SPF Economie, PME, Classes
Moyennes & Energie
Office de la Propriété intellectuelle

(11) 1026108 A1

(12) DEMANDE DE BREVET D'INVENTION BELGE

(41) Date de publication : 09/10/2019

(21) Numéro de demande : BE2018/5179

(22) Date de dépôt : 16/03/2018

(62) Divisée de la demande de base :

(62) Date de dépôt demande de base :

(51) Classification internationale : C12M 1/12, C12M 1/30

(30) Données de priorité :

(71) Demandeur(s) :

UNIVERCELLS S.A.
6041, GOSSELIES
Belgique

(72) Inventeur(s) :

CASTILLO José
1000 BRUXELLES
Belgique

VANHAVER Alexandre
1080 BRUXELLES
Belgique

CHATEL Alex
1050 IXELLES
Belgique

RODRIGUEZ Sébastien
7191 ECAUSSINNES-LALAING
Belgique

(54) ÉCHANTILLONNEUR À LIT FIXE ET PROCÉDÉS ASSOCIÉS

(57) La présente invention concerne un appareil pour échantillonner une culture cellulaire associée à un lit fixe dans un bioréacteur ayant un orifice, comprenant : un échantillonneur associé au bioréacteur pour récupérer une partie d'échantillon du lit fixe par l'intermédiaire de l'orifice.

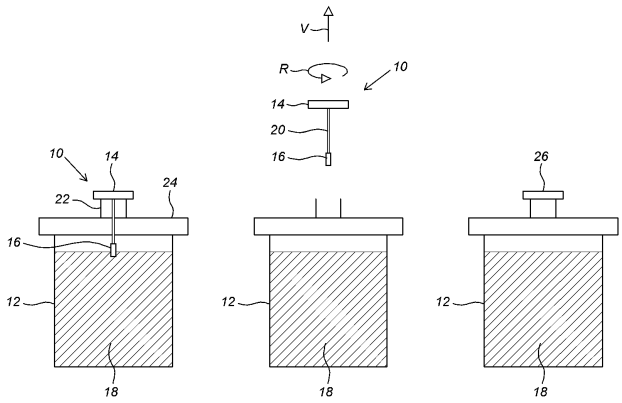


Fig. 1

ÉCHANTILLONNEUR À LIT FIXE ET PROCÉDÉS ASSOCIÉS

DOMAINE TECHNIQUE

[0001]Le présent document concerne d'une marnière générale les techniques de culture cellulaire et, plus particulièrement, un échantillonneur pour un dispositif de culture de cellules à lit fixe et des procédés associés.

CONTEXTE

[0002]Certains dispositifs de culture cellulaire, tels que des bioréacteurs, utilisent un « lit fixe » pour le développement de cellules en suspension qui sont piégées sur celui-ci ou pour le développement de cellules adhérentes qui se fixent et poussent sur celui-ci. Ces bioréacteurs à haute densité cellulaire souffrent de l'incapacité inhérente de leurs utilisateurs à prélever facilement des échantillons des cellules cultivées en lit fixe pendant le processus de culture à des fins analytiques (par exemple, prendre des mesures associées aux cellules telles que celles relatives à la viabilité et à la densité). Actuellement, la seule manière de prélever un tel échantillon en cours de procédé à partir du lit fixe est d'atteindre l'intérieur du bioréacteur avec un outil tel qu'une pince pendant le fonctionnement, et d'extraire manuellement un morceau du lit. Cette opération est difficile car elle nécessite une grande dextérité. En outre, cela provoque invariablement des perturbations indésirables qui risquent de perturber l'environnement de culture cellulaire. De plus, pour maintenir les conditions stériles nécessaires, le bioréacteur est typiquement situé à l'intérieur d'une unité de confinement telle qu'une armoire à flux laminaire ou une armoire de biosécurité dans laquelle la liberté de mouvement de l'opérateur est limitée. Bien qu'un bioréacteur à petite échelle puisse être placé dans une telle unité de confinement, une version à grande échelle de production ne peut pas être facilement placée dans de telles armoires pour obtenir ce résultat. En outre, la stérilité doit être maintenue pendant toute la durée de l'opération, ce qui signifie que l'opérateur qui collecte l'échantillon doit suivre des procédures d'opération aseptiques précises. Ceci est difficile lorsqu'on doit introduire un outil d'extraction tel qu'une pince.

[0003]Des capteurs stériles (ou aseptiques), tels que des capteurs dits de « biomasse », ont été proposés pour évaluer la densité cellulaire. Cependant, ces capteurs ne disposent pas d'une technologie suffisamment robuste et ne permettent pas l'examen direct des cellules. La mesure indirecte des caractéristiques des cellules par le capteur de biomasse est beaucoup moins précise que l'examen direct des cellules. En outre, contrairement au cas des lits fluidisés ou des bioréacteurs agités classiques où l'échantillonnage du liquide dans lequel les cellules se trouvent est

possible, un capteur de liquide stérile dans un bioréacteur à lit fixe fournit uniquement des informations à partir desquelles un jugement approximatif ou une estimation peuvent être effectués concernant les conditions cellulaires, sur la base de sous-produits détectés (métabolites) du processus de croissance laissés dans le liquide. Ainsi, les échantillonneurs et les procédés actuels ne fournissent pas un outil précis et opportun pour développer un procédé de culture cellulaire fiable pour un bioréacteur à lit fixe.

[0004] En conséquence, un besoin est identifié pour un dispositif qui offre la capacité de prélever un échantillon des cellules piégées dans le lit fixe ou adhérant à celui-ci. Le dispositif permettrait d'obtenir l'échantillon de manière simple et peu coûteuse, tout en maintenant des conditions aseptiques de manière à protéger contre la contamination (interne et interne au bioréacteur) et à éviter de créer des perturbations délétères de l'environnement de culture cellulaire en lit fixe.

RÉSUMÉ

[0005] Un objet de l'invention est de fournir un dispositif permettant de prélever un ou plusieurs échantillons du lit fixe d'une manière aisée, peu coûteuse et fiable, tout en maintenant des conditions aseptiques ou stériles, et en évitant également de créer des perturbations délétères de l'environnement de culture de cellules en lit fixe.

[0006] Selon un aspect de la divulgation, un échantillonneur est prévu pour un lit fixe dans lequel des cellules sont cultivées, tel qu'un bioréacteur. L'échantillonneur est proposé en plusieurs formats : (1) un qui permet à l'opérateur de prélever un échantillon de manière non stérile (par exemple lorsque le bioréacteur est présent dans une armoire à flux laminaire ou dans une armoire de biosécurité) ; (2) un qui permet à l'opérateur de prélever un échantillon de manière stérile ; et (3) un autre qui permet d'extraire un plus grand volume ou une plus grande partie du lit fixe, opération souhaitable à la fin d'un processus de culture cellulaire. Pour ces dernières versions, la stérilité du processus d'échantillonnage lui-même garantit que le bioréacteur n'est pas contraint à fonctionner dans un environnement stérile, tout en assurant une protection à la fois pour le procédé et l'environnement. Le dispositif améliore ainsi l'opérabilité du bioréacteur en facilitant : (a) l'opération requise pour prélever un échantillon du lit fixe (manuellement, ou éventuellement via une automatisation) sans perturbation délétère, et (b) les contraintes de confinement et de stérilité associées à des bioréacteurs à lit fixe, de manière à pouvoir fonctionner en dehors d'une zone strictement stérile sans risquer de contaminer le bioréacteur lui-même par l'environnement, et l'environnement par le contenu du bioréacteur. Cependant, une proposition est également faite pour un échantillonneur qui peut être

utilisé dans une situation où le dispositif de culture cellulaire (bioréacteur) fonctionne également dans un environnement stérile (par exemple, un bioréacteur de petite taille pouvant être utilisé en association avec un isolateur, une armoire, ou similaire).

DESCRIPTION DÉTAILLÉE

[0007]Il est maintenant fait référence à la figure 1, qui illustre un échantillonneur 10 pour un bioréacteur 12 selon un aspect de la divulgation, qui aux fins du présent exemple est supposé fonctionner dans des conditions stériles externes dans une unité de confinement (telle qu'une armoire, un isolateur externe ou similaire). Dans le mode de réalisation illustré, l'échantillonneur 10 comprend une partie de support pour l'association à une ouverture du bioréacteur donnant accès à un compartiment intérieur de celui-ci, tel que dans le mode de réalisation illustré, un couvercle ou bouchon 14 pour sceller l'ouverture et maintenir ainsi la stérilité du compartiment intérieur, même lorsqu'il n'est pas dans une unité de confinement. La partie de support peut supporter une partie d'échantillon de lit fixe amovible 16 pour le positionnement à l'intérieur d'un lit fixe 18 dans le compartiment intérieur du bioréacteur 12.

[0008]La partie d'échantillon 16 peut comprendre un substrat pour favoriser le développement cellulaire ou l'immobilisation/le piégeage des cellules (tel qu'une ou plusieurs fibres de lit fixe, y compris celles agencées comme une pièce de matériau non tissé, comme décrit plus loin dans la description qui suit). La partie d'échantillon 16 peut comprendre une partie du lit fixe (telle qu'un support) ou une structure séparée pour le positionnement à l'intérieur du lit fixe pendant le processus d'assemblage du bioréacteur 12 (comme indiqué plus en détail dans la discussion suivante). La partie d'échantillon 16 peut être fixée de manière amovible à un positionneur 20 afin de faciliter le maintien de la partie d'échantillon 16 dans une position appropriée dans le lit fixe 18 et également pour la retirer du lit fixe 18. Le prépositionnement de la partie d'échantillon 16 dans le lit fixe 18 peut être réalisé manuellement à l'aide du positionneur 20 ou en utilisant un outil tel qu'une pince (non représentée) pour faire passer la partie d'échantillon 16 dans le lit fixe 18 par un orifice 22 dans le couvercle 24 du bioréacteur 12 (ou en retirant entièrement le couvercle). Cela peut être fait avant le commencement de l'opération de biotraitement, même pendant l'assemblage du bioréacteur.

[0009]Le lit fixe 18 peut comprendre n'importe quel substrat permettant de réaliser une croissance cellulaire ou une immobilisation cellulaire, et peut comprendre, par exemple, un lit fixe structuré formé d'un matériau non tissé. Dans un mode de réalisation particulier, représenté en vue de dessus sur la figure 1A, le matériau non tissé 18a formant le lit 18 est agencé en une spirale, avec des couches d'immobilisation de cellules 18a séparées par des couches d'espacement 18b, qui favorisent l'écoulement entre les différentes couches. La partie d'échantillon 16 peut être une partie d'une couche d'immobilisation de cellules. Elle peut être positionnée entre deux des couches du lit en spirale, telles que des couches d'immobilisation de cellules (ou de matériau non tissé) 18a, comme indiqué, ou entre une couche d'espacement et une couche d'immobilisation de cellules (peut-être unique). Cependant, ceci n'est qu'un exemple et n'est pas destiné à limiter la manière dont la partie d'échantillon 16 peut être associée à un lit fixe 18 de toute forme connue (par exemple, positionnement dans une matrice de fibres, ou un agencement de couches qui est pas enroulé en spirale comme indiqué). Par exemple, la figure 1B illustre un lit fixe non structuré, qui peut comprendre une pluralité de fibres orientées de manière aléatoire 18c. Dans ce mode de réalisation, la partie d'échantillon 16 peut comprendre l'une des fibres libres 18c. La fibre est reliée au positionneur 14, comme indiqué (ou en tant que substrat de fibres non tissées). En variante, plus d'une fibre peut être reliée au positionneur et servir de partie d'échantillon.

[0010]Un point d'ancrage, tel qu'une paroi latérale de l'orifice 22 associé au couvercle 24 du bioréacteur 12, peut être conçu pour former un joint avec le couvercle ou le bouchon 14 afin de s'assurer que la stérilité est maintenue. Le bouchon 14 peut être relié de manière amovible à l'orifice 22. Ceci peut être réalisé par un filetage ou d'autres moyens de liaison sécurisée, mais amovible (par exemple, un raccord à baïonnette, tel que décrit plus loin dans la description suivante, ou une porte avec un verrou amovible (agencement de type pousser-tirer, ou même un ajustement serré ou un montage à force)).

[0011]Pour garantir que le développement cellulaire est réalisé sur la partie d'échantillon 16 dans le format illustré, et également pour favoriser la récupération, le positionneur 20 peut s'étendre sur une distance suffisante pour s'assurer que la partie d'échantillon 16 est au moins partiellement positionnée dans le lit fixe 18. Comme on peut le comprendre, cette distance peut varier en fonction de la taille et de la forme du bioréacteur 12, ainsi que de l'emplacement souhaité pour l'échantillonnage. Le positionneur 20 peut être relié au couvercle ou bouchon 14 servant de support, mais peut également être séparé de celui-ci (de sorte que le bouchon 14 peut être retiré tandis que le positionneur 20 reste en place, et peut

ensuite être retiré). La première version peut être appliquée plus facilement à un lit fixe non structuré, tel que représenté sur la figure 1B, qui permet au positionneur 20 d'être passé à travers l'orifice 22 pour le positionnement dans le matériau non structuré dans le lit non structuré. Un lit fixe structuré est plus adapté à cette dernière version, étant donné que la partie d'échantillon 16 peut être prépositionnée dans les couches de lit fixe structuré et maintenue dans celles-ci, et le positionneur 20 associé ultérieurement au bouchon 14 (si désiré).

[0012]Des exemples de liaisons amovibles entre le positionneur 20 et le support ou le bouchon 14 sont représentés sur les figures 1C, 1D et 1E. Sur la figure 1C, le bouchon 14 comprend des saillies souples 14a formant un récepteur 14b pour recevoir et retenir une partie 21 du positionneur 20 (laquelle partie 21 peut également faire partie d'une structure distincte, telle qu'un manchon). Comme on peut le remarquer, la partie 21 à l'intérieur du récepteur 14b est retenue contre le mouvement dans une direction axiale du positionneur 20 à moins qu'une force suffisante soit générée pour séparer les saillies, tout en permettant une rotation libre. Par conséquent, le bouchon 14 peut être tourné pour le retrait (si liaison à baïonnette ou filetée) sans amener le positionneur 20, et par conséquent la partie d'échantillon 16, à tourner par rapport au lit fixe 18, ce qui pourrait provoquer une rupture ou un résultat indésirables. Cependant, le bouchon 14 peut toujours être retiré dans la direction verticale, y compris avec le positionneur 20 restant attaché, ou séparé de celui-ci (dans ce cas, il peut être accédé et retiré indépendamment du bouchon). De même, le positionneur 20 avec la partie d'échantillon 16 peuvent être positionnés dans le bioréacteur 12, et le bouchon 14 être ensuite relié au positionneur 20. Bien entendu, l'agencement pourrait également être inversé, de sorte que les saillies soient sur le manchon/positionneur, et la partie de mise en prise soit sur le positionneur.

[0013]La figure 1D illustre une version dans laquelle une partie amovible 14c comprend les saillies 14a formant le récepteur 14b.Des éléments de fixation, tels que des vis 14d, peuvent être utilisés pour fixer la partie 14c au bouchon 14. En utilisant cet agencement, la partie 14c peut être libérée avant que le bouchon 14 ne soit retiré, et le bouchon 14 peut être associé à la partie 14c une fois en place. Des joints, tels que des joints toriques 14e, peuvent également être prévus pour sceller l'interface créée avec l'environnement extérieur à travers les ouvertures pour les fixations/vis 14d.

[0014]La figure 1E illustre une autre version dans laquelle la partie 14c est conçue pour passer à travers une ouverture O dans le bouchon 14. Une attache externe, telle qu'un écrou fileté 14f, peut alors être utilisée pour fixer la partie amovible 14c au

bouchon 14, par exemple par un filetage le long d'une tige 14g de celle-ci. De cette manière, la partie 14c peut être associée sélectivement au bouchon 14 pendant le placement ou le retrait, et sans perturber la position du positionneur 20 et de la partie d'échantillon 16.

[0015]Comme indiqué, des cellules peuvent être cultivées dans le lit fixe 18, ainsi que sur la partie d'échantillon 16 en raison de son positionnement. Lorsqu'un examen externe du développement cellulaire est souhaité, la partie d'échantillon 16 peut être retirée, par exemple en retirant d'abord le bouchon 14 de l'orifice 22 (qui est montré sur la figure 1 tourné dans une direction (voir la flèche R) pour libérer une liaison (comme discuté ci-dessous), puis soulevée dans une direction verticale V, mais un orifice pourrait également être associé à une paroi latérale du bioréacteur 12 ou d'une autre partie quelconque ; de la même façon, le bouchon ou couvercle 14 pourrait également former un ajustement serré avec une partie associée du bioréacteur 12, telle que l'orifice 22 ou une autre partie du couvercle 24 pour permettre l'accès au lit fixe 18). Le positionneur 20 peut également être retiré pour récupérer la partie d'échantillon 16 du lit fixe 18, sans nécessiter un niveau de coordination ou de dextérité accru, et sans avoir besoin d'utiliser un outil susceptible de perturber le matériau environnant du lit fixe 18. L'examen de la partie d'échantillon 16 peut alors être effectué à l'extérieur du bioréacteur 12 pour évaluer les cellules sur celle-ci, qui sera directement représentatif du développement cellulaire correspondant dans le lit fixe 18. Facultativement, un second couvercle ou bouchon 26 peut ensuite être utilisé pour sceller l'orifice 22, et une nouvelle partie d'échantillon 16 peut également être positionnée dans le lit fixe 18 via un positionneur associé dans le cas où il existe un désir de répéter l'opération d'échantillonnage.

[0016]En référence à la figure 2, un second mode de réalisation de l'échantillonneur 100 est montré, pour une utilisation possible dans des environnements où le bioréacteur 112 est stérile intérieurement, mais l'environnement extérieur n'est pas stérile (par exemple, lorsque le bioréacteur 112 est de grande taille ou de grande échelle, rendant l'utilisation d'un isolateur ou d'une armoire classique difficile, coûteuse ou impossible). Dans ce cas, la partie d'échantillon 116 (ainsi que le bioréacteur 112) doit être protégée contre la contamination pendant le retrait et avant l'inspection.

[0017]Dans ce mode de réalisation pour maintenir les conditions stériles, les parties de base sont essentiellement les mêmes que ci-dessus, mais une cloison ou barrière supplémentaire, facultativement sous la forme d'un manchon souple 128, est prévue. Ce manchon 128 forme une barrière stérile entre le point d'ancrage, tel que l'orifice 122, et le couvercle ou bouchon 114. Ce manchon 128 peut être formé d'un

morceau allongé de matériau souple, tel qu'un matériau polymère mince et souple, et peut être agencé de manière à ne pas interférer avec la liaison entre le bouchon 114 et l'orifice 122.

[0018] Lorsque l'on souhaite prélever un échantillon du lit fixe 118, le bouchon 114 est libéré et retiré. Par conséquent, la partie d'échantillon 116 est retirée du lit fixe 118 par l'intermédiaire du positionneur 120, mais reste dans des conditions stériles du fait du manchon environnant 128 et des joints établis avec le bouchon et l'orifice. Une partie du manchon 128 peut ensuite être scellée mécaniquement ou par soudage (par exemple en utilisant de la chaleur), comme indiqué par la flèche S sur la figure 2, qui scelle également une partie restante du manchon pour couvrir l'ouverture du bioréacteur 112 (par exemple l'orifice 122). De cette manière, la partie d'échantillon 116 reste dans des conditions stériles dans un compartiment ainsi formé suite à la séparation/scellement du manchon, mais peut être transportée pour un examen ou un traitement ultérieur, et le contenu du bioréacteur 112 reste également dans des conditions stériles.

[0019] Il est parfois souhaitable d'échantillonner une partie du lit fixe lui-même, par exemple en le découpant et en l'extrayant - à la fin d'un processus de culture cellulaire lorsque plus de cellules sont nécessaires pour l'échantillonnage. On pourrait essayer d'ajouter du matériau ou le nombre de fibres à la partie d'échantillon pour augmenter le nombre de cellules disponibles pour l'analyse dans un échantillon. Cependant, il peut être difficile d'atteindre l'échelle requise en utilisant cette méthodologie. À cet égard, un troisième mode de réalisation de l'échantillonneur 200, qui est représenté sur la figure 3, peut recevoir et récupérer ou extraire une partie d'échantillon relativement plus grande 216 du lit fixe 218 afin de récolter plus efficacement un plus grand nombre de cellules. Dans le mode de réalisation illustré, la partie d'échantillon 216 est reliée au couvercle ou bouchon 214 associé à un orifice 222.

[0020] Dans un mode de réalisation, l'échantillonneur 200 comprend un dispositif de coupe 230 au niveau d'une partie d'extrémité pour venir en prise avec une partie du lit fixe 218 pour le sectionner ou le détacher et former la partie d'échantillon 216. L'extrémité distale du dispositif de coupe 230 peut être conçue pour couper le matériau du lit fixe 218, et peut avoir une extrémité pointue, une lame, ou les deux, sensiblement comme une aiguille, et l'intérieur de l'échantillonneur 200 peut être au moins partiellement tubulaire ou creux pour capturer la partie du lit fixe 218 et la retirer une fois détachée. Initialement, le dispositif de coupe 230 peut être maintenu dans une position au moins partiellement à l'intérieur du bioréacteur 212, mais espacé du lit fixe 218, par exemple par un dispositif de retenue sous la forme d'une

goupille de verrouillage 234. La goupille de verrouillage 234 peut être associée à un rail ou canal 236 du dispositif de coupe 230 s'étendant généralement dans une direction correspondant à la direction du mouvement relatif avec le bioréacteur 212.

[0021]La partie d'échantillon 216 comprenant un récepteur peut être utilisée dans une situation dans laquelle le bioréacteur 212 est dans un environnement stérile, mais peut sinon comprendre un manchon 228 pour maintenir un tel environnement dans l'espace entourant le dispositif de coupe. Lorsque l'on souhaite retirer un échantillon du lit fixe 218, le dispositif de coupe 230 peut être manipulé de telle sorte que la goupille de verrouillage 234 se déplace dans le canal 236 jusqu'à ce que le dispositif de coupe 230 soit au moins partiellement plongé dans le matériau du lit fixe 218 (voir la flèche vers le bas D et la flèche de rotation R), capturant ainsi un échantillon de « carotte » du lit fixe dans un compartiment creux intérieur du dispositif de coupe 230. Comme on peut le comprendre, la distance de déplacement du dispositif de coupe 230 peut être réglée simplement en modifiant les dimensions et la géométrie du canal ou de la rainure 236. Le dispositif de coupe 230 peut alors être retiré de l'orifice 222 (flèche vers le haut U et flèche de rotation opposée L), et le manchon 228 coupé/scellé de la manière décrite ci-dessus pour maintenir la condition stérile (à la fois par rapport au dispositif de coupe 230 et au bioréacteur 212).

[0022]Dans une autre version possible, comme représenté sur la figure 3A, l'échantillonneur 200 peut être prépositionné dans le lit fixe 218 (structuré ou non). L'échantillonneur 200 peut comprendre dans son intérieur un substrat ou un matériau prédécoupé ou préassemblé (par exemple un matériau non tissé) servant de partie d'échantillon 216 pour piéger ou développer des cellules, et ainsi le corps 220 de l'échantillonneur peut fonctionner comme positionneur (similaire au positionneur 20 de l'échantillonneur 10). Le matériau formant le corps 220 de l'échantillonneur 200 peut comprendre des perforations P pour permettre au fluide de culture cellulaire de s'écouler à l'intérieur du corps et ainsi vers toute cellule piégée ou développée sur le matériau de la partie d'échantillon 216. Le retrait de la partie d'échantillon 216 du lit fixe 218 peut être effectué de la manière représentée sur la figure 3, si le maintien de la stérilité est requis.

[0023]Une autre option encore est que la version de la figure 3 soit utilisée sans fournir de dispositif de coupe 230 sur l'échantillonneur 200, comme montré sur les vues de dessus et de dessus des figures 3B et 3C. Au contraire, une partie du lit fixe 218 peut être prépositionnée et conçue pour être retirée en tant que partie d'échantillon 216 lorsqu'elle est reçue à l'intérieur de l'échantillonneur 200. L'intérieur du corps de l'échantillonneur 200 peut comprendre des préhenseurs, des

crochets ou d'autres structures de mise en prise pour mettre en prise et retirer la partie d'échantillon 216. De nouveau, les conditions stériles peuvent être maintenues en utilisant le manchon 228 représenté sur la figure 3.

[0024]Les figures 4 et 5 illustrent un exemple de mode de réalisation du couvercle ou bouchon 14 (ou 114, 214) à utiliser en liaison avec l'orifice 22 (ou 122, 222). Le bouchon 14 peut comprendre une fente en forme de L 15 destinée à s'accoupler avec un tenon correspondant 22a s'étendant radialement à partir d'une partie verticale de l'orifice 22, et ainsi former un raccord à baïonnette amovible. Le bouchon 14 peut également comporter une languette 1 7 pour faciliter la préhension manuelle en vue du retrait. Comme cela peut être apprécié, une pluralité de ces bouchons 14 peuvent être prévus sur un seul couvercle 24 afin de créer une variété d'options d'échantillonnage à différents endroits dans le lit fixe, comme représenté sur la figure 6.

[0025]En référence à la figure 7, et en utilisant le mode de réalisation de la figure 3 à titre d'exemple, un agencement pour un support temporaire 240 associé à un orifice 222 dans le couvercle de bioréacteur 224 est illustré. Le support 240 est agencé pour recevoir l'échantillonneur 200, lequel comprend une tête surdimensionnée 200a pour venir en prise avec le support 240. Le manchon 228 est connecté entre le couvercle de bioréacteur 224 et l'échantillonneur 200, par exemple le long de la surface inférieure de la tête surdimensionnée 216a.La goupille 234 et la rainure 236 de la figure 3 peuvent également être vues.

[0026]Lorsque l'on souhaite échantillonner le lit fixe 218, le support 240 peut être retiré pour permettre à l'échantillonneur 200 d'avancer. Ceci peut être réalisé en découpant la paroi latérale, mais dans un mode de réalisation particulier, une liaison frangible est établie par une tirette 242 intégrée dans la paroi latérale qui, lorsqu'elle est manipulée, rompt la liaison correspondante entre des parties du support 2 40 le long d'une ligne verticale. Ceci permet au support 240 d'être retiré de la position de support, et l'échantillonneur 200 peut alors être utilisé selon l'indication de la figure 2, tandis qu'un support fiable est fourni pour la partie d'échantillon avant l'utilisation et les conditions stériles sont entièrement maintenues. Au lieu d'une tirette 242, d'autres formes de liaisons frangibles peuvent également être utilisées, telles qu'une ligne de déchirure perforée, une fermeture à glissière, un verrou et une charnière (mobile ou autre), ou d'autres agencements similaires.

[0027]La figure 8 montre un mode de réalisation de la partie d'échantillon 16 du mode de réalisation de la figure 1, et du positionneur 20, qui est montré comme étant une structure en forme de tige allongée. La partie d'échantillon 16 peut comprendre le même matériau ou un matériau similaire au matériau du lit fixe 18, tel qu'un tissu

non tissé d'une ou plusieurs fibres. Dans une forme simple, comme représenté sur la figure 8, la partie d'échantillon 16 peut être fixée temporairement au positionneur 20 en utilisant une attache, telle qu'une pièce de métal sertie 40 (voir, par exemple la figure 16) pour former une liaison sécurisée. Bien qu'elle ait une forme généralement rectangulaire, la partie d'échantillon 16 peut comprendre n'importe quelle forme, épaisseur ou dimension, sans limitation.

[0028] Comme indiqué ci-dessus, la partie d'échantillon 16 peut être fixée de manière amovible au positionneur 20 de diverses manières. Comme représenté sur la figure 10, une extrémité distale du positionneur 20 peut comprendre une partie amovible 42 qui peut être maintenue en place par des attaches F traversant les parties pour prendre en sandwich une partie de la partie d'échantillon 16 entre elles. La figure 11 montre un mode de réalisation dans lequel un clip 44 est clipsé sur la partie d'échantillon (non représentée) et une partie d'extrémité distale surdimensionnée 20a du positionneur 20, qui peut être en forme de T. La figure 12 montre que la partie 42 peut être fixée au positionneur 20 par soudage ou adhérence (par exemple par collage) plutôt que par des fixations amovibles. La figure 13 montre que la partie d'échantillon 16 pourrait être moulée directement sur une extrémité distale du positionneur 20, par exemple par surmoulage. Une pince à ressort 46 peut également être utilisée pour clipser la partie d'échantillon 16 sur le positionneur 20, comme représenté sur la figure 14, et l'agencement de la figure 15 utilise une cale dentée 48 et une pince pivotante 50 pour maintenir la partie d'échantillon 16 en place.

[0029] Dans un autre exemple, la figure 16 montre que le positionneur 20 peut être muni d'une extrémité malléable 20b (par exemple formée d'aluminium ou d'un autre matériau souple) et abloqué sur la partie d'échantillon 16 (qui peut avoir une tête surdimensionnée 16a pour faciliter la liaison). La figure 17 illustre la manière dont un bouchon 14 peut être relié au positionneur 20 après l'installation du couvercle de bioréacteur 24, le positionneur s'étendant à travers un orifice 22 dans celui-ci pour venir en prise avec le bouchon 14 et ainsi faciliter le retrait de la partie d'échantillon 16. La figure 18 montre un agencement dans lequel des ailes pliables 20c à l'extrémité du connecteur peuvent être pliées en position sur la partie d'échantillon 16 pour la maintenir temporairement en place. En outre toujours, la partie d'échantillon 16 peut être maintenue en place sur le positionneur 20 en la positionnant dans un alésage 52 au niveau de l'extrémité distale du support 20, l'alésage comprenant une bride souple 54, qui est forcée dans une position abloquée par un actionneur 56, comme le montre la figure 19. La figure 20 montre un agencement similaire dans lequel une partie externe 58 est utilisée pour amener une

partie interne 60 (dont l'une peut se connecter au positionneur, non représenté) à s'abloquer sur la partie d'échantillon 16 et ainsi la maintenir en place (et lequel agencement peut être inversé en fléchissant la partie interne pour libérer la liaison). La figure 21 illustre qu'une attache 62 associée au positionneur 20 peut être utilisée pour pousser un support 64 dans une position abloquée.

[0030]Un procédé d'assemblage d'un bioréacteur est également décrit. En utilisant l'exemple de la figure 1 à des fins d'illustration seulement, le bioréacteur 12 peut être assemblé en positionnant le matériau du lit fixe (structuré ou non structuré) dans un compartiment intérieur de celui-ci. Dans le cas d'un lit structuré, tel que sur la figure 1A, la partie d'échantillon 16 peut être positionnée dans le lit, et fixée au positionneur 20 avant ou après. Le couvercle 24 peut être appliqué sur le bioréacteur 12 de telle sorte que le positionneur passe dans ou à travers l'orifice, et que le bouchon 14 soit mis en place (y compris en le reliant au positionneur 20, si l'on souhaite).

[0031]Dans la version non structurée, le matériau formant le lit fixe 18 peut être positionné dans le bioréacteur 12, comme ci-dessus, et les mêmes étapes pourraient être utilisées. Cependant, étant donné que la partie d'échantillon 16 n'a pas besoin d'être prépositionnée dans un lit non structuré, le couvercle 24 peut être appliqué, et le positionneur 20 utilisé pour placer la partie d'échantillon 16 dans le lit 18. Ceci peut être fait indépendamment du bouchon 14, ou avec celui-ci, si le positionneur 20 est relié au bouchon.

[0032]La description précédente de divers modes de réalisation a été présentée à des fins d'illustration. Elle n'est pas destinée à être exhaustive ou à limiter les modes de réalisation à la forme précise décrite. Par exemple, cet échantillonneur offre une opportunité unique de faciliter n'importe laquelle des étapes décrites ici par l'automatisation, par exemple en fournissant un moteur ou un dispositif robotisé pour relever et abaisser le positionneur 20 pour retirer la partie d'échantillon 16 du lit fixe 18 pour analyse. De plus, des modifications et des variations évidentes sont possibles à la lumière des enseignements ci-dessus. Toutes ces modifications et variantes entrent dans le cadre des revendications annexées lorsqu'elles sont interprétées en fonction de l'étendue à laquelle elles sont équitablement, légalement et équitablement autorisées.

REVENDICATIONS

1. Un appareil pour échantillonner une culture cellulaire associée à un lit fixe dans un bioréacteur ayant un orifice, comprenant:

un échantillonneur associé au bioréacteur pour récupérer une partie d'échantillon du lit fixe par l'intermédiaire de l'orifice.

2. L'appareil selon la revendication 1, dans lequel la partie d'échantillon comprend un positionneur adapté à positionner la partie d'échantillon dans le lit fixe, le positionneur étant accessible par l'intermédiaire de l'orifice.

3. L'appareil de la revendication 2, comprenant en outre un support associé à l'orifice au moyen d'une liaison amovible, telle qu'un raccord à baïonnette incluant une fente sur le support et un tenon sur l'orifice, une liaison filetée, ou un verrou amovible, le support étant connecté au positionneur.

4. L'appareil selon la revendication 3, dans lequel le support est fixé au positionneur, ou relié de manière amovible au positionneur, par exemple par une partie souple pour venir en prise de manière amovible avec une partie du positionneur pour un déplacement conjoint dans une direction axiale, mais permettant au support de tourner sans communiquer de rotation au positionneur.

5. L'appareil selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel le support comprend une liaison frangible pour séparer le support en de multiples parties pour le retrait.

6. L'appareil selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel l'échantillonneur comprend un dispositif de coupe pour couper le lit fixe.

7. L'appareil selon l'une quelconque des revendications précédentes, dans lequel l'échantillonneur comprend une rainure pour mettre en prise une goupille de verrouillage associée à l'orifice pour guider l'échantillonneur en position.

8. L'appareil selon l'une quelconque des revendications précédentes, incluant en outre un manchon pour maintenir une condition stérile de l'échantillonneur lorsqu'il est retiré du bioréacteur.

9. L'appareil de la revendication 8, dans lequel le manchon se connecte au bioréacteur de manière à maintenir une condition stérile dans un compartiment défini par le manchon et incluant l'échantillonneur, ainsi qu'une condition stérile du bioréacteur.

10. Un échantillonneur pour échantillonner le développement cellulaire dans un lit fixe, comprenant un positionneur allongé ayant un matériau d'immobilisation ou de piégeage de cellules à une extrémité distale de celui-ci.

11. L'échantillonneur de la revendication 10, incluant en outre des moyens pour connecter le substrat au positionneur allongé.

12. L'échantillonneur de la revendication 10 ou 11, dans lequel le positionneur est adapté à être accédé depuis l'extérieur à un bioréacteur incluant le lit fixe.

13. Un bioréacteur comprenant l'échantillonneur de l'une quelconque des revendications 10-12.

14. Un bioréacteur incluant un dispositif de coupe rétractable pour couper une partie d'un lit fixe à l'intérieur du bioréacteur.

15. Le bioréacteur de la revendication 14, incluant en outre un manchon pour maintenir une condition stérile de la partie du lit fixe coupée par le dispositif de coupe.

16. Un support amovible pour supporter un échantillonneur par rapport à un lit fixe d'un bioréacteur incluant un orifice, de sorte que l'échantillonneur puisse entrer sélectivement dans le lit fixe pour recevoir un échantillonnage de cellules en croissance, le support comprenant une liaison frangible pour séparer le support en de multiples parties pour le retrait.

17. Un appareil pour un bioréacteur incluant un orifice, comprenant :

un lit fixe structuré incluant une partie d'échantillon pour développer des cellules sur celle-ci ; et

un positionneur pour se connecter à la partie d'échantillon, la partie d'échantillon étant amovible par l'intermédiaire de l'orifice.

18. L'appareil de la revendication 17, dans lequel le lit fixe structuré comprend un lit en spirale.

19. Un appareil pour un bioréacteur incluant un orifice, comprenant :

un lit fixe non structuré incluant une partie d'échantillon pour développer des cellules sur celle-ci ; et

un positionneur pour se connecter à la partie d'échantillon, la partie d'échantillon étant amovible par l'intermédiaire de l'orifice.

20. L'appareil de la revendication 19, dans lequel le lit fixe non structuré comprend une ou plusieurs fibres orientées de manière aléatoire.

21. Un procédé d'échantillonnage d'une culture cellulaire dans un bioréacteur, comprenant de :

retirer un échantillonneur incluant des cellules de l'intérieur d'un lit fixe du bioréacteur sans exposer le bioréacteur ou l'échantillonneur à un environnement non stérile externe au bioréacteur.

22. Le procédé de la revendication 21, dans lequel l'étape de retrait comprend d'utiliser l'échantillonneur pour couper et retirer une partie du lit fixe du bioréacteur.

23. Le procédé de la revendication 21, dans lequel l'étape de retrait comprend de maintenir l'échantillonneur dans un manchon.

24. Le procédé de la revendication 23, incluant en outre l'étape consistant à sceller le manchon pour former une première partie de manchon ayant un compartiment stérile dans lequel l'échantillonneur est positionné, et une seconde partie de manchon pour sceller le bioréacteur.

25. Le procédé de l'une quelconque des revendications précédentes, incluant en outre l'étape consistant à connecter de manière amovible un couvercle associé à l'échantillon à un orifice du bioréacteur.

26. Le procédé de l'une quelconque des revendications précédentes, incluant en outre l'étape consistant à connecter de manière amovible l'échantillonneur à un positionneur associé à un couvercle.

27. Le procédé d'échantillonnage d'une croissance cellulaire dans un bioréacteur, comprenant de :

récupérer une partie d'un lit fixe du bioréacteur sans exposer le bioréacteur ou la partie à un environnement non stérile externe au bioréacteur.

28. Le procédé de la revendication 27, dans lequel l'étape de récupération comprend de couper le lit fixe pour former la partie, et de retirer la partie fixe d'un compartiment interne du bioréacteur.

29. Un procédé d'assemblage d'un bioréacteur, comprenant de :

fournir un lit fixe dans le bioréacteur ;

placer une partie d'échantillon dans le lit fixe ;

connecter la partie d'échantillon à un positionneur ; et

recouvrir le bioréacteur avec un couvercle comprenant un orifice.

30. Le procédé de la revendication 29, dans lequel l'étape de recouvrement est effectuée après l'étape de connexion, et un bouchon est fourni sur l'orifice.

31. Le procédé de la revendication 30, incluant en outre l'étape consistant à connecter le bouchon au positionneur.

32. Le procédé de la revendication 29, dans lequel les étapes de connexion et de placement sont réalisées avant l'étape de recouvrement, et le positionneur avec la partie d'échantillon est inséré à travers l'orifice dans le lit fixe.

FIGURES

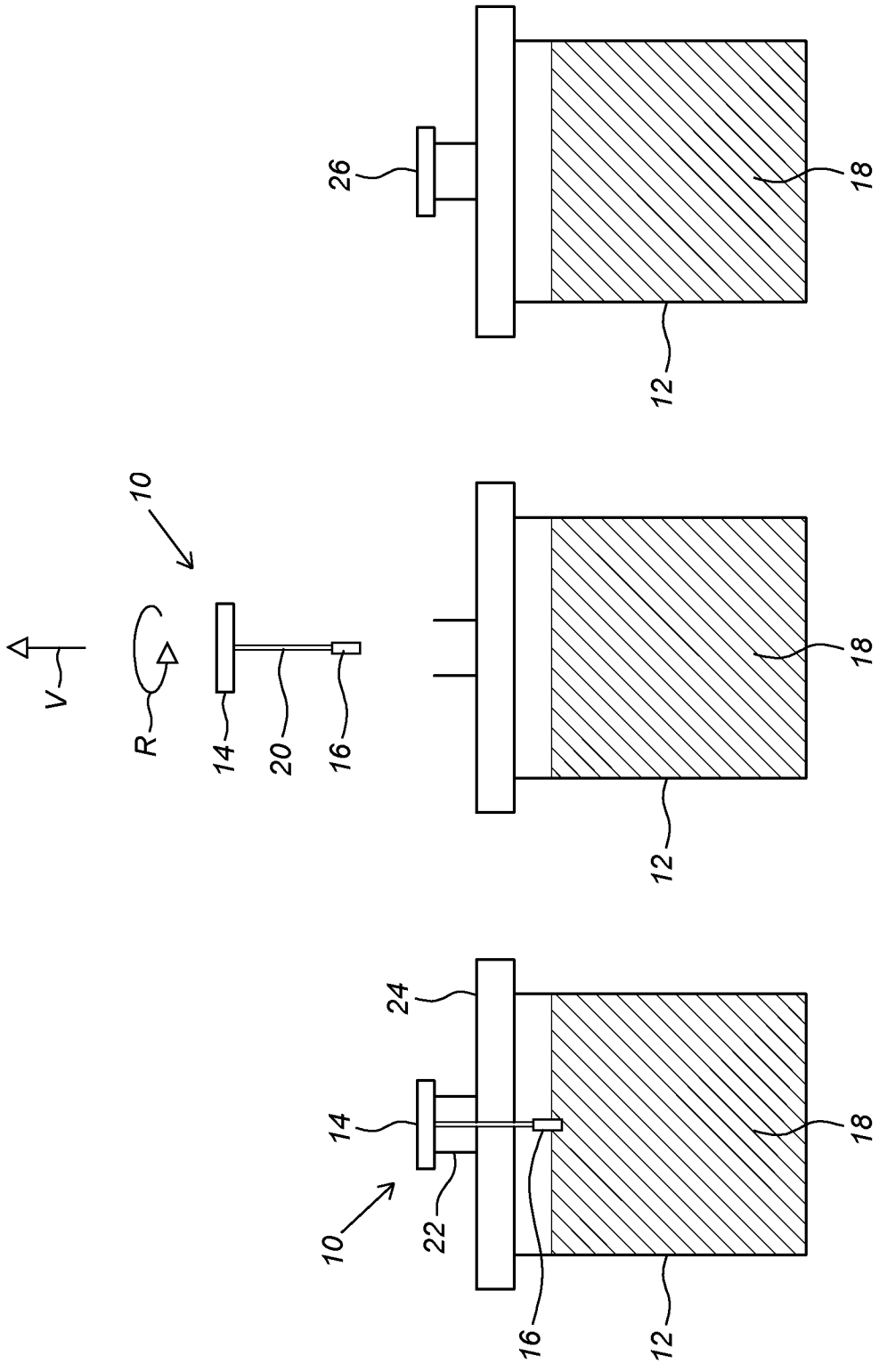


Fig. 1

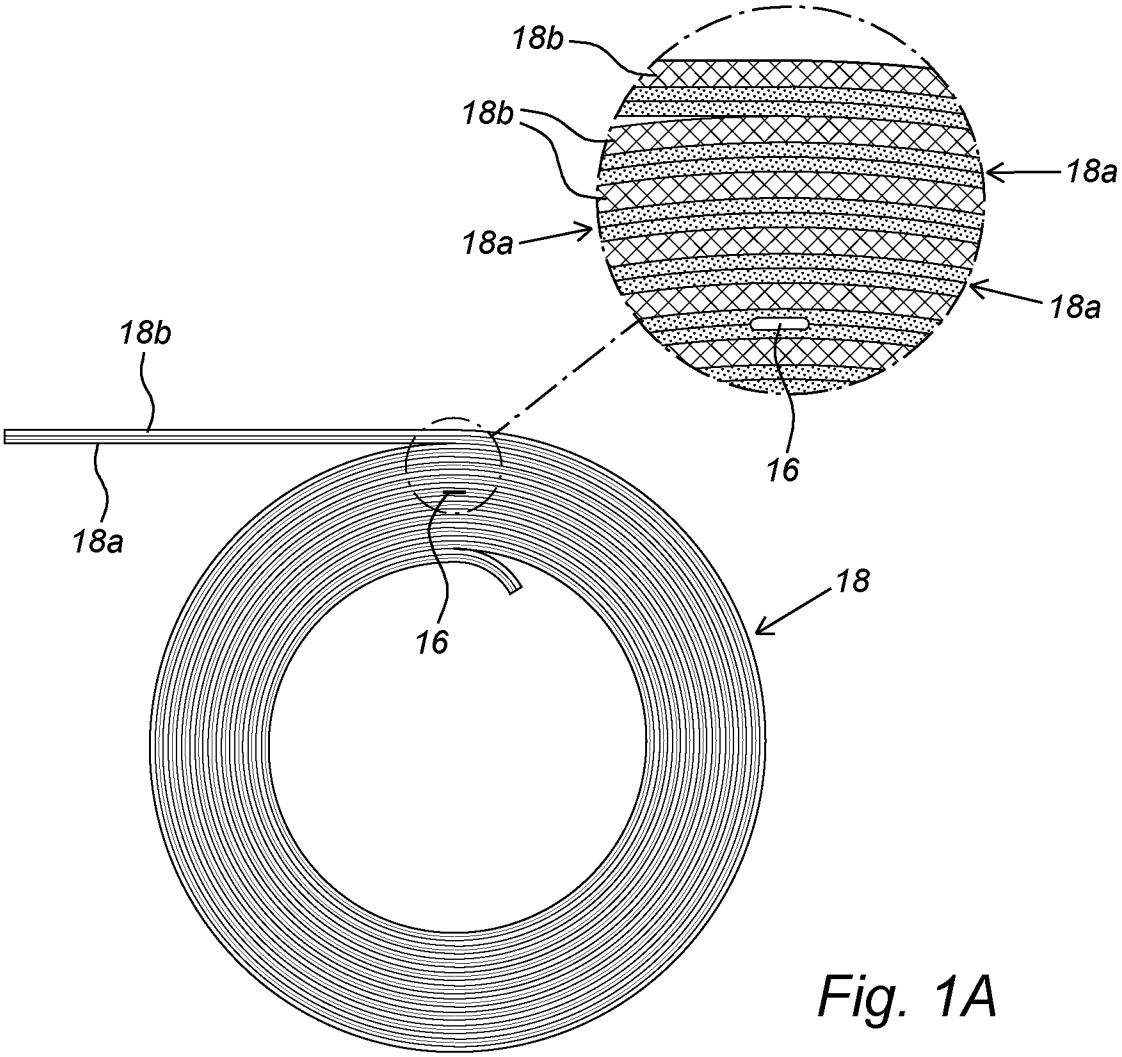


Fig. 1A

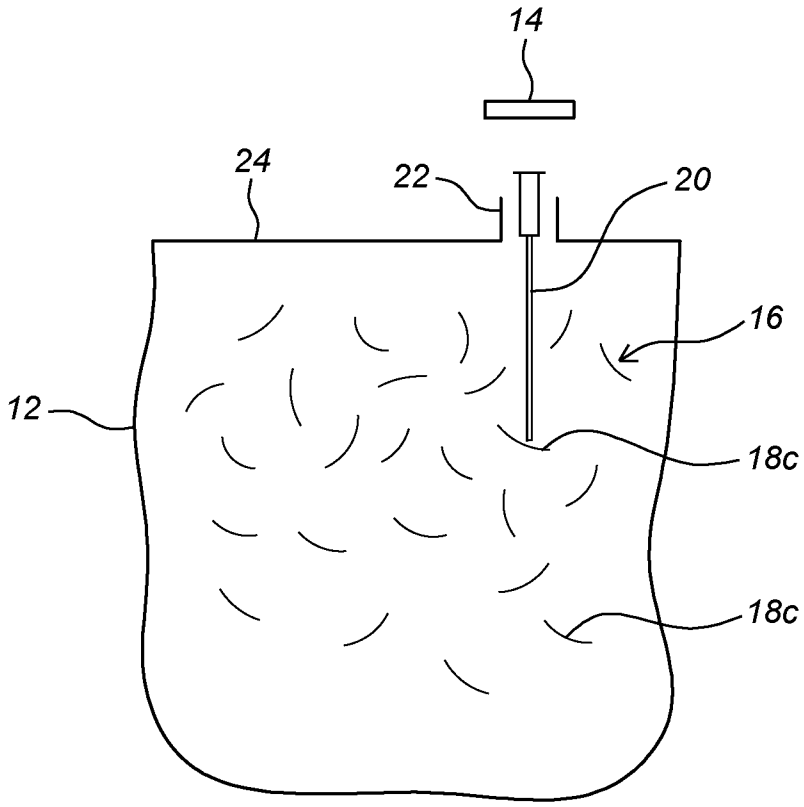


Fig. 1B

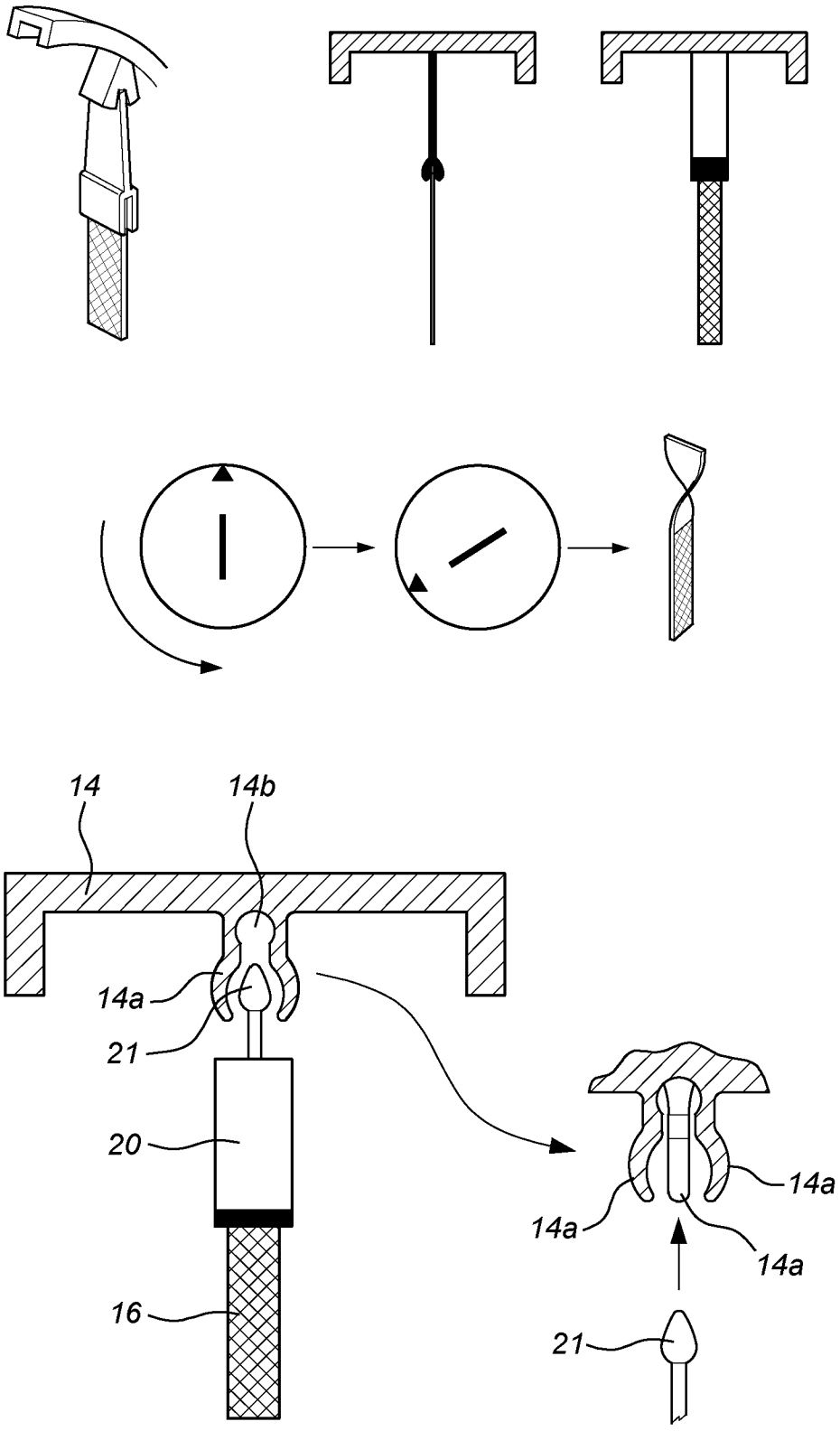


Fig. 1C

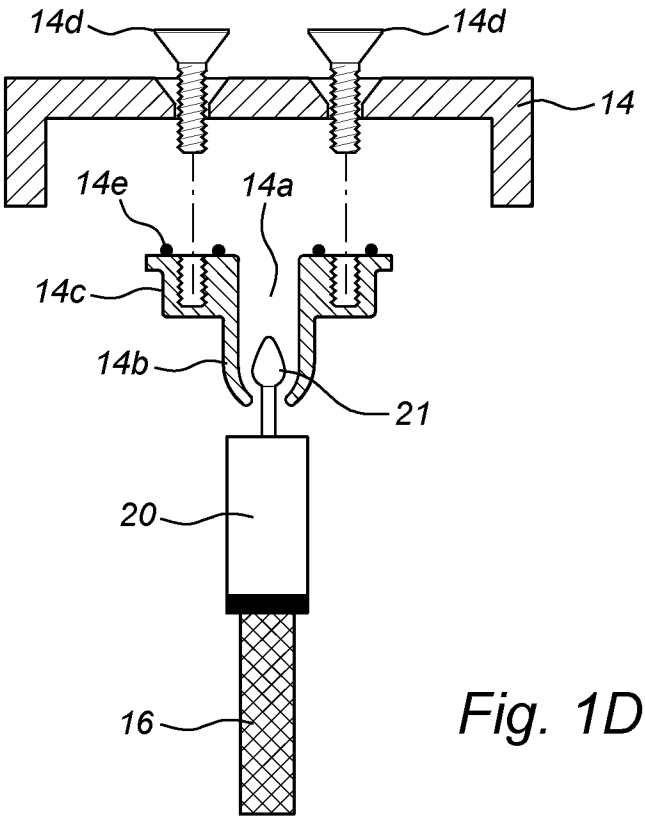

14d
14d
14
14e
14a
14c
14b
21
20
16

Fig. 1D

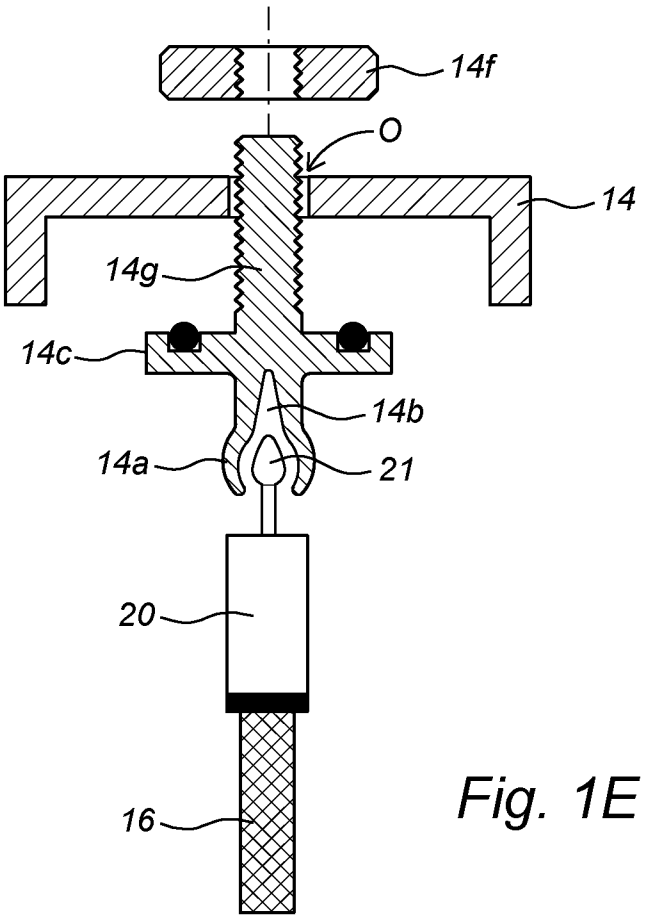

14f
O
14
14g
14c
14b
14a
21
20
16

Fig. 1E

Etappes

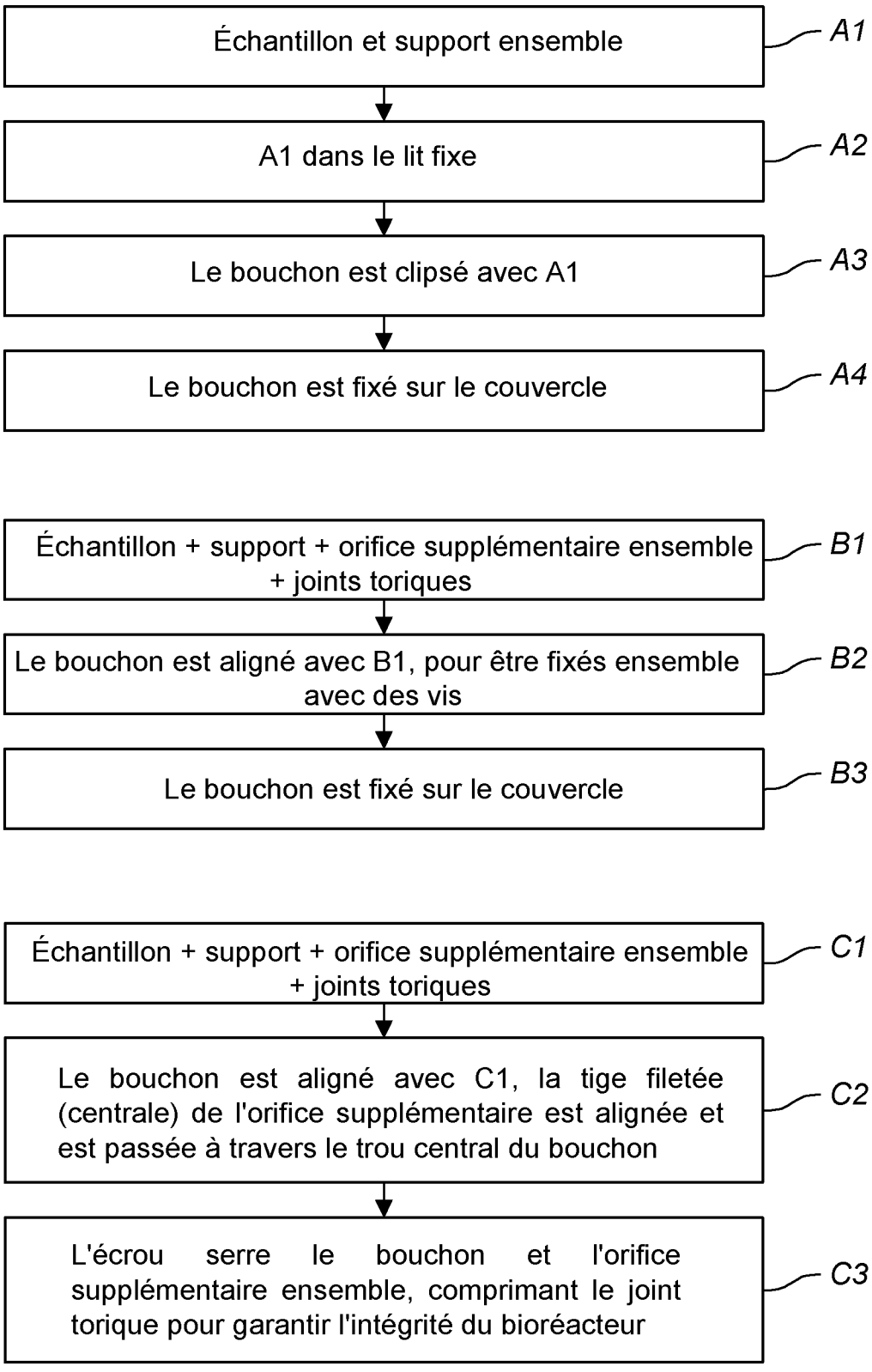


Fig. 1F

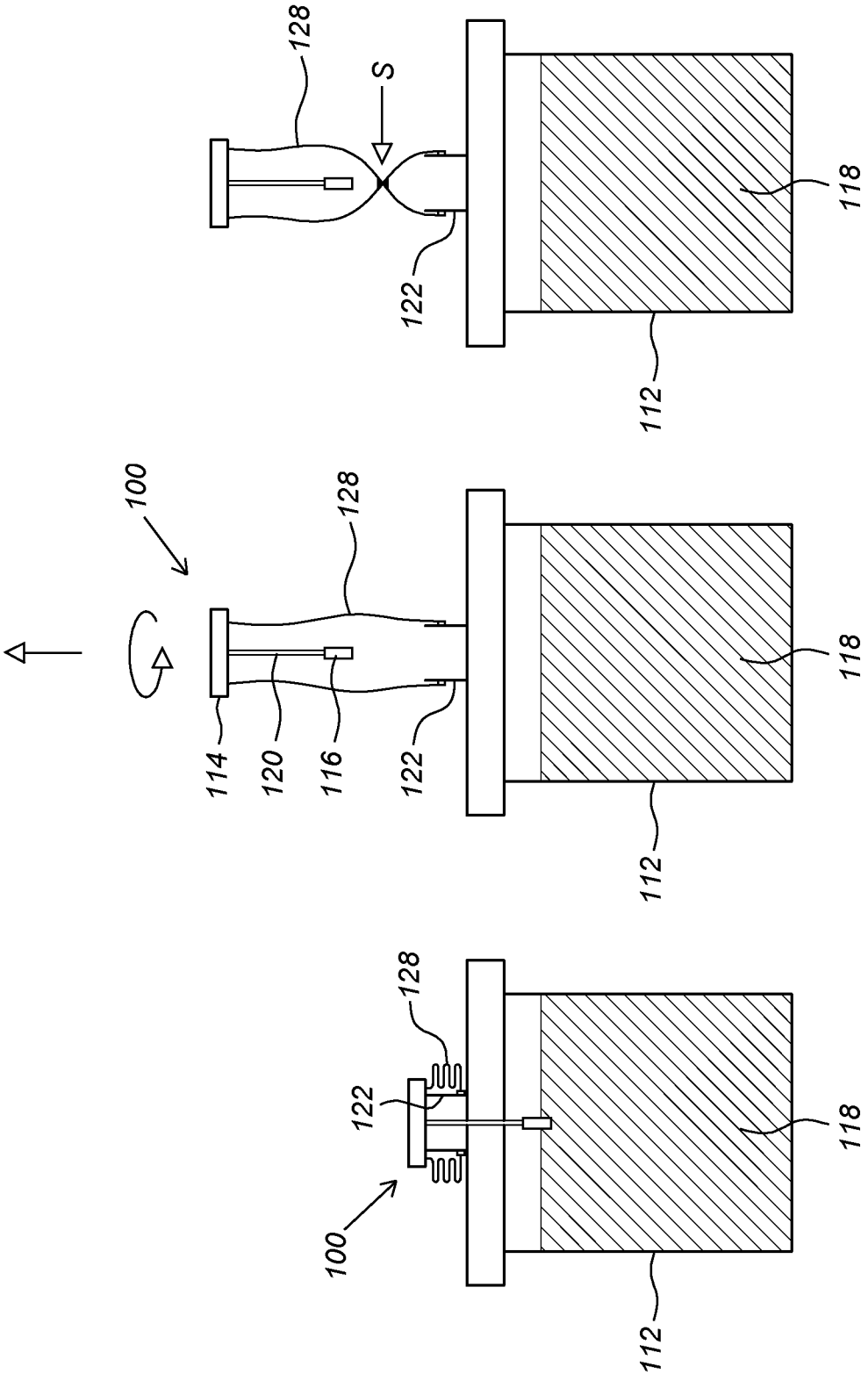

128
S
122
118
112
100
128
114
120
116
122
118
112
128
122
100
118
112

Fig. 2

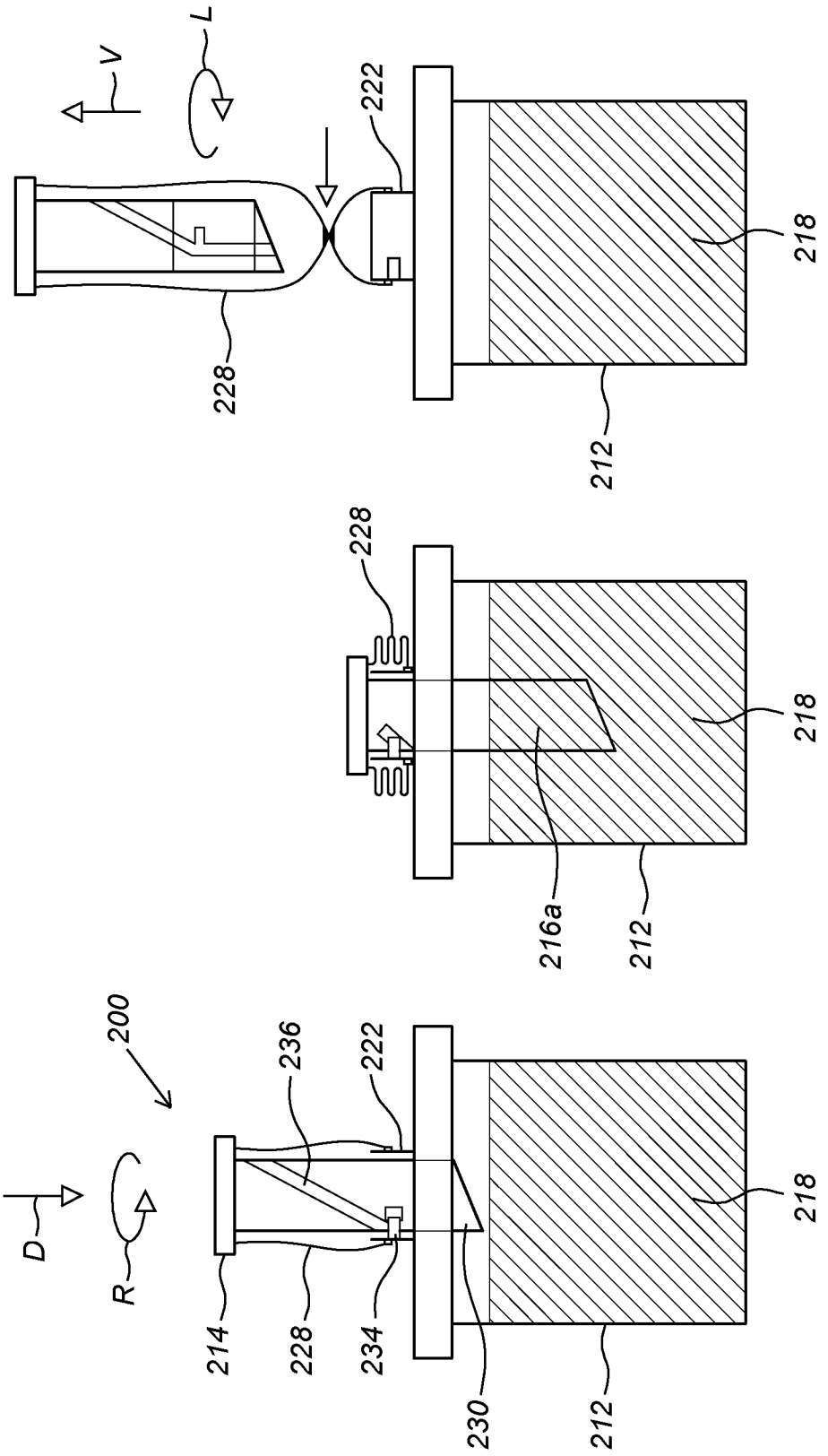

V
L
222
228
218
212
228
218
216a
212
200
236
222
D
R
214
228
234
230
218
212

Fig. 3

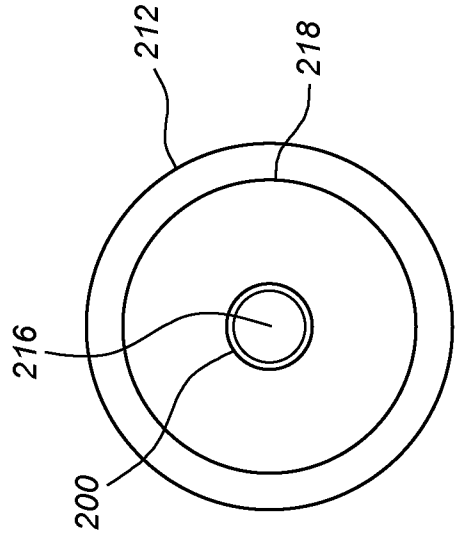


Fig. 3C

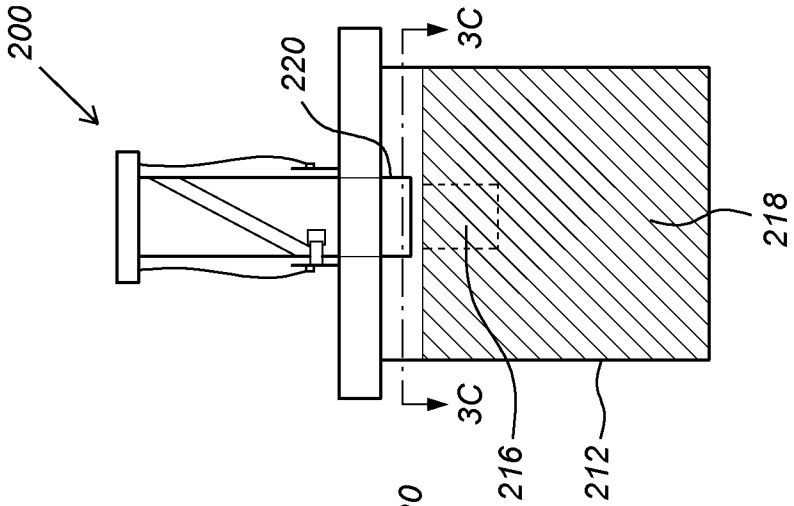


Fig. 3B

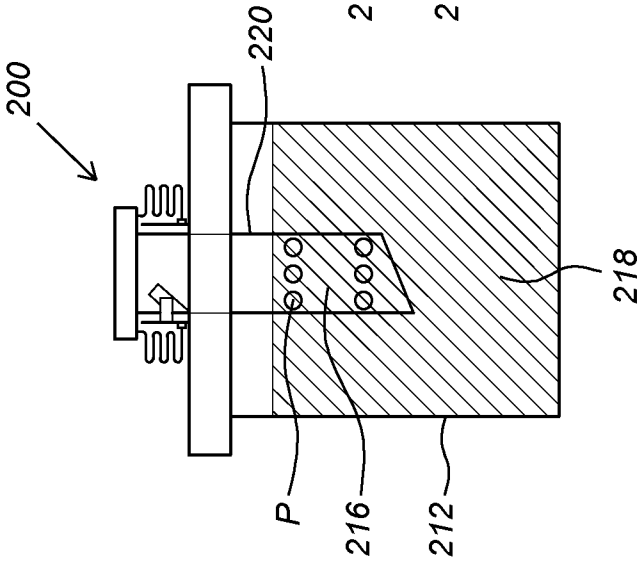


Fig. 3A

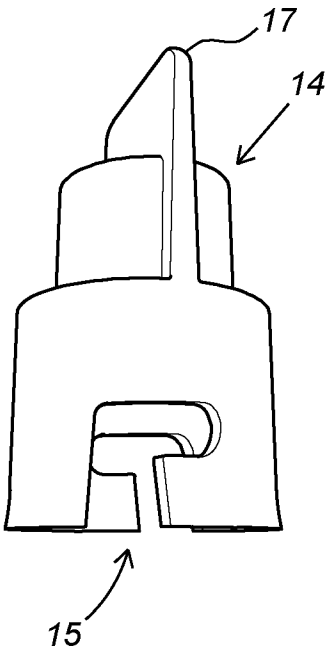


Fig. 4

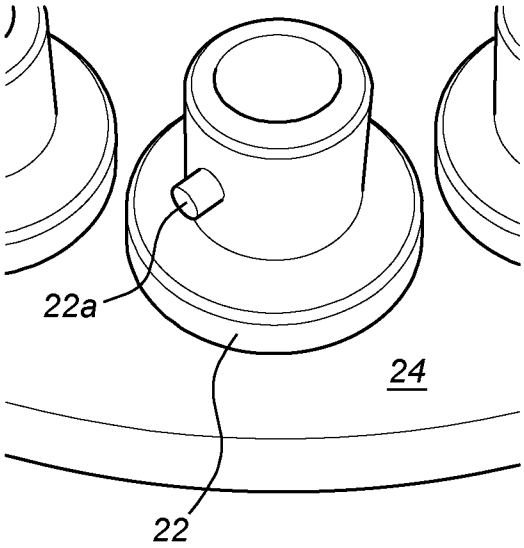


Fig. 5

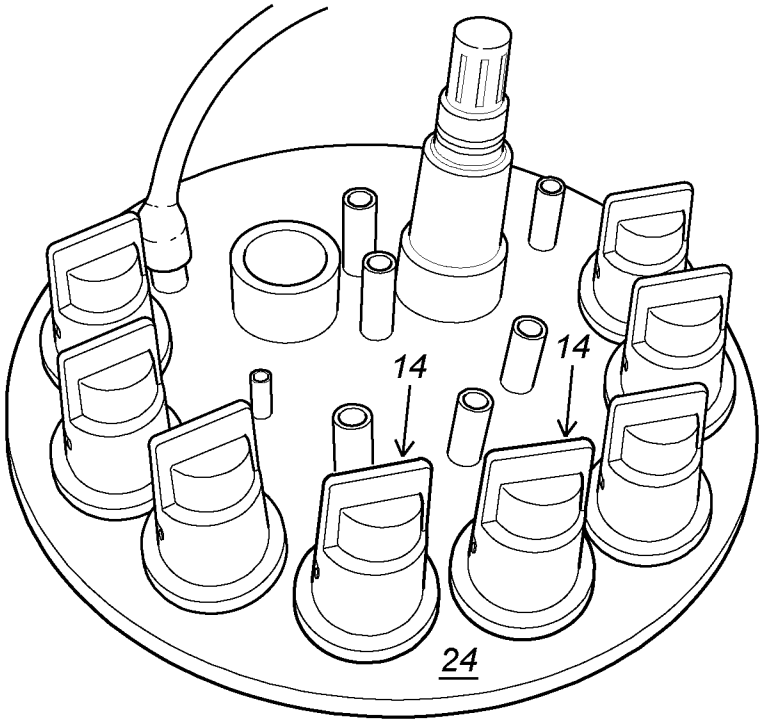
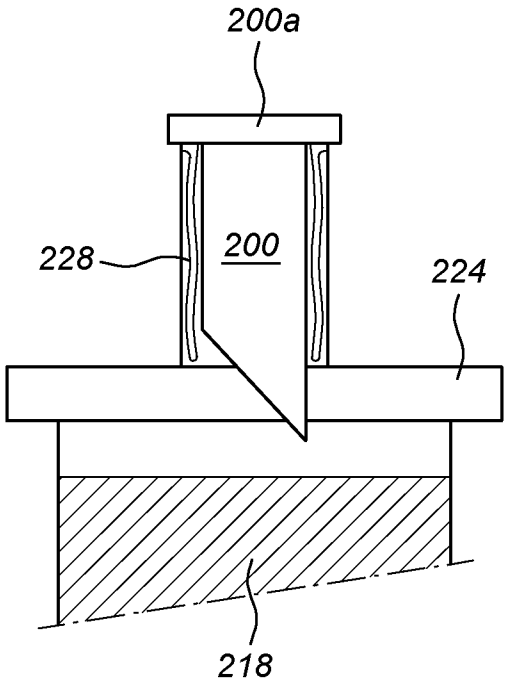


Fig. 6



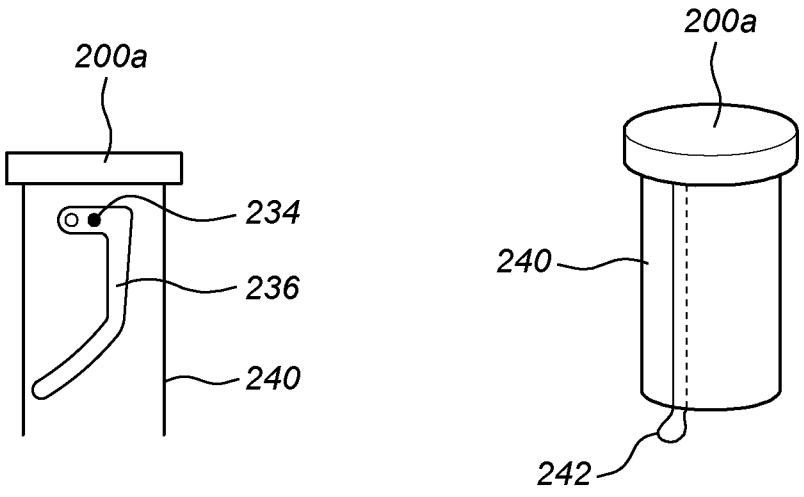


Fig. 7

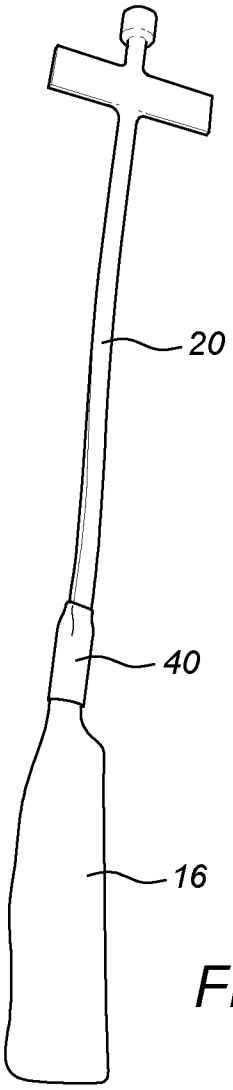


Fig. 8

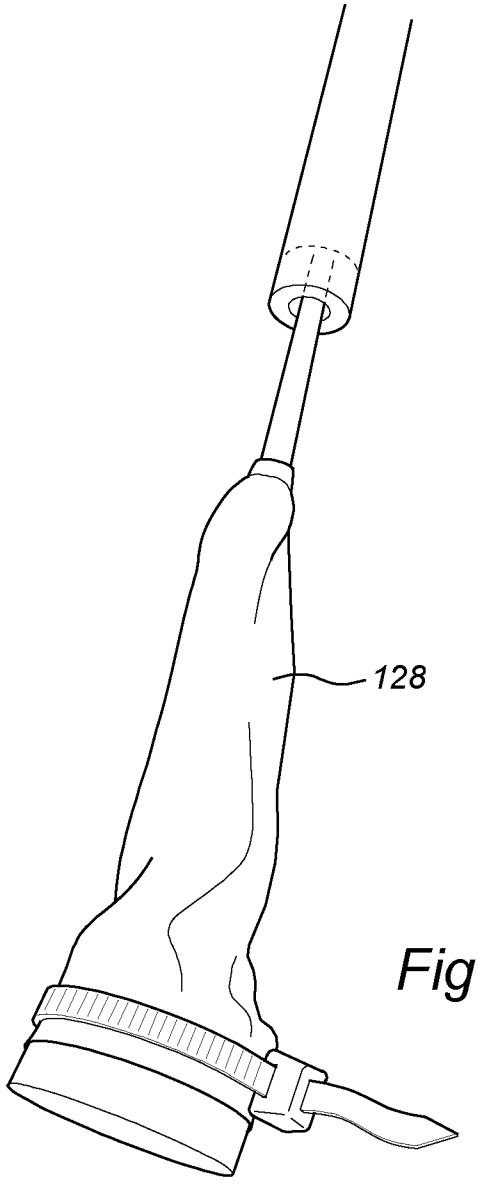


Fig. 9

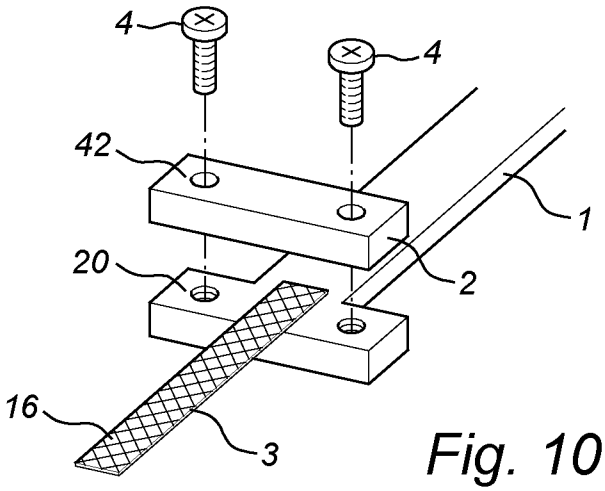


Fig. 10

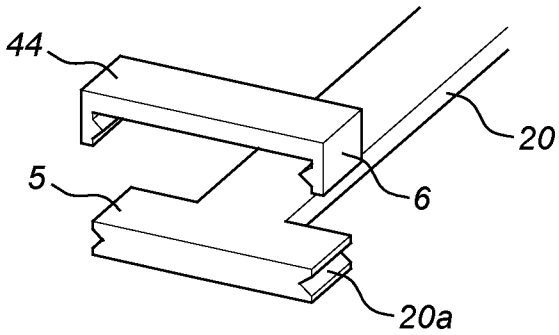


Fig. 11

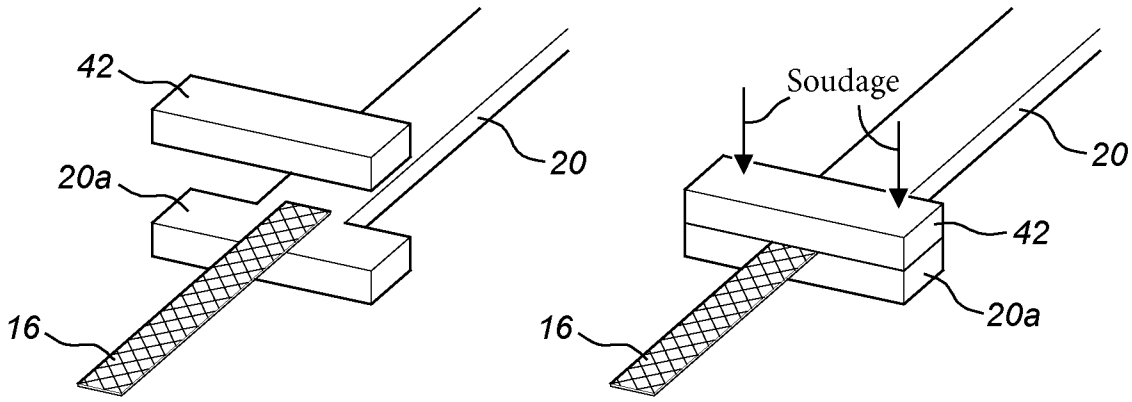


Fig. 12

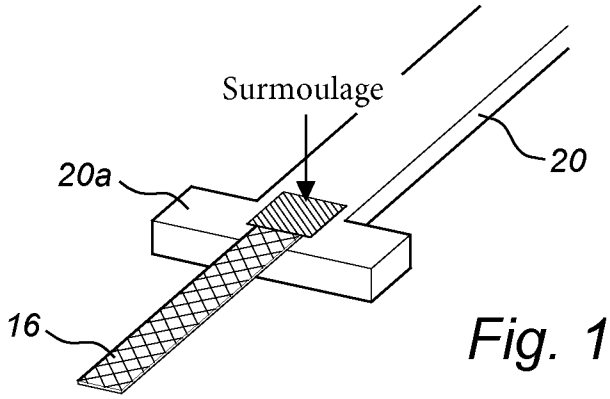


Fig. 13

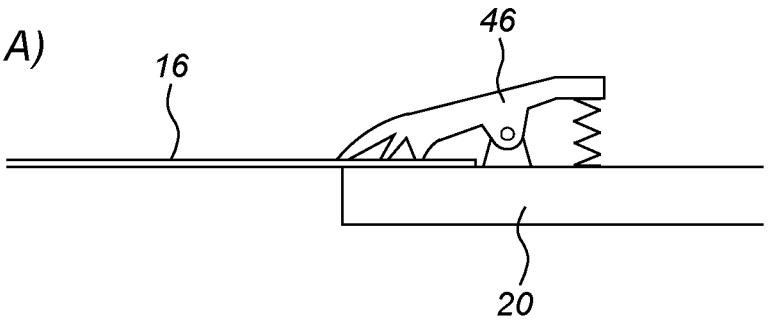


Fig. 14

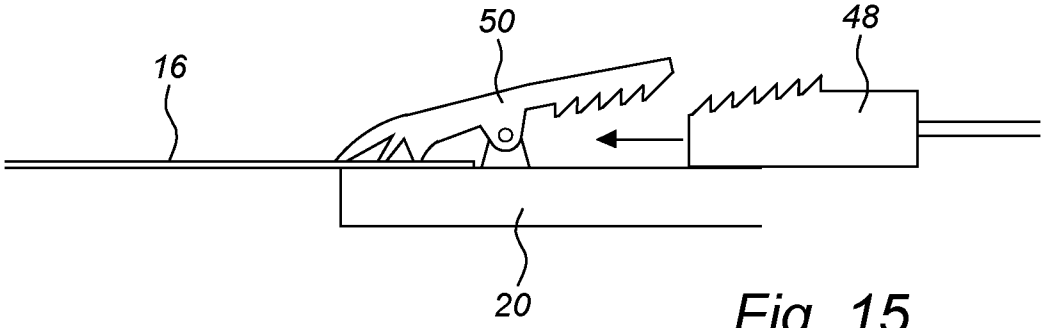


Fig. 15

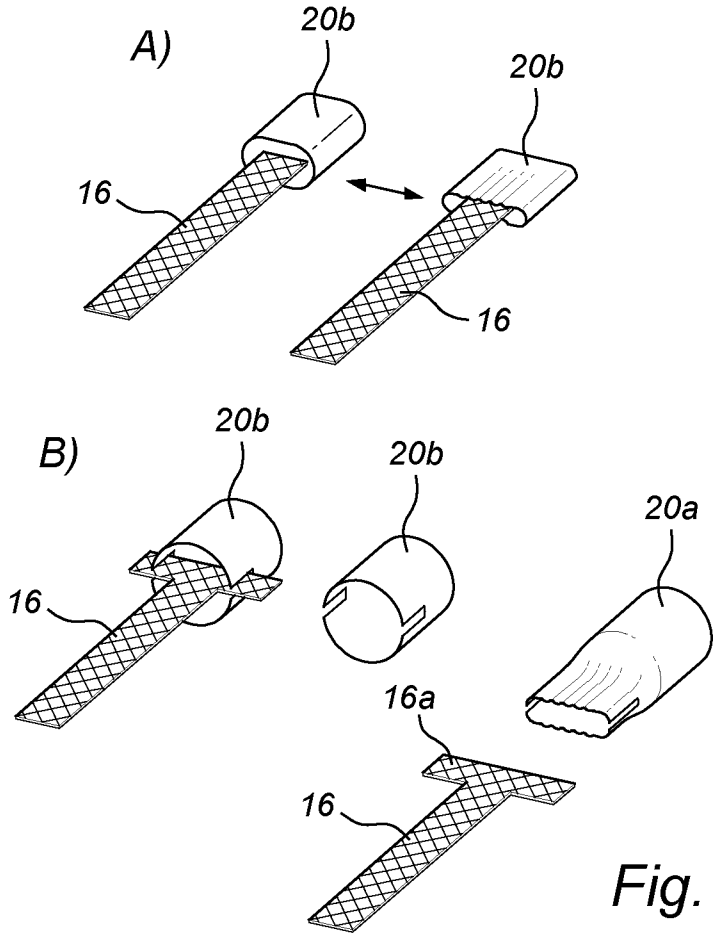


Fig. 16

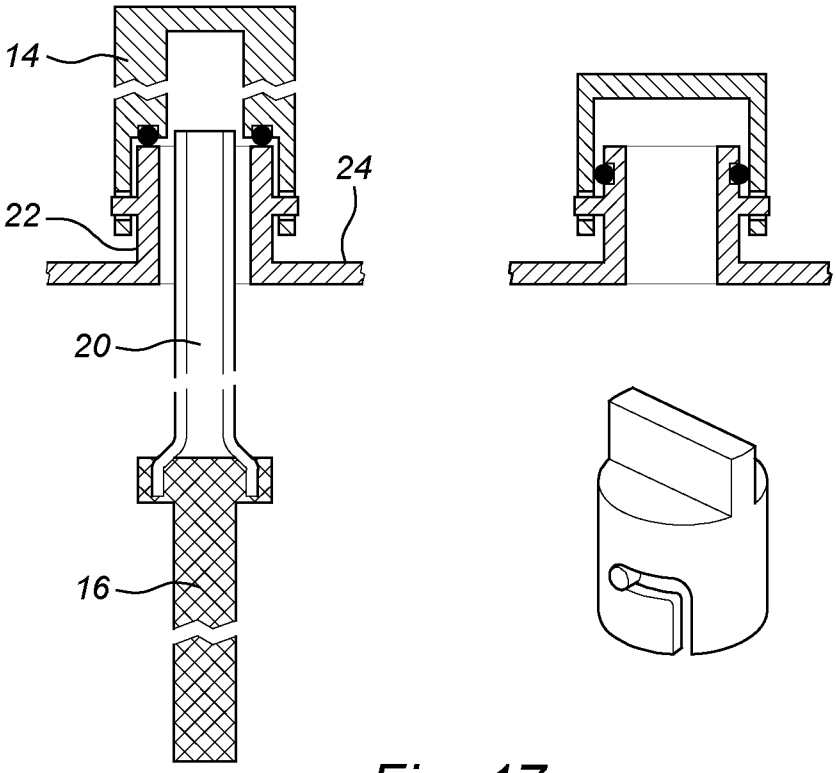


Fig. 17

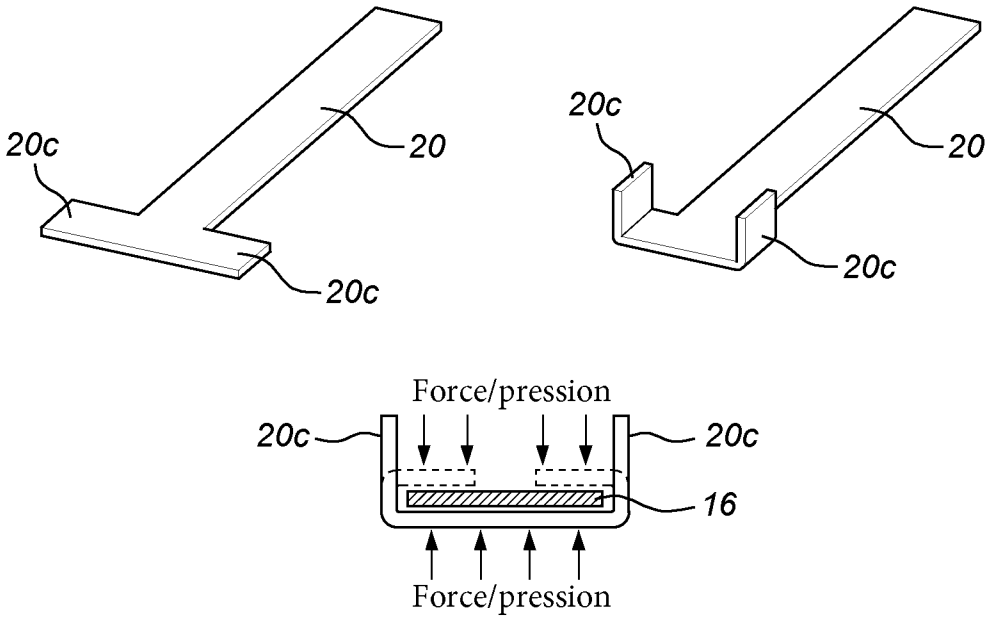

20c
20
20c
20c
20
20c
Force/pression
20c
20c
16
Force/pression

Fig. 18

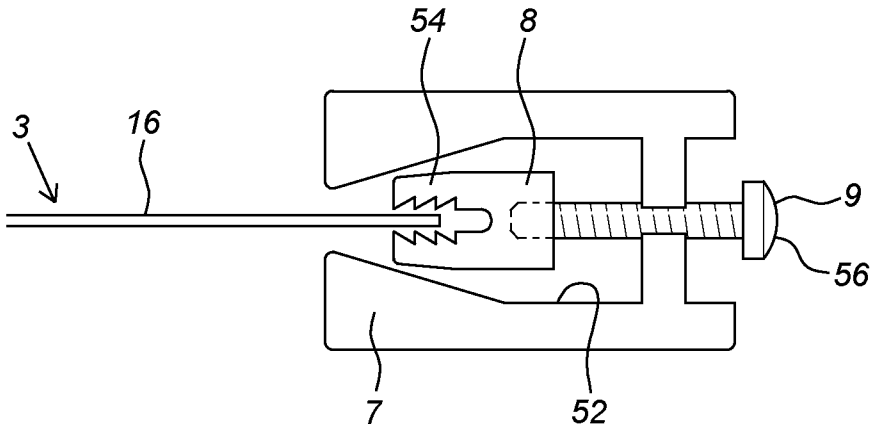

54
8
3
16
9
56
7
52

Fig. 19

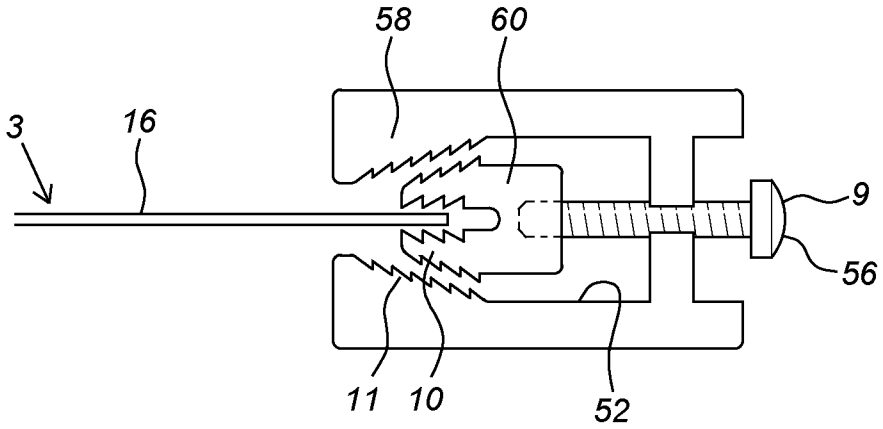


Fig. 20

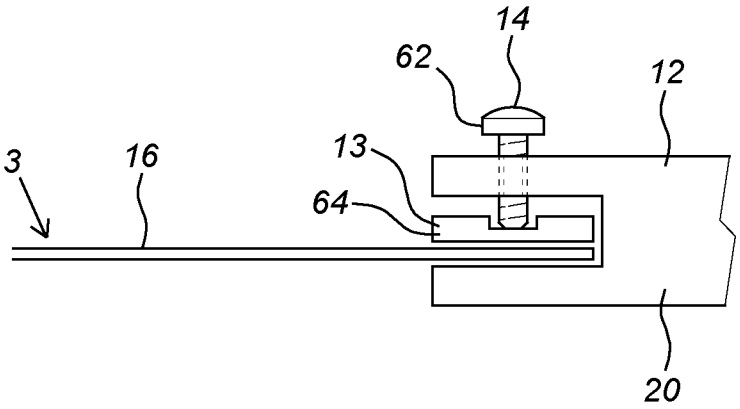


Fig. 21

TRAITE DE COOPERATION EN MATIERE DE BREVETS

RAPPORT DE RECHERCHE DE TYPE INTERNATIONAL ÉTABLI EN VERTU DE L'ARTICLE XI.23., §10 DU CODE DE DROIT ÉCONOMIQUE BELGE

IDENTIFICATION DE LA DEMANDE INTERNATIONALE	REFERENCE DU DEPOSANT OU DU MANDATAIRE
	UCEL-016-BE
Demande nationale belge n° **201805179**	Date du dépôt **16-03-2018**
	Date de priorité revendiquée
Déposant (Nom) **UNIVERCELLS S.A.**	
Date de la requête d'une recherche de type international **16-06-2018**	Numéro attribué par l'administration chargée de la recherche internationale à la requête d'une recherche de type international **SN71446**

I. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE (en cas de plusieurs symboles de la classification, les indiquer tous)

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

C12M1/12;C12M1/30

II. DOMAINES RECHERCHES

Documentation minimale consultée

Système de classification	Symboles de la classification
IPC	**C12M**

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents fort partie des domaines consultés

III. ☐ **IL A ETE ESTIME QUE CERTAINES REVENDICATIONS NE POUVAIENT FAIRE L'OBJET D'UNE RECHERCHE** (Observations sur la feuille supplémentaire)

IV. ☐ **ABSENCE D'UNITE DE L'INVENTION ET/OU CONSTATATION RELATIVE A L'ETENDUE DE LA RECHERCHE** (Observations sur la feuille supplémentaire)

RAPPORT DE RECHERCHE DE TYPE INTERNATIONAL

Demande de recherche No
BE 201805179

A. CLASSEMENT DE L'OBJET DE LA DEMANDE
INV. C12M1/12 C12M1/30
ADD.

Selon la classification internationale des brevets (CIB) ou à la fois selon la classification nationale et la CIB

B. DOMAINES SUR LESQUELS LA RECHERCHE A PORTE

Documentation minimale consultée (système de classification suivi des symboles de classement)
C12M

Documentation consultée autre que la documentation minimale dans la mesure où ces documents relèvent des domaines sur lesquels a porté la recherche

Base de données électronique consultée au cours de la recherche internationale (nom de la base de données, et si réalisable, termes de recherche utilisés)
EPO-Internal

C. DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie °	Documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
X	US 2013/071872 A1 (HO LEWIS [US] ET AL) 21 mars 2013 (2013-03-21) * alinéas [0008], [0024] * * alinéas [0030] - [0045] * * alinéa [0048] * * alinéa [0054] - alinéa [0057]; figures 1-12,19,25-28 *	1-32
A	JP 2001 120255 A (ABLE CORP) 8 mai 2001 (2001-05-08) * figure 2 *	18
A	US 2010/099127 A1 (BODNER MOISHE [US]) 22 avril 2010 (2010-04-22) * alinéa [0013] - alinéa [0018]; figures 1-3 *	1-20

-/--

[X] Voir la suite du cadre C pour la fin de la liste des documents

[X] Les documents de familles de brevets sont indiqués en annexe

° Catégories spéciales de documents cités:

"A" document définissant l'état général de la technique, non considéré comme particulièrement pertinent

"E" document antérieur, mais publié à la date de dépôt ou après cette date

"L" document pouvant jeter un doute sur une revendication de priorité ou cité pour déterminer la date de publication d'une autre citation ou pour une raison spéciale (telle qu'indiquée)

"O" document se référant à une divulgation orale, à un usage, à une exposition ou tous autres moyens

"P" document publié avant la date de dépôt, mais postérieurement à la date de priorité revendiquée

"T" document ultérieur publié après la date de dépôt ou la date de priorité et n'appartenant pas à l'état de la technique pertinent, mais cité pour comprendre le principe ou la théorie constituant la base de l'invention

"X" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme nouvelle ou comme impliquant une activité inventive par rapport au document considéré isolément

"Y" document particulièrement pertinent; l'invention revendiquée ne peut être considérée comme impliquant une activité inventive lorsque le document est associé à un ou plusieurs autres documents de même nature, cette combinaison étant évidente pour une personne du métier

"&" document qui fait partie de la même famille de brevets

Date à laquelle la recherche de type international a été effectivement achevée	Date d'expédition du rapport de recherche de type international
21 novembre 2018	

Nom et adresse postale de l'administration chargée de la recherche internationale	Fonctionnaire autorisé
Office Européen des Brevets, P.B. 5818 Patentlaan 2 NL - 2280 HV Rijswijk Tel. (+31-70) 340-2040, Fax: (+31-70) 340-3016	Cubas Alcaraz, Jose

1

Formulaire PCT/ISA/201 (deuxième feuille) (Janvier 2004)

RAPPORT DE RECHERCHE DE TYPE INTERNATIONAL

Demande de recherche No
BE 201805179

C.(suite). DOCUMENTS CONSIDERES COMME PERTINENTS

Catégorie °	Documents cités, avec, le cas échéant, l'indication des passages pertinents	no. des revendications visées
A	US 2014/193901 A1 (LEE VINCENT [TW] ET AL) 10 juillet 2014 (2014-07-10) * revendication 1 * -----	1-32

1

RAPPORT DE RECHERCHE DE TYPE INTERNATIONAL

Renseignements relatifs aux membres de familles de brevets

Demande de recherche n
BE 201805179

Document brevet cité au rapport de recherche	Date de publication	Membre(s) de la famille de brevet(s)	Date de publication
US 2013071872 A1	21-03-2013	CN 102994377 A	27-03-2013
		US 2013071872 A1	21-03-2013
JP 2001120255 A	08-05-2001	JP 4601746 B2	22-12-2010
		JP 2001120255 A	08-05-2001
US 2010099127 A1	22-04-2010	AUCUN	
US 2014193901 A1	10-07-2014	CN 104762251 A	08-07-2015
		JP 5939650 B2	22-06-2016
		JP 2014158461 A	04-09-2014
		US 2014193901 A1	10-07-2014

OPINION ÉCRITE

Dossier N°	Date du dépot *(jour/mois/année)*	Date de priorité *(jour/mois/année)*	Demande n°
SN71446	16.03.2018		BE201805179

Classification internationale des brevets (CIB)
INV. C12M1/12 C12M1/30

Déposant
UNIVERCELLS S.A.

La présente opinion contient des indications et les pages correspondantes relatives aux points suivants :

- ☒ Cadre n° I Base de l'opinion
- ☐ Cadre n° II Priorité
- ☐ Cadre n° III Absence de formulation d'opinion quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle
- ☐ Cadre n° IV Absence d'unité de l'invention
- ☒ Cadre n° V Déclaration motivée quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration
- ☐ Cadre n° VI Certains documents cités
- ☐ Cadre n° VII Irrégularités dans la demande
- ☒ Cadre n° VIII Observations relatives à la demande

Examinateur
Cubas Alcaraz, Jose

Demande n°

OPINION ÉCRITE

BE201805179

Cadre n° I Base de l'opinion

1. Cette opinion a été établie sur la base des revendications déposées avant le commencement de la recherche.

2. En ce qui concerne **la ou les séquences de nucléotides ou d'acides aminés** divulguées dans la demande, le cas échéant, cette opinion a été effectuée sur la base des éléments suivants :

   a. Nature de l'élément:

   ☐ un listage de la ou des séquences

   ☐ un ou des tableaux relatifs au listage de la ou des séquences

   b. Type de support:

   ☐ sur papier

   ☐ sous forme électronique

   c. Moment du dépôt ou de la remise:

   ☐ contenu(s) dans la demande telle que déposée

   ☐ déposé(s) avec la demande, sous forme électronique

   ☐ remis ultérieurement

3. ☐ De plus, lorsque plus d'une version ou d'une copie d'un listage des séquences ou d'un ou plusieurs tableaux y relatifs a été déposée, les déclarations requises selon lesquelles les informations fournies ultérieurement ou au titre de copies supplémentaires sont identiques à celles initialement fournies et ne vont pas au-delà de la divulgation faite dans la demande internationale telle que déposée initialement, selon le cas, ont été remises.

4. Commentaires complémentaires :

Demande n°

OPINION ÉCRITE

BE201805179

Cadre n° V Opinion motivée quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle; citations et explications à l'appui de cette déclaration

1. Déclaration

Nouveauté	Oui :	Revendications	18
	Non :	Revendications	1-17, 19-32
Activité inventive	Oui :	Revendications	
	Non :	Revendications	1-32
Possibilité d'application industrielle	Oui :	Revendications	1-32
	Non :	Revendications	

2. Citations et explications

voir feuille séparée

Cadre n° VIII Observations relatives à la demande

voir feuille séparée

Ad point V

Déclaration motivée quant à la nouveauté, l'activité inventive et la possibilité d'application industrielle ; citations et explications à l'appui de cette déclaration

Il est fait référence au document suivant :

D1 US 2013/071872 A1 (HO LEWIS [US] ET AL) 21 mars 2013 (2013-03-21)

1. La présente demande ne remplit pas les conditions de brevetabilité, l'objet des revendications 1, 10, 13, 17, 19 et 29 n'étant pas nouveau.

D1 divulgue (alinéas [0008], [0024]; alinéas [0030] - [0045]; alinéa [0048]; alinéa [0054] - alinéa [0057]; figures 1-12,19,25-28) un appareil (103-109) pour échantillonner une culture cellulaire associée à un lit fixe (102) dans un bioréacteur (101) ayant un orifice (107), comprenant un échantillonneur (109, 407) associé au bioréacteur pour récupérer une partie d'échantillon du lit fixe.

L'échantillonneur comprend un positionneur (106, 206, 408) allongé ayant un matériau (109) d'immobilisation ou de piégeage (407) de cellules à une extrémité distante de celui-ci.

La partie d'échantillon (109) de l'échantillonneur est amovible par l'intermédiaire de l'orifice (107).

Par conséquent, l'objet des revendications 1, 10, 13, 17, 19 et 29 n'est pas nouveau.

2. Le support de l'échantillonneur décrit dans le document D1 comprend une liaison frangible (figures 3, 4, références 110, 111) pour séparer le support en multiples parties pour le retrait. Par conséquent, l'objet de la revendication 16 n'est pas nouveau.

3. Le procédé d'échantillonnage du bioréacteur décrit dans D1 comprend une étape de retrait de l'échantillonneur incluant des cellules de l'intérieur d'un lit fixe du bioréacteur sans exposer le bioréacteur ou l'échantillonneur à un environnement non stérile externe au bioréacteur. Par conséquent, l'objet de la revendication 21 n'est pas nouveau.

4. Les revendications dépendantes 2-9, 11, 12, 14, 15, 18, 20, 22-28 et 30-32 ne contiennent pas de caractéristiques qui satisfassent aux exigences de nouveauté et/ ou d'activité inventive en étant combinées aux caractéristiques de l'une quelconque des revendications auxquelles lesdites revendications dépendantes sont liées.

L'objet des revendications 2-9, 11, 12, 14, 15, 20, 22-28 et 30-32 est décrit dans le document D1.

L'objet de la revendication 18 correspond à des options que l'homme du métier sélectionnerait, selon le cas, parmi plusieurs possibilités évidentes, afin de résoudre le problème posé, sans faire preuve d'esprit inventif.

Ad point VIII

Certaines observation relatives à la demande

Les revendications indépendantes 17 et 19 sont identiques.

Les caractéristiques des revendications 1-20 ne sont pas suivies par des signes de référence mis entre parenthèses.