



República Federativa do Brasil
Ministério do Desenvolvimento, Indústria
e do Comércio Exterior
Instituto Nacional da Propriedade Industrial

(21) **PI0611014-2 A2**

(22) Data de Depósito: 26/05/2006
(43) Data da Publicação: 10/08/2010
(RPI 2066)



(51) *Int.Cl.:*
C12M 1/04

(54) Título: **RECIPIENTE DE FERMENTAÇÃO**

(30) Prioridade Unionista: 30/05/2005 EP 05011607.8

(73) Titular(es): NOVARTIS VACCINES AND DIAGNOSTICS
GMGH & CO. KG

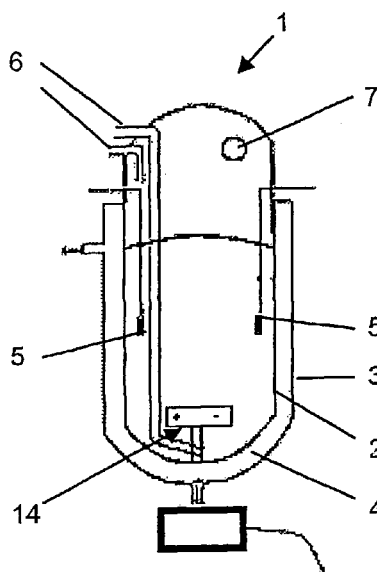
(72) Inventor(es): Achim Zimmermann, Gunther Müller, Jürgen
Vorlop

(74) Procurador(es): Orlando de Souza

(86) Pedido Internacional: PCT EP2006005033 de 26/05/2006

(87) Publicação Internacional: WO 2006/128641 de 07/12/2006

(57) **Resumo:** É revelado um fermentador para uso em processos biotécnicos especificamente para o cultivo de células. O objetivo, para prover um recipiente de fermentação 1, cujo volume interno pode ser oticamente monitorado e cujo recipiente de fermentação também pode ser esterilizado eficientemente, é alcançado por intermédio de um recipiente de fermentação (1) tendo uma parede externa (2) encerrando um volume de recipiente com um orifício de visualização (7) sendo provido na parede externa (2) para inspeção dos processos dentro do volume de recipiente, o orifício de visualização (7) tendo um elemento transparente (8) em que o elemento transparente (8) é provido com um dispositivo de aquecimento.



RECIPIENTE DE FERMENTAÇÃO

A presente invenção se refere a um sistema de fermentação para uso em processos biotécnicos especificamente para cultura de células.

5 Os processos biotécnicos para a cultura aeróbica ou anaeróbica de células microbianas ou de animais são normalmente realizados em biorreatores, freqüentemente designados como fermentadores. Aqui, a escolha do biorreator específico é crucial para eficiência do
10 processo. Os fermentadores devem prover condições ótimas em virtude da atividade metabólica e desenvolvimento do organismo. Eles também podem ser comprados em escalas de laboratório comparativamente pequenas de 1 a 10 litros assim como em escalas industriais de até 16.000 litros ou
15 mais. O tamanho exato do fermentador depende da demanda anual do produto, do processo em questão e do modo de operação.

O termo "fermentador" ou "sistema de fermentação" se refere geralmente a um dispositivo que pode ser usado
20 para o cultivo aeróbico ou anaeróbico de células. Tal sistema pode compreender um ou mais recipientes de fermentação que podem ser vedados de uma maneira tal que o conteúdo do recipiente é separado do ambiente externo ao sistema, desse modo evitando a contaminação de certa
25 cultura de célula desenvolvida no sistema de fermentação. O recipiente compreende várias entradas ou saídas levando a um recipiente as quais são usadas para conectar canos e tubagem para a introdução e/ou remoção controlada de líquidos ou gases, tais como componentes de meio ou
30 oxigênio. Esses tubos e canos conectados ao recipiente

também são parte do sistema de fermentação. Normalmente, essas partes são limpas e esterilizadas em uma única etapa em conjunto com o recipiente.

O tipo mais amplamente usado de fermentador é um recipiente de tanque agitado. Esse tipo de reator normalmente consiste em um recipiente cilíndrico de aço inoxidável o qual é fechado no topo e dentro do qual são montadas diversas guarnições como válvulas e tubos (por exemplo, para sondas de medição ou outro equipamento auxiliar).

A esterilidade do sistema de fermentação representa uma exigência fundamental para sua operação bem-sucedida. Particularmente, no contexto da produção de substâncias para uso farmacêutico (tal como vacinas ou agentes ativos), qualquer contaminação do cultivo de célula no fermentador tem que ser excluída. Portanto, o sistema de fermentador inteiro incluindo o equipamento auxiliar e o meio de cultura são esterilizados antes de seu uso. Contudo, fermentadores conhecidos compartilham certas deficiências de construção que podem levar à esterilização insuficiente do sistema de fermentação antes do uso a qual por sua vez pode ser a razão para contaminação. Alternativamente, a contaminação do cultivo de célula no fermentador poderia ocorrer como uma consequência das etapas de processamento durante operação do sistema.

A esse respeito, as pernas mortas são uma fonte comum de contaminação nos sistemas de fermentação atualmente usados. Pernas mortas geralmente se referem às partes de um tubo ou cano ou partes de um conjunto de condução mais complexo, tal como encanamento ou

canalização, que não são completamente inundados pelo líquido ou gás fluindo através das mesmas. Esses locais não são adequadamente alcançados durante a esterilização do fermentador e meio de cultivo residual, a partir de um curso de produção anterior, pode ser retido nessas regiões o que por sua vez pode causar contaminação da cultura em uma fermentação subsequente utilizando esse sistema. Especialmente a região das válvulas na tubagem normalmente pode não ser esterilizada suficientemente. Portanto, existe a necessidade de se prover um sistema de fermentação que tenha válvulas que sejam isentas de pernas mortas para garantir esterilização adequada.

Nos processos de produção biotécnicos freqüentemente é necessário monitorar o processo mediante observação ótica do caldo dentro do recipiente fechado. Portanto, orifícios de visualização são instalados na parede do recipiente os quais têm um elemento transparente, normalmente uma janela de vidro, através da qual um usuário pode olhar o interior do recipiente. Devido ao condensado na janela transparente a visão através da janela pode ser impedida. Aqui, a partir da técnica anterior, é conhecida a montagem de um limpador, dentro do recipiente, o qual é acionado a partir do lado externo para limpar a janela. Porém, verificou-se que o acoplamento por intermédio do qual o movimento do limpador é efetuado é uma razão de contaminação uma vez que uma esterilização eficiente do acoplamento normalmente é de difícil realização.

Desse modo, existe a necessidade de se prover um recipiente de fermentação cujo volume interno possa ser monitorado óticamente e cujo recipiente de fermentação

também possa ser eficientemente esterilizado.

Os biorreatores para a cultura de células precisam de um agitador para a distribuição homogênea de células, nutrientes, gases e calor. Em sistemas de fermentação convencionais, o eixo do agitador é acionado diretamente a partir de fora do recipiente. Devido a essa construção, contaminações provavelmente ocorrem através da vedação mecânica, dupla, giratória. Na técnica anterior, condensado de vapor estéril entre os dois pares de anéis tem sido usado para evitar a contaminação do recipiente de fermentação. Contudo, comprovou-se que esse método também não é adequado para excluir o risco de contaminação. Isso resulta na necessidade de um recipiente de fermentação com um sistema de agitação aperfeiçoado que não impeça a esterilização do fermentador.

Durante a esterilização de um sistema de fermentação, o vapor é conduzido através dos recipientes e da tubagem o que resulta em um aumento considerável na temperatura do material ou do sistema de fermentação. Especialmente a parede do recipiente e a tubagem se expandem devido à temperatura que aumenta. Essa expansão conduz à tensão e esforços no material que podem resultar em fraturas e rachaduras. Por sua vez, contaminações podem ocorrer nessas fraturas e rachaduras as quais dificilmente podem ser eliminadas apenas através da condução do vapor através das tubagens do sistema de fermentação. Assim, existe a necessidade de um sistema de fermentação no qual o risco de formar rachaduras e fraturas durante a esterilização seja reduzido.

Durante os processos de cultivo de células,

freqüentemente é preferido transferir o caldo de cultura de um recipiente para outro para aumentar o número de células. O meio de cultura de célula em processos em lotes tem apenas a capacidade de gerar no fim de uma passagem o 5 décuplo do número de células em comparação com o número inicial de células. Portanto, os especialistas no campo de cultura de células produzem um elevado número de células em um primeiro recipiente de fermentação. Quando certa densidade de células é conseguida, uma parte da cultura de 10 células é transferida para um recipiente de fermentação adicional com meio de cultura fresco. Tal transferência normalmente é repetida várias vezes, considerando que o volume dos recipientes de fermentação aumenta com cada etapa de transferência. A escalada volumétrica é feita 15 normalmente por um fator entre 3 e 10. Na técnica anterior, a transferência é facilitada por intermédio do uso de bombas que forçam o líquido a fluir a partir de um recipiente na direção do recipiente de alimentação. Contudo, tal transferência conduz à formação de espuma que 20 pode danificar as células na cultura mediante geração de esforço de cisalhamento. Desse modo, também existe a necessidade de se prover um sistema de fermentação através do qual a produção de espuma e o esforço de cisalhamento sejam evitados.

25 Com base na técnica anterior, portanto, é o objetivo da presente invenção prover um recipiente de fermentação e um sistema de fermentação, respectivamente, que superem os empecilhos mencionados anteriormente.

De acordo com um primeiro aspecto da presente 30 invenção, esse objetivo é alcançado por intermédio de um

recipiente de fermentação tendo uma parede externa encerrando um volume de recipiente com um orifício de visualização sendo provido na parede externa para inspeção dos processos dentro do volume do recipiente, o orifício de visualização tendo um elemento transparente em que o elemento transparente é provido com um dispositivo de aquecimento.

Devido ao dispositivo de aquecimento o condensado que se forma na superfície interna do elemento transparente pode ser removido sem a necessidade de acoplamento mecânico através da parede do recipiente. Isso reduz o risco de contaminações no sistema de fermentação.

Em uma modalidade preferida, o dispositivo de aquecimento compreende um fio de aquecimento formado na superfície do elemento transparente. Isso tem a vantagem de que a superfície do elemento transparente pode ser eficientemente aquecida por uma pequena quantidade de energia de aquecimento. Em outra modalidade, o dispositivo de aquecimento compreende um fio de aquecimento interno que é incorporado no elemento transparente, conduzindo também a um aquecimento eficiente do elemento transparente.

Alternativamente ou adicionalmente uma lâmpada de aquecimento disposta fora do volume do recipiente pode ser provida como um dispositivo de aquecimento para aquecer o elemento transparente. Essa configuração tem a vantagem de que não é necessário modificar o elemento transparente, e orifícios de visualização comuns podem ser usados os quais permitem uma atualização de um orifício de visualização já instalado.

De acordo com outro aspecto da presente invenção,

o objetivo mencionado acima é alcançado por um recipiente de fermentação tendo uma parede externa encerrando um volume de recipiente com um elemento de agitação arranjado dentro do volume de recipiente e com um meio de acionamento
5 arranjado fora do recipiente para acionar giratoriamente o elemento de agitação com o elemento de agitação sendo provido com um primeiro elemento magnético e o meio de acionamento sendo provido com um segundo elemento magnético em que o primeiro elemento magnético e o segundo elemento
10 magnético são acoplados por intermédio de força magnética.

Devido ao acoplamento magnético o risco de contaminações no sistema de fermentação é muito reduzido em comparação com a técnica anterior onde um acoplamento mecânico por um eixo que passa através da parede do
15 recipiente foi usado. O acoplamento magnético permite uma separação completa entre o elemento de agitação dentro do recipiente e o meio de acionamento fora do recipiente.

Em uma modalidade preferida, o elemento de agitação compreende um eixo de agitação com o primeiro
20 elemento magnético sendo montado no eixo de agitação. Adicionalmente, o meio de acionamento compreende um eixo de acionamento com o segundo elemento magnético sendo montado no eixo de acionamento.

Para se obter um bom acoplamento magnético entre
25 os elementos magnéticos, é preferido que o recipiente tenha um recesso na parede externa, o recesso tendo uma parede anular se projetando para dentro do volume do recipiente em que o segundo elemento magnético é arranjado dentro do recesso. Aqui, o primeiro elemento magnético é arranjado
30 adjacente à parede anular.

O objetivo acima está de acordo com um terceiro aspecto da presente invenção realizado por intermédio de um recipiente de fermentação tendo uma parede externa encerrando um volume de recipiente, a parede compreendendo
5 uma entrada para introduzir ou extrair um gás ou líquido no volume do recipiente ou a partir do volume do recipiente, e um tubo de conexão para um dispositivo de fornecimento para o gás ou líquido em que o tubo de conexão compreende uma primeira seção se estendendo ao longo de um primeiro eixo,
10 uma segunda seção conectada à primeira seção e se estendendo ao longo de um segundo eixo, o segundo eixo sendo essencialmente perpendicular ao primeiro eixo, e uma terceira seção conectada à segunda seção e se estendendo ao longo de um terceiro eixo, o terceiro eixo sendo paralelo e
15 separado do primeiro eixo.

O laço formado pela primeira, segunda e terceira seção pode ser curvo ao longo das seções onde elas se expandem como um resultado de aumento na temperatura do material durante a esterilização. Isso reduz as tensões na
20 tubagem e desse modo o risco de formação de rachadura. Em uma modalidade preferida é provida uma junção na segunda seção, em que a junção compreende uma válvula de entrada. Mediante esse meio de construção, a válvula de entrada é protegida contra a tensão e o esforço que surgem durante a
25 esterilização do sistema. Além disso, por intermédio das três seções, é possível depurar a conexão entre a válvula de entrada e o recipiente. Desse modo, a tubagem entre a válvula de entrada e o recipiente não representa uma perna morta.

30 De acordo com outro aspecto da presente invenção,

é provido um sistema de fermentação com um recipiente encerrando um volume de recipiente e com uma tubagem para distribuir líquidos no sistema de fermentação em que a tubagem compreende uma válvula de comutação, a válvula de comutação tendo um corpo de válvula, uma pluralidade de seções de saída, um tubo de passagem passando através do corpo de válvula a partir de uma primeira extremidade para uma segunda extremidade, uma pluralidade de furos no corpo de válvula e uma pluralidade de elementos de válvula inseridos nos furos em que a primeira extremidade e a segunda extremidade estão se comunicando com um fornecimento de líquido, em que os furos estão se comunicando com as seções de saída e em que os furos intersectam o tubo de passagem.

Devido à conexão direta entre o tubo de passagem e os furos que é conseguida por intermédio da interseção entre os furos e o tubo de passagem, a válvula de acordo com a presente invenção não tem seções que não possam ser alcançadas durante a esterilização com vapor o qual é conduzido através do tubo de passagem. A esse respeito, deve ser mencionado que uma interseção no sentido da presente invenção já está presente, se parte da parede do tubo de passagem for cruzada pelos furos. A abertura do tubo de passagem para os furos é diretamente fechada pelos elementos de válvula e nenhum espaço deixa de ser depurado quando o vapor é conduzido através da tubagem.

De acordo com outro aspecto da presente invenção, é provido um sistema de fermentação que compreende um primeiro recipiente de fermentação, um segundo recipiente de fermentação e um tubo de transferência conectando o

primeiro recipiente e o segundo recipiente, em que o tubo de transferência é conectado à seção inferior do primeiro recipiente e à seção inferior do segundo recipiente.

Por intermédio do tubo de transferência, é possível que ocorra uma transferência de caldo a partir do primeiro recipiente para o segundo recipiente quando a pressão é aumentada no primeiro recipiente. Nesse caso, a pressão aumentada, no primeiro recipiente, força parte do caldo a se deslocar através do tubo de transferência para dentro do segundo recipiente. Aqui, bombas podem ser omitidas e o efeito de produção de espuma pelas bombas é eliminado.

Em uma modalidade preferida, uma válvula de transferência é provida no tubo de transferência que permite o controle do fluxo entre os recipientes. Além disso, é preferido prover uma entrada de pressão na parede do primeiro recipiente que permita introduzir um meio pressurizado, preferivelmente ar pressurizado, para aumentar a pressão dentro do primeiro recipiente.

Os aspectos mencionados acima relacionados aos recipientes de fermentação e sistemas, respectivamente, também podem ser aplicados em cada combinação possível entre si.

A seguir, modalidades preferidas da presente invenção são descritas com referência aos desenhos anexos, nos quais

A Figura 1 mostra um recipiente de fermentação de acordo com a presente invenção,

A Figura 2 é uma vista em seção de um orifício de visualização equipado com os dispositivos de aquecimento

para um recipiente de fermentação de acordo com a presente invenção,

A Figura 3 mostra uma vista em seção da parte inferior de um recipiente de fermentação da presente invenção,

A Figura 4 mostra uma vista em seção de uma entrada montada em um recipiente de fermentação de acordo com a presente invenção,

A Figura 5 mostra uma vista superior de uma válvula de entrada de acordo com a presente invenção, e

A Figura 6 mostra um sistema de fermentação da presente invenção compreendendo mais do que um recipiente de fermentação.

Na Figura 1, é mostrado um recipiente de fermentação 1 para processamento biotécnico o qual compreende uma parede externa 2. A parte inferior do recipiente 1 é provida adicionalmente com uma segunda parede 3, de modo que a parte inferior tem uma parede de camisa dupla. Um meio de aquecimento pode ser conduzido através do espaço intermediário 4 para aquecer o caldo dentro do recipiente 1. Além disso, sondas de análise 5 são providas dentro do recipiente 1 para medir os parâmetros relevantes como temperatura e pressão.

Na parte superior do recipiente 1 dois orifícios de entrada 6 são dispostos através dos quais um gás ou líquido pode ser alimentado ao recipiente 1 os quais são conectados a uma válvula de comutação que é descrita abaixo. Além disso, a parte superior é provida com um orifício de visualização 7, através do qual é possível inspecionar oticamente os processos dentro do recipiente 1

sem o problema de que o caldo entre em contato com a atmosfera externa.

O orifício de visualização 7 é mostrado em detalhe na Figura 2 e compreende um elemento transparente 8 com uma parte de vidro e uma armação isolada, tal como vidro polido duplo vedado e quadros no formato de U de PVC. Alternativamente, outros materiais diferentes de vidro podem ser utilizados, tal como plástico, ou vidro de borosilicato, quartzo, vidro de solda-cal-sílica, ou vidro temperado.

Devido à temperatura aumentada dentro do recipiente 1 durante o processamento é provável que a umidade se condense no elemento transparente 8. Esse condensado impede a visão para um usuário através do elemento transparente 8. Para remover o condensado da superfície do elemento 8 nessa modalidade preferida vários dispositivos de aquecimento são providos para aquecer o elemento transparente 8. Esses dispositivos de aquecimento podem ser usados alternativamente ou em combinação.

Como um primeiro meio, uma lâmpada de aquecimento 9 é arranjada fora do recipiente 1 adjacente ao orifício de visualização 7, de modo que o elemento transparente 8 pode ser irradiado pela lâmpada de aquecimento 9 para aquecer o elemento transparente completo 8. Desse modo, não é necessário modificar o elemento transparente 8, e orifícios de visualização comuns 7 podem ser utilizados.

Como um dispositivo de aquecimento adicional preferivelmente a superfície interna do elemento transparente 8 é provida com um fio de aquecimento de superfície 10 o qual é conectado a uma fonte de energia

(não mostrada) por intermédio do cabo 11. Com o fio de aquecimento 10 na superfície, o elemento transparente 8 pode ser eficientemente aquecido com uma pequena quantidade de energia de aquecimento.

5 Além disso, um fio de aquecimento interno 12 é incorporado no elemento transparente 8 para aquecer o elemento transparente completo 8. Também o fio de aquecimento interno 12 pode ser conectado a uma fonte de energia (não mostrada) por intermédio da linha 13.

10 Devido aos dispositivos de aquecimento compreendendo a lâmpada de aquecimento 9 e os fios de aquecimento 10, 12 é possível remover seguramente o condensado a partir da superfície interna do elemento transparente 8 sem a necessidade de se prover um
15 acoplamento mecânico direto que é necessário no caso de um limpador e cujas vedações freqüentemente são a razão das contaminações.

 Na Figura 3 um segundo aspecto da presente invenção é ilustrado em detalhe. Um elemento de agitação 14
20 é arranjado na parte inferior do recipiente de fermentação 1. O mesmo compreende braços de agitação 15 os quais são montados em um eixo de agitador 16. O eixo de agitador 16 é provido em sua extremidade inferior com um primeiro elemento magnético 17. A parede externa 2 do recipiente 1
25 tem um recesso 18 na parte inferior com uma parede anular 19 que se projeta para dentro do recipiente 1. O primeiro elemento magnético 17 é formado anularmente e circunda a parede anular 19 e desse modo é arranjado adjacente ao recesso 18. Um segundo elemento magnético 20 é arranjado
30 dentro do recesso 18 e é montado em um eixo de acionamento

21 o qual é conectado a um motor (não mostrado) para acionar giratoriamente o eixo de acionamento 21. Além disso, o eixo de agitador 16 e o eixo de acionamento 21 são arranjados para se estender ao longo de um eixo rotacional comum.

Uma conexão não positiva entre o eixo de acionamento 21 e o eixo de agitador 16 é obtida pelo acoplamento dos elementos magnéticos 17, 20 por intermédio de força magnética. Isso permite um acionamento rotacional do elemento de agitação 14 sem um acoplamento mecânico direto que reduz muito o risco de contaminações no recipiente de fermentação 1 em comparação com a técnica anterior onde um acoplamento mecânico por um eixo que se estende através da parede de recipiente foi utilizado. O acoplamento magnético permite uma separação completa entre o elemento de agitação 14 dentro do recipiente 1 e o meio de acionamento fora do recipiente 1.

Um terceiro aspecto da presente invenção é ilustrado na Figura 4 que mostra uma entrada 6 para introduzir ou extrair um gás ou líquido no recipiente 1 ou a partir do recipiente 1. A entrada 6 inclui um tubo de conexão para um dispositivo de fornecimento (não mostrado) para o gás ou líquido em que o tubo de conexão compreende uma primeira seção 22 que se estende ao longo de um primeiro eixo 23 e que é conectada com uma extremidade ao recipiente 1. A primeira seção 22 conduz a uma segunda seção 24 que se estende ao longo de um segundo eixo 25. O segundo eixo 25 é essencialmente perpendicular ao primeiro eixo 23. Finalmente a entrada 6 compreende uma terceira seção 26 conectada à segunda seção 24 e se estendendo ao

longo de um terceiro eixo 27 em que o terceiro 27 é essencialmente paralelo e separado do primeiro eixo 23. De acordo com uma modalidade preferida, a terceira seção conduz de volta ao recipiente 1 o que significa que um laço
5 é formado pelas seções 22, 24, 26. Alternativamente, a terceira seção pode conduzir aos dispositivos de fornecimento, por exemplo, tanques de armazenamento de meio de cultura ou semelhante. Além disso, a segunda seção 24 compreende uma junção com uma válvula de entrada 28. Um
10 tubo de fornecimento 29 conduzindo a um fornecimento de meio (não mostrado) é conectado à válvula de entrada 28.

Um laço formado pelas seções 22, 24, 26 pode ser curvo na direção das setas 30 quando as seções 22, 24, 26 se expandem devido a um aumento em temperatura do material
15 durante a esterilização. Essa capacidade de expansão reduz as tensões na tubagem e desse modo o risco de formação de rachadura. Além disso, o laço formado pelas três seções 22, 24, 26 permite a depuração do tubo da entrada 6 entre o recipiente 1 e a válvula de entrada 28. Vapor pode entrar
20 na primeira seção 22 e pode fluir através da segunda e terceira seção 24, 26 de volta ao recipiente 1. Desse modo, o tubo entre o recipiente 1 e a válvula de entrada 28 não representa uma perna morta.

A Figura 5 mostra em detalhe uma válvula de
25 comutação 31 usada em um sistema de fermentação de acordo com a presente invenção. A válvula de comutação 31 é utilizada para distribuir, por exemplo, líquidos de limpeza ou vapor para posições diferentes dentro do recipiente de fermentação. A válvula de comutação 31 é uma válvula de
30 múltiplos orifícios e compreende um corpo de válvula 32 que

é provido com quatro seções de saída 33 e com quatro furos 34 em que os furos 34 estão se comunicando com as seções de saída 33. Além disso, nessa modalidade preferida, o corpo de válvula 32 é formado em uma peça para evitar juntas de solda. Um tubo de passagem 35 está passando através do corpo de válvula 32 a partir de uma primeira extremidade 36 até uma segunda extremidade 37 e os furos 34 intersectam o tubo de passagem 35. Uma interseção no sentido da presente invenção já está presente, se parte da parede do tubo de passagem 35 for cruzada pelos furos 34 como é, aqui, o caso. A primeira extremidade 26 e a segunda extremidade 37 estão ambas em comunicação com um fornecimento para líquido de limpeza (não mostrada). Desse modo um laço é formado e o tubo de passagem 35 pode ser depurado.

Elementos de válvula 38 são inseridos nos furos 34 e podem ser comutados entre uma posição fechada e uma posição aberta em que na posição aberta o tubo de passagem 35 está se comunicando com as seções de saída 33.

A conexão direta entre o tubo de passagem 35 e os furos 34 elimina as seções na tubagem que não podem ser alcançadas com um fluxo suficiente durante a esterilização com o líquido de limpeza o qual é conduzido através do tubo de passagem 35. As aberturas do tubo de passagem 35 para os furos 34 são fechadas diretamente pelos elementos de válvula 38 e nenhum espaço permanece que não seja depurado quando o líquido de limpeza é conduzido através da tubagem.

Na Figura 6 é mostrado um sistema de fermentação que compreende nessa modalidade preferida quatro recipientes de fermentação 1a, 1b, 1c e 1d. Além disso, um tubo de transferência 39 é provido conectando os

recipientes 1a, 1b, 1c e 1d. Os recipientes 1a, 1b, 1c e 1d têm orifícios na seção inferior e o tubo de transferência 39 é conectado a esses orifícios. As válvulas de transferência 40a, 40b e 40c são arranjadas no tubo de transferência 39 entre os recipientes 1a, 1b, 1c e 1d para permitir o fechamento da conexão entre diferentes recipientes 1a, 1b, 1c e 1d.

Nessa modalidade preferida, o segundo recipiente 1a tem um volume maior do que o primeiro recipiente 1b e o volume do recipiente aumenta a partir do primeiro recipiente 1a para o quarto recipiente 1d. Além disso, os recipientes 1a, 1b, 1c e 1d são providos com entradas de pressão 41a, 41b, 41c e 41d. Através das entradas de pressão 41a, 41b, 41c e 41d um meio pressurizado, preferivelmente ar pressurizado, pode ser introduzido em um dos recipientes 1a, 1b, 1c e 1d para aumentar a pressão nesse recipiente.

Com o tubo de transferência 39 é possível que uma transferência do caldo a partir do primeiro recipiente 1a para o segundo recipiente 1b ocorra quando a pressão no primeiro recipiente 1a é aumentada mediante introdução preferivelmente de ar pressurizado por intermédio da entrada de pressão 41a. Nesse caso, a pressão aumentada no primeiro recipiente 1a força o caldo a se mover através do tubo de transferência 39 para o segundo recipiente 1b desde que a válvula de transferência 40a esteja aberta e a válvula de transferência 40b esteja fechada. Da mesma forma, o caldo pode ser transferido a partir do segundo recipiente 1d para o terceiro recipiente 1c mediante fechamento das válvulas de transferência 40a e 40c e

mediante introdução do ar pressurizado no segundo recipiente por intermédio da entrada de pressão 41b. Desse modo, devido ao tubo de transferência 39, bombas podem ser omitidas e o efeito de produção de espuma das bombas é eliminado. Especialmente é possível obter uma transferência "suave" do caldo de cultura e células uma vez que o aumento de pressão pode ser controlado para se ter apenas um pequeno fluxo no tubo de transferência 39.

O recipiente de fermentação 1 e o sistema da presente invenção podem ser usados para o cultivo de células, particularmente para o cultivo de células para propagação de um vírus para produção de uma vacina, mais especificamente, uma subunidade de vacina ou vacina dividida.

Ainda mais especificamente, o vírus é um vírus respiratório, ou um vírus de influenza (cepa pandêmica ou anual), ou poliovírus, ou um vírus associado a uma doença sexualmente transmitida tal como Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), Vírus do Papiloma Humano (HPV), Vírus do Herpes Simplex (HSV) ou Vírus da Hepatite C (HCV). Ainda mais especificamente, as células são células de animal, tal como células MDCK, células Vero, células per.C.6, células de fibroblasto de embrião de pintinho (CEF), ou células CHO.

Desse modo, a presente invenção também se refere a um método para a propagação de células no qual as células são cultivadas em um recipiente de fermentação ou em um sistema de fermentação de acordo com as reivindicações anexas. As condições adequadas para a propagação dependem das células usadas e são bem conhecidas daqueles versados

na técnica. De acordo com a invenção, as células podem ser células de animal. Preferivelmente, as células podem ser células MDCK, células Vero, células per.C.6, células fibroblasto de embrião de pintinho (CEF), ou células CHO.

5 De acordo com um aspecto adicional, a invenção provê um método para a preparação de uma vacina de vírus, compreendendo a etapa de propagar as células em um recipiente de fermentação ou em um sistema de fermentação de acordo com as reivindicações anexas. Preferivelmente, o
10 método compreende ainda etapas, nas quais as células são infectadas com um vírus e subsequenteemente cultivadas sob condições que permitem a propagação do vírus. Finalmente, o vírus é colhido a partir do caldo de cultura de acordo com métodos conhecidos e processado para material o qual pode
15 ser usado como um material básico para formulação de uma vacina. A vacina pode ser uma vacina dividida ou de subunidade. De acordo com a invenção, as células podem ser células de animal, preferivelmente células MDCK, células Vero, células per.C.6, células fibroblasto de embrião de
20 pintinho (CEF), ou células CHO. Ainda mais especificamente, o vírus é um vírus respiratório, ou um vírus de influenza (cepa pandêmica ou anual), ou poliovírus, ou um vírus associado a uma doença sexualmente transmitida tal como Vírus da Imunodeficiência Humana (HIV), Vírus do Papiloma
25 Humano (HPV), Vírus do Herpes Simplex (HSV) ou Vírus da Hepatite C (HCV).

Esse método pode compreender ainda etapas, em que um ou vários componentes do vírus ou o vírus são isolados da cultura de célula. Em uma modalidade adicional o método
30 compreende ainda a formulação de uma vacina utilizando o

componente do vírus ou o vírus obtido a partir da cultura de células. A formulação pode compreender uma mistura do componente(s) ou do vírus com carreadores farmacologicamente aceitáveis, adjuvantes e/ou excipientes. Além disso, dependendo da natureza da vacinação, o vírus pode ter que ser inativado antes da formulação da vacina. Alguns métodos para inativação de vírus são conhecidos na técnica e podem ser usados para aquela finalidade.

REIVINDICAÇÕES

1. Recipiente de fermentação (1), caracterizado pelo fato de ter uma parede externa (2) encerrando um volume do recipiente, a parede externa (2) compreendendo uma entrada
5 (6) para introduzir ou extrair um gás ou líquido no volume do recipiente ou a partir do volume do recipiente, e um tubo de conexão para um dispositivo de fornecimento para o gás ou líquido no mesmo, o tubo de conexão compreende uma primeira seção (22) se estendendo ao longo de um primeiro
10 eixo (23), uma segunda seção (24) conectada à primeira seção (22) e se estendendo ao longo de um segundo eixo (25), o segundo eixo (25) sendo essencialmente perpendicular ao primeiro eixo (23), e uma terceira seção (26) conectada à segunda seção (24) e se estendendo ao
15 longo de um terceiro eixo (27), o terceiro eixo (27) sendo paralelo e separado do primeiro eixo (23).

2. Recipiente de fermentação (1), de acordo com a reivindicação 1, caracterizado pelo fato de que a segunda seção compreende uma junção.

20 3. Recipiente de fermentação (1), de acordo com a reivindicação 2, caracterizado pelo fato de que a junção compreende uma válvula de entrada (28).

4. Recipiente de fermentação (1), de acordo com qualquer uma das reivindicações 1, 2 ou 3, caracterizado
25 pelo fato de que a terceira seção (26) é conectada ao volume do recipiente.

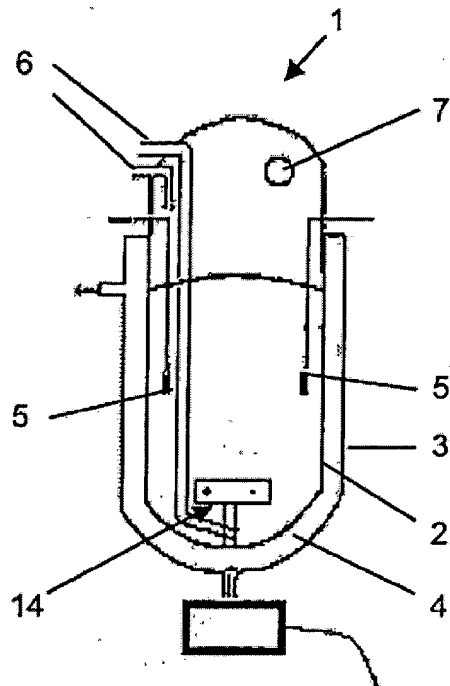


Fig. 1

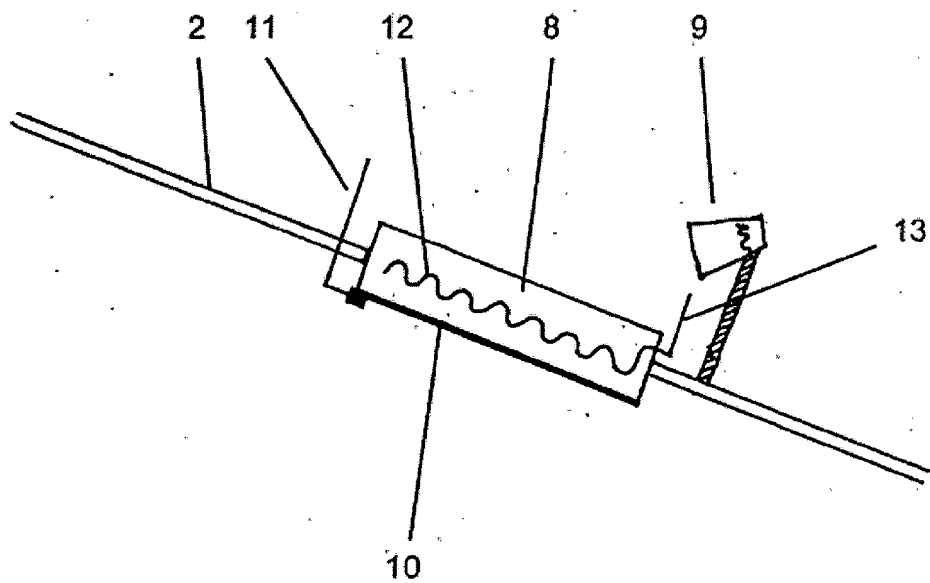
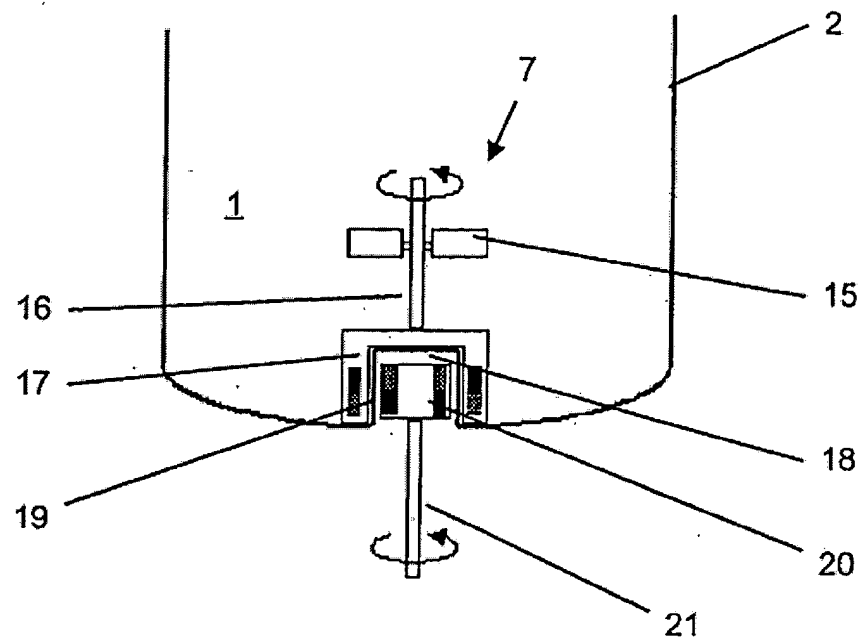
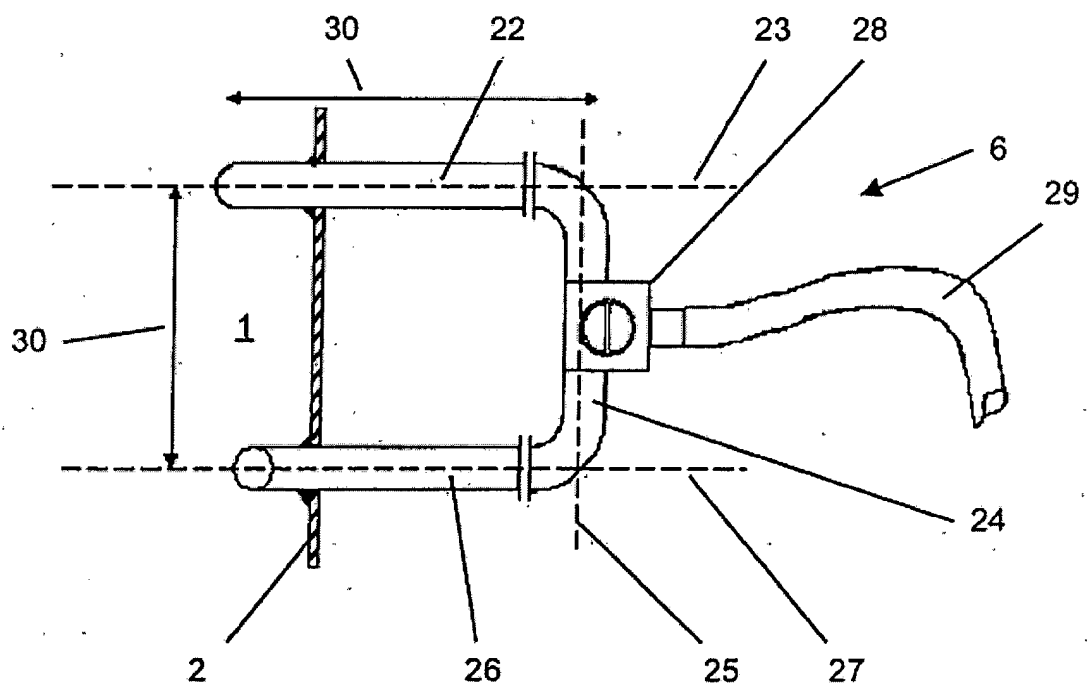


Fig. 2

**Fig. 3****Fig. 4**

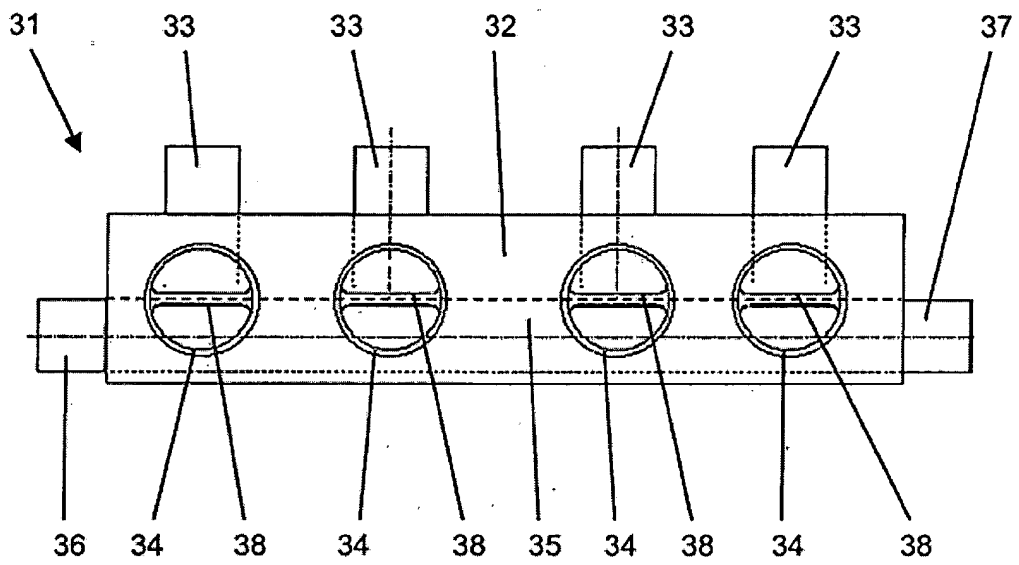


Fig. 5

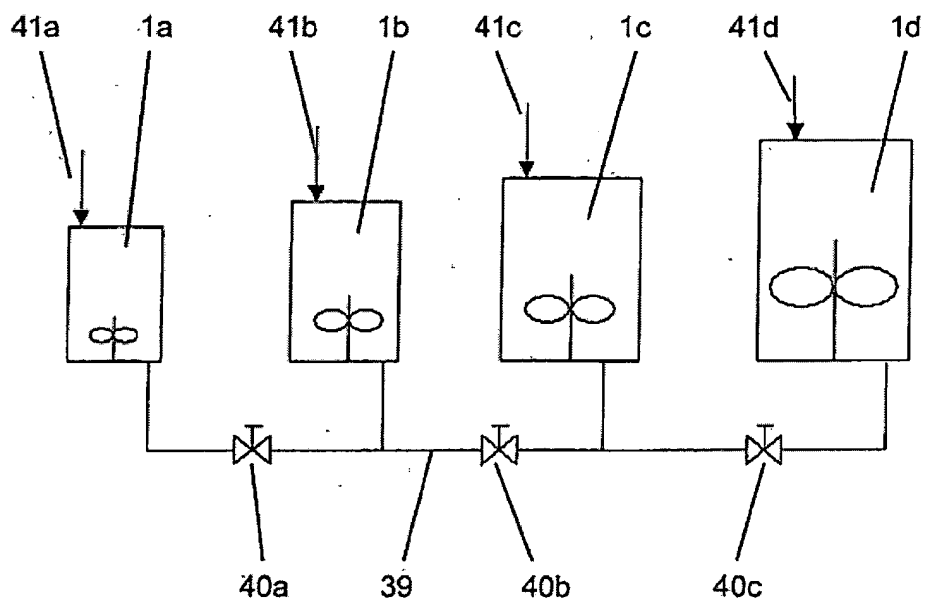


Fig. 6

RECIPIENTE DE FERMENTAÇÃO

É revelado um fermentador para uso em processos biotécnicos especificamente para o cultivo de células. O objetivo, para prover um recipiente de fermentação 1, cujo volume interno pode ser óticamente monitorado e cujo recipiente de fermentação também pode ser esterilizado eficientemente, é alcançado por intermédio de um recipiente de fermentação (1) tendo uma parede externa (2) encerrando um volume de recipiente com um orifício de visualização (7) sendo provido na parede externa (2) para inspeção dos processos dentro do volume de recipiente, o orifício de visualização (7) tendo um elemento transparente (8) em que o elemento transparente (8) é provido com um dispositivo de aquecimento.