente de un fluido biofarmacéutico elaborado que contiene proteínas, en particular un caldo celular cultivado o fermentado rico en proteínas. Si bien los métodos de clarificación son conocidos, el método inventivo está caracterizado por su régimen de operación sin precedentes, es *decir*, la operación a presiones y velocidades de fluido que nunca antes se emplearon con fluidos de tal alta concentración de sólidos y tal pequeño intervalo de tamaño de partículas (*compárese*, sustancialmente menos de un micrón).

El objetivo final de la metodología es separar el fluido rico en proteínas de los restos de caldo de cultivo celular, que en forma típica contiene células, organelas, y fragmentos de los mismos, así como también otras partículas y/o materiales sólidos. En la elaboración denominada a escala piloto (por ej., partidas que por lo general son de menos de mil litros), el dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda 10 se puede emplear en forma inmediata después de la fermentación o el cultivo del fluido biofarmacéutico (es *decir*, denominado como "clarificación primaria"). En la elaboración denominada como a escala industrial (por ej., partidas que por lo general están en el orden de varios miles de litros), la gran cantidad de restos hallada en tales fluidos por lo general primero se eliminará por medio de otros métodos de clarificaciones primarias tales como, por ejemplo, centrifugación. El caldo preclarificado luego se puede clarificar posteriormente (*por ej.*, denominado como "clarificación secundaria") por medio del dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda 10 sin una incidencia sustancial de taponamiento prematuro.

En los procedimientos bioindustriales típicos, la intención es eliminar todos los restos celulares del fluido, que pasan a toda la proteína. Sin embargo, el solicitante cree que la extensión de la eliminación es discrecional y que dependerá de las necesidades del usuario. Por consiguiente, la invención no se debe limita a ningún criterio

cuantificado para retención y eliminación, sino que en cambio, la metodología inventiva se lleva a cabo esencialmente con una aislación "sustancial".

Como se declaró, la solución que contiene proteína elaborada se conduce a través de dicho dispositivo de filtración de gradiente de densidad profunda bajo condiciones suficientes para efectuar el pasaje de dicha proteína a través de cada una de sus zonas. Por medio de este paso, cualquier resto sólido macroscópico de la colonia o caldo huésped celular se separa de la solución que contiene proteína, dichos restos se previenen sustancialmente del pasaje a través de la matriz del dispositivo 100 de los medios de filtración.

La solución que contiene proteína tratada bajo el método inventivo son aquéllos que en forma típica se extraen de cultivos celulares elaborados industrialmente para el propósito de acceder, por ejemplo, a la actividad biofarmacéutica de dicha proteína. Muchas de estas proteínas son bastante complejas en cuanto a su estructura, y se utilizan cada vez más en la investigación, los diagnósticos, y los terapéuticos.

La circunscripción exacta de la solución que contiene proteína no limita el alcance de la metodología inventiva. Sin embargo, la presente invención no busca capturar todos los tipos de fluidos que contienen proteínas. En cambio, la metodología inventiva se refiere a una solución "elaborada" que contiene proteína. Está "elaborada" en el sentido de que la proteína contenida en dicha solución está presente en una forma y/o concentración que no existe naturalmente, por ejemplo, en una concentración enriquecida (*es decir*, una concentración que no sucede natural o espontáneamente sin una intervención humana) o de lo contrario tiene características manipuladas genéticamente detectables. Tal alcance se comprende mejor en consideración de los elementos básicos de la elaboración biofarmacéutica.

Si bien el campo aun es comparativamente nuevo, y por lo tanto está sujeto al cambio, comúnmente se emplean dos procesos para la producción de proteínas activas para uso terapéutico o de lo contrario biológicamente significativas, si bien existen otros, en el ámbito biofarmacéutico: *es decir*, la secreción de anticuerpos monoclonales de líneas celulares de hibridoma clonadas, y la síntesis de proteínas por el uso de tecnologías de ADN recombinantes.

Los anticuerpos monoclonales se producen por medio de la fusión de células de formadoras de anticuerpos simples a células tumorales cultivadas en cultivo. La célula resultante se denomina un hibridoma. Cada hibridoma produce relativamente grandes cantidades de moléculas de anticuerpo idénticas. Por medio del permiso del hibridoma para que se multiplique en el cultivo, es posible producir una población de células, cada una de las cuales produce moléculas de anticuerpo idénticas. Estos anticuerpos se denominan "anticuerpos monoclonales" dado que se producen por medio de la descendencia idéntica de una única célula productora de anticuerpos clonados. Con el advenimiento de la tecnología del hibridoma y otros avances en la manipulación genética de las células eucariotas, las líneas celulares de mamífero o de levadura se están convirtiendo en el método de elección para la producción de proteínas complejas a gran escala.

La tecnología de ADN recombinante implica la integración de un fragmento de ADN específico en un elemento genético que se replica con rapidez (por ej., un plásmido) de manera tal que se pueda amplificar en células de bacterias o de levadura. Estas células se multiplican en el cultivo, cada una contiene el plásmido de codificación de proteínas. La traducción del fragmento de ADN en el plásmido de la proteína codificada en el mismo.

El dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda se utiliza para la filtración de soluciones que contienen proteína elaboradas que resulta de ya sea las tecnologías de anticuerpos monoclonales o de ADN recombinante. Gracias al diseño del dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda 100 novedoso, el método es capaz de operarse durante períodos más largos de tiempo antes de que se vuelva necesario para reemplazar los módulos, el material de filtración del mismo se agota, esencialmente se vuelve demasiado atascado con partículas para poder seguir utilizándolo. Como aquéllos con experiencia en la técnica podrán apreciar, existe un gran valor a realizarse en la reducción de ciclos de reemplazo, dado que cada reemplazo en forma típica requerirá el "apagado", para el mantenimiento, la limpieza, y la prueba, antes de recomenzar con la operación. Se debe reducir la frecuencia de tal tiempo de apagado, de lo contrario sufre la productividad, lo que en definitiva eleva el costo para el consumidor del producto farmacéutico y/o reducir su suministro.

REIVINDICACIONES

1. Un dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda (100) para la clarificación primaria o secundaria de fluidos biofarmacéuticos elaborados, que comprende en orden:
 - 5 una zona de prefiltración (20) que comprende capas (21,22) de material de filtración, dicha zona de prefiltración (20) es capaz de retener partículas dentro de un primer intervalo de distribución por tamaño;
 - una zona de filtración primaria (30) que comprende por lo menos una capa de fibra fibrilada que contiene material, dicha zona de filtración primaria es capaz de retener partículas dentro de un segundo intervalo de distribución por tamaño, dicho segundo intervalo de distribución por tamaño es menor que dicho primer intervalo de distribución por tamaño; y
 - 10 una zona de pulido (40) que comprende capas (41 a 45) de material de filtración, dicha zona de pulido (40) es capaz de retener partículas dentro de un tercer intervalo de distribución por tamaño, dicho tercer intervalo de distribución por tamaño es menor que dicho segundo intervalo de distribución por tamaño,en donde el dispositivo es capaz de filtrar un fluido que contiene una distribución de partículas en el intervalo de 25 micrones a 0,2 micrones;
- 15 en donde dicho primer intervalo de distribución por tamaño es de 25 micrones a 1 micrón, dicho segundo intervalo de distribución por tamaño es de 1 micrón a 0,3 micrones, y dicho tercer intervalo de distribución por tamaño es de 0,3 micrones a 0,2 micrones; y
- 20 en donde las capacidades de retención de la zona de prefiltración (20), la zona de filtración primaria (30), y la zona de pulido (40) están establecidas en un velocidad de fluido de por lo menos 100 cm/hr y una permeabilidad hidráulica inicial mayor que 1,45 cm/h/kPa (10 cm/hr/psi), en donde las capas de material de filtración en dicho dispositivo de filtro tienen una profundidad sumada total de por lo menos 1,27 cm (0,5 pulgadas), y
- en donde la proporción del área frontal con el volumen del dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda (100) es de 20 a 80 m⁻¹.
2. El dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda (100) de la reivindicación 1, en donde dicha zona de prefiltración (20) comprende:
 - 25 (i) una capa de material de fibra no tejida que tiene un grado de poro nominal de 25 micrones; y
 - (ii) una capa de material de fibra no tejida que tiene un grado de poro nominal de 1 micrón.
3. El dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda (100) de la reivindicación 2, en donde dichas capas (i) e (ii) de dicha zona de prefiltración (20) están hechas sustancialmente de material de fibra de propileno.
- 30 4. El dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda (100) de la reivindicación 3, en donde dichas capas (i) e (ii) de dicha zona de prefiltración (20) tienen un espesor dentro del intervalo de 0,254 cm (0,10 pulgadas) a 0,381 cm (0,15 pulgadas).
5. El dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda (100) de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 4, en donde dichas fibras fibriladas utilizadas en dicha zona de filtración primaria (30) están fibriladas para proporcionar un área de superficie mayor que 1 m²/g, preferiblemente mayor que 10 m²/g.
- 35 6. El dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda (100) de cualquiera de las reivindicaciones 1 a 5, en donde dicha zona de pulido (40) comprende:
 - (i) una capa en húmedo de celulosa y tierra de diatomeas que tiene una permeabilidad de 20,307 a 37,714 LMH/kPa 140 a 260 LMH/psi);
 - 40 (ii) una capa en húmedo de celulosa y tierra de diatomeas que tiene una permeabilidad de 9,864 a 17,406 LMH/kPa 68 a 120 LMH/psi);
 - (iii) una capa en húmedo de celulosa y tierra de diatomeas que tiene una permeabilidad de 43,515 a 81,23 LMH/kPa 300 a 560 LMH/psi);
 - (iv) una capa en húmedo de celulosa y tierra de diatomeas que tiene una permeabilidad de 20,307 a 37,714 LMH/kPa 140 a 260 LMH/psi); y
 - 45 (v) una capa en húmedo de celulosa y tierra de diatomeas que tiene una permeabilidad de 10,154 a 17,406 LMH/kPa 70 a 120 LMH/psi).

7. El dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda (100) de la reivindicación 6, en donde dichas capas (i), (ii), (iii), (iv), y (v) de dicha zona de pulido (40) cada una tiene un espesor dentro del intervalo de 0,254 cm (0,10 pulgadas) a 0,381 cm (0,15 pulgadas).

8. Una metodología de procesamiento de fluido biofarmacéutico que comprende los pasos de:

- 5 proporcionar una solución que contiene proteína elaborada que comprende una concentración sintéticamente enriquecida de una proteína diana predeterminada y una distribución de partículas sólidas de diferentes tamaños;
proporcionar un dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda (100) como se definió en cualquiera de las reivindicaciones 1 a 10 que comprende capas de materiales de filtración colindantes que colectivamente tienen una profundidad de por lo menos 1,27 cm (0,5 pulgadas); y
- 10 pasar dicha solución que contiene proteína elaborada a través de dicho dispositivo de filtro de gradiente de densidad profunda de filtro a una velocidad de por lo menos 100 cm/hr.

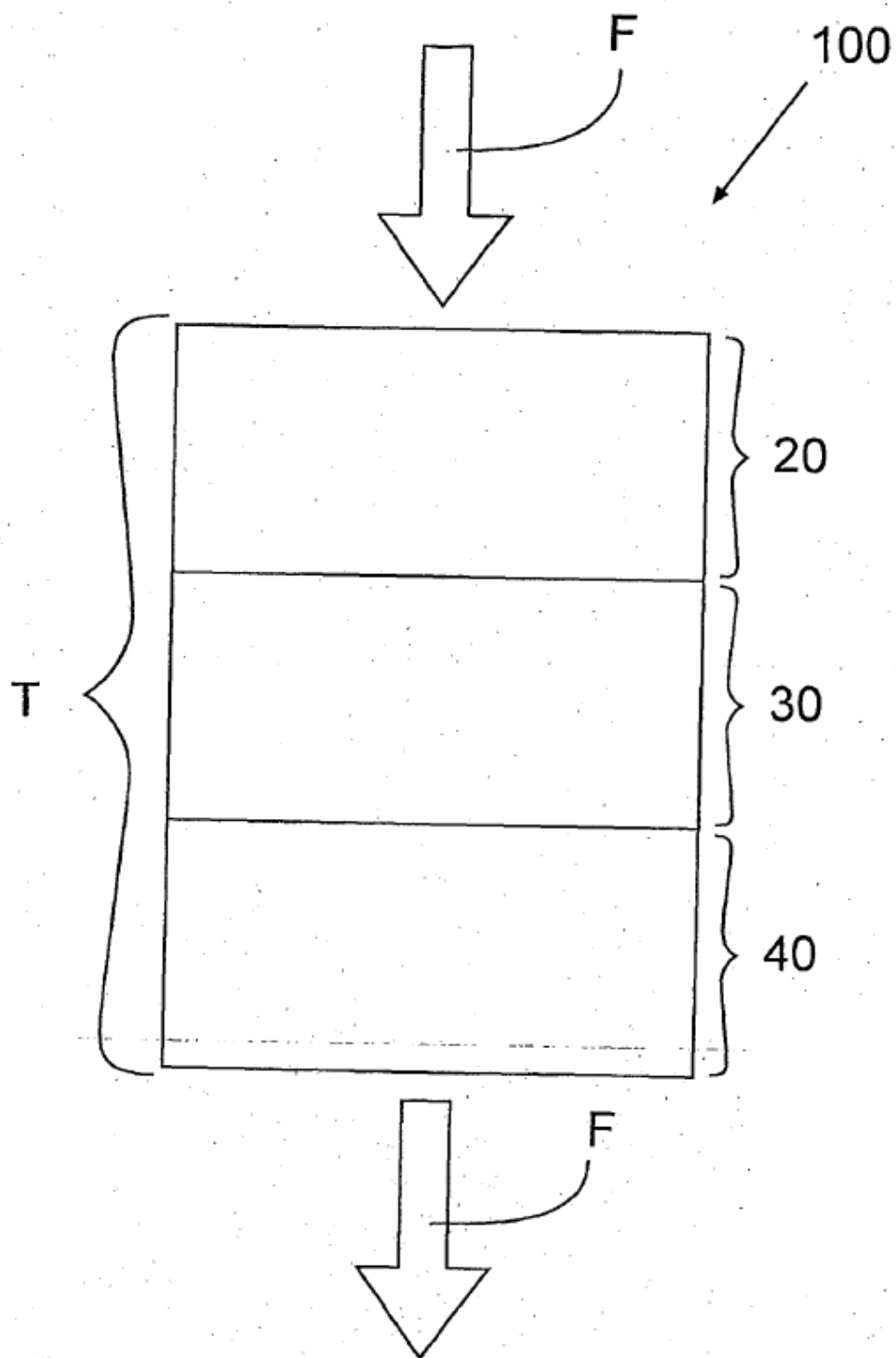


Figura 1

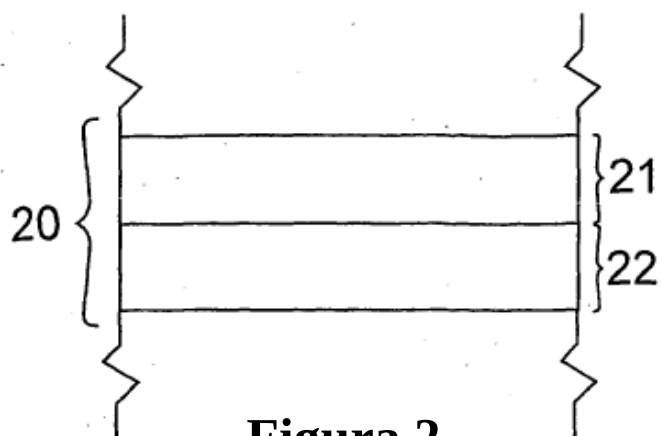


Figura 2

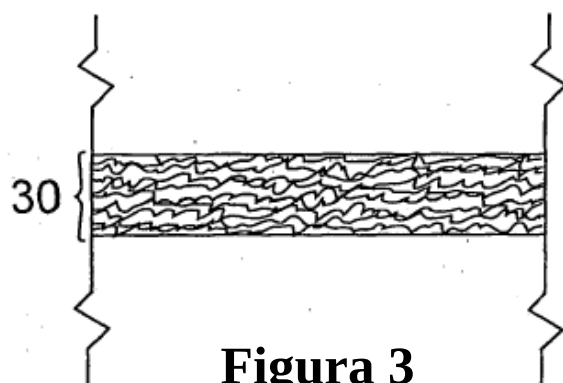


Figura 3

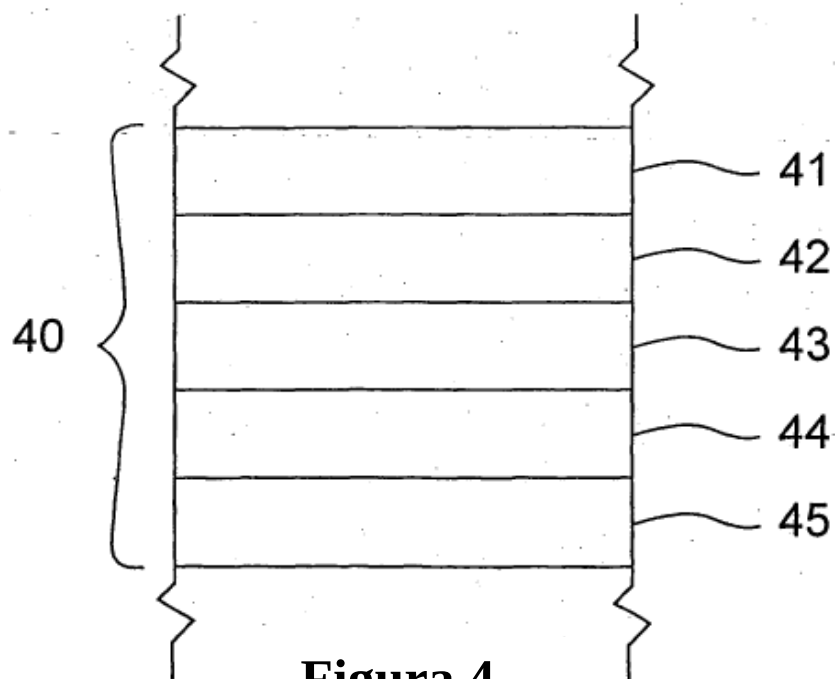


Figura 4

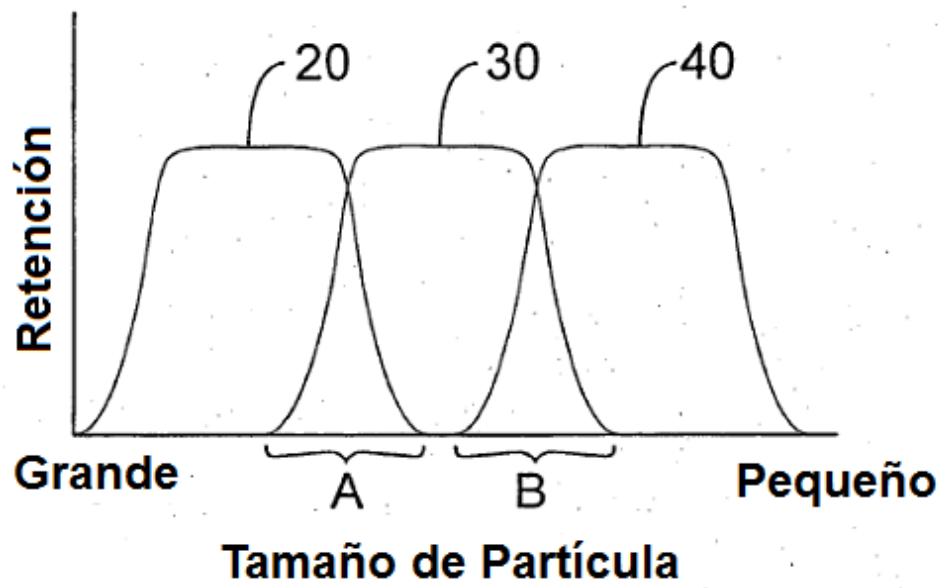


Figura 5

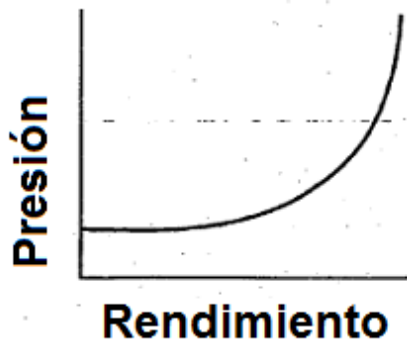


Figura 6a
(Técnica anterior)

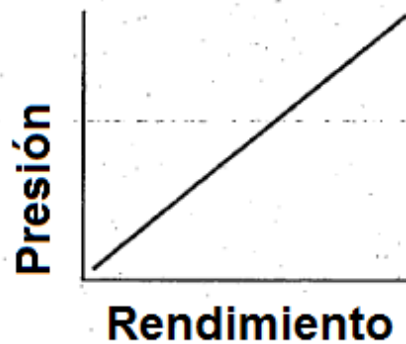


Figura 6b

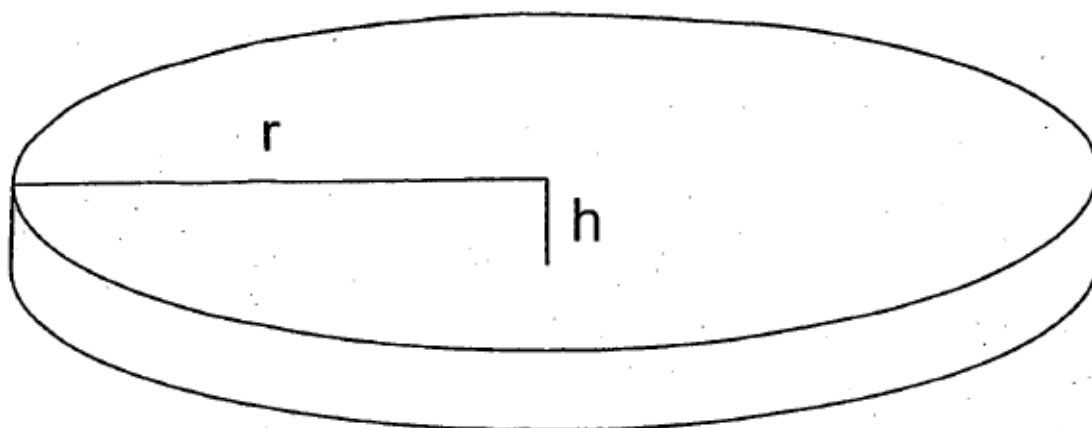


Figura 7a
(Técnica anterior)

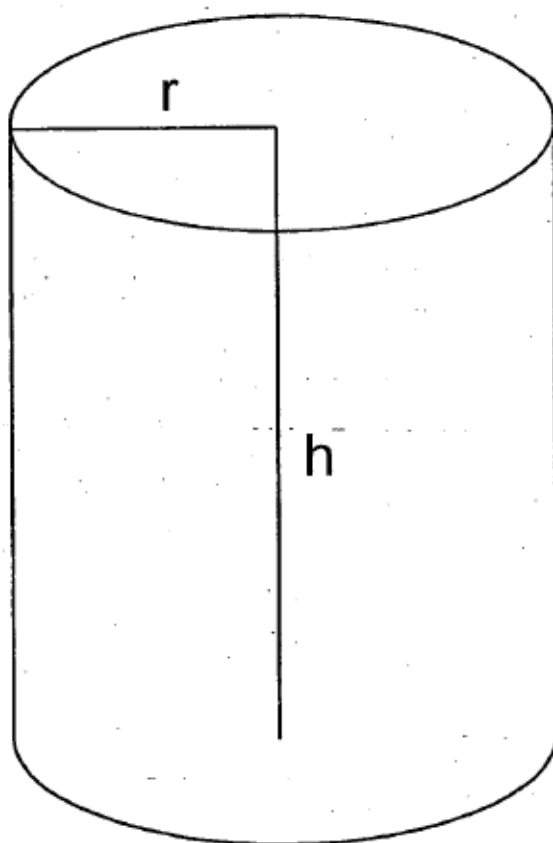


Figura 7b