

EL ICCELLIS® NANO BIOREACTOR PROPORCIONA UN METODO CONFIABLE PARA PRODUCIR VACUNAS CONTRA LA RABIA CON ALTO TÍTULO Y ALTA POTENCIA

Juliana Groba, Todd Lundeen, Letícia Parizotto

leticia.parizotto@cytiva.com

Palabras clave: Cultivo de células adherentes, biorreactor de lecho fijo single-use, vectores virales

Introducción. En Brasil, la rabia sigue siendo una preocupación en salud pública. La rabia es una enfermedad viral aguda infecciosa que ataca el sistema nervioso y puede conducir rápidamente a la muerte en casi todos los casos. En la actualidad, la producción de vacunas a partir de cultivos de células adherentes que utilizan botellas giratorias o matraces 2D está limitada por los pequeños volúmenes, el escaso control del proceso y la gran manipulación manual. Para superar con éxito estos desafíos, se requiere un proceso de biorreactor para garantizar la seguridad, calidad y escalabilidad de la producción de vacunas. El biorreactor iCELLis Nano es un biorreactor de lecho fijo de un solo uso que proporciona un entorno controlado para las células adherentes, cumple con las Buenas Prácticas de Fabricación (BPF) y tiene un costo operativo y una inversión de capital reducidos en comparación con los métodos tradicionales. Este trabajo tiene como objetivo transferir una producción actual de virus de la rabia desde botellas giratorias (RB) al biorreactor iCELLis Nano.

Metodología. La producción del virus de la rabia se realizó utilizando células Vero en botellas giratorias y el biorreactor iCELLis Nano. El medio de cultivo fue medio Eagle modificado por Dulbecco (DMEM) suplementado con suero bovino fetal al 10% (SBF). Los parámetros de aumento de escala adoptados fueron el volumen de medios por relación de área de superficie (0,29 ml/cm²) y la multiplicidad de infecciones (MOI) (0,016). Los RB se mantuvieron a 37°C en una incubadora con 5% de CO₂ y se dividieron en dos grupos de control, un grupo con el protocolo convencional (RB Convencional) y otro simulando las condiciones del biorreactor (RB Nuevo). Los principales parámetros del proceso se presentan en la Tabla 1.

Resultados. Durante la fase de crecimiento, las células Vero presentaron un tiempo de duplicación de 24h en el biorreactor iCELLis Nano y las células se infectaron a una concentración de alrededor de 80.000 células/cm² a las 48 horas. La velocidad de consumo de glucosa en el biorreactor iCELLis Nano fue similar a la del grupo RB Nuevo y más lenta que la del grupo RB Convencional. Durante la fase de producción, el título viral fue significativamente mayor en el biorreactor iCELLis Nano que en los dos grupos de RB a partir de las 48h posteriores a la infección. A las 240 horas posteriores a la infección, el título en el biorreactor fue más de dos veces mayor que en los RB convencionales, como se muestra en la Figura 1.

Tabla 1. Parámetros de cultivo celular para los RB y el biorreactor iCELLis Nano. RAVB: virus de la rabia.

	RB Conv.	RB Nuevo	Biorreactor iCELLis Nano
Área (cm ²)	696	696	5.300
Densidad de semilla (cél/cm ²)	45.000	22.000	20.000
Relación de volumen por área en el crecimiento (mL/cm ²)	0,22	0,22	0,22
Duración de la fase de crecimiento (hr)	72	48	48
MOI del virus RAVB	0,016	0,016	0,016
Relación de volumen de medios por área en la producción (mL/cm ²)	0,29	0,29	0,29
Estrategia de cosecha	1ra cosecha a las 96 horas post-semilla y cada 48 horas		
Número de colecciones	5	10	10
Inactivación viral	Beta-propiolactona bajo agitación a baja temperatura (2 a 8°C) durante 24 h, seguido de inactivación por hidrólisis a 37°C durante 2 h		

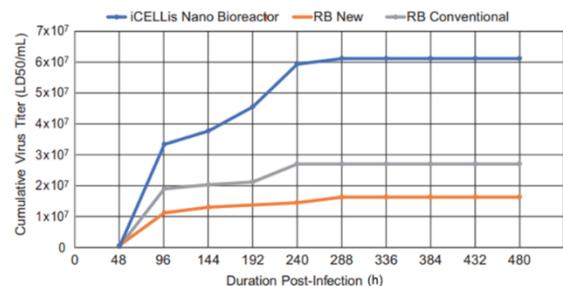


Fig. 1. El título de virus acumulativo se determinó mediante el ensayo de dilución de punto final y se expresó en DL50/mL en el biorreactor iCELLis Nano y los controles RB.

Conclusiones. El proceso se transfirió con éxito de los RB al biorreactor iCELLis Nano, lo que resultó en un aumento significativo en la producción viral.

Ponente: Fernando Carmona MSc Upstream & Cell Culture Sales Specialist. Cytiva.

Empresa:

