

## **B8 - Avaliação de alternativas de filtros para clarificação da colheita do biorreator no processo produtivo da EPOhr**

Alvio Figueredo Cardero<sup>1\*</sup>; Victor Gabriel Abramant de Sousa<sup>2</sup>; Maíra Peixoto Pellegrini<sup>3</sup>; Tiago Pereira dos Santos<sup>3</sup>; Marina Vergne de Almeida<sup>3</sup>; Esther Vinhais Gutierrez<sup>3</sup>; Rodrigo Coelho Ventura Pinto<sup>3</sup>.

1 - Centro de Imunologia Molecular;

2 - Merck Millipore;

3 - Bio-Manguinhos/Fiocruz.

### **Introdução:**

A produção da eritropoietina humana recombinante (EPOhr), foco da transferência de tecnologia entre Bio-Manguinhos/Fiocruz e o CIM (Cuba), é baseada no cultivo de células (CHO) em biorreator de tanque agitado de grande escala em perfusão. Neste processo, há uma etapa de clarificação de 2000L diários de colheita, objetivando a redução de particulados, resguardando o processo de purificação. Esta clarificação é feita mediante filtros de profundidade, seguida por filtração de membrana para controle da carga microbiológica.

### **Objetivo:**

Avaliar diferentes especificações e configurações de filtros de profundidade para a clarificação da colheita do cultivo de células em suspensão para a produção da EPOhr.

### **Metodologia:**

Três tipos de filtros de profundidade foram testados: camada simples; camada simples com adjuvante de filtração; e múltiplas camadas. As combinações testadas foram: CE20+CE30 (controle); D0HC+A1HC; 20MS; C0HC. Filtros de membranas foram colocados à jusante dos filtros de profundidade (Durapore 0.45+0.22 ou SHC). Os filtros de profundidade foram testados a uma vazão constante ( $P_{max}$ ), enquanto os de membrana, testados a uma pressão constante ( $V_{max}$ ). Cada cascata de filtração foi testada utilizando 500mL de suspensão celular proveniente de um biorreator de 2L, mimetizando características de uma corrente de colheita em escala industrial. Durante o experimento, foram monitoradas a pressão (transdutor de pressão) e a vazão (balanças) para avaliar a capacidade de filtração e dimensionamento dos filtros. Além disso, foram

avaliados grau de clarificação, pela análise da turbidez e distribuição de partículas (Scepter), e adsorção do produto de interesse às membranas (ELISA).

**Resultados:**

As maiores capacidades de filtração foram observadas nos filtros C0HC e 20MS que, após extrapolação dos resultados para um volume de colheita de 2000L, necessitariam de 7m<sup>2</sup>, seguido da combinação D0HC+A1HC, com 14m<sup>2</sup>. Todas superaram o controle que apresentou necessidade de 20m<sup>2</sup> de superfície filtrante. Contudo, estes resultados são preliminares, pois nenhum dos casos testados alcançou o valor de pressão máxima no experimento, o que demonstraria que os filtros atingiram sua capacidade máxima, permitindo avaliar com maior precisão o seu dimensionamento. Todos os filtros de profundidade alcançaram grau de clarificação apropriado para a aplicação desejada (<10NTU), corroborado pela análise de distribuição de partículas nos clarificados. A avaliação da adsorção indesejada de EPOhr à membrana demonstrou que a combinação D0HC+A1HC obteve comportamento similar ao controle, com 35% de perda do produto (versus 38% do controle), enquanto a menor perda ocorreu no filtro 20MS, com 21%. Finalmente, o uso do filtro de membrana Express SHC permitiu reduzir a uma só etapa a filtração de redução de carga microbiológica sem perda significativa da capacidade de filtração.

**Conclusão:**

Verificou-se que, em termos de capacidade de filtração, clarificação e adsorção de EPOhr, as variantes D0HC+A1HC e 20MS constituem alternativas viáveis para substituir a cascata de filtros utilizada atualmente no processo produtivo (padrão).

**Palavras-Chave:** Eritropoetina Humana Recombinante, Clarificação, Filtração