

V18 - ESTUDO DE CONDIÇÕES PASSÍVEIS DE AMPLIAÇÃO DE ESCALA PARA PROPAGAÇÃO DE CÉLULAS VERO EM MICROCARREGADORES

Aline Guimarães de Almeida^{1,3}, Rodrigo Coelho Ventura Pinto², Marta Cristina de Oliveira Souza¹, Luciane Pinto Gaspar¹, Elena Caride Siqueira Campos¹, Sheila Maria Barbosa de Lima¹, Anna Maya Yamamura¹

1- Vice-Diretoria de Desenvolvimento Tecnológico, Bio-Manguinhos, FIOCRUZ

2- Vice-Diretoria de Produção, Bio-Manguinhos, FIOCRUZ

3 - Universidade Federal do Rio de Janeiro, COPPE, Rio de Janeiro, Brasil

Objetivo: Devido à necessidade crescente de desenvolvimento de bioprocessos para produção de vacinas virais empregando linhagens de células de mamíferos, bem como a proposta de uma nova metodologia para a produção de uma vacina inativada contra a febre amarela baseado na propagação do vírus amarílico em biorreatores sob condições monitoradas e controladas, utilizando microcarregadores, o estudo do escalonamento desses processos torna-se de grande relevância. Uma parte fundamental dessa ampliação de escala é a multiplicação celular. No caso de células aderentes cultivadas em biorreatores agitados, as alternativas para obtenção de inóculo celular em quantidade suficiente que possa ser reproduzido em escala industrial é um desafio. Neste trabalho estudou-se diferentes condições, passíveis de ampliação de escala, da propagação de células Vero em sistema agitado, utilizando microcarregadores.

Metodologia: Diferentes técnicas para transferência de células foram investigadas. Para estudar a transferência *bead-to-bead* foi proposto um planejamento experimental fatorial completo 2² onde a agitação contínua ou intermitente, bem como o intervalo de agitação e intermitência foram variados. O crescimento celular foi avaliado pela contagem dos núcleos celulares corados com cristal violeta e a concentração de glicose e lactato presente no sobrenadante avaliada utilizando-se analisador bioquímico marca YSI. Uma avaliação visual da confluência dos microcarregadores foi feita por microscopia óptica invertida. A tripsinização das células aderidas aos microcarregadores também foi estudada, acrescentando um tratamento prévio do meio de cultivo com NaOH, alcalinizando-o até que atingisse um pH entre 8 – 9.

Resultados: Das condições experimentais propostas no planejamento experimental, verificou-se que apenas na condição experimental 2 (60 minutos de repouso/15 minutos de agitação) ocorreu a transferência *bead-to-bead*, com um posterior crescimento celular significativo, e constatação de pontes de células entre os microcarregadores. Independente das concentrações de tripsina testadas, observou-se que apesar das células apresentaram capacidade de aderir novamente aos microcarregadores, não houve proliferação significativa. No entanto, ao se alcalinizar o meio de cultivo antes da tripsinização, além de obter um processo eficaz, as células demonstraram capacidade de aderir novamente aos microcarregadores e também de se multiplicar nos mesmos.

Conclusões: Nos ensaios de transferência *bead-to-bead* somente na condição 2 do planejamento experimental ocorreu a transferência de células entre microcarregadores e subsequente proliferação. Já empregando a metodologia de tripsinização, observou-se que a manutenção de um pH ideal para a atividade da enzima é crítico para o processo.