

Resumo da Tese apresentada à COPPE/UFRJ como parte dos requisitos necessários para a obtenção do grau de Doutor em Ciências (D.Sc.)

## PRODUÇÃO DO VÍRUS DA FEBRE AMARELA EM CÉLULAS VERO UTILIZANDO BIORREATORES AGITADOS

Marta Cristina de Oliveira Souza  
Maio/2007

Orientadores: Leda dos Reis Castilho  
Marcos da Silva Freire

Programa: Engenharia Química

Neste trabalho, foi desenvolvida uma nova metodologia para propagação do vírus da febre amarela visando à produção de uma nova vacina inativada. Foram utilizadas células da linhagem Vero, certificada pela Organização Mundial da Saúde como segura para a produção de vacinas para uso humano. Como estas células são aderentes, foram utilizados microcarregadores, de modo a tornar possível o cultivo em biorreatores agitados e a obtenção de altas concentrações de células e antígenos virais. Na primeira parte deste trabalho, foi estudada, através de planejamento experimental, a influência de algumas variáveis sobre o crescimento de células Vero em diferentes microcarregadores, micro e macroporosos, empregando frascos agitados do tipo *spinner*. Estabelecidas as melhores condições de cultivo, foi avaliada a produção viral em biorreator agitado, operado nos modos de operação batelada e contínuo com retenção celular (perfusão), tanto em meio de cultivo contendo soro animal, como em meios de cultivo isentos deste suplemento. Variáveis referentes à infecção viral foram então estudadas, também através de planejamento experimental, visando aumentar a quantidade de antígenos virais produzidos em biorreator agitado. Nas melhores condições de cultivo e de infecção viral, utilizando meio de cultivo isento de soro animal, concentrações muito elevadas de vírus amarílicos (8,41.10<sup>8</sup> pfu/mL) foram obtidas, indicando que a metodologia desenvolvida é eficiente e apresenta potencial para emprego em um processo de produção de uma nova vacina contra a febre amarela.

Abstract of Thesis presented to COPPE/UFRJ as a partial fulfillment of the requirements for the degree of Doctor of Science (D.Sc.)

YELLOW FEVER VIRUS PRODUCTION IN VERO CELLS  
USING STIRRED-TANK BIOREACTORS

Marta Cristina Oliveira Souza

May/2007

Advisors: Leda dos Reis Castilho  
Marcos da Silva Freire

Department: Chemical Engineering

In the present work, a new methodology was developed to produce yellow fever virus in stirred-tank bioreactors. Vero cells (CCL 81) were used, since this is a cell line certified by the World Health Organization (WHO) as safe for the production of vaccines for human use. Since these cells are adherent, microcarriers were used in order to enable cell cultivation in stirred systems and to allow obtaining high cell densities and high virus titers. In the first part of this work, the influence of several variables that may affect Vero cell growth on different micro and macroporous microcarriers was studied in spinner flasks, using experimental design methodology. Based on the best cultivation conditions that were determined, virus production in stirred-tank bioreactors operated in batch and perfusion mode was evaluated, using both serum-containing and serum-free media. Subsequently, experimental design methodology was again employed to investigate variables related to the viral infection stage. Using the best conditions determined for both cell propagation and viral infection, using a serum-free medium, very high virus titers (8,41.108 pfu/mL) were obtained, indicating that the methodology developed in this work is efficient and could be potentially employed in a process for the production of a new yellow fever vaccine.