



SEMINARIO INTERNACIONAL PRÉ COSALFA

Guía técnica para la transición de estatus sanitario de Fiebre Aftosa en Sudamérica: metodologías para su implementación

Punta del Este, Uruguay, 4 y 5 de abril de 2016

DEVELOPMENT OF A NOVEL CHEMICALLY-DEFINED, SERUM-FREE, HYDROLYSATE AND ANIMAL-ORIGIN FREE BHK-21 MEDIUM FOR FMDV VACCINE PRODUCTION

*Angel Varela-Rohena, Borka Naumovich and Stephen Gorfjen,
Cell Culture R&D, BioProduction, Thermo Fisher Scientific, Grand Island, NY 14072 USA*

BHK-21 cells are an important cell line for bioprocessing of recombinant proteins and vaccines. The largest application of these cells is the production of Foot-and-Mouth Disease (FMD) and Rabies vaccines for the animal health market. Commercial BHK-21 –based vaccine production relies on classical culture media supplemented with bovine serum. This serum is sourced locally from FMD-vaccinated cattle and thus requires antibody precipitation to allow supplementation during cell culture scale-up. This step diminishes the nutritional value of sera and also increases variability. To reduce serum use during the virus production phase, the typical bioprocess depends on media enrichment by supplementation with hydrolysates such as Tryptose Phosphate Broth and Lactalbumin hydrolysate. Use of these animal-derived components is unreliable due to lot-to-lot variability and may be unsafe due to potential introduction of adventitious agents. In addition, media high in protein can complicate downstream processing. Due to these reasons there is an unmet need for vaccine production media that is serum-free, consistently efficacious, economical and safe. We have developed a chemically-defined, protein-free and serum-free medium optimized for high-density growth of suspension BHK-21 cells. This medium allows direct adaptation into serum-free growth with minimal process workflow modifications. FMD virus titers produced in this medium are comparable to those of serum-containing media but show greater consistency of antigen yields. FMD O-serotype monovalent vaccines were formulated with antigen produced at 1,000L scale in this medium or in classical medium with bovine serum to determine antigen immunogenicity and stability. These vaccines were tested in animals and found to be equally immunogenic; both traditional and serum-free vaccines induced strong FMD-specific neutralizing antibody responses in animals when evaluated by liquid phase blocking ELISA. Our results show that production of FMD vaccine in a serum-free, protein-free, chemically-defined medium is feasible and does not appear to alter immunogenic determinants.



SEMINARIO INTERNACIONAL PRÉ COSALFA

Guía técnica para la transición de estatus sanitario de Fiebre Aftosa en Sudamérica: metodologías para su implementación

Punta del Este, Uruguay, 4 y 5 de abril de 2016

DESARROLLO DE UN NUEVO MEDIO DE CULTIVO QUÍMICAMENTE DEFINIDO LIBRE DE SUERO, HIDROLIZADOS Y COMPONENTES DE ORIGEN ANIMAL PARA PRODUCCIÓN DE VACUNAS CONTRA LA FIEBRE AFTOSA

*Angel Varela-Rohena, Borka Naumovich and Stephen Gorfien,
Desarrollo e Investigación de Cultivos Celulares, BioProducción, Thermo Fisher Scientific,
Grand Island, NY 14072 USA*

Las células BHK-21 son una línea importante para la bioproducción de vacunas y proteínas recombinantes. La mayor aplicación de estas células es en la producción de vacunas para Fiebre Aftosa y Rabia. La producción comercial de vacunas contra la Fiebre Aftosa utiliza medios de cultivo tradicionales o clásicos suplementados con suero bovino. El alto costo del suero y la necesidad de reducir anticuerpos en los cultivos de producción han llevado a la industria a depender de hidrolizados de tejido animal (tales como peptonas y triptosas), derivados de leche (lacto albúmina y caseína) y de microorganismos (extracto de levadura y bacto-peptona). El uso de estos componentes en el proceso de producción de vacunas introduce riesgos debido a la variabilidad de lote a lote en el valor nutricional y el potencial de introducción de agentes adventicios. Por estas razones, creemos que hay gran necesidad de medios de cultivo que sean eficaces, económicos y seguros. Hemos desarrollado un nuevo medio de cultivo libre de suero, hidrolizados y componentes de origen animal para producción de vacunas contra la Fiebre Aftosa en cultivos de alta densidad celular. Este medio permite la adaptación directa al crecimiento libre de suero con modificaciones mínimas de flujo del proceso de producción. Los títulos de virus de la fiebre aftosa producidas en este medio son comparables a los de los medios que contienen suero, pero muestran una mayor consistencia de los rendimientos de antígenos. Para comprobar la validez de producción de vacunas libre de suero en términos de inmunogenicidad y estabilidad, se formularon vacunas monovalentes experimentales de VFA serotipo O con antígenos producidos a escala de mil litros en medio químicamente definido o en medio GMEM/TPB suplementado con suero bovino. Estas vacunas se probaron en animales y se demostró que son igualmente inmunogénicas; tanto la vacuna tradicional y la libre de suero promovieron respuestas de anticuerpos neutralizantes específicos cuando se evaluaron los títulos mediante ELISA de bloqueo en fase líquida. Nuestros resultados muestran que la producción de la vacuna contra VFA en un medio libre de suero, libre de proteínas, químicamente definido es factible y no parece alterar determinantes inmunogénicos.