

Augmentation de la production commerciale de vaccins animaux grâce à l'utilisation des CellSTACK Culture Chambers[®] Corning[®]

Note d'application client

CORNING

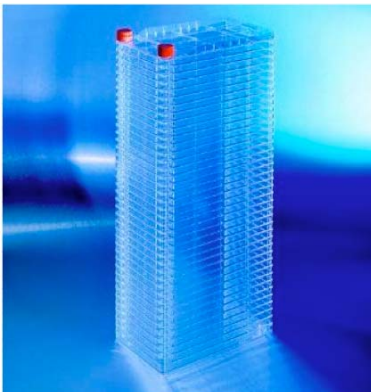
*S. Martinez Hernandez, M. Alvarado Villegas, MVZ. Blanchir Castell Héctor -
Bueno, et L. Bojorquez Narvaez, PRONABIVE Mexico, Mexique*

La production commerciale de vaccins humains et animaux est le plus souvent réalisée sur culture de cellules adhérentes en raison des systèmes de production utilisés, telles que les cellules Vero, HEK et BHK21. Les méthodes traditionnelles utilisent le plus souvent des contenants en verre réutilisables tels que les bouteilles de Roux ou les roller. Plus récemment, les producteurs industriels de vaccins ont commencé à adopter les technologies à usage unique, telles que les chambres de culture CellSTACK Corning, pour réduire les coûts liés au nettoyage et à la validation des récipients en verre réutilisables et améliorer les rendements de produit actif en remplacement des systèmes en verre. Cette étude démontre l'impact significatif sur la production de vaccins, en montrant une augmentation de plus d'un log de la production pour deux vaccins animaux différents comparé à la production en bouteilles Roux. Surtout, cette étude démontre également les avantages considérables des chambres de culture CellSTACK Corning sur la réduction significative des temps de culture et des coûts par rapport aux récipients en verre réutilisables.

Introduction

PRONABIVE, (Mexico, Mexique) est un leader dans la production de produits biologiques pour le traitement des maladies animales.

Un des principaux objectifs de PRONABIVE est de protéger l'industrie du bétail au Mexique. À l'heure actuelle, l'entreprise produit, commercialise, conçoit et développe des produits biologiques et des traitements chimiques à usage vétérinaire. Elle est certifiée ISO 9001:2000 / NMX - CC - 9001 - IMNC ce qui permet à ses clients de recevoir les produits les plus compétitifs sur le marché. PRONABIVE vise à améliorer la santé animale, notamment les bovins, au Mexique, Amérique centrale et méridionale.



Corning CellSTACK-40 Culture Chamber

PRONABIVE développe une production à grande échelle de ses produits biologiques, comme des lots de 350.000 doses ou plus. La production de ce nombre de doses en un seul lot nécessite 1450 bouteilles de Roux, ce qui est très coûteux en temps et en main d'œuvre. Pour accroître l'efficacité et réduire les coûts, un transfert a été réalisé pour effectuer la production dans des chambres de culture empilées à usage unique. Les travaux décrits dans le présent document utilisent les chambres de culture CellSTACK Corning pour la production à grande échelle de vaccins contre la rage canine et bovine. Ce travail est le résultat de nombreux cycles de production s'étendant sur plus de 3 ans.

Matériels et méthodes

Pour chaque lignée cellulaire, les cellules ont été multipliées en T-flasks Corning® et en chambre de culture CellSTACK®-10 pour inoculation en CellSTACK - 40. Pour inoculer chaque CellSTACK - 40, $5,13 \times 10^6$ cellules ont été combinées avec le virus approprié et ensemencées dans un CellSTACK - 40 dans un volume de 10 litres de milieu de culture. À la fin de la période d'incubation, le milieu a été recueilli pour le traitement du virus et 10 litres de milieu frais ont été ajoutés. Cette étape a été répétée une à deux fois, selon le système de production.

Résultats

Comme le montre la figure 1, la production de vaccin contre la rage bovine a été sensiblement augmentée dans les chambres de culture CellSTACK - 40 Corning sur une surface de culture équivalente aux bouteilles de Roux. Plus spécifiquement on observe 15,6 fois plus de production vaccinale par cm^2 en CellSTACK - 40 Corning par rapport à la surface équivalente de bouteilles Roux. Le système CellSTACK produit 987,4 particules actives/ cm^2 à comparer avec 63,3 particules actives par cm^2 pour les bouteilles Roux. Par conséquent, l'utilisation d'une seule chambre de culture CellSTACK - 40 est équivalente à l'utilisation de plus de 2200 bouteilles de Roux. Fait important, ce rapport reste valable sur une deuxième récolte (Fig 1).

Les données pour la production de vaccin contre la rage canine sont étonnamment similaires. Dans ce cas, la production de particules actives en chambres de culture CellSTACK - 40 est 12,6 fois supérieure à la surface équivalente en bouteilles de Roux (Fig. 2) et, comme dans le cas des vaccins contre la rage bovine, l'augmentation substantielle de la production de vaccins contre la rage canine est maintenue sur plusieurs récoltes successives.

Discussion

Cette étude décrit l'augmentation significative de la production de vaccins obtenue sur un système jetable de chambres de culture cellulaire empilées, le CellSTACK Corning, par rapport à un système de verre réutilisable traditionnel utilisant des bouteilles de Roux. Un certain nombre de facteurs explique ces résultats. La première est l'efficacité globale de la production du vaccin lui-même. Comme le montre cette étude, la production de particules actives de vaccin est 12 à 16 fois plus élevée par cm^2 dans les CellSTACK par rapport aux bouteilles de Roux. Le mécanisme n'est pas clair. Toutefois, cela peut être dû à l'absorption plus importante sur le verre par rapport au plastique ou également à la réduction substantielle des manipulations entre les deux systèmes. Une seule chambre de culture CellSTACK - 40 dispose d'une surface de croissance de 25.440 cm^2 , ce qui est l'équivalent de 145 flacons plastique ou bouteille de Roux (175 à 180 cm

de surface de croissance par flacon). L'avantage d'avoir une telle surface de croissance en une seule unité permet aux utilisateurs de faire des manipulations simples d'un grand nombre de cellules, ce qui réduit le risque de contamination par la manipulation de centaines sinon de milliers de bouteilles individuelles. Il permet également aux utilisateurs de développer un système fermé de tuyaux permettant de faciliter l'inoculation et la récolte de la chambre, sans exposer la chambre à l'environnement extérieur. Ceci est important dans un cadre de production, car ces manipulations peuvent être effectuées en dehors d'une hotte de culture de tissus ou de salle blanche.

Deuxièmement, il y a aussi d'autres avantages qui contribuent à réduire le temps et le coût de production. Si l'on considère l'impact environnemental de la consommation d'eau et des eaux usées pour le nettoyage et la validation de ce nombre de bouteilles Roux, il est clair qu'un système jetable est plus bénéfique pour l'environnement.

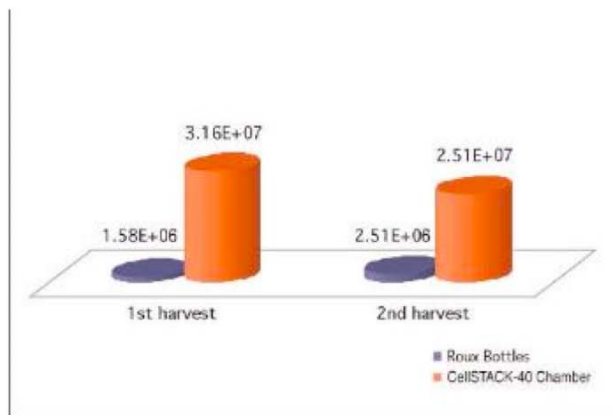


Figure 1. titre en vaccins de bovin et de lapin (souche Acatlan)

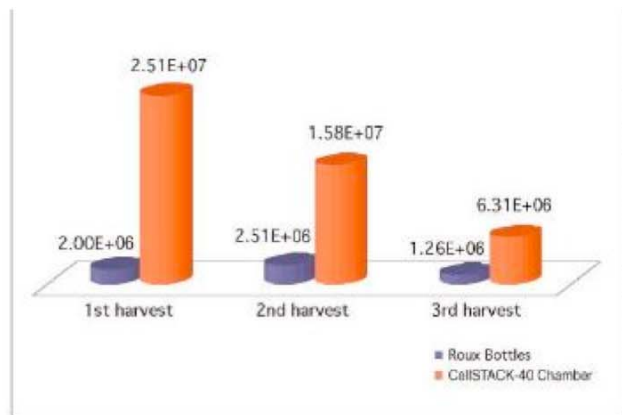


Figure 2. titre en vaccins canin et de lapin (souche PV)

Ceci est encore amélioré en estimant que pour les deux vaccins, il y a au moins une augmentation de production d'un log en utilisant la chambre de culture CellSTACK - 40 Corning. De plus, il n'y a pas de perte de temps pour nettoyer, stériliser et valider les récipients en verre réutilisables, ce qui augmente encore le débit de production de façon spectaculaire. En fait, avec le bon vaccin, la production peut être augmentée de près de 20 fois en passant du verre réutilisable aux chambres de culture CellSTACK Corning.

Résumé

Les avantages de l'utilisation de chambres de culture CellSTACK Corning pour la production de vaccins sur un système de verre réutilisable:

- Augmentation de plus de dix fois (1,0 log) de la production de vaccin par cm^2
- Tout le processus de production peut être confiné par l'utilisation de connexions aseptiques disponibles pour utilisation avec des chambres de culture CellSTACK Corning
- Une diminution du risque de contamination bactérienne - diminution de la nécessité pour les étalonnages et les vérifications de produit
- Facilité pour le suivi de quelques CellSTACK par rapport à des centaines

ou des milliers de bouteilles en verre.

- diminution des besoins en eau nécessaire au lavage des bouteilles en verre
- Amélioration de la sécurité du personnel avec la disparition des récipients en verre
- une plus grande homogénéité avec les chambres de culture CellSTACK Corning par rapport à des centaines ou des milliers de bouteilles pour renforcer la constance des lots de production de réduction
- Diminution des coûts de production

Bibliographie

Freshney, R.I. Animal Cell Culture. IRL Press, Oxford, England, 1986.

Kuchler, R.J. Biochemical Methods in Cell Culture and Virology. Dowden, Hutchinson & Ross, Inc. Pennsylvania, USA. 1977.