

Resumen

El virus de la diarrea viral bovina (BVDv) produce la enfermedad con el mismo nombre que es frecuente en la población bovina a nivel mundial y genera importantes pérdidas económicas para las industrias ganadera, láctea y cárnica. El BVDv causa infecciones permanentes que son de consideración debido a que los animales constituyen el principal reservorio de la enfermedad y son la fuente más importante de contagio. Los métodos actuales para el control de la enfermedad se basan en la vacunación y erradicación del ganado persistentemente infectado (PI). Sin embargo, la vacunación tradicional no permite diferenciar al ganado infectado del vacunado debido a la alta variabilidad antigénica del virus y los métodos de detección no permiten identificar al ganado PI debido a su baja prevalencia. Por ese motivo, las vacunas de subunidades de antígenos recombinantes, que combinan distintos subgenotipos virales, podrían ser una solución para el control del BVDv. En el presente trabajo se realizó la adaptación a condiciones de cultivo en suspensión de células de ovario de hámster chino (CHO) productoras de uno de los antígenos (E2) del BVDv subgenotipo 1b que formará parte de un candidato vacunal multivalente contra el BVDv. El diseño experimental consideró el incremento gradual por pasaje (10% y 20%), de medio libre de suero y la adición de suplementos iónicos de Ca^{+2} y Mg^{+2} . Durante la adaptación la adición de suplementos no influyó positivamente en la densidad celular, viabilidad y tiempo de duplicación del cultivo. La expresión de la proteína E21b fue mayor con el incremento del 20% de medio libre de suero, obteniendo una productividad específica superior al cultivo con incremento del 10% por pasaje y al cultivo en condiciones adherentes. Las condiciones de cultivo establecidas en el presente trabajo podrán ser utilizadas en la obtención de los otros subgenotipos de BVDv.

Palabras clave: diarrea viral bovina, ganado persistentemente infectado, vacuna de subunidades, adaptación de cultivos celulares a suspensión, antígenos recombinantes

Abstract

Bovine viral diarrhoea virus (BVDv) causes the disease of the same name, which is frequent in the cattle population worldwide and generates important economic losses for the cattle, dairy and meat industries. BVDv causes permanent infections that are important because animals constitute the main reservoir of the disease and are the most important source of contagion. Current methods for disease control are based on vaccination and eradication of persistently infected (PI) cattle. However, traditional vaccination cannot differentiate infected from vaccinated cattle due to the high antigenic variability of the virus and detection methods cannot identify PI cattle due to their low prevalence. For that reason, recombinant antigen subunit vaccines, which combine different viral subgenotypes, could be a solution for BVDv control. In the present work, adaptation to suspension culture conditions of Chinese hamster ovary (CHO) cells producing one of the antigens (E2) of BVDv subgenotype 1b that will be part of a multivalent vaccine candidate against BVDv was performed. The experimental design considered the gradual increase by passage (10% and 20%), of serum-free medium and the addition of Ca^{+2} and Mg^{+2} ionic supplements. During adaptation, the addition of supplements did not positively influence cell density, viability and culture doubling time. E21b protein expression was higher with the 20% increase of serum-free medium, obtaining a specific productivity superior to the culture with 10% increase per passage and to the culture under adherent conditions. The culture conditions established in the present work could be used to obtain other BVDv subgenotypes.

Keywords: bovine viral diarrhoea, persistently infected cattle, subunit vaccine, cell culture to suspension adaptation, recombinant antigen