

V1 Aprimoramento da produção do vírus da febre amarela em biorreatores de tanque agitado de 3 Litros

Marlon Vicente da Silva¹, Diogo Araujo de Mattos¹, Marta Cristina de Oliveira Souza¹, Andréa Nazaré Monteiro Rangel da Silva¹, Sheila Barbosa de Lima¹, Leda dos Reis Castilho², Luciane Pinto Gaspar¹, Elena Siqueira Campos Caride¹, Marcos da Silva Freire¹

¹ Bio-Manguinhos

² UFRJ

Introdução: A febre amarela é doença endêmica em grande parte da América do Sul e da África sub-sahariana. É causada pelo vírus da febre amarela (YFV), do gênero *Flavivirus* e da família *Flaviviridae*, que é transmitido por mosquitos, principalmente dos gêneros *Aedes* ou *Haemagogus*.

Objetivo: A atual vacina disponível contra febre amarela consiste de vírus vivo atenuado, conferindo boa proteção, com efeito duradouro e bom perfil de eficácia e segurança. No entanto, desde os anos 1990, foram observados casos de reações adversas graves, principalmente depois de campanhas de vacinação em larga escala. Sendo produzida em ovos embrionados de galinha, uma tecnologia que pouco se modificou desde sua criação nos anos 1930, possui algumas desvantagens, como a alta demanda de ovos embrionados livres de patógenos e altas concentrações de proteínas do embrião de galinha na formulação final. Além disso, sua produção é lenta, laboriosa e com difícil escalonamento, o que requer a formação de grandes estoques estratégicos para casos de epidemias. Assim, é relevante o desenvolvimento de uma vacina contra febre amarela.

Metodologia: Em trabalhos anteriores, foram descritos cultivos de células Vero e propagação do YFV em *spinners* e biorreatores em meio de cultivo livre de soro fetal bovino, com boa obtenção de YFV ao final do processo (títulos virais $\approx 10^8$ pfu/mL) em volumes de trabalho de até 1 L. Uma vez demonstrada a prova de conceito da produção do YFV em cultivos celulares em escala de bancada, o desafio seguinte é a ampliação de escala, mantendo-se a consistência observada nas bateladas iniciais de ≤ 1 L de volume de trabalho. No presente trabalho, descrevemos o método empregado para operação de biorreatores com vasos de 3 litros, em que se utilizou um protocolo aprimorado de cultivo, com adição gradual de meio de cultivo até a capacidade volumétrica total dos vasos, com objetivo de se diminuir a formação de espuma e agregados de microcarregadores nos vasos. A concentração de microcarregadores empregada também foi reduzida, de modo a repetir a razão células/cm² praticada nos cultivos estacionários do pré-inóculo.

Resultados: A execução de três bateladas de produção do YFV sob as condições do protocolo aprimorado nos forneceu resultados satisfatórios quanto à consistência da cinética de crescimento celular e produtividade específica do vírus, tendo-se atingido satisfatória densidade celular no momento da infecção viral ($>10^6$ céls/mL) e títulos virais semelhantes ($\approx 10^8$ pfu/mL) ao processo na escala de 1 L.

Conclusão: Estes resultados corroboram a possibilidade da produção do YFV em biorreatores após o incremento de escala testado, sem efeitos deletérios na produtividade específica.

Palavras-Chave: Febre Amarela, Biorreatores, Células Vero