

TÍTULO: AVALIAÇÃO DO CULTIVO SUBMERSO DE rBCG-pertussis

AUTORES: BORBAN, L.S.; BATISTA, R. D.; LEITE, L. C. C.; TONSO, A.; GONÇALVES, V. M.

INSTITUIÇÃO: INSTITUTO BUTANTAN, SÃO PAULO – SP (AV. VITAL BRASIL, 1500, LABORATÓRIO DE DESENVOLVIMENTO DE VACINAS, CEP 05503-900, SÃO PAULO – SP, BRASIL)

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO, SÃO PAULO – SP (AV. PROF. LUCIANO GUALBERTO, TRAV.3, 380, DEPARTAMENTO DE ENGENHARIA QUÍMICA DA ESCOLA POLITÉCNICA, CEP 05508-900, SÃO PAULO – SP, BRASIL)

RESUMO:

A tuberculose é uma das doenças que mais causa morte no mundo e a vacina BCG, produzida a partir do bacilo Calmette-Guérin (BCG), é amplamente utilizada em sua prevenção. Outra doença de grande preocupação global é a coqueluche, causada pela *Bordetella pertussis* e a vacina para sua prevenção confere imunidade completa somente após os 6 meses de vida, sendo os primeiros meses a faixa etária mais vulnerável. Sabendo que *Mycobacterium bovis* BCG possui grande potencial como hospedeiro de antígenos heterólogos, construiu-se uma cepa de BCG recombinante contendo a subunidade 1 da toxina pertussis geneticamente destoxificada (rBCG-pertussis), que poderia conferir imunidade logo nos primeiros dias de vida contra tuberculose e coqueluche. O cultivo de BCG, no entanto, ainda apresenta limitações, pois é realizado em culturas estáticas com difícil reprodutibilidade e grandes perdas durante o processo produtivo. Este trabalho tem por finalidade avaliar o cultivo submerso de rBCG-pertussis em frascos e biorreator. O microrganismo foi cultivado em meio de cultura *Middlebrook 7H9* modificado em frascos agitados, a 37 °C, 125 rpm e 7,5 % de saturação de CO₂. Posteriormente cultivado em biorreator, a 37 °C, oxigênio dissolvido controlado a 20% (através de uma cascata de controle de frequência de agitação de 150 a 1000 rpm e vazão de ar de 0,1 a 0,5 L/min de vazão de ar). Durante os cultivos foram analisados a densidade óptica a 600 nm (DO), velocidade específica máxima de crescimento (μ_{\max}) e consumo de nutrientes por cromatografia líquida de alta performance. Em frascos alcançou-se DO máxima de $14,9 \pm 1,0$ e μ_{\max} de $0,0305 \text{ h}^{-1}$ e em biorreator atingiu-se DO máxima de 10,5 e μ_{\max} de $0,0285 \text{ h}^{-1}$. Ainda foi possível observar a presença de fontes de carbono ao final do cultivo em frascos, 10 g/L de glicerol, o que sugere que o fator limitante para o crescimento foi o oxigênio dissolvido. Em biorreatores, o oxigênio é suprido pela aspersão de ar no meio e com isso espera-se atingir concentrações celulares maiores que em frascos. No entanto, nos cultivos em biorreatores, ocorreu formação excessiva de espuma, desfavorecendo o crescimento celular, uma vez que a espuma pode limitar o acesso das células aos nutrientes do meio. Portanto, é possível a realização do cultivo da rBCG-pertussis em cultivos submersos, tanto em frascos agitados como em biorreatores, porém ainda são necessários novos estudos para atingir maiores concentrações celulares.

Palavras-chave: bioprocesso, microrganismo recombinante, vacina, tuberculose;

Agência financiadora: Fundação de amparo à pesquisa do estado de São Paulo - FAPESP