

Zagotavljanje ustrezne kakovosti celičnega pripravka CAR-T: pomen in pristop k nadzoru kakovosti

11. Likarjev simpozij
15. 6. 2023

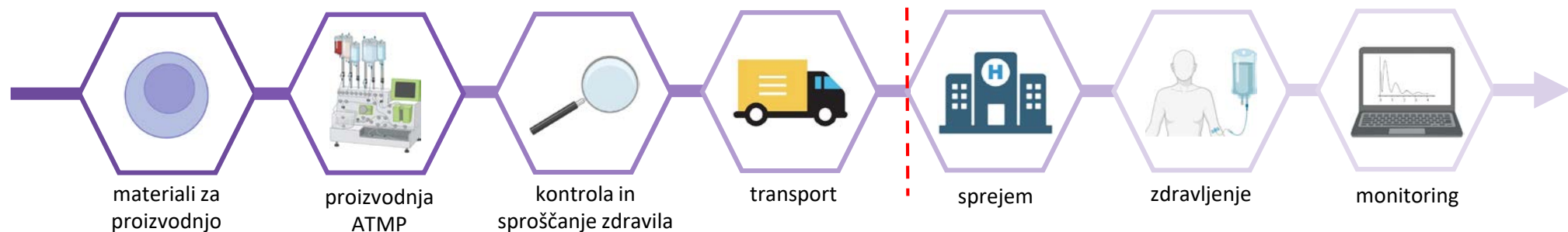
dr. Miša Marušić



Univerza v Ljubljani | Medicinska fakulteta
INŠTITUT ZA MIKROBIOLOGIJO IN IMUNOLOGIJO

Zagotavljanje kakovosti

- CILJ: varno, učinkovito in kakovostno zdravilo = varnost bolnika in uspešnost zdravljenja
 - vzpostavitev celostnega nadzora kakovosti → ključno poznavanje specifik zdravila in proizvodnega procesa ter zahtev trenutno veljavne zakonodaje (cGMP)
- definiranje kritičnih točk v procesu priprave zdravila in implementacijo ustreznih preventivnih ukrepov ter načinov preverjanja kakovosti → zagotavljanje kakovosti

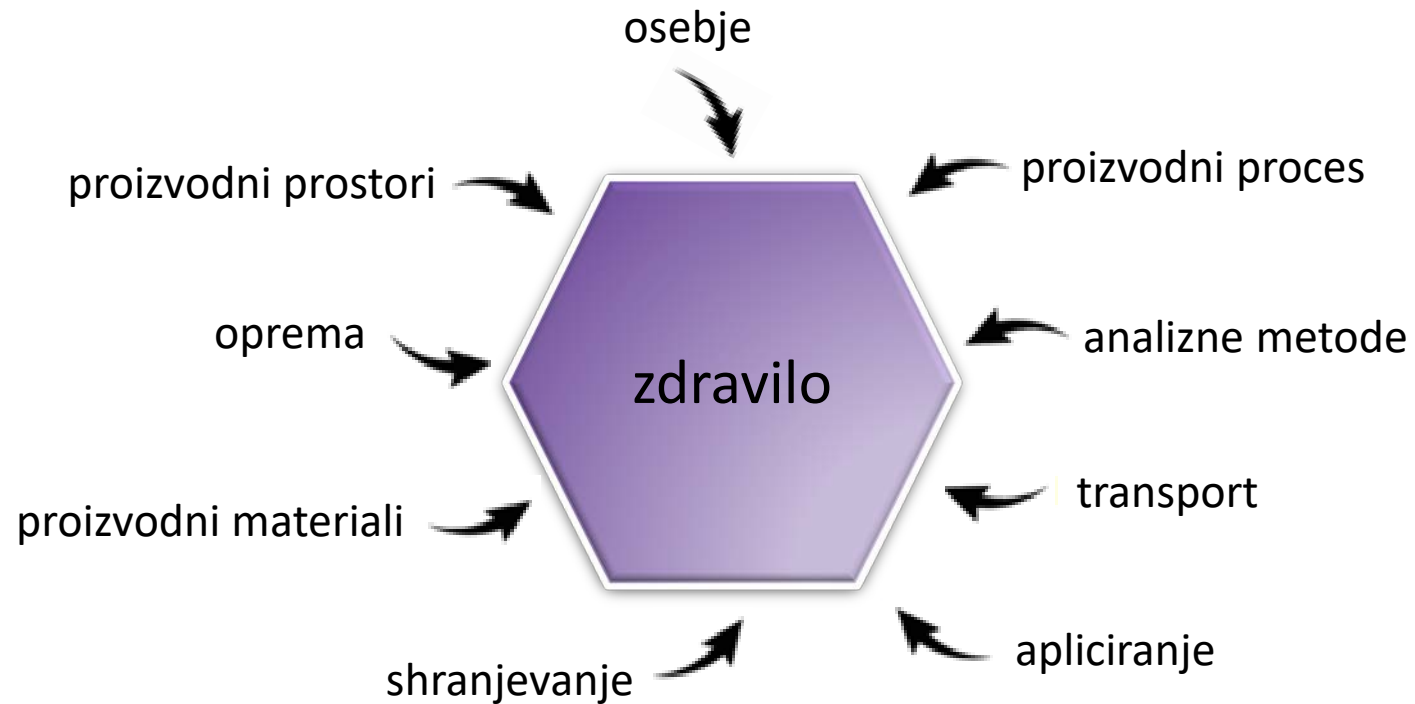


Dejavniki, ki vplivajo na kakovost pripravka CAR T

varnost, učinkovitost, kakovost zdravila



varnost bolnika



DOKUMENTACIJA

(evidenca, sledljivost, skladnost, hranjenje)

Osebjje

- jasno definirana vloga posameznika → naloge, dolžnosti in odgovornosti
- kvalitetno opravljanje nalog → ustrezna usposobljenost
- redna, periodična izobraževanja
- delovanje v skladu z veljavnimi SOP (higiena, oblačenje, čiščenje, proizvodnja, kontrola kakovosti, ravnanje z odpadki, itd.)

VODJA PROIZVODNJE

- odobritev in implementacija procesa proizvodnje
- skladnost proizvodnje s protokolom
- generiranje zapisov proizvodnje
- vzdrževanje proizvodnih prostorov in opreme
- shranjevanje zdravila

izvajanje izobraževanj,
vodenje dokumentacije,
validacija proizvodnega
procesa, transporta,
monitoring okolja,
raziskava odstopov

VODJA KONTROLE KAKOVOSTI

- nadzor nad vhodnimi materiali, surovinami, proizvodi
- generiranje in nadzor nad zapisov kontrole kakovosti
- nadzor nad okoljem, delovanjem opreme in šolanjem

ODGOVORNA OSEBA ZA SPROŠČANJE ZDRAVILA (QP)

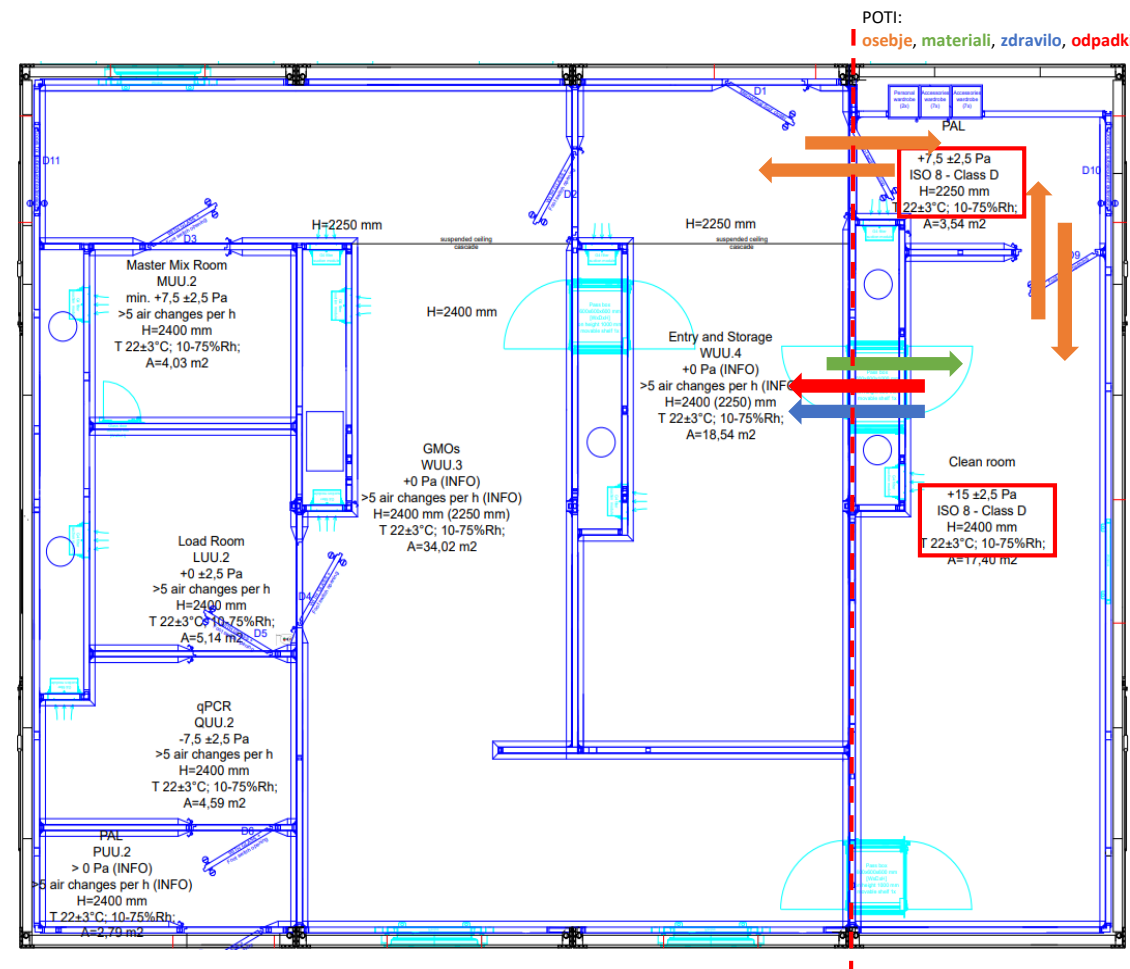
ODGOVORNA OSEBA ZA BIOLOŠKO VARNOST (GSO)

TEHNIKI V PROIZVODNJI

TEHNIKI V KONTROLI KAKOVOSTI

Prostori in oprema

- preprečevanje kontaminacij in navzkrižnih kontaminacij med serijami → **zasnova** in **postavitve** prostorov:
 - čistost površin
 - ustrezna kvaliteta zraka
 - vzpostavitev kaskade tlakov, nadtlak
 - prostorsko in časovno ločena pot osebja, materialov, zdravila in odpadkov
- **vzdrževanje** ustreznih fizikalnih pogojev za proizvodnjo (temperatura, vlaga, nadtlaki) ter neprekinjeno **spremljanje** in **beleženje**
- preverjanje mikrobiološke obremenjenosti okolja- **snažnost** (periodično in ob kritičnih korakih proizvodnje)
- kvalifikacija **aparatur** ter redna letna vzdrževanja (tudi v kontroli kakovosti!)



Grade	Air sample cfu/m ³	Settle plates (diameter 90mm) cfu/4 hours*	Contact plates (diameter 55 mm) cfu/plate	glove print 5 fingers cfu/glove
A**	< 1	< 1	< 1	< 1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	-
D	200	100	50	-

cfu-kolonijske enote

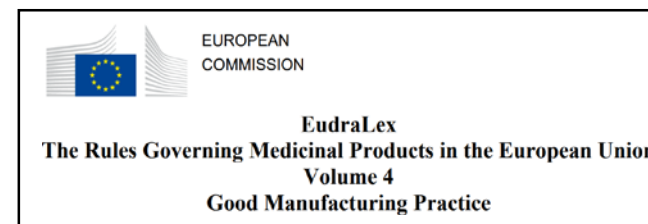


Univerza v Ljubljani | Medicinska fakulteta

INŠTITUT ZA MIKROBIOLOGIJO IN IMUNOLOGIJO

Proizvodni materiali

- vhodni material
 - levkaferezni produkt
- surovine
 - serum
 - vektor
 - mediji za gojenje celic
 - citokini
 - protitelesa
 - rasni faktorji
- drugi materiali
 - ovojnine
 - sistem cev
 - magnetne kroglice...



DIRECTIVE 2004/23/EC OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL
of 31 March 2004
on setting standards of quality and safety for the donation, procurement, testing, processing, preservation, storage and distribution of human tissues and cells

DIRECTIVE 2002/98/EC OF THE EUROPEAN PARLIAMENT AND OF THE COUNCIL
of 27 January 2003
setting standards of quality and safety for the collection, testing, processing, storage and distribution of human blood and blood components and amending Directive 2001/83/EC

INFEKTIVNI MARKERJI
<ul style="list-style-type: none">• Hepatitis B (anti-HBc in HB-Ag)• Hepatitis C (anti-HCV)• HIV 1/2 (anti HIV 1/2)• sifilis/Treponema <p>Dodatno testiranje glede na zgodovino bolnika, tveganja (HEV, HTLV (I/II), CMV, EBV, klamidije,...)</p>

EUROPEAN
PHARMACOPOEIA



Proizvodni proces

simulacija aseptične proizvodnje

- sposobnost aseptične proizvodnje – **sterilno zdravilo**
- osredotočen na kritične korake proizvodnje (povezava na zaprt sistem, test polnjenja medija)
- nična rast mikroorganizmov=sterilna proizvodnja
- vezana na proces, prostor, operaterja
- periodično izvajanje

validacija proizvodnega procesa

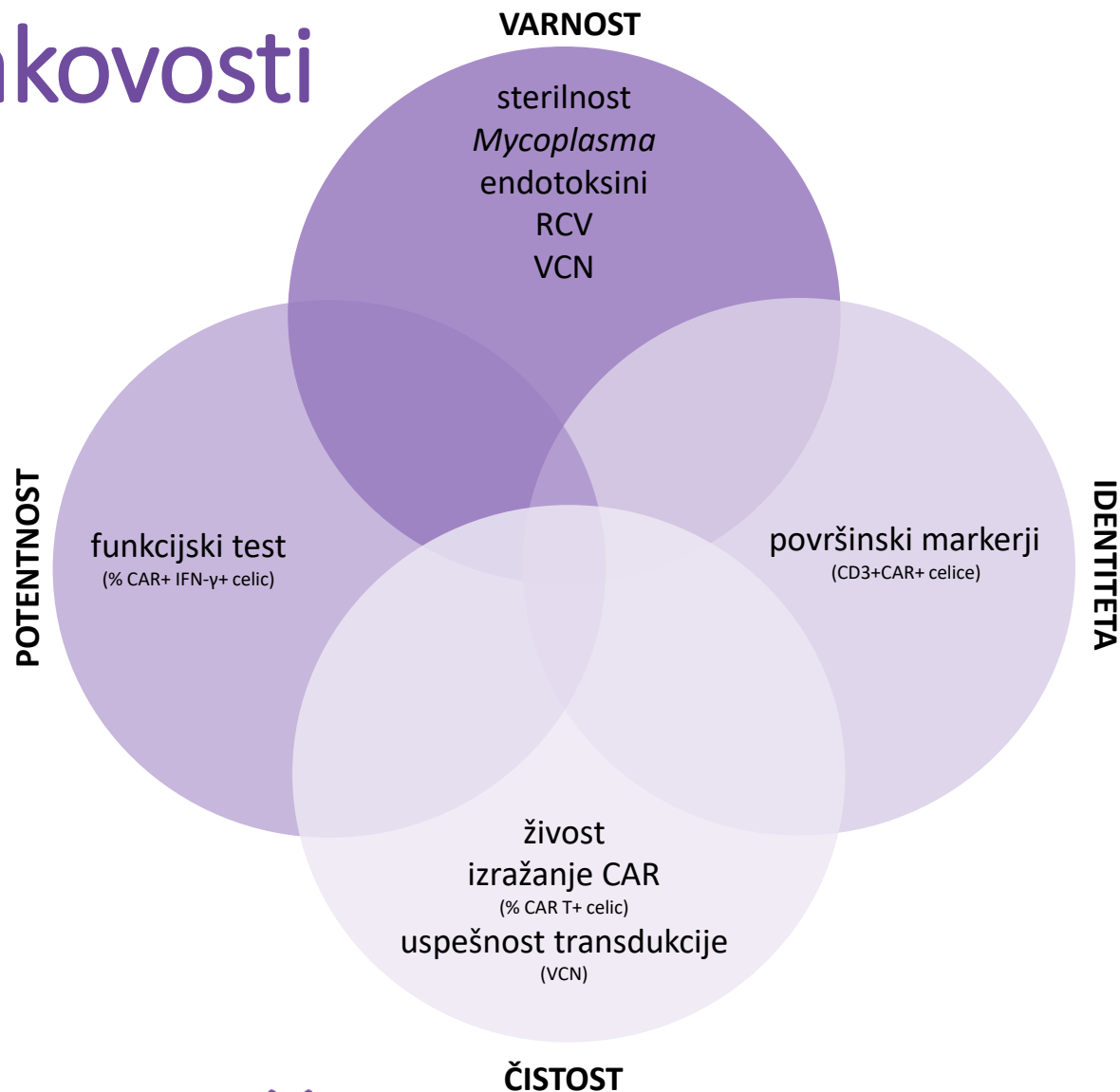
- proizvodni proces je **stabilen, robusten in zanesljiv**
- plan vzorčenja in kriteriji sprejemljivosti medprocesnih kontrol

medprocesna kontrola kakovosti

- spremljanje proizvodnega procesa za zagotavljanje **skladnosti** končnega **zdravila** s specifikacijami



Kontrola kakovosti

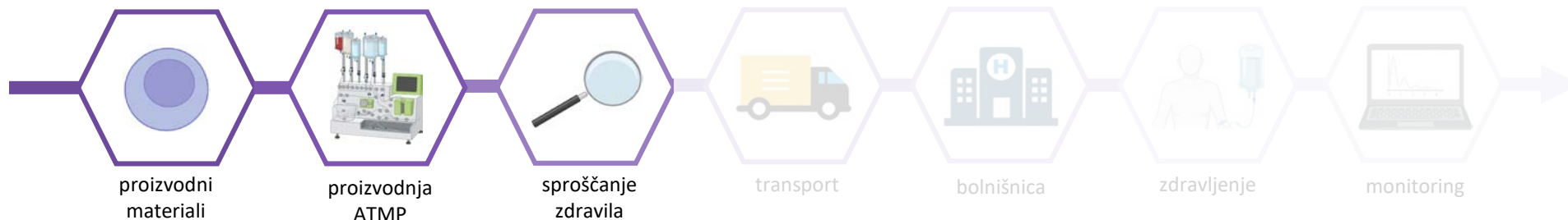


Specifikacije	
Zahteve	Specifikacije
Izgled in opis	
Izgled	brezbarvno do rahlo rumeno, rahlo motno
Identiteta	
Identiteta celic s CAR qPCR	pozitivno
Čistost	
Živost celic	≥80,00 % živih celic
Delež živih limfocitov T (CD3 ⁺)	≥85,00 %
Uspešnost transdukcije	0,02-1,50 CAR kopij/celico
Nečistoče	
Delež živih limfocitov B (CD19 ⁺)	≤1,0%
Prisotnost <u>mikoplazem</u>	negativno
Prisotnost <u>endotoksinov</u>	≤5 EU/kg
Prisotnost <u>replikativno kompetentnega virusa</u>	negativno
Mikrobiološka sterilnost	negativno
Kvantiteta	
Delež živih celic CAR T	≥3,00 % CAR pozitivnih limfocitov T
Koncentracija živih celic CAR T	Zapis št. živih CAR T celic/ml
Celokupno število živih celic CAR T	Zapis števila živih CAR T celic
Odmerek	0,2-5×10 ⁶ CAR pozitivnih limfocitov T/kg
Skladiščenje in transportni pogoji	
ROK UPORABE	Npr. 36 ur od priprave zdravila
POGOJI SHRANJEVANJA	+2 °C do +8 °C



pregled certifikata serije in sproščanje zdravila (QP)

- zapisi proizvodnje
- zapisi nadzora kakovosti vseh materialov
- ustreznost uporabljenih aparatov in analiznih postopkov
- identiteta donorja

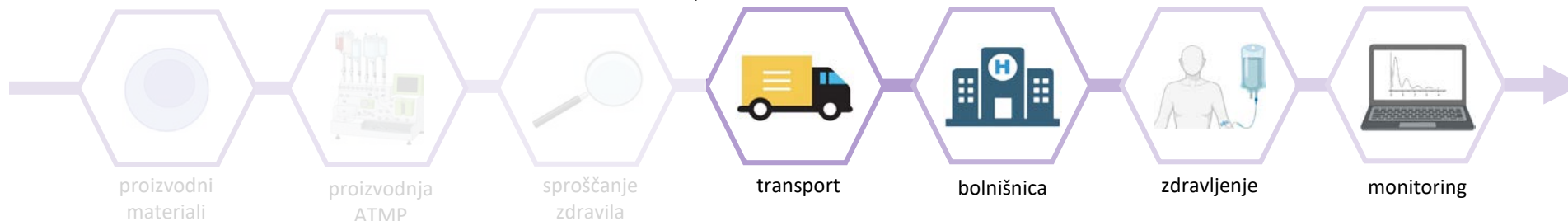
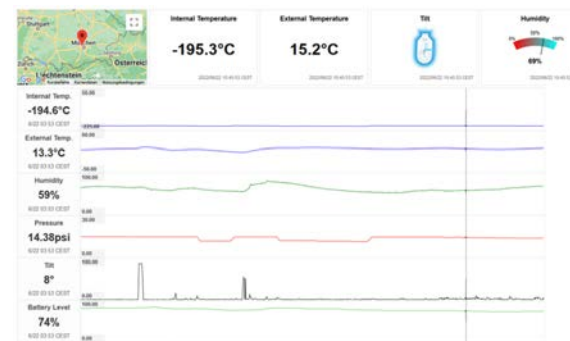


Specifikacije	
Zahteve	Specifikacije
Izgled in opis	
Izgled	brezbarvno do rahlo rumeno, rahlo motno
Identiteta	
Identiteta celic s CAR qPCR	pozitivno
Čistost	
Živost celic	≥80,00 % živih celic
Delež živih limfocitov T (CD3 ⁺)	≥85,00 %
Uspešnost transdukcije	0,02-1,50 CAR kopij/celico
Nečistoče	
Delež živih limfocitov B (CD19 ⁺)	≤1,0%
Prisotnost mikoplazem	negativno
Prisotnost endotoksinov	≤5 EU/kg
Prisotnost replikativno kompetentnega virusa	negativno
Mikrobiološka sterilnost	negativno
Kvantiteta	
Delež živih celic CAR T	≥3,00 % CAR pozitivnih limfocitov T
Koncentracija živih celic CAR T	Zapis št. živih CAR T celic/ml
Celokupno število živih celic CAR T	Zapis števila živih CAR T celic
Odmerek	0,2-5×10 ⁶ CAR pozitivnih limfocitov T/kg
Skladiščenje in transportni pogoji	
ROK UPORABE	Npr. 36 ur od priprave zdravila
POGOJI SHRANJEVANJA	+2 °C do +8 °C
POGOJI TRANSPORTA	+2 °C do +8 °C
VARNOSTNI UKREPI ZA SHRANJEVANJE IN TRANSPORT	Npr. Transport v embalaži primerni za GSO II R, v aktivni transportni posodi.



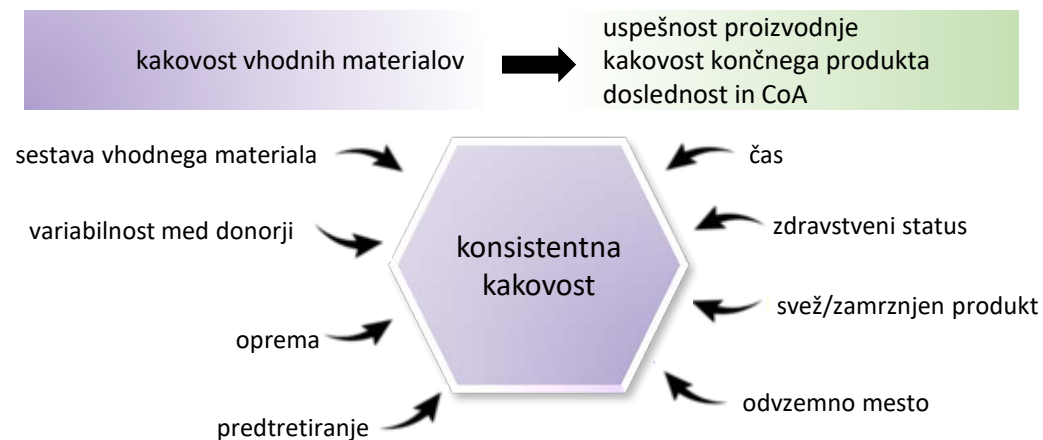
transport

- nadzorovani pogoji med transportom in neprekinjeno beleženje temperature

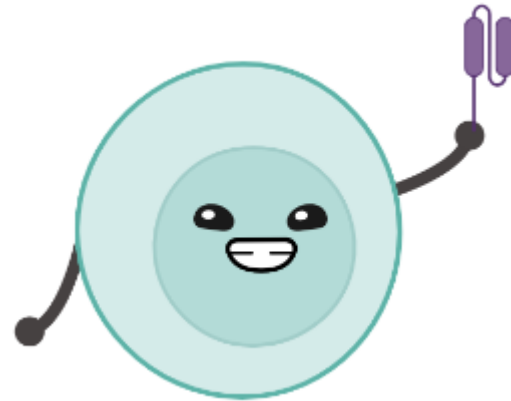


Izzivi

- pomanjkanje vhodnih materialov → omejen obseg testiranja (ocena tveganja)
- uporaba omejena le na točno določene proizvodne materiale → dostopnost na trgu
- visoka stopnja variabilnosti → doseganje specifikacij (OOS)
- majhne serije → reprezentativnost zadržanih vzorcev
- GSO → kontradiktorne zahteve aseptični proizvodnji
- **kratak rok trajanja zdravila → glavna časovna omejitev za izvedbo testov**
- proizvodnjo ATMP v veliki meri izvajajo akademske ustanove in bolnišnice → **finančne, kadrovske, prostorske omejitve**



Hvala za pozornost.



Univerza v Ljubljani | Medicinska fakulteta

INŠTITUT ZA MIKROBIOLOGIJO IN IMUNOLOGIJO