



Capitolato Tecnico per analisi di rilascio di “Master Cell Banks” e vettori retrovirali

L'Ospedale Pediatrico Bambino Gesù (OPBG) richiede l'attivazione di servizi analitici per rilascio di n=2 “Master Cell Banks” (MCB) e n=3 vettori retrovirali da impiegarsi come “Starting Materials” nella produzione di farmaci CAR-T. Le analisi da effettuarsi sono finalizzate alla conferma di identità, alla verifica di sicurezza d'uso virologica e microbiologica ed alla valutazione delle impurità nei materiali oggetto di rilascio e sono complementari ad ulteriori analisi effettuate presso l'Officina Farmaceutica. Per il rilascio dei vettori retrovirali, sono analizzati sia i vettori in quanto tali, sia la raccolta delle cellule produttrici dopo la produzione dei vettori stessi, denominata “Post Production Cell Bank” (PPCB). In Tabella 1 e 2 sono riportate, rispettivamente, le denominazioni delle analisi richieste per le due MCB ed i tre vettori retrovirali da rilasciare.

Tabella 1. Saggi per caratterizzazione delle MCB (n=2).

Saggio		#
Identità MCB (HEK Vec 293 RD114)	DNA Fingerprinting by STR Assay	x2
Valutazione microbiologica	Sterility EP 2.6.1	x2
	Bacteriostasis (Sterility validation EP 2.6.1.)	x2
	LAL Validation and test	x2
	Detection of mycoplasma by culture and staining EP 2.6.7	x2
	Qualification of the test article for detection of mycoplasma (EP 2.6.7)	x2
Valutazione virologica	Determination of viral contaminants (<i>in vitro</i>) using cell lines according to EMA/CHMP/ICH/804363/2022	x2
	Detection of porcine viruses using Vero and PPK cell lines according to 9CFR guideline and EP	x2
	Detection of bovine viruses using Vero and BT cell lines according to 9CFR guideline and EP	x2
	In vivo adventitious agent detection using embryonated hen eggs, suckling and adult mice	x2
	Quantitative PCR for HIV-1, HIV-2, HTLV 1&2, EBV, HCMV, HHV6, HHV7, HHV8, HAV, HBV, HCV, PCV1 (DNA), PCV2 or BCV(DNA), SV40	x2
	h. polyomaviruses JC and BK sequences	x2
	h. papillomaviruses	x2
	h. enteroviruses	x2
	PCV1 (DNA), PCV2, BCV(DNA)	x2
Valutazione di impurezze	Assay for RD114 retrovirus Detection (Supernatant) (FDA-1999-D-0081) with GalV and RD114 as positive controls (with GalV and/or RD114 titration, if necessary)	x2
	Assay for RD114 retrovirus Detection (Cells) (FDA-1999-D-0081) with GalV and RD114 as positive controls (with GalV and/or RD114 titration, if necessary)	x2
	Detection of contaminating agents by TEM	x2

Tabella 2. Saggi per caratterizzazione dei vettori retrovirali (n=3).

Saggi su PPCB		#
Identità PPCB (HEK Vec 293 RD114)	DNA Fingerprinting by STR Assay	x3
Valutazione microbiologica	Detection of mycoplasma by culture and staining EP 2.6.7	x3
	Qualification of the test article for detection of mycoplasma (EP 2.6.7)	x3
Valutazione virologica	Determination of viral contaminants (<i>in vitro</i>) using cell lines according to EMA/CHMP/ICH/804363/2022	x3
	Detection of porcine viruses using Vero and PPK cell lines according to 9CFR guideline and EP	x3
	Detection of bovine viruses using Vero and BT cell lines according to 9CFR guideline and EP	x3
	In vivo adventitious agent detection using embryonated hen eggs, suckling and adult mice	x3
Valutazione di impurezze	Assay for RD114 retrovirus Detection (Supernatant) (FDA-1999-D-0081) with RD114 as positive control (with RD114 titration, if necessary)	x3
	Assay for RD114 retrovirus Detection (Cells) (FDA-1999-D-0081) with RD114 as positive control (with RD114 titration, if necessary)	x3
Saggi su vettore retrovirale		#
Valutazione microbiologica	Detection mycoplasma by culture and staining (EP 2.6.7)	x3
	Qualification of the test article for detection of mycoplasma (EP 2.6.7)	x3
Valutazione virologica	Determination of viral contaminants (<i>in vitro</i>) using cell lines according to EMA/CHMP/ICH/804363/2022	x3
	Detection of porcine viruses according to 9CFR guideline and EP	x3
	Detection of bovine viruses according to 9CFR guideline and EP	x3
	Assay for RD114 retrovirus Detection (Supernatant) (FDA-1999-D-0081)	x3
	In vivo adventitious agent detection using embryonated hen eggs, suckling mice and adult mice (ICH Q5a, PCT 1993)	x3
Valutazione di impurezze	Host cell DNA (E1B, E1A)	x3
	Osmolality	x3

Table 3. Altri saggi aggiuntivi in emendamento

Saggi su vettore retrovirale		#
Saggi preliminari	Evaluation to determine the cytotoxicity of the products under analysis prior to an <i>in vitro</i> test	x2
Valutazione di impurezze	Host Cell Protein	x3
Saggi su MCB e PPCB		#
Saggi preliminari	Cell expansion and sample preparation	x4
Saggio identitario	Valutazione morfologica	x3
Valutazione microbiologica	LAL qualification and test	x3
	Microbiological qualification and test	x3