



Ministério da Saúde  
FIOCRUZ  
Fundação Oswaldo Cruz



Instituto de Tecnologia  
em Imunobiológicos  
**Bio-Manguinhos**

## **MESTRADO PROFISSIONAL EM TECNOLOGIA DE IMUNOBIOLOGICOS**

### **TÍTULO: ESTABELECIMENTO DE UM PROCESSO DE PRODUÇÃO DO VÍRUS ZIKA (ZIKV) EM CÉLULAS VERO CULTIVADAS EM SISTEMA AGITADO**

**AUTOR: RAFAEL ARAÚJO MENDONÇA**

### **RESUMO**

O surto de 2015 e 2016 do vírus Zika (ZIKV) levou a Organização Mundial da Saúde (OMS) a decretar esse evento como emergência de saúde global em 2016. Devido à associação da infecção por esse vírus com a síndrome de Guillain-Barré e à descoberta da síndrome congênita do Zika, surgiram muitos esforços para o desenvolvimento de imunobiológicos e ferramentas experimentais para prevenir, tratar, diagnosticar e estudar essa infecção. Para a viabilização desses esforços, a obtenção consistente *in vitro* desse vírus torna-se necessária, sendo almejado o desenvolvimento de um processo robusto de produção. Nesse contexto, no presente trabalho, buscou-se determinar as melhores condições de obtenção do ZIKV a partir do cultivo de células Vero em sistemas agitados em meio de cultura livre de soro animal. Foram realizadas cinéticas de replicação do ZIKV em cultura de células Vero ATCC® CCL- 81™ aderidas a microcarregadores do tipo Cytodex™ 1 em frascos *spinner* em meio VP- SFM™. Com as células WHO Vero CRL (cultivadas em meio OptiPRO™ SFM), foram estabelecidas condições de cultivo celular e produção viral em frascos *spinner* para utilização nos cultivos para biorreatores do tipo tanque agitado. Foi constatado, durante os ensaios, que trocas de sobrenadante de cultivo por meio de cultivo novo e a suplementação com albumina sérica humana recombinante a 0,2% m/v durante a etapa de replicação viral aumentam os títulos virais obtidos (um aumento de aproximadamente 2,0 logPFU/mL). As células WHO Vero CRL apresentaram produções maiores que as obtidas com células Vero ATCC® CCL- 81™. Na cinética de produção viral realizada em biorreator do tipo tanque agitado, foram estabelecidas como condições-padrão o uso de um inóculo celular de  $3 \times 10^5$  células/mL, 2 g/L de microcarregadores Cytodex™ 1, adição de 0,2% m/v do surfactante poloxamer 188, MOI de 0,01 e troca de 75% do volume do meio de cultivo no 2º dia pós-infecção. O 5º dia pós infecção foi selecionado como o tempo de coleta da suspensão viral. Foi alcançado um título viral de 7,36 logPFU/mL nas condições estabelecidas, sendo um título satisfatório às necessidades de produção do ZIKV para as atividades de desenvolvimento de uma vacina.