

非滅菌着衣でクリーンブースを利用した再生医療等製品向けの原料細胞調製の検討

五十嵐靖浩¹⁾ 松橋 博子¹⁾ 鳥海 綾子¹⁾ 浅尾裕美子¹⁾ 弥永 侑子¹⁾
黒田 留以¹⁾ 上村 知恵¹⁾ 深町 茂¹⁾ 猪瀬 里夏²⁾ 山崎 理絵¹⁾
伊藤 経夫³⁾ 長谷川雅一³⁾ 古川 悠³⁾ 田野崎隆二¹⁾

キメラ抗原受容体 (CAR) T 細胞療法目的で採取した細胞の凍結前調製を、非滅菌着衣でクリーンブースを利用して実施する際の汚染リスクについて検討した。

病院の一般環境に、半開放気流制御型クリーンブースのエアバリアブース[®] (以下 ABB, ダイダン株式会社) を設置し、その中の安全キャビネット内で細胞調製を行った。調製は 2 名で滅菌手袋を使用した。サンダル、ガウン、マスク、キャップは非滅菌で、同一症例では交換せず使用。65 例のチサゲンレクルユーセル (キムリア[®]) 原料細胞調製時に、ABB 内外 8 カ所で落下菌検査を、凍結直前の産物で無菌検査を実施した。

非作業時清浄度は、安全キャビネット内はグレード A、ワークエリアはグレード B に適合した。作業時落下菌検査陽性率は、安全キャビネット内 2%、ABB 内の風上最上流 0%、作業者風下のワークエリア内 13% (作業台高) と 26% (床)、サポートエリア (空気通路) 43% で、検出菌は多彩だった。凍結前産物は全例培養陰性で、汚染による製造失敗はなかった。作業者風下には多彩な落下菌が認められるので、リスク評価を定期的に行い、作業手順を見直すことが重要である。

キーワード：再生医療等製品、クリーンブース、細胞培養加工施設、キムリア[®]、エアバリアブース[®]

はじめに

2014 年に我が国で「医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律」¹⁾が改正され、以後、多くの再生医療等製品が薬事承認されている。再生医療等製品の製造や調製には無菌操作が必要であり、厳重に環境モニタリングがされた細胞培養加工施設 (cell processing center : CPC) での実施が求められる^{2)~6)}。

キメラ抗原受容体 (chimeric antigen receptor : CAR) T 細胞療法は、難治性造血器腫瘍に高い奏効率が報告され、近年急速に普及しつつある⁷⁾。現在、B 細胞腫瘍を対象とした CD19-CAR-T 製品としてキムリア[®]、ブレヤンジ[®]、イエスカルタ[®]の 3 製品が、多発性骨髄腫を対象とした BCMA-CAR-T 製品としてアベクマ[®]、カービクティ[®]の 2 製品が本邦で薬事承認され、一定の施設要件を満たす同種造血幹細胞移植施設を中心に、各企業の施設監査・承認の下に実施されている⁸⁾。いずれも自家製品で、患者から成分採血により大量の末梢血単核

球を採取し、製造所に運搬されて T リンパ球の純化、遺伝子導入と大量培養によりキメラ抗原受容体が組み込まれた CAR-T 製品が作られる。最終製品は、液体窒素気相に凍結保存され各医療施設に搬送される。リンパ球除去療法が完了した患者に、解凍処理後に経静脈的に投与される。

上記の CAR-T 製品のうち、キムリア[®]だけは、各施設において成分採血で採取した末梢血単核球を国際標準化機構 ISO クラス 5 環境の安全キャビネット内で無菌的に調製し、プログラムフリーザーを用いて液体窒素タンク気相に保存する必要がある。このため、キムリア[®]は、院内 CPC を保有している骨髄バンク認定施設に導入が開始され、CPC を用いて細胞調製を実施している施設が多い^{9)~11)}。しかし、CPC の管理・維持には多大な費用と労力が必要で、院内 CPC を有する医療機関は限られている。

一方、造血幹細胞移植では多くの無菌的細胞調製が必要であるが、造血幹細胞採取・移植施設では、自

1) 慶應義塾大学病院輸血・細胞療法センター

2) 慶應義塾大学病院臨床検査科

3) ダイダン株式会社

連絡責任者：田野崎隆二、E-mail : rtanosak@keio.jp

〔受付日：2024 年 6 月 16 日、受理日：2024 年 9 月 11 日〕



図1 慶應義塾大学病院の清浄度非管理区域に設置されたエアバリアブース® (ABB)

A: エアバリアブース® 外観, B: ファンフィルターユニットと操作盤, C: 安全キャビネットとワークエリア.

設の安全キャビネットやクリーンベンチを用いて、学会等の指針に基づき、感染管理上は問題なく実施されてきた^{12)~14)}。このため、当院ではCPCを保有しているが、費用・労力削減の観点から、非滅菌着衣で、クリーンブース (clean booth) の一つであるエアバリアブース® (以下 ABB, ダイダン社) を利用してキムリア®用の採取産物の調製を行うこととした。クリーンブースとは、一般に、取外し可能な壁や、支柱・ビニールシート等で空間を仕切り、ファンフィルターユニット (fan filter unit: FFU) と HEPA (high efficiency particulate air) フィルター等を使って清浄な空気を循環させて清浄度を保つ簡易無菌室である。慶應義塾大学病院の一般環境の一室に、天井と両側の壁をそのまま利用して ABB を設置した。天井外気流入口からの空気は配管を設けて ABB 外に誘導し、ABB に装備された2基の FFU で清浄空気の一方向気流を発生させて清浄空間を構築した。ABB 内は、FFU の風下に安全キャビネット (クラス II タイプ A2 室内排気型)、その風下に大型遠心機等を配置し、作業・機器からの発塵による安全キャビネット内の汚染を最小限にする配置とした (図1, 2)。

キムリア®用採取産物の凍結保存前調製に際して、環境清浄度及び処理産物の無菌検査を実施した。本研究は、これらのデータを解析することにより、非滅菌着衣でクリーンブースを利用して再生医療等製品の原料細胞の調製を実施することの汚染リスクについて検討

することを目的とした。

対象及び方法

1) エアバリアブース® (ABB) の設置・運用手順と清浄度測定

ABB 設置時に、非作業時の環境評価として、ABB 内のワークエリア (図2④)、サポートエリア (図2⑦) および排気口付近においてパーティクルカウンター (エアリーテクノロジー社) により、径 $0.5\mu\text{m}$ 以上及び $5\mu\text{m}$ 以上の浮遊微粒子数を測定した。空中微生物については、ABB 内の6カ所 (図2①~④, ⑥, ⑦) にエアサンプラー (ミリポア・エア・テスター M Air) (浮遊菌検査) と TSA 培地 (落下菌検査) を置き、低温インキュベータで5日間培養した。空気の清浄度は、第十七改正日本薬局方に従い、 1m^3 当たりの粒子数、浮遊菌については 1m^3 当たりのコロニー (CFU) 数、落下菌については1寒天培地当たりのコロニー数により、グレード A から D の満たすべき値により評価した^{4)~6)14)15)}。

作業時評価として、キムリア®製造目的に採取した末梢血単核球の凍結保存作業開始から終了時まで、落下菌検査目的の寒天培地を、図2に示す8カ所に、蓋を開けた状態で最大4時間放置して回収した。寒天培地は7日間培養し、コロニーが認められた場合は菌の同定を試みた。

作業前には、ABB の FFU と安全キャビネットのス

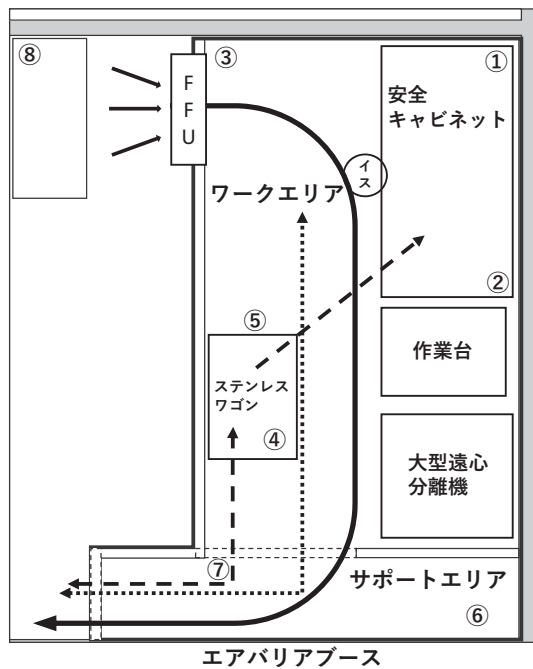


図2 エアバリアブース® (ABB) 内機器配置図と落下菌測定場所、空気の流れ及び人・資材の動線
番号は落下菌測定場所：①安全キャビネット左奥，②安全キャビネット右奥，③ワークエリア風上最上流，④ワークエリア風下（作業台高），⑤ワークエリア風下（床），⑥サポートエリア奥，⑦サポートエリア空気通路，⑧ ABB 外（一般環境）。陰性コントロールは蓋を開けない培地。
空気の流れ：——→ 資材の動線：- - - ->
人の動線：.....→

イッチを入れ、粘着テープ付クリーナーと消毒用アルコールで床清拭を行い、安全キャビネット内はアルコール清拭後にUV灯にて15分間殺菌を行った。清浄度回復試験等から、清掃で発生した塵埃の消失時間は10分以内と推測されたため、安全を期して、FFUを1時間以上運転後に作業を開始する運用とした。作業時は新しい滅菌手袋を使用した。サンダルと、ディスプレイの医療用ガウン(HALYARD SMS アイソレーションガウン、O&M Halyard Japan 合同会社)、マスク、キャップは同一症例では交換せずに非滅菌のものを使用した。終了後は、同様に安全キャビネット内とABB内の床の清拭を行い、スイッチを切った。

2) 対象

B細胞腫瘍患者に対して、2021年10月から2024年1月までに実施した65例のキムリア®製造向けの原料細胞調製を対象とした。

3) 成分採血及び採取細胞の調製方法

成分採血は、一般空気清浄度の病院内の成分採取室で、自動血液成分採取装置 Spectra Optia, CMNC mode (テルモ BCT, 米国)で実施し、自家末梢血単核球を採取した。採取ラインは、原則として大腿静脈に挿入さ

れた中心静脈カテーテルを用いた。滅菌された採取セットのバッグに採れた白血球産物を同じフロアにある ABB が設置された部屋に搬送し、原則として2名の熟練した作業員で凍結保存作業を行った。2名の作業員は、手洗い後に ABB に入る直前で非滅菌のキャップとガウンを着用し、ABB 内の非滅菌サンダルに履き替え入室。細胞調製をする1名が滅菌手袋を装着し、他1名は非滅菌手袋を装着後にアルコール噴霧し、容量確認や記録等の補助作業を行った。採取バッグは、周囲をアルコールで清拭して ABB 内に持込んだ。その他の必要滅菌資材は前日に製造番号、有効期限を記録用紙に記入し1セットとし準備しておき、非滅菌のビニール袋に入れて保管し、使用当日にビニール袋の周囲をアルコールで清拭し ABB 内に搬入した。安全キャビネット内に資材を搬入する際は、各資材の周囲をアルコールで清拭し、資材本体のみを細胞調製者に渡した。また、予備の資材を載せたステンレスワゴンをサポートエリアに持込み、必要時にすぐに使用できるようにした。

具体的な作業としては、採取産物が入ったバッグに無菌接合装置で分離バッグ® (テルモ株式会社) を接続して採取産物を移し替え、容量を秤量後に上清血漿除去用の分離バッグ® を接続した。その後、遠心分離を行い、そのバッグを安全キャビネット内に移してから上清血漿を除去し、既定の細胞濃度に調製した。一方、凍結保存液については、安全キャビネット内で、分離バッグ® の排出口に操作アダプター® (テルモ株式会社) を挿入し、ジメチルスルホキシド(DMSO)、ヒト血清アルブミン、生理食塩液を加えて作製した。採取産物の細胞浮遊液と凍結保存液の容量が1対1になるように凍結バッグ内に緩徐に混注し凍結直前の産物とした。この凍結バッグの採血ポートから、18G 針を付けたディスプレイの医療用シリンジで1mlの検体を採取し、清潔に無菌検査用ボトル (BD BACTEC Peds Plus/F culture vials, BD 社) に注入し、最終産物培養検体とした。

結 果

1) ABB 設置時における非作業時の清浄度 (図3)

外気排出口では $0.5\mu\text{m}$ 以上の浮遊微粒子数が $1,000,000$ 個/ m^3 以上認められたが、安全キャビネット内(図2①、②)及びワークエリア(図2④)では粒子は認めず、いずれもグレードA (ISO Class 5) とグレードB (ISO Class 7) の基準を満たした。また、前室部分のサポートエリア(図2⑦)では常時 $352,000$ 個/ m^3 未満でグレードC (ISO Class 8) 基準となることを確認した⁵⁾⁶⁾¹³⁾¹⁴⁾。

一方、空中浮遊菌検査ではエアサンプラーではコロニーは検出されなかったが、落下菌検査において、1回のみサポートエリアの奥(図2⑥)に静置した3個の TSA 培地の2個から、各1コロニーが検出された。

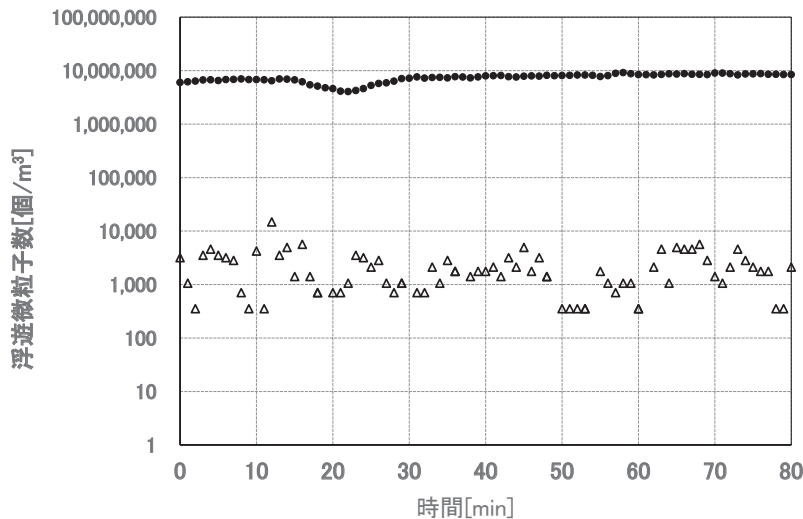


図3 エアバリアブース® (ABB) 各測定点における非作業時の浮遊微粒子数(粒子径 $0.5\mu\text{m}$ 以上)の推移
 外気排出口: ●●●● サポートエリア: △△△△
 ※ワークエリアは検出限界未満のため表示せず。

2) 細胞調製作業時の環境モニタリング

作業時の落下菌検査では,当初,調製毎に,安全キャビネット内(図2①,②)とワークエリアの風上最上流(図2③),サポートエリア奥(図2⑥)およびABB外(図2⑧)の5カ所を陰性コントロールとともに検査した.評価可能な22例実施時点で,安全キャビネット内とワークエリアの風上最上流ではコロニーは検出されなかったが,サポートエリア奥で12例(55%),ABB外で6例(27%)にコロニーが検出された.

サポートエリア奥で高頻度に検出される微生物の発生源を確認するため,次の10例ではサポートエリア奥の寒天培地だけ空気通路(図2⑦)に設置場所を変更した.その結果,安全キャビネット内とワークエリアの風上最上流ではコロニーは検出されなかったが,空気通路では10例中8例(80%),ABB外で3例(30%)にコロニーが検出された.

以上より微生物発生源は作業者と推察されたため,ワークエリアの風下の作業台の高さ(図2④)と床(図2⑤)にも寒天培地を設置し,以後,図2に示す8カ所で評価した.32例で落下菌検査を実施したところ,安全キャビネット内の2カ所から各1,2回で1コロニーずつ検出された.ワークエリアの風上最上流(図2③)では一度もコロニーは検出されなかったが,新たに設置したワークエリア風下の作業台高(図2④)では4例(13%),床置き(図2⑤)で8例(25%)にコロニーが検出された.サポートエリアでは,空気通路(図2⑦)で11例(34%),奥(図2⑥)で4例(13%),ABB外(図2⑧)で3例(9%)にコロニーが検出された.評価可能な計64例を総合した落下微生物の頻度は,ワー

クエリアとサポートエリアを問わず,作業者の風下で陽性率が高かった(図4).なお,ワークエリアの陽性例では各培地に1コロニーずつであったが,サポートエリアでは約3分の1で複数のコロニーが検出された.

凍結前産物の培養陽性例はなく,キムリア®製品製造所での培養陽性例もなかった.

3) 検出された微生物の種類

落下菌は多彩で,ヒト及び環境由来の細菌が大半であった(表1).

考 察

一般に,再生医療等製品の製造所における細胞調製はグレードAの無菌操作等区域で実施し,その周囲は清浄度管理区域とし,グレードAの安全キャビネットが設置されている場合は,その清浄度を維持するために,清浄度管理区域はグレードBとすることが求められる.一方,院内における原料細胞調製も製造向けの工程であるため,同様の環境で実施されることが多い.ただし,医療機関における細胞調製の大部分は閉鎖系作業で,汚染リスクは少なく限定的であり,当院では作業工程での無菌試験等を組込むことを条件に,クリーンブースでの細胞調製が認められた.

非作業時にはクリーンブース内は高い清浄度が確保できたが,作業時には人の風下においてワークエリア内に落下菌がしばしば認められた.ワークエリア内では,風上最上流の落下菌は一度も検出されなかったが作業者の風下では散見され,細菌が付着した微粒子が,作業者から気流に乗り風下に運ばれたと推察される¹⁶⁾.安全キャビネット内でも稀にコロニーが検出されたが,

ガウンの腕部分に付着した微生物が検出されたと考えられる。検出された微生物はヒト常在菌や環境菌など多彩であった¹⁷⁾。皮膚常在菌、汗や唾液に含まれる口腔内常在菌だけでなく、髪や衣服、皮膚などに付着した細菌が床面に落下し、舞上がり検出されたことが示唆される¹⁶⁾。無塵衣による二次更衣や滅菌着衣を徹底することにより、更に清浄な環境を構築できる可能性が示唆された。

今回の院内での原料細胞調製では、安全キャビネット内の空気との接触がほとんどない作業のため、穿刺

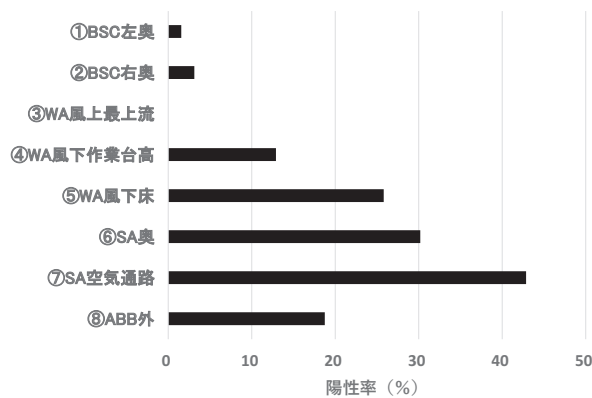


図4 落下微生物の頻度

BSC:安全キャビネット, WA:ワークエリア, SA:サポートエリア, ABB:エアバリアブース[®]。

口に直接触れない限り細菌汚染リスクは最小限に抑えられる。このため、作業者は、滅菌手袋以外は非滅菌着衣での作業とした。また、クリーンブース内で着用する医療用アイソレーションガウンは通気性の良い不織布を用いているが、無塵衣とは異なるので、微粒子の発生源となる可能性がある¹⁸⁾。一方、成分採血は一般清浄度の部屋で実施するため、採取セットと穿刺針の接続は一般環境で行われる。また、皮膚消毒を十分行っても患者由来の微生物が混入する可能性がある¹⁷⁾¹⁹⁾。このため、採取産物を厳格な無菌環境下で取り扱ったとしても完全とは言えない。

本研究はキムリア[®]製造向けの院内での原料細胞調製における汚染リスク評価として実施したが、環境モニタリングの精度を高めるにはエアサンプラーを用いた空中浮遊菌検査等の併用も有効であろう²⁰⁾²¹⁾。また、培養条件は適切と考えるが、更なる検討が必要かもしれない²²⁾。しかし、最終製品に支障を来たす汚染は無く、本環境での原料細胞調製が適切であったと結論できる。

費用については、ディスプレイの滅菌無塵衣で二次更衣まで行う場合と比較して、本細胞調製でのディスプレイ着衣は約1/15~1/10と安価である。実臨床では費用対効果の視点も重要であり、必要十分な清浄環境構築と適切な運用管理のバランスが重要と考える。

今回の検討では、クリーンブースを利用する際の汚

表1 落下菌検査で検出された微生物の種類と頻度

細菌の種類	位置番号	①	②	③	④	⑤	⑥	⑦	⑧
	場所 (培養温度)	BSC 左奥 (35℃)	BSC 右奥 (室温)	WA 風上 最上流 (室温)	WA 風下 作業台高 (室温)	WA 風下床 (室温)	SA 奥 (室温)	SA 空気通路 (室温)	ABB 外 (室温)
Bacillus infantis		1							
Bacillus sp.			1						
Brachibacterium conglomeratum						1		1	
Brachibacterium muris						1			
Brevibacterium celere								1	
Corynebacterium provencense								1	
Kokuria rhizophila/Micrococcus luteus							2	1	1
Micrococcus sp.									1
Moraxella osloenae							2	1	2
Moraxella sp.								1	
Rothia koreensis						1			1
Streptomyces chartreusis			1						
Staphylococcus capitis							2	3	
Staphylococcus cohnii							1		
Staphylococcus epidermidis					2		5	1	2
Staphylococcus hominis						1	1		
Staphylococcus haemolyticus								1	
Staphylococcus lugdunensis									1
Staphylococcus sapropticus						3	6	7	6
Staphylococcus warneri					2	1	2	3	

BSC:安全キャビネット, WA:ワークエリア, SA:サポートエリア, ABB:エアバリアブース[®]

※1 「⑧ ABB 外」に1件糸状菌が検出あり。

※2 「⑥ SA 奥」の1検体、「⑦ SA 空気通路」の2検体、「⑧ ABB 外」の1検体で同定不能。

染リスクについて、作業者の風下では落下菌が明らかに増加することが確認された。CAR-T療法を初めとする再生医療等製品は益々普及することが期待されるが、キムリア[®]製造向けの原料細胞調製では、リスク評価に基づいた作業の簡素化や開放系作業を最小限にする調製工程を工夫することも重要である。

著者のCOI開示：田野崎隆二；ダイダゲン株式会社から共同研究費用とエアバリアブースの無償提供を受けた。

共著者である伊藤 経夫、長谷川雅一、古川 悠はダイダゲン株式会社の社員である。

文 献

- 1) 厚生労働省：医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律(昭和三十五年法律第百四十五号)(令和五年法律第六十三号による改正)，2014。医薬品、医療機器等の品質、有効性及び安全性の確保等に関する法律 | e-Gov 法令検索。
<https://laws.e-gov.go.jp/law/335AC0000000145> (2024年9月現在)。
- 2) 厚生労働省：平成26年厚生労働省令第93号。再生医療等製品の製造管理及び品質管理の基準に関する省令，2014。再生医療等製品の製造管理及び品質管理の基準に関する省令 | e-Gov 法令検索。
<https://laws.e-gov.go.jp/law/426M60000100093> (2024年9月現在)。
- 3) PMDA：再生医療等製品の無菌製造法に関する指針。
<https://www.pmda.go.jp/files/000232812.pdf> (2024年9月現在)。
- 4) PMDA：再生医療等製品の無菌製造法に関する指針の質疑応答集 (Q&A)。
<https://www.pmda.go.jp/files/000232813.pdf> (2024年9月現在)。
- 5) 日本再生医療学会：再生医療等安全性確保法における細胞培養加工施設での無菌操作に関する考え方，第4版，2024。
第4版-再生医療等安全性確保法における細胞培養加工施設での無菌操作に関する考え方_20240325公開.pdf(jsrm.jp)(2024年9月現在)。
- 6) 日本再生医療学会：監修 日本再生医療学会，テキストブック 再生医療：創る，行う，支える，第1版，2019。
- 7) Liu Z, Lei W, Wang H, et al: Challenges and strategies associated with CAR-T cell therapy in blood malignancies. *Experimental Hematology & Oncology*, 13: 22, 2024.
- 8) PMDA：新再生医療等製品の承認品目一覧。
<https://www.pmda.go.jp/review-services/drug-reviews/review-information/ctp/0004.html> (2024年9月現在)。
- 9) 小林博人, 薬師神公和, 阿南昌弘, 他：日本輸血・細胞治療学会による「院内細胞治療製品取扱実態調査」における再生医療等製品2022年の現状。日本輸血細胞治療学会誌，70：12—19, 2024。
- 10) PMDA：最適使用推進ガイドライン：チサゲンレクルユーセル。
<https://www.pmda.go.jp/files/000268653.pdf> (2024年9月現在)。
- 11) 山原研一, 池本純子, 奥田典子, 他：当院におけるCAR-T療法導入を契機とした輸血・細胞治療向け品質管理体制の構築。日本輸血細胞治療学会誌，68：17—22, 2022。
- 12) 田野崎隆二, 室井一男, 長村登紀子, 他：院内における血液細胞処理のための指針。日本輸血細胞治療学会誌，57：184—187, 2011。
- 13) 日本輸血・細胞治療学会, 日本造血・免疫細胞療法学会, 日本骨髓バンク：造血幹細胞移植の細胞取扱いに関するテキスト，2012。
- 14) 細胞治療認定管理師制度審議会カリキュラム委員会：細胞治療認定管理師制度指定カリキュラム，第2版，中外医学社，2021。
- 15) 厚生労働省：第十七改正日本薬局方，2016。
- 16) Ravel JS, Koch E, Donnenberg AD: Real-time monitoring of non-viable airborne particles correlates with airborne colonies and represents an acceptable surrogate for daily assessment of cell-processing cleanroom performance. *Cytotherapy*, 14: 1144—1150, 2012.
- 17) Pasquarell C, Pitzurra O, Savino A: The index of microbial air contamination. *Journal of Hospital Infection*, 46: 241—256, 2000.
- 18) Wei J, Li Y: Airborne spread of infectious agents in the indoor environment. *American Journal of Infection Control*, 44: S102—S108, 2016.
- 19) Byrd AL, Belkaid Y, Segre JA: The human skin microbiome. *Nature Review Microbiology*, 16: 145—155, 2018.
- 20) Mizuno M, Abe K, Kakimoto T, et al: Operator-derived particles and falling bacteria in biosafety cabinets. *Regenerative Therapy*, 25: 264—272, 2024.
- 21) Satake M, Kozakai M, Matsumoto M, et al: Platelet safety strategies in Japan: impact of short shelf life on the incidence of septic reactions. *Transfusion*, 60: 731—738, 2000.
- 22) Cundell T, Atkins W, Lau AF: Sterility testing for hematopoietic stem cells. *Journal of Clinical Microbiology*, 61 (3): e0165422, 2023. doi: 10.1128/jcm.01654-22.

CONTAMINATION RISKS IN PROCESSING OF CELLULAR MATERIALS USING CLEAN BOOTHS WITH NON-STERILE CLOTHING

Yasuhiro Igarashi¹⁾, Hiroko Matsushashi¹⁾, Ayako Toriumi¹⁾, Yumiko Asao¹⁾, Yuko Iyanaga¹⁾, Rui Kuroda¹⁾, Tomoe Uemura¹⁾, Shigeru Fukamachi¹⁾, Rika Inose²⁾, Rie Yamazaki¹⁾, Tsuneo Ito³⁾, Masakazu Hasegawa³⁾, Yu Kogawa³⁾ and Ryuji Tanosaki¹⁾

¹⁾Center for Transfusion Medicine and Cell Therapy, Keio University Hospital

²⁾Department of Laboratory Medicine, Keio University Hospital

³⁾Dai-Dan Co., Ltd.

Abstract:

Background: We investigated risks associated with performing pre-freezing preparation of cells harvested for chimeric antigen receptor (CAR) T-cell therapy within a clean booth using non-sterile clothing.

Methods: An Air Barrier Booth[®] (ABB, Dai-Dan Co., Ltd.), was installed in a general hospital environment. Two operators conducted cell preparation inside a safety cabinet within the ABB, wearing sterile gloves but non-sterile sandals, gowns, masks, and caps, which were reused for the same lot. Sixty-five procedures for tisagenlecleucel (Kymriah[®]) were examined for airborne falling bacteria at eight locations around the ABB, and sterility tests were performed on pre-freeze products.

Results: Cleanliness during non-operation met Grade A standards inside the safety cabinet and Grade B in the work area. Positive rates of falling bacteria during the operation were 2% inside the safety cabinet, 0% upstream of the ABB, 13% in the work area downstream of operators at workbench height, 26% at floor level, and 43% in the support area. Various bacteria were detected. All pre-freeze products were culture-negative, with no manufacturing failure due to contamination.

Conclusions: Due to the frequent presence of airborne bacteria downstream of operators, special attention should be paid to processing cellular material in a clean booth with non-sterile clothing.

Keywords:

Regenerative medical products, Clean booth, Cell processing center, Kymriah[®], Air Barrier Booth[®]