

細胞治療操作場所之實務運作

瑪旺幹細胞醫學生物科技
研發部經理 簡佳雯博士



發展沿革

- 2008年 設立瑪旺幹細胞醫學生物科技股份有限公司
與工研院合作進行製程開發及建置規劃符合GTP細胞組織實驗室
- 2009年 符合GTP細胞組織實驗室建置完成並正式啟動
- 2010年 細胞組織實驗室通過衛生署查核符合GTP標準
進行醫療器材設計研發
取得經濟部中小企業研究發展計畫(SBIR)補助
- 2011年 通過自體纖維母細胞進行Phase I人體臨床試驗
醫療器材通過 ISO13485 及 ISO9001 雙重認證
- 2012年 通過衛生署醫療器材GMP認證
- 2013年 自體纖維母細胞進行Phase I人體臨床試驗衛生署結案
申請異體纖維母細胞治療表皮分解性水泡症之臨床第一期試驗
- 2014年 進行二類醫療器材設計研發
- 2015年 申請自體纖維母細胞治療成人中重度鼻唇溝皺紋之臨床二期試驗
通過衛福部二類醫療器材GMP認證
- 2016年 取得衛福部人體器官保存庫設置許可函



人體細胞組織優良操作規範

- | | |
|---------------|-------------|
| 一. 總則 | 十. 製程變更 |
| 二. 品質計畫之建立與維持 | 十一. 製程之確效檢查 |
| 三. 組織與人員 | 十二. 標示管制 |
| 四. 作業程序 | 十三. 貯存 |
| 五. 設施與場所 | 十四. 收受與配送 |
| 六. 環境管制與監控 | 十五. 紀錄 |
| 七. 設備 | 十六. 追蹤 |
| 八. 物料與試劑 | 十七. 怨訴檔案 |
| 九. 製程管制 | 十八. 附則 |

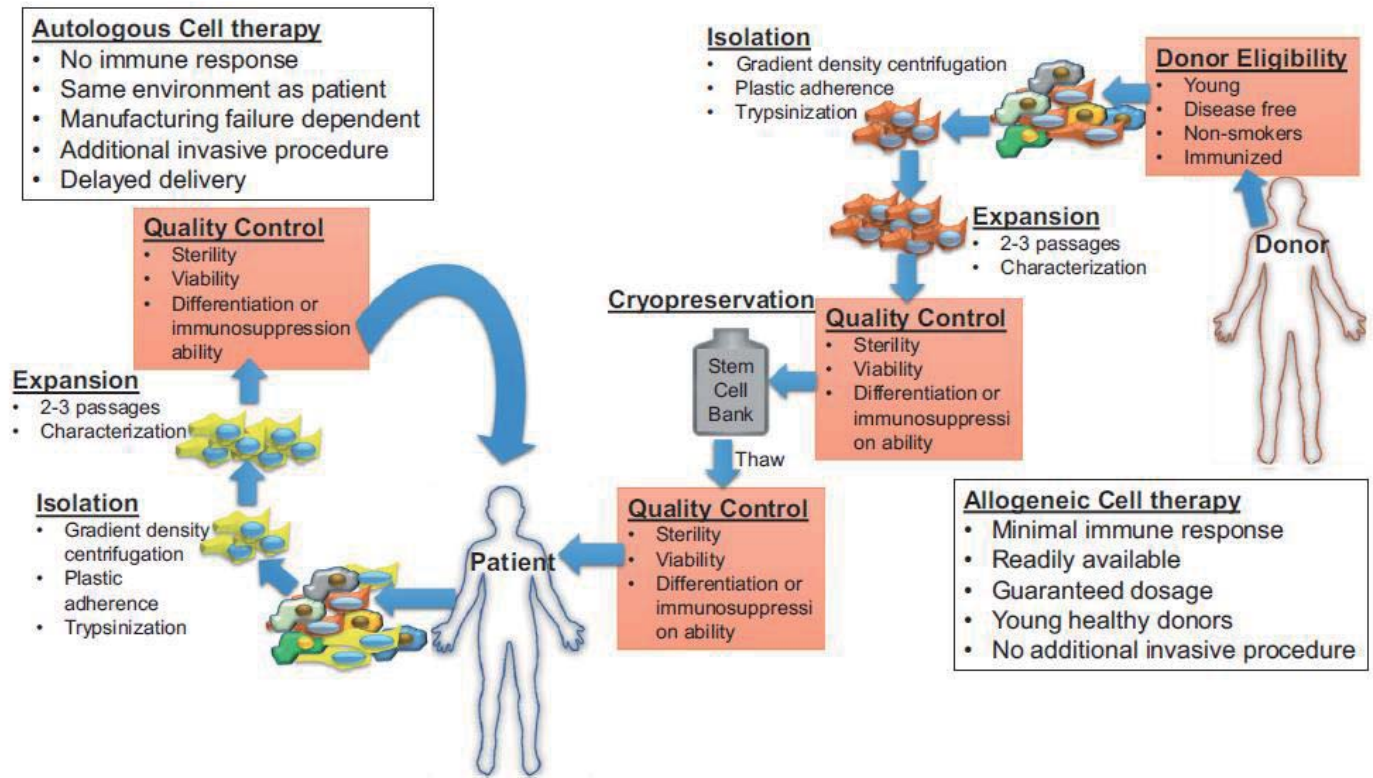


GTP訪查-現場檢查

- 依循製程順序赴各區檢查
 - 抽查紀錄
 - 檢查設施、設備
 - 向現場人員查證
- 檢查廠區環境
 - 空調系統
 - 水系統
- 品管實驗室
- 原料、半成品、成品、合格品與不合格品管制與倉儲



Autologous and allogeneic cell therapy



MariaDon

Circ Res. 2015;116:12-15

捐贈者合適性判定

(人類細胞治療產品捐贈者合適性判定基準)

篩選：

根據捐贈者的書面文件資料，確認捐贈者沒有帶有相關傳染性病原或疾病

測試：

以捐贈者的檢體(例如：血液檢體)進行實驗室檢查，根據檢查結果確認捐贈者沒有帶有相關傳染性病原或疾病的風險。

使用自體的細胞，因無傳染疾病給自己之虞，得不需「判定」捐贈者合適性，但為了保護接觸者的安全和製造環境的風險管控，仍需進行捐贈者篩選或測試，以評估捐贈者細胞或組織是否有傳染疾病的風險，才能適當管理。

若無判定須於產品標示上註明：**細胞或組織僅供自體使用**

捐贈者測試的傳染性病原或疾病項目以及使用之檢測方法

1. 確認檢驗單位相關認證及項目
2. 確認檢驗單位使用的檢測試劑是否為法規單位核准

MariaDon

檢體採集、運送及收受

1. 方式
2. 容器
3. 運送方式及溫度範圍
車用冰箱或保冰箱，冰保放置方式，檢體及溫度紀錄器放置方式
4. 收受應有檢查程序

機構應就人體細胞組織物之收受/進料 (receipt)、驗收或退回(acceptance or rejection)、配送、及銷毀或廢棄 (destruction or other disposition)，建立並維持作業程序，且製作紀錄。

前項紀錄應記載下列事項：

- (一) 人體細胞組織物之辨識碼。
- (二) 作業內容與結果。
- (三) 作業日期。
- (四) 人體細胞組織物數量。
- (五) 人體細胞組織物之廢棄處置，如受貨人資料 (identity of consignee)。

收受人體細胞組織物 (進料) 後，應立刻查核其當時狀況 (如有關檢疫、捐贈者篩檢與檢驗、產品處理之狀況)，並依產品狀況妥為處置。收受人體細胞組織物 (進料) 後，應依一定程序檢查產品有無**損害、污染、變質、或完整性受損**之現象。驗收或退回應製作紀錄。



更衣標準作業

噴灑酒精後，進入實驗室



1. 口罩
2. 髮罩
3. 襪套
4. 手套
5. 無塵衣
6. 無塵鞋



標示配製日期及有效期限



無塵衣清洗次數 紀錄 標示



生物安全操作檯標準作業

人員執行消毒程序

1. 75%酒精擦拭壁面及檯面，方向為由上而下，由內而外，再將欲使用之物品75%酒精擦拭消毒過後放入操作檯中。
2. 操作完畢，移出所有實驗器物。以75%酒精由上而下，由內而外，擦拭壁面及檯面。



1. 生物安全操作檯內清消之75%酒精以0.22μm Top filter過濾以去除細菌孢子之汙染
2. 標示配製日期及有效期限並紀錄

Note: 操作時若能兩人一組最理想，避免“操作手”頻繁進出生物安全操作檯

生物安全操作檯之效能校正

1. 下吹氣流測試
2. 入風測試
3. 煙霧可視化測試
4. 照明測試
5. HEPA測試
6. 噪音測試
7. 落菌測試

若訂為100級區需進行落塵測試

記得訂允收標準，委外維護保養及校正報告需有人員審核紀錄



細胞分離、培養及儲存（無菌操作流程）

相關標準作業

1. 方式

採集自不同提供者之細胞組織，不應在製造過程中混雜（pooling）（指物理上之接觸或在同一容器內混合）。

2. 試劑耗材

研究用（COA，需說明要看什麼內容）、臨床等級（藥證或醫療器材許可證）DMEM: 內毒素< 0.1 EU/ml、無菌試驗結果為陰性

FBS: 內毒素< 1 EU/ml、黴漿菌檢驗結果為陰性、無菌試驗結果為陰性、

非海綿腦病變疫區聲明

Trypsin: 內毒素< 0.5 EU/ml、黴漿菌檢驗結果為陰性、無菌試驗結果為陰性、豬小病毒及PCV測試結果為陰性

抗生素及賦形劑使用臨床等級

是否分裝？



物料與試劑管控

機構就受領供製造人體細胞組織物使用之物料與試劑，應建立及維持其進貨作業程序，並查核其是否符合規格，且於查核完成前，不得使用。

待驗區、合格區、不合格區，待驗及合格之試劑及耗材包裝上需有合適區別

前項規格係指與避免因產品污染、產品效用與完整性受損所致導入、傳播、散布傳染病之風險增加有關之規格。

第一項之查核得由製造機構或供應商實施。

處理或保存人體細胞組織物所使用之試劑，應具有與使用目相當之品質等級；必要時，並應為無菌。機構自製試劑者，其製造程序應經確效檢查且（或）經查核。

驗COA加每批自行檢驗

下列紀錄應予保存：

- （一）進貨紀錄，包括類型、製造商、批號（lot number）、進貨日期及有效期限。
- （二）查核紀錄（包括查核結果），如由供應商查核，則為供應商出具之查核證明。
- （三）使用紀錄，包括使用該物料或試劑所製造人體細胞組織物之辨識碼。

細胞培養液專人專瓶

供應商評估

評估內容：是否為唯一供應商、市場上無其他替代者、是否通過GMP或ISO 系列驗證等，必要時請供應商提供樣品或實地評核。

定期評核：交貨紀錄及配合度。

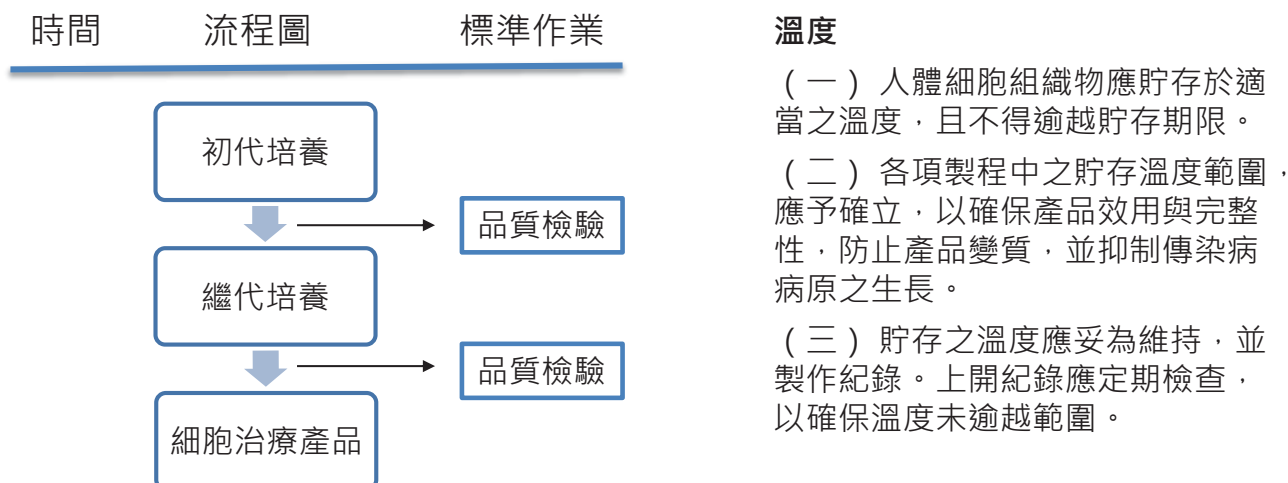


細胞分離、培養及儲存（無菌操作流程）

3. 儲存條件、場所及設備

4. 製程中檢驗

機構應視情況建立並維持一定之作業程序，以確保其製程中之中間產品是否符合特定規格。該程序應確保中間產品，於完成檢查、測試或其他查核前，或於取得批准及其記錄前，受到適當管制。中間產品之檢查取樣，應足以代表擬被評估之材料



細胞治療產品放行、配送及接收程序

產品放行

產品放行審查機制確保所有製程皆符合規範

→ 釋出查檢表 (對照組產品亦須進行放行審查)

細胞產品及對照組產品COA

須規範產品放行之最終無菌試驗結果為陽性時之通報及處理程序

人體細胞組織物應視情況依下列因素訂定其有效期間：

- (一) 產品種類
- (二) 製造程序 (含保存方法)
- (三) 貯存條件
- (四) 包裝

產品配送

配送方式及溫度範圍

→ 車用冰箱或保冰箱，冰保放置方式，產品及溫度紀錄器放置方式

產品配送時，須檢附提供者合適性之文件

產品接收

須訂定明確之細胞治療產品接收程序

→ 細胞製劑或安慰劑之COA內容確認、目視檢查無異物與其密封狀態確認等

→ 醫院端接收紀錄須包含受試者辨識資料核對、退貨、接收查檢內容等之記錄欄位



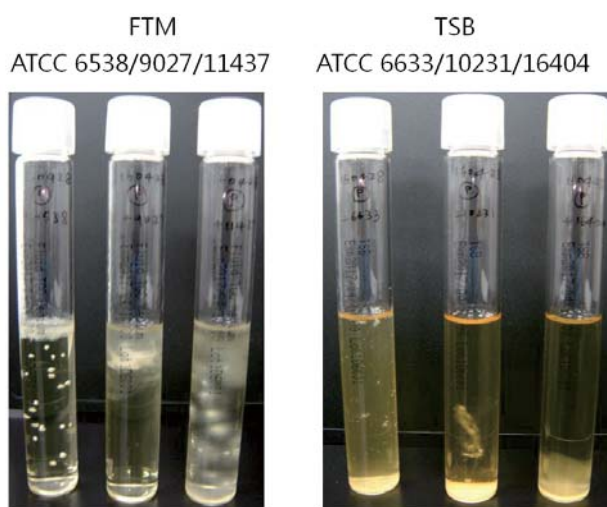
品管作業

Quality Control Test		
	Test	Standard
Cell Number		$1.6-2.0 \times 10^7$ Cells
Cell Viability		$\geq 85\%$
Passage		$\leq p8$
Identity & Purity		$> 90\%$
Endotoxin Testing		≤ 0.5 EU/ml
Mycoplasma Testing		
Gram Staining		
Sterility Testing		



品質檢驗-無菌試驗標準作業

- 依「藥典」及「生物藥品檢驗基準 II」進行檢驗
 1. 培養基無菌性及生長促進試驗
 2. 樣品無菌性、抑菌及抑黴菌性試驗

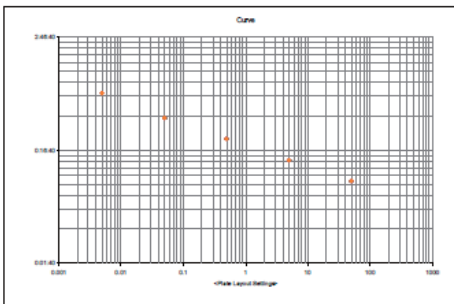


- 委外檢測需確定檢測方法



品質檢驗-內毒素檢測標準作業

- 以Limulus Amebocyte Lysate (LAL) 呈色動力分析法檢驗，靈敏度為 0.005 EU/ml。
- 讀值可信度: $R^2 \geq 0.98$; $NC < 0.005$ EU/ml; Recovery 介於 50-200 釋出標準為內毒素含量必須低於 0.5 EU/ml。

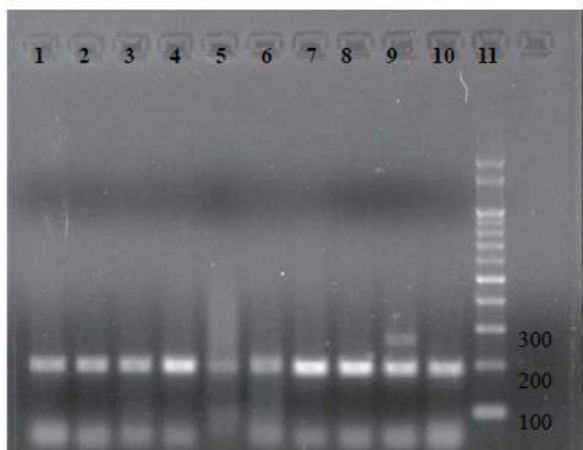
Standard curve:				Curve Name	Curve Formula	A	B	R2
				Curve	$\text{Log}(Y)=A*\text{Log}(X)+B$	-0.198	6.05	1
				Well ID	Well	Onset Time [405]	Conc	Mean
				BLK	B2	01:15:10	<0.002	<0.002
					B3	01:15:10	<0.002	
Well ID	Well	Conc/Dil	Onset Time [405]	Conc x Dil	Count	Mean	Percent Recovery	
SPL5	F4	100	01:14:10	<0.199	2	<0.199	76.454	
	F5	100	01:15:10	<0.199				



品質檢驗-黴漿菌檢測標準作業

- 以聚合酶鏈式反應 (PCR) 為基礎進行黴漿菌污染分析。

偵測範圍落於 2.5~10 CFU/ml，
符合EP2.6.7要求 < 10 CFU/ml



Positive control: 270bps Internal control: 191bps

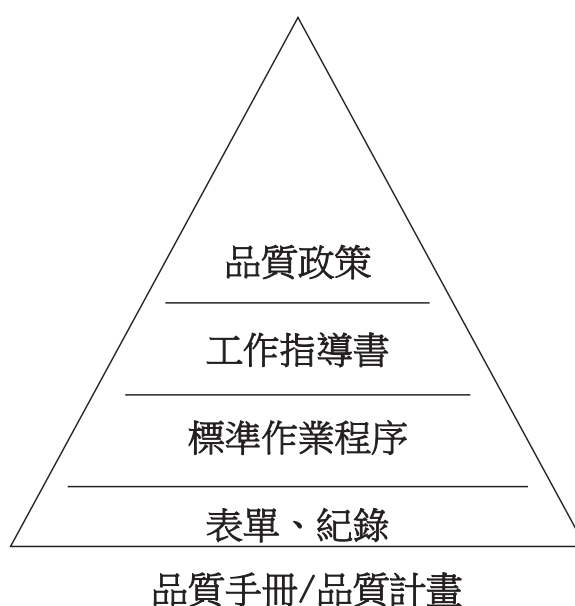
Species	Detection limit [CFU/ml]
<i>Acholeplasma laidlawii</i>	≤ 2.5
<i>Mycoplasma hyorhinis</i>	≤ 2.5
<i>Mycoplasma fermentans</i>	≤ 2.5
<i>Mycoplasma orale</i>	≤ 10
<i>Mycoplasma synoviae</i>	≤ 10

Species	Detection limit [CFU/ml]
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	≤ 10
<i>Mycoplasma arginini</i>	≤ 10
<i>Mycoplasma gallisepticum</i>	≤ 10
<i>Spiroplasma citri</i>	≤ 10



文件審閱

- 調閱品質文件
- 抽查相關紀錄
- 檢視確效與再確效資料
- 向負責人員查證
- 與現場觀察結果比對



資料來源: TFDA風管組



品質計畫之建立與維持

機構應指派專責人員，並授權其負責確保品質計畫之有效建立與維持。該人員應向機構管理者報告品質計畫之執行情形，**每年至少一次**。若該人員於機構中兼任其他工作，則對該工作不得自為最後之監督。

→ 管理審查會議

稽核

- (一) 本規範所規定之品質稽核，應**每年至少執行一次**。必要時，並應執行特別稽核。稽核應依一定程序為之，以**確保品質計畫之有效執行**，辨認產品偏差之趨向及重複發生之問題。
- (二) 品質稽核人員須具備相關知識、訓練與經驗。被稽核事項之直接負責人員，不得自為稽核人員。
- (三) 稽核或再稽核之報告應妥為保存，交由機構管理者審閱，並製作審閱紀錄。



組織與人員

- 機構應設置適當之組織架構及充足之工作人員。
- 工作人員應具備相關教育與經驗，並僅執行其可勝任之職務。
- 工作人員**應接受訓練或繼續教育**，並明瞭執行職務不當所可能造成的後果，如，散布傳染病或其病原之危險、與傳染病或其病原有關之危害、產品效用與完整性受損所造成之危險。
- 工作人員之教育、經歷、訓練與繼續教育之紀錄，應予保存。
- 制訂人員執行教育訓練後之成效評估標準，規範訓練時數及評核標準
- 文件發行須執行教育訓練使人員了解其內容

作業程序

所有程序於實施前，應經負責人員審查並核准。所有程序，並應**每年定期審查至少一次**，必要時，應予修正。上開審查結果，並應製作紀錄。
第一項之程序，原則上應提供相關工作人員於工作地點查閱。

→ 作業程序定期審查機制

作廢的程序亦應保存十年以上。



潔淨區不可使用易產生微粒子
之蒙皮泡棉座椅

更換前



蒙皮泡棉座椅

更換後



PU一體成型無塵椅

潔淨室所使用UV燈之維護保養程序
開啟時間、更換頻率及紀錄



Thanks!

