

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

УТВЕРЖДАЮ
Первый заместитель Министра


Е.Л. Богдан
« 30 » _____ 2026 г.
Регистрационный № 103-1225

МЕТОД ЛЕЧЕНИЯ ПАЦИЕНТОВ С МНОЖЕСТВЕННОЙ
МИЕЛОМОЙ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ АНТИ-ВСМА CAR-T
КЛЕТОЧНОЙ ТЕРАПИИ

инструкция по применению

УЧРЕЖДЕНИЯ РАЗРАБОТЧИКИ: государственное учреждение «Минский научно-практический центр хирургии, трансплантологии и гематологии», государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр детской онкологии, гематологии и иммунологии», государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр радиационной медицины и экологии человека»

АВТОРЫ: канд. биол. наук А.Н. Мелешко, Д.В. Луцкович, Е.В. Дрожко-Метельская, М.А. Усс, канд. биол. наук Т.В. Шман, канд. мед. наук Ж.М. Козич, А.В. Мельникович, д-р. мед. наук, проф. А.В. Солнцева, д-р. мед. наук, проф. А.Л. Усс.

Минск, 2026

ОБОЗНАЧЕНИЯ И СОКРАЩЕНИЯ

- CAR – химерный антигенный рецептор;
- ССВО – синдром системного воспалительного ответа;
- РТПХ – реакция «трансплантат против хозяина»;
- ВИЧ – вирус иммунодефицита человека;
- АСТ – аспаратаминотрансфераза;
- АЛТ – аланинаминотрансфераза;
- МНК – моноклеарные клетки;
- ИЛ – интерлейкин;
- УФ – ультрафиолет;
- ЭДТА – этилендиаминтетрауксусная кислота;
- CD – кластер дифференцировки;
- DMSO – диметилсульфоксид;
- DPBS – фосфатно-солевой буфер в модификации Дульбекко;
- HEPES – 4-(2-гидроксиэтил)-1-пиперазинэтансульфоновая кислота;
- МОИ – множественность инфекции;
- RCL – репликативно-компетентные лентивирусные частицы

В настоящей инструкции по применению (далее – инструкция) изложен метод лечения пациентов с множественной миеломой с использованием анти-BCMA CAR-T клеточной терапии, который может быть использован в комплексе медицинских услуг, направленных на лечение пациентов с множественной миеломой и другими плазмоклеточными новообразованиями (C90.0-C90.2, E85). Инструкция предназначена для врачей-специалистов организаций здравоохранения, оказывающих высокотехнологичную медицинскую помощь пациентам с плазмоклеточными новообразованиями (республиканский уровень оказания медицинской помощи).

ПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

Множественная миелома и другие плазмоклеточные заболевания (C90.0-C90.2, E85), рефрактерные к двум и более линиям терапии включая иммуномодуляторы и ингибиторы протеасом.

ПРОТИВОПОКАЗАНИЯ К ПРИМЕНЕНИЮ

1. Нозологические формы, заболевания и состояния, при которых показан прием иммуносупрессивной терапии.
2. Реакция трансплантат против хозяина II-IV степени, после перенесенной ранее трансплантации гемопоэтических стволовых клеток крови, давностью менее года.
3. Второе злокачественное новообразование, в случае наличия показаний к системной терапии в течение последних 3 лет или недостижение полной ремиссии заболевания.
4. Сифилис.
5. ВИЧ-инфекция, гепатиты В и С, при определяемой вирусной нагрузке методом ПЦР.
6. Бактериальная, вирусная, грибковая инфекция на момент планируемого аппаратного лейкофереза или введения CAR-T клеток.

7. Заболевания нервной системы, сопровождающиеся тяжелым неврологическим дефицитом.
8. Тяжелое сопутствующее заболевание с угрожающими жизни, остро развивающимися осложнениями основного заболевания.
9. Клинически значимые заболевания сердечно-сосудистой системы.
10. Нарушение функции печени (≥ 3 СТСАЕ 5.0).
11. Дыхательная недостаточность (сатурация на атмосферном воздухе менее 90%);
12. Тяжелое общее состояние пациента (индекс Карновского менее 50%/ECOG 3 и более балла).
13. Беременность.
14. Психические заболевания или социальные особенности, которые не могут обеспечить соблюдение пациентом всех условий протокола лечения и/или могут угрожать его здоровью.
15. Социально-экономические или географические обстоятельства, которые не могут гарантировать должное соблюдение требований протокола лечению и дальнейшее наблюдение.
16. Возраст младше 18 лет.
17. Известная гиперчувствительность к любому компоненту CAR-T клеточного продукта, циклофосфамиду, флударабину или тоцилизумабу.
18. Содержание CD3+ клеток в периферической крови менее 200 клеток в микролитре.
19. Содержание «наивных» CD4+ и CD8+ клеток в периферической крови менее 10%.
20. CAR-HEMATOTOX score > 2.

**ПЕРЕЧЕНЬ НЕОБХОДИМЫХ МЕДИЦИНСКИХ ИЗДЕЛИЙ,
ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ, РАСХОДНЫХ МАТЕРИАЛОВ,
БИОМЕДИЦИНСКИХ КЛЕТОЧНЫХ ПРОДУКТОВ И ДР.**

Медицинские изделия:

1. Шкаф ламинарный 2А класса безопасности.
2. Инкубатор углекислотный.
3. Микроскоп бинокулярный.
4. Микроскоп тринокулярный инвертированный.
5. Центрифуга лабораторная.
6. Цитометр проточный.
7. Холодильник лабораторный.
8. Морозильник с температурным режимом до -21 °С.
9. Мини-центрифуга-вортекс.
10. Дозатор серологический.
11. Набор микропипеток автоматических.
12. Камера Горяева.
13. Автоклав.
14. Автоматическая система микробиологического контроля.
15. Базальная среда питательная с L-глутамином и NERES в состав.
16. Эмбриональная телячья сыворотка, инактивированная.
17. Фосфатный-солевой буфер Дульбекко, стерильный.
18. Рекомбинантный человеческий интерлейкин-7 (ИЛ7).
19. Рекомбинантный человеческий интерлейкин-15 (ИЛ15).
20. Частицы для активации/экспансии Т-клеток.
21. Набор для позитивной иммуномагнитной селекции CD4+ популяции Т-клеток;
22. Набор для позитивной иммуномагнитной селекции CD8+ популяции Т-клеток.
23. Магнит для иммуномагнитной селекции клеток.

24. Рекомбинантные псевдотипированные лентивирусные частицы, кодирующие экспрессионную кассету с CAR к белку ВСМА человек.
25. Ретронектин.
26. Раствор трипанового синего 0,5%.
27. Раствор уксусной кислоты 3% с добавлением метиленового синего.
28. Раствор ЭДТА 0,5М стерильный.
29. Раствор ДНКазы 1 мг/мл стерильный.
30. Флуоресцентно-меченные моноклональные антитела для проточной цитометрии к поверхностным клеточным антигенам человека CD3, CD4, CD8, CD34 клон Qbend10, флуоресцентно-меченный белок ВСМА.
31. Пробирки стерильные центрифужные объемом 15 и 50 мл.
32. Наконечники для дозаторов (объемом от 0,1 до 1000 мкл).
33. Наконечники для автоматических серологических пипеток объемом от 1 до 25 мл.
34. Планшеты культуральные 6-луночные без дополнительной обработки.
35. Флаконы культуральные с вентилируемой крышкой с площадью ростовой поверхности 25, 75 и 175 см² без дополнительной обработки.
36. Флаконы для автоматических микробиологических анализаторов гемокультур.
37. Пробирки полистироловые объемом 5 мл.
38. Система трансфузионная без латекса и лейкоцитарного фильтра.
39. Катетер венозный периферический (14-18G).
40. Набор для катетеризации центральных вен (по Сельдингеру) 2-канальный катетер - 12F, 20 см.
41. Аппарат для сепарации компонентов крови.
42. Набор для сбора мононуклеаров к аппарату для сепарации компонентов крови (одноразовый сет).
43. Монитор пациента.

Лекарственные препараты:

1. Раствор натрия хлорида 0.9% для инфузий.
2. Раствор глюкозы 5% для инфузий.
3. Тоцилизумаб раствор для инфузий 20 мг/мл.
4. Дексаметазон раствор для инфузий 4 мг/ мл.
5. Леветирацитам таблетки 250 мг.
6. Ондансетрон раствор для инфузий 2 мг/мл.
7. Апрепитант капсулы 80 мг и 125 мг.
8. Флюодарабин раствор для инфузий 25 мг/мл.
9. Циклофосфамид порошок для приготовления раствора для внутривенного введения 200 мг.
10. Уромитексан раствор для инфузий 100 мг/мл.
11. Аллопуринол таблетки 100 мг.
12. Фуросемид раствор для инфузий 10 мг/мл.
13. Метилпреднизолон леофилизат для приготовления раствора для внутривенного введения 125 мг и 250 мг.
14. Ацетазоламид таблетки 250 мг.
15. Маннитол раствор для инфузий 100 мг/мл.
16. Преднизолон раствор для инфузий 30 мг/мл.
17. Левофлоксацин таблетки 500 мг.
18. Флуконазол раствор для инфузий 2 мг/мл.
19. Ацикловир таблетки 200 мг.
20. Валганцикловир таблетки 450 мг.
21. Ко-тримоксазол капсулы 480 мг.
22. Иммуноглобулин человека нормальный (форма выпуска в зависимости от бренда производителя).
23. Раствор цитрат декстроза, состав А (ACD-A)
24. Кальция глюконат раствор для инъекций 100 мг/мл.

ТЕХНОЛОГИЯ ИСПОЛЬЗОВАНИЯ МЕТОДА

Метод лечения пациентов с множественной миеломой с использованием анти-BCMA CAR-T клеточной терапии включает следующие последовательные этапы (рисунок 1):

1. Процедура аппаратного лейкофереза.
2. Получение анти BCMA CAR-T клеточного продукта.
3. Оценка качества и безопасности CAR-T клеточного продукта
4. Проведение лимфодеплецирующей терапии (кондиционирование).
5. Введение анти-BCMA CAR T-клеточного продукта.
6. Медицинская профилактика и лечение осложнений.
7. Наблюдение и мониторинг эффективности процедуры после введения анти-BCMA CAR-T клеточного продукта.

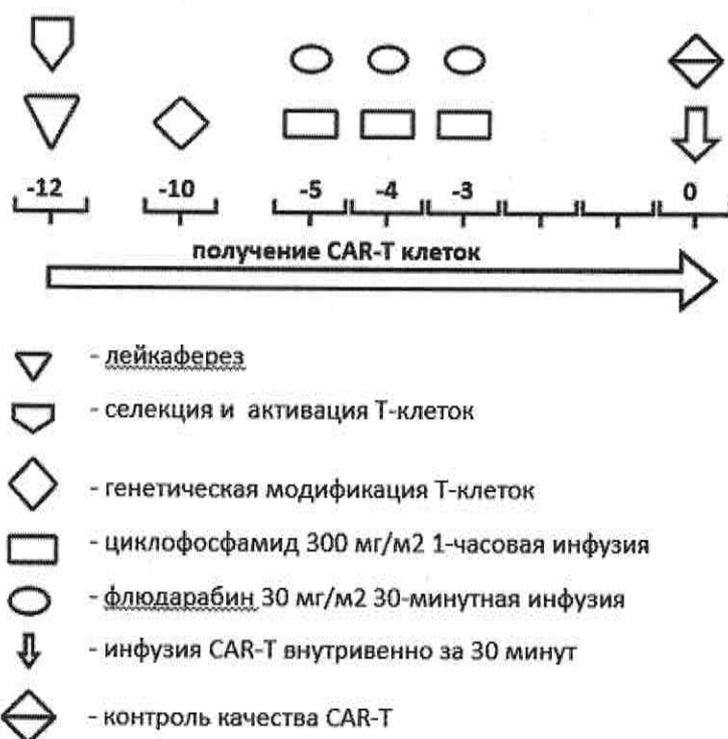


Рисунок 1 – Схема этапов метода лечения пациентов с рефрактерной и рецидивирующей множественной миеломой с использованием анти-BCMA CAR-T клеточной терапии

ЭТАП 1. Процедура аппаратного лейкофереза.

1.1. Подготовка и оценка клинического статуса пациента перед процедурой аппаратного лейкофереза:

1.1.1. Выполнить лабораторные исследования:

1.1.1.1. Общий анализ крови (ОАК) с лейкоцитарной формулой.

1.1.1.2. Содержание CD3+ клеток в периферической крови.

1.1.1.3. Биохимический анализ крови (БАК) (с определением креатинина, мочевины, общего и прямого билирубина, общего белка, альбумина, аланинаминотрансферазы (АЛТ), аспаратаминотрансферазы (АСТ), лактатдегидрогеназы (ЛДГ), K⁺, Na⁺, Cl⁺, Mg²⁺, Ca²⁺, C - реактивного белка).

1.1.1.4. Коагулограмма с уровнем д-димеров.

1.1.1.5. Группа крови и резус-фактор.

1.1.1.6. Другие клинико-лабораторные исследования при наличии индивидуальных показаний.

1.1.2. Оценить общее состояние пациента и результаты обследования:

1.1.2.1. Параметры физического статуса: по шкале ECOG 0-2, индексу Карновского > 70%.

1.1.2.2. Критерии успешной процедуры: гемоглобин > 80 г/л, гематокрит > 0.24, абсолютное число нейтрофилов > 1×10^9 /л, абсолютное число CD3+ клеток > 200 в мкл., число тромбоцитов > 50×10^9 /л.

1.1.2.3. Абсолютные противопоказания: наличие у пациента активной инфекции, некорректируемые нарушения свертывания (ДВС, коагулопатия), кровотечение, нестабильность гемодинамики.

1.1.3. Провести коррекцию сопроводительной терапии.

1.1.3.1. Предварительная отмена препаратов: дексаметазон, преднизолон отменяется за 3 дня до планируемой процедуры аппаратного лейкофереза; иммуномодуляторы (леналидомид и др.), ингибиторы протеосом (бортезомиб и др.), моноклональные анти-CD38 антитела (даратумумаб и др.) отменяются за 2 и более недели.

1.1.3.2. Заместительная гемокомпонентная терапия: при наличии показаний к гемотрансфузии обязательно облучаются все компоненты крови.

1.2. Перед процедурой пациент подробно информируется о целях, ходе, возможных осложнениях процедуры лейкофереза и обеспечении сосудистого доступа. Письменное информированное согласие оформляется в медицинской карте стационарного пациента.

1.3. Выбор и обеспечение сосудистого доступа:

1.3.1. Решение о выборе точки сосудистого доступа (центральный или периферический) принимается индивидуально в каждом отдельном случае исходя из соотношения риска и пользы для конкретного пациента.

1.3.2. Периферический сосудистый доступ: для проведения аппаратного афереза клеток необходимо установить два периферических венозных катетера крупного диаметра 14-18G.

1.3.3. Центральный сосудистый доступ: в случаях невозможности канюлировать периферические вены (плохая выраженность периферических вен, явления тромбофлебита) следует установить центральный венозный доступ (внутренняя яремная, бедренная, подключичная вена). При постановке центрального венозного катетера (ЦВК) рекомендована УЗИ-визуализация магистральных сосудов.

1.3.4. Установка сосудистого доступа должна выполняться с соблюдением строгих асептических условий.

1.4. Процедура аппаратного лейкофереза:

1.4.1. Процедура аппаратного афереза проводится на аппарате для сепарации компонентов крови.

1.4.2. Требования к процедуре аппаратного афереза:

1.4.2.1. В качестве антикоагулянта используется раствор цитрата декстрозы, состав А (ACD-A).

1.4.2.2. В ходе процедуры лейкофереза обрабатывается 2-3 объема циркулирующей крови (ОЦК) пациента. Сбор концентрата мононуклеаров происходит в стерильный пакет, дополнительно собирается плазма в

количестве 100 мл. Конечный объем продукта лейкофереза индивидуален для каждого пациента и зависит от исходных параметров.

1.5. В ходе процедуры проводится постоянный мониторинг:

1.5.1. Постоянный контроль артериального давления (АД), кардиомониторинг (ЭКГ, ЧСС), пульсоксиметрия (SpO₂), измерение частоты дыханий (ЧД); контроль за признаками гипокальциемии (парестезии, спазмы, тремор), контроль места установки сосудистого доступа.

1.5.2. Профилактика цитратной интоксикации: обеспечение непрерывной внутривенной инфузии 10% раствора кальция глюконата в возвратную линию с момента начала процедуры лейкофереза из расчета 0.5 мг Ca²⁺ на 1 мл ACD-A (1 ммоль Ca²⁺ на 10 ммоль цитрата, что соответствует 1 мл 10% раствора кальция глюконата на 20 мл ACD-A).

1.5.3. Мониторинг после процедуры аппаратного афереза: выполняется контроль ОАК, электролитов, наблюдение за местом установки сосудистого доступа, при постановке ЦВК – рентгенография органов грудной клетки с целью подтверждения правильного положения катетера и исключения осложнений.

1.6. Маркировка и логистика:

1.6.1. Пакет с концентратом моноклеаров маркируется (указывается ФИО пациента, дата рождения, вес, номер медицинской карты стационарного пациента, диагноз, объем продукта афереза, дата заготовки) и в кратчайшие сроки транспортируется в лабораторию-производитель CAR-T.

1.6.2. Временное хранение биоматериала должно осуществляться не более 12 часов при температуре от +4 до +8°C.

ЭТАП 2. Получение анти-BCMA CAR T клеточного продукта.

2.1 Приготовление полной ростовой среды для T-клеток.

2.1.1 Промаркировать флаконы с питательной средой RPMI-1640, с NEPERES и L-глутамином в составе (идентификационные данные пациента и дата приготовления).

2.1.2 Во флакон со средой стерильным наконечником внести 50 мл эмбриональной телячьей сыворотки, перемешать пипетированием и поместить в холодильник на +4°C для дальнейшего использования. Перед использованием флакон со средой нагреть до 37°C в термостате.

2.1.3 Рекомбинантные цитокины ИЛ-7 и ИЛ-15 добавить непосредственно к клеткам до конечной концентрации 10 нг/мл. Для получения 1 единицы CAR T-клеток ($1 \cdot 10^6$ клеток/кг массы реципиента) необходимо приготовить 1100 мл. питательной среды (2 флакона по 550 мл).

2.2 Получение первичной культуры T-клеток.

2.2.1 Для получения одной единицы CAR T-клеток взять продукт лейкофереза, содержащий не менее $3 \cdot 10^6$ CD3+ клеток/кг массы реципиента.

2.2.2 Суспензию клеток извлечь из пакета шприцом в центрифужные пробирки.

2.2.3 Разбавить суспензию клеток DPBS в два раза.

2.2.4 Провести выделение фракции мононуклеарных клеток путем центрифугирования на градиенте плотности.

2.2.5 Полученную фракцию МНК отмыть один раз полной ростовой средой. Выделенные МНК можно заморозить в пакетах порциями по 500 млн. или 1 млрд. клеток.

2.2.6 Провести иммуномагнитную селекцию целевых популяций CD4+ и CD8+ T-клеток отдельно согласно протоколу производителя наборов для селекции.

2.2.7 Клетки осадить, ресуспендировать в 2 мл полной ростовой среды, оценить количество CD3+CD4+ и CD3+CD8+ клеток путем подсчета в камере Горяева.

2.2.8 Провести активацию полученных популяций Т-клеток путем отдельного культивирования с использованием магнитных частиц для активации и экспансии Т-клеток согласно протоколу производителя, в полной ростовой среде с цитокинами ИЛ-7 и ИЛ-15 (10 нг/мкл).

2.2.9 Культуру клеток поместить в CO₂-инкубатор на 48 часов.

2.3. Лентивирусная трансдукция Т-лимфоцитов.

2.3.1 За 24 часа до трансдукции, ретронектин, разведенный в DPBS до концентрации 40 мкг/мл, нанести на поверхность культуральной посуды (6 луночной плашки), из расчета 4 мкг/см² поверхности.

2.3.2 Посуду, покрытую ретронектином, оставить при +4°C на ночь.

2.3.3 Утром жидкость из лунок убрать, и в течение 30 минут инкубировать с отмывочным буфером.

2.3.4 Внести суспензию вируса в лунки из расчета MOI = 10 (10 трансдуцирующих частиц на 1 Т-клетку) и центрифугировать 2000g/32°C/120 мин для осаждения вирусных частиц на стенках лунок. Т-клетки трансдуцируют рекомбинантными лентивирусными частицами, кодирующими экспрессионную кассету с химерным антигенным рецептором.

2.3.5 Активированные Т-клетки осадить центрифугированием, ресуспендировать в 2-3 мл полной ростовой среды в присутствии цитокинов ИЛ-7 и ИЛ-15.

2.3.6 Оценить количество и жизнеспособность клеток.

2.3.7 Развести клетки до концентрации 1-1,5 млн клеток/мл и внести в лунки плашек, покрытые ретронектином с вирусными частицами.

2.3.8 Центрифугировать при 600g/32°C/90 мин и поместить в CO₂-инкубатор на 18-20 часов.

2.3.9 Через 18-20 часов клетки отмыть от трансдуцирующей смеси и ресуспендировать в полной ростовой среде до конечной концентрации $0,3 \cdot 10^6$ клеток/мл с добавлением цитокинов ИЛ-7 и ИЛ-15 в концентрации 10 нг/мл.

2.3.10 Культуру поместить в CO₂-инкубатор на 72 часа.

3.4 Экспансия CAR-T клеток.

3.4.1 Спустя 72 часа после трансдукции клетки отделить от активационных частиц с использованием магнита для сепарации.

2.4.2 Отобрать аликвоту, около 100 мкл клеточной суспензии, окрасить антителами к селективной метке и/или меченым белком ВСМА и провести измерение уровня трансдукции методом проточной цитометрии.

2.4.3 Каждые три дня отбирать автоквоту 20-30 мкл. для подсчета количества и жизнеспособности клеток в камере Горяева.

2.4.4 Плотность культуры поддерживать на уровне 0,3-0,5 млн клеток/мл путем разведения средой или пересадкой в флаконы большего размера.

2.4.5 Экспансию осуществлять в культуральных флаконах (флашках), флаконах с газопроницаемым дном или биореакторах в полной ростовой среде с добавлением цитокинов ИЛ-7 и ИЛ-15 в концентрации 10 нг/мл.

3.5 Сбор CAR-T клеток.

2.5.1 По достижению необходимой дозы, на 10-12 день от активации лимфоцитов, клетки отмыть от ростовой среды и ресуспендировать в 20 мл физиологического раствора.

2.5.2 Провести оценку количества и жизнеспособности клеток.

2.5.3 В стерильных условиях суспензию клеток довести до объема 30-50 мл физиологическим раствором и внести в 50 мл медицинский шприц с толстой иглой (G8).

2.5.4 Сменить иглу на новую и упаковать шприц в пакет для транспортировки и введения.

ЭТАП 3. Оценка качества и безопасности CAR-T клеточного продукта.

3.1. Оценка микробиологической чистоты конечного клеточного продукта проводится с использованием автоматизированной системы ВАСТ/ALERT. Материалом для анализа является клеточная суспензия, полученная на 10 день экспансии CAR T-клеток. Продолжительность полного

анализа составляет 7-10 суток. Клеточный продукт должен обладать полной стерильностью.

3.2. Оценка наличия контаминации микоплазмой конечного клеточного продукта проводится методом качественной мультиплексной ПЦР с олигонуклеотидными праймерами, специфичными к регионам геномной ДНК рода бактерий класса *Mycoplasma*. Допускается только отрицательный результат ПЦР.

3.3. Оценка наличия репликативных вирусных частиц (RCL) в конечном клеточном продукте осуществляется методом полуколичественной ПЦР в режиме реального времени. Амплификация на уровне выше 10 копий VSV-g на реакцию относительно положительного контроля может свидетельствовать о наличии в культуре репликативно-компетентных лентивирусных частиц (RCL), возникших в результате рекомбинации.

3.4. CAR-T клеточный продукт должен отвечать следующим требованиям:

- 3.4.1 Стерильность (посев и ПЦР на этапе экспансии);
- 3.4.2 Жизнеспособность клеток более 80%;
- 3.4.3 Содержание CD3+ клеток более 90%;
- 3.4.4 Доля CAR+ клеток от CD4-лимфоцитов более 20%;
- 3.4.5 Доля CAR+ клеток от CD8-лимфоцитов более 5%;
- 3.4.6 Содержание CD4:CD8 CAR-T клеток в интервале 1:1 – 3:1;
- 3.4.7 Содержание T_{SCM} + T_{CM} клеток (CCR7+) выше 20%;
- 3.4.8 Содержание T_{EFF} клеток ниже 30%.

3.5 Определение дифференцировки CAR-T клеток.

3.5.1 Отобрать аликвоту клеточного продукта в последний день экспансии, содержащую около 200 тыс. клеток (200 мкл) в 1,5 мл пробирку.

3.5.2 Провести подсчет количества и жизнеспособности клеток в камере Горяева.

3.5.3 Выполнить иммунофенотипирование клеток методом проточной цитометрии.

3.5.3.1 Первая проба (около 100 мкл) – окрашивание антителами к маркерам CD45-Krome Orange, CD3-BV421, CD8-PE или CD4-FITC в зависимости от селектируемой популяции CD4 и CD8, BCMA-APC или CD34 (клон QBEnd-10)-APC. В этой пробе оценивают трансдукцию (количество CAR позитивных клеток) среди CD4+ и CD8+ Т-лимфоцитов.

3.5.3.2 Вторая проба окрашивание антителами к маркерам CD45-Krome Orange, CD3-BV421, CCR7-APC, CD45RO-APC750 для каждой из селектируемых популяций Т-клеток. В этой пробе оценивают стадии зрелости лимфоцитов: T_{naive} (CD45RO-/CCR7+), T_{SCM} (CD45RO-/CCR7+), T_{CM} (CD45RO+/CCR7+), T_{EM} (CD45RO+/CCR7-), T_{EFF} (CD45RO-/CCR7-), отдельно для CD4+ и CD8+ лимфоцитов.

3.6 Оценка функциональной активности CAR Т-клеток (проводится на материале предварительно замороженной тестовой партии).

3.6.1 Оценку активности CD8 Т-клеток проводят в прямом цитотоксическом тесте против трансгенных клеток K562.BCMA и контроля клеток K652. Лизис клеток мишеней оценивается методом проточной цитометрии спустя 4-5 и 16 часов совместного культивирования с клетками-эффекторами.

3.6.2 Оценка активности CD4 Т-клеток осуществляется путем определения экспрессии маркеров активации Т-лимфоцитов (CD69, CD25, HLA-DR), на поверхности клеток-эффекторов при их совместном культивировании с клетками линии K562.BCMA и контролем K562 на протяжении 24 часов.

ЭТАП 4. Процедура лимфодеплецирующей терапии (кондиционирование).

Режим лимфодеплеции проводят перед введением анти-BCMA CAR-Т клеточного продукта (день 0):

4.1. Флюдарабин в курсовой дозе 90 мг/м² (30 мг/м² в дни -5, -4, -3), каждое введение в/в капельно в течение 30 минут.

4.2. Циклофосфамид в курсовой дозе 900 мг/м² (300 мг/м² в дни -5, -4, -3), каждое введение в/в капельно в течение 1 часа.

ЭТАП 5. Введение анти-BCMA CAR-T клеточного продукта.

5.1. Провести оценку состояния пациента в день введения клеточного продукта. Мониторинг показателей жизненно важных функций (контроль аксиллярной температуры тела, артериального давления, частоты сердечных сокращений, частоты дыхания, диуреза) осуществляется каждые 6 часов.

5.2. Критерии для введения CAR-T лимфоцитов:

5.2.1. COMPLAINTность пациента и подписанное информированное согласие на введение клеточного продукта.

5.2.2. Отсутствие неконтролируемой системной инфекции, включая бактериальные, грибковые и вирусные инфекции, и синдрома системного воспалительного ответа, либо документированное улучшение по инфекционному статусу, достигнутое за 72 часа до запланированного введения CAR-T клеточного продукта.

5.2.3. Отрицательный результат исследования на COVID19.

5.2.4. Отсутствие отрицательной динамики в оценке общего состояния пациента по шкале ECOG в сравнении с исходными данными.

5.2.5. Отсутствие значительного ухудшения функции органов и систем в сравнении с исходными данными.

5.2.6. Отсутствие кислородозависимости.

5.2.7. Фракция выброса левого желудочка в пределах 50-70%; фракция укорочения левого желудочка в пределах 20-35%, отсутствие аритмии.

5.2.8. Отсутствие гипотонии с поддержкой вазопрессорами.

5.2.9. Уровень гемоглобина в общем анализе крови ≥ 90 г/л; уровень тромбоцитов $\geq 60,0 \times 10^9$ /л.

5.2.10. Сохранение диуреза, уровень креатинина не превышает 2-х возрастных норм.

5.3. Убедится в осведомленности пациента и/или его законного представителя о необходимости информирования медицинского персонала в случае появления таких симптомов как одышка, сыпь, озноб, боль в груди и/или спине.

5.4. Убедится в наличии укладки для оказания неотложной помощи.

5.5. Убедится в наличии минимум 2-х доз Тоцилизумаба в отделении, где планируется проведение инфузии клеточного продукта и дальнейшее наблюдение.

5.6. Клеточный продукт вводится в виде внутривенной инфузии в течение 30 минут со скоростью 60-90 капель в минуту. Введение осуществляется через систему для внутривенных инфузий, в составе которой должен отсутствовать лейкоцитарный фильтр. В составе материала для системы внутривенных введений должен отсутствовать латекс. После введения клеточного продукта инфузионная система промывается 30-60 мл 0.9% раствора NaCl.

5.7. С целью динамического мониторинга возможного развития острых инфузионных реакций, связанных с входящими в состав клеточного продукта криоконсервантами, введение клеточного продукта должно осуществляться в стационаре с возможностью немедленного перевода пациента в отделение интенсивной терапии. Для мониторинга возможных явлений токсичности, связанных с клеточным продуктом, госпитализация пациентов должна длиться не менее 28 дней после введения CAR-T клеток.

ЭТАП 6. Медицинская профилактика и лечение осложнений.

6.1. Синдром лизиса опухоли. Профилактика синдрома лизиса опухоли начинается за 48 часов до начала лимфодеплетирующей химиотерапии, включает внутривенную гидратацию, ведение баланса выпитой и выделенной жидкости; прием аллопуринола, мониторинг уровня электролитов, мочевой кислоты и мониторинг диуреза.

6.1.1. Аллопуринол в дозе 10 мг/кг/сутки в 2-3 приема (максимальная доза 500 мг/сутки) в дни от -2 до +14 дня от начала лимфодеплетирующей химиотерапии.

6.1.2. Инфузионная терапия в объеме 2000-3000 мл/м²/сутки: 5% раствор глюкозы, чередуя с 0,9% раствором NaCl в соотношении 1:1. Инициальная инфузия без калия. Однако в дальнейшем коррекция электролитов производится в соответствии с данными биохимического анализа.

6.1.3. Ведение баланса выпитой и выделенной жидкости.

6.1.4. При недостаточном диурезе введение фуросемида из расчета 1-10 мг/кг/сутки внутривенно струйно или постоянной инфузией.

6.1.5. Лабораторный контроль каждые 12-24 часа: биохимический анализ крови: Na⁺, K⁺, Cl⁻, Ca⁺⁺, фосфор, мочева кислота, креатинин, мочевины, общий белок, альбумин.

6.1.6. Контрольное взвешивание 4 раза в сутки.

6.2. Профилактика геморрагического цистита. С целью профилактики геморрагического цистита, вызванного метаболитами циклофосфамида, используется Месна (уромитексан) в разовой дозе, составляющей 30-50% от суточной дозы циклофосфамида. Вводится Месна внутривенно болюсно перед циклофосфамидом, далее на 3, 6, 9 и 24 часа от начала инфузии циклофосфамида. Суммарная доза Месны 120-200% от дозы циклофосфамида.

6.3. Антиэметическая терапия. Ондансетрон 8 мг в/в медленно 2-3 раза в сутки с дня -5 по день +3 от введения клеточного продукта. Апропитант назначается в дозе 120 мг внутрь в день -5 и в дозе 80 мг в дни -4 и -3 от введения клеточного продукта.

6.4. Нейротоксичность, связанная с иммунными эффекторными клетками.

6.4.1. С целью ранней диагностики признаков нейротоксичности проводится оценка неврологического статуса по шкале иммуноэффекторной клеточно-ассоциированной энцефалопатии (ICE) и стадирование синдрома

нейротоксичности, ассоциированного с иммунными эффекторными клетками (ICANS) (при его наличии) не реже 4 раз в сутки.

6.4.2. Леветирацетам назначается в дозе 250-500 мг два раза в сутки внутрь с дня 0 до дня +30, далее по 500 мг в сутки в лечении 3 дней.

Таблица 1. Шкала тяжести ICANS

Неврологическая токсичность	Grade 1	Grade 2	Grade 3	Grade 4
ICE score	7-9	3-6	0-2	0 (невозможно выполнить оценку)
Уровень сознания	Пациент просыпается самостоятельно	Реакция на голос	Реакция на прикосновение	Не доступен контакту, требуются множественные и сильные прикосновения для пробуждения
Судороги	-	-	Разрешаются быстро/ Неконвульсивные судороги по ЭЭГ с быстрым разрешением симптомов	Жизнеугрожающие (>5 мин) или повторяющиеся судороги
Двигательные функции	-	-	-	Глубокие нарушения моторных функций (геми/парипарез)
Внутричерепное давление/отек ГМ	-	-	Локальный отек по КТ/МРТ	- Диффузный отек ГМ по КТ/МРТ - Паралич отводящего (VI) нерва - Папилоэдема - Триада Кушинга

Тяжесть ICANS определяется по наиболее выраженному симптому из представленных

Таблица 2. Шкала иммуноэффекторной клеточно-ассоциированной энцефалопатии

Ориентация	Ориентация во времени: год, месяц, город; в пространстве: больница - 4 балла
Наименование объектов	Возможность назвать и указать на 3 объекта (часы, ручку, кнопку) – 3 балла
Следование простым командам	Способность выполнять простые команды (например, “покажи мне 2 пальца” или “закрой глаза и высунь язык”) – 1 балл
Письмо	Возможность написать стандартное предложение (например, “наша национальная птица - аист”) – 1 балл
Внимание	Возможность сосчитать в обратном порядке от 100 до 10 – 1 балл (возможен счет через 10)

Score 10: Нет вовлечения ЦНС.

Score 7-9: Grade 1 ICANS

Score 3-6: Grade 2 ICANS

Score 0-2: Grade 3 ICANS

Score 0 невозможно провести оценку по шкале ICE: Grade 4 ICANS

6.4.3. Лечение проводится в зависимости от степени тяжести нейротоксичности и заключается в динамическом мониторинге витальных функций, противоотечной и противосудорожной терапии.

6.4.3.1. Степень 1.

6.4.3.1.1. Динамическое наблюдение за пациентом, профилактика аспирации, внутривенная гидратация, мониторинг витальных функций и водного баланса.

6.4.3.1.2. Оценка глотания, при нарушении глотания отказ от перорального приема пищи, жидкости, лекарственных препаратов.

6.4.3.1.3. При нарушении глотания замена всех пероральных лекарственных средств и/или питания на внутривенное введение.

6.4.3.1.4. Избегать лекарственных средств, вызывающих угнетение функции ЦНС.

6.4.3.1.5. Леветирацетам в дозе 500 мг каждые 12ч, если не был назначен ранее.

6.4.3.1.6. Назначить тоцилизумаб в случае сочетания нейротоксичности с синдромом высвобождения цитокинов;

6.4.3.1.7. Осмотр невролога.

6.4.3.1.8. Фундоскопическое исследование для оценки отека диска зрительного нерва.

6.4.3.1.9. МРТ головного мозга с контрастным усилением; при наличии периферической нейропатии выполнение МРТ позвоночника. При недоступности МРТ возможно выполнение КТ головного мозга.

6.4.3.1.10. Диагностическая люмбальная пункция с оценкой давления спинномозговой жидкости, цитологическим, биохимическим, бактериологическим и вирусологическим исследованиями.

6.4.3.2. Степень 2.

6.4.3.2.1. Динамическое наблюдение и сопроводительная терапия, как при 1 степени тяжести.

6.4.3.2.2. Назначить тоцилизумаб в случае сочетания нейротоксичности с синдромом высвобождения цитокинов.

6.4.3.2.3. Рассмотреть введение дексаметазона в высоких дозах с быстрой отменой.

6.4.3.2.4. Рассмотреть перевод пациента в ОАР.

6.4.3.2.5. При наличии судорожного синдрома - лечение согласно локальному протоколу терапии судорожного синдрома.

6.4.3.3. Степень 3.

6.4.3.3.1. Динамическое наблюдение и сопроводительная терапия, как при 1 степени тяжести.

6.4.3.3.2. Рекомендуется перевод в ОАР.

6.4.3.3.3. При сочетании нейротоксичности с синдромом высвобождения цитокинов назначить тоцилизумаб, если ранее не вводился.

6.4.3.3.4. Дексаметазон 10-20 мг каждые 6 часов либо метилпреднизолон в эквивалентных дозах. Введение глюкокортикоидов до достижения 1 степени тяжести нейротоксичности, далее постепенное снижение дозы и отмена.

6.4.3.3.5. При сохранении ≥ 3 степени нейротоксичности - повторное выполнение КТ или МРТ каждые 2-3 дня;

6.4.3.3.6. При 1 или 2 стадии отека диска зрительного нерва, давлении спинномозговой жидкости < 20 мм рт. ст. экстренная консультация невролога;

6.4.3.3.7. При наличии судорожного синдрома - лечение согласно локальному протоколу терапии судорожного синдрома.

6.4.3.4. Степень 4.

6.4.3.4.1. Динамическое наблюдение и сопроводительная терапия, как при 1 степени тяжести.

6.4.3.4.2. Мониторинг витальных функций пациента в условиях ОАР.

6.4.3.4.3. Возможный перевод на ИВЛ.

6.4.3.4.4. Осмотр нейрохирурга.

6.4.3.4.5. Повторное выполнение КТ или МРТ, как при 3 степени нейротоксичности.

6.4.3.4.6. Контроль биохимического анализа крови, КЩС каждые 6-8 часов, назначение осмотерапии для профилактики отека мозга, почечной недостаточности, гиповолемии и/или гипотензии и электролитных нарушений.

6.4.3.4.7. Назначить метилпреднизолон 1000 мг/сут внутривенно, в течение 3 дней со снижением до 250 мг каждые 12 часов 2 дня, далее 125 мг каждые 12 часов 2 дня, далее 60 мг каждые 12 часов 2 дня.

6.4.3.4.8. В качестве терапии повышенного внутричерепного давления: Ацетазолamid 1000 мг внутрь, далее 250-1000 мг каждые 12 часов, приподнять головной конец кровати.

6.4.3.4.9. Назначить маннитол: начальная доза 0,5–1 г/кг; поддерживающая доза 0,25–0,5 г/кг каждые 6 часов (контроль КЩС и осмоляльности сыворотки крови каждые 6 часов). Прекратить введение маннитола при осмоляльности сыворотки крови ≥ 320 мОсм/кг;

6.4.3.4.10. Для пациентов судорожным эпилептическим статусом лечение согласно протоколу терапии судорожного синдрома;

6.5. Синдром высвобождения цитокинов (СВЦ).

6.5.1. При развитии СВЦ оценка симптомов и степень их тяжести должны проводиться не реже 4 раз в сутки с дня введения клеточного продукта, а при наличии признаков развивающегося синдрома выброса цитокинов - каждые 2-4 часа.

6.5.2. Критерии степени тяжести синдрома высвобождения цитокинов:

6.5.2.1. Степень 1.

6.5.2.1.1. Гипертермия до 38°C (не связана с какой-либо другой причиной).

6.5.2.2. Степень 2:

6.5.2.2.1. Необходима кислородотерапия с низкой скоростью потока (менее 6 л/мин).

6.5.2.2.2. Отсутствие необходимости вазопрессорной поддержки (Возможность скорректировать артериального давления введение инфузионных растворов).

6.5.2.3. Степень 3:

6.5.2.3.1. Необходима вазопрессорная поддержка.

6.5.2.3.2. Необходима кислородотерапия с высокой скоростью потока (более 6 л/мин).

6.5.2.4. Степень 4:

6.5.2.4.1. Необходимость назначения двух и более вазопрессоров.

6.5.2.4.2. Необходимость интубации, ИВЛ.

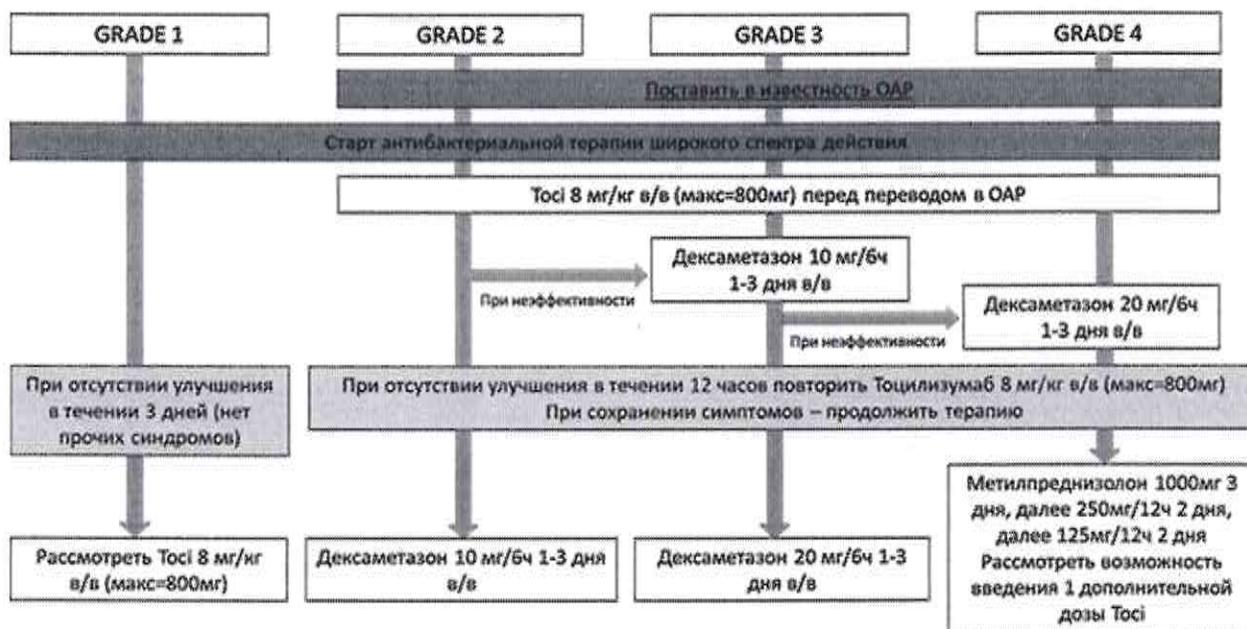


Рисунок 2 - Лечение синдрома высвобождения цитокинов

6.6. Инфекционные осложнения

6.6.1. С целью оценки микробиологического статуса пациента проводятся еженедельные скрининговые бактериологические посевы со слизистой полости рта и ануса начиная с первого для лимфодеплецирующей терапии, посевы мочи, кала, прочих биологических жидкостей по показаниям.

6.6.2. С целью скрининга вирусных инфекций повторное исследование крови 1 раз в 2 недели (первичное исследование крови проводится на этапе лимфодеплецирующей терапии) методом ПЦР к вирусам герпеса 1, 2, 6 типов, вируса Эпштейна-Барр, цитомегаловируса.

6.6.3. Профилактика *Pneumocystis jirovecii* проводится путем назначения ко-тримоксазола в дозе 480 мг в сутки 1 год или до восстановления $CD4^+ > 200$ клеток/мкл.

6.6.4. Профилактика бактериальной инфекции: назначить левофлоксацин внутрь 500 мг 1 раз в сутки при значении АЧН менее $1 \cdot 10^9$ клеток.

6.6.5. Профилактика грибковой инфекции: флюконазол 400 мг в/в капельно 1 раз в сутки при значении АЧН менее $1 \cdot 10^9$ клеток.

6.6.6. Профилактика гипогаммаглобулинемии: проводится контроль уровня IgG 2 раза в неделю до +28 дня и далее 1 раз в 2 недели в течение 6-12 месяцев после введения клеточного продукта. В случае тяжелой гипогаммаглобулинемии ($IgG \leq 400$ мг/дл) показано заместительное профилактическое введение внутривенного иммуноглобулина в дозе 400-800 мг/кг каждые 3-4 недели или 100-200 мг/кг 1 раз в неделю. В случае умеренной гипогаммаглобулинемии ($IgG > 400$ мг/дл и < 600 мг/дл) рекомендуется заместительное введение внутривенного иммуноглобулина при условии тяжелой или рецидивирующей инфекции.

6.6.7. Профилактика инфекций, вызываемых вирусом простого герпеса: проводится путем назначения ацикловира внутрь в дозе 200 мг 3 раза в сутки длительностью не менее 6 месяцев после введения клеточного продукта.

6.6.8. Профилактика цитомегаловирусной инфекции: рутинно не проводится. При предшествующей подтвержденной методом ПЦР ЦМВ инфекции – Валганцикловир 450 мг каждые 12 часов 6 месяцев.

6.6.8. Тактика антимикробной и противогрибковой профилактики определяется эпидемиологической ситуацией медицинского учреждения, в котором проводится клеточная терапия.

ЭТАП 7. Наблюдение и мониторинг эффективности процедуры после введения анти ВСМА CAR-T клеточного продукта.

1.7. Клинический мониторинг в период госпитализации включает:

1.7.1. Осмотр лечащего врача 2 раза в день (при необходимости чаще).

1.7.2. Осмотр врача-невролога 1 раз в 3 дня (при необходимости чаще).

1.7.3. При необходимости осмотр врачей узких специальностей.

1.7.4. Контроль витальных функций (температура, ЧСС, ЧД, АД, SpO₂, ведение баланса выпитой и выделенной жидкости) каждые 6 часов.

1.7.5. Контроль массы тела каждые 6 часов.

1.8. Лабораторный мониторинг от даты введения клеточного продукта до + 28 дня включает (таблица 3):

1.8.1. Контроль общего анализа крови ежедневно, начиная с курса лимфодеплетирующей терапии до восстановления показателей нейтрофилов (прекращение мониторинга ОАК при гемоглобине >90 г/л в течении 2-х дней без трансфузии и уровне тромбоцитов 40×10^9 в течении 2-х дней без трансфузии, АЧН > 0.5×10^9 , далее по решению врача), лейкоцитарная формула – 2 раза в неделю.

1.8.2. Биохимический анализ крови с контролем электролитов, ежедневно, начиная с курса лимфодеплетирующей терапии до нормализации показателей периферической крови (Прекращение мониторинга БАК при АЧН > 0.5×10^9 , при условии отсутствия активного НЛН/воспалительного процесса/токсичности, связанной с лечением).

1.8.3. Определение уровня IgG в периферической крови 2 раза в неделю, начиная со дня введения клеточного продукта до восстановления показателей гемопоэза и нормализации уровня IgG в периферической крови.

1.8.4. Коагулограмма (включая определение Д-димеров) 2 раза в неделю, начиная со дня введения клеточного продукта до восстановления показателей периферической крови (Ежедневно при подозрении на ДВС/САРАС) (Прекращение мониторинга коагулограммы при АЧН $>0.5 \times 10^9$ и уровне тромбоцитов 40×10^9 в течении 2-х дней без трансфузии, при условии отсутствия активного СВЦ/ICANS/САРАС/ДВС, далее по решению врача).

1.8.5. Определение уровня прокальцитонина 2 раза в неделю, начиная со дня введения клеточного продукта до восстановления показателей периферической крови.

1.8.6. Цитокиновый профиль сыворотки крови (интерлейкины-2,-6,-8,-10, фактор некроза опухоли-альфа) определяется 2 раза в неделю (Ежедневно при подозрении на СВЦ/ICANS).

1.8.7. Мониторинг персистенции CAR-T клеток в периферической крови на +3, +7, +10, +14, +21, +28 дни после введения клеточного продукта.

1.8.8. Мониторинг персистенции CAR-T клеток в костном мозге +14, +28 дни после введения клеточного продукта.

1.8.9. Общий анализ мочи выполняется 2 раза в неделю после введения клеточного продукта.

1.8.10. Миелограмма выполняется на +14, +28 дни после введения клеточного продукта.

1.8.11. Определение показателей МОБ методом ИФТ на +14, +28 дни после введения клеточного продукта.

1.8.12. Иммунофиксация/электрофорез белков сыворотки и суточной мочи на +14 и +28 день.

1.8.13. Исследование периферической крови методом ПЦР к ЦМВ, вирусу простого герпеса 1 и 2 типов, вирусу герпеса человека 6 типа, вирусу

Эпштейна-Барр в день введения клеточного продукта и на +7 и +21 дни после введения клеточного продукта.

1.8.14. Скрининговые бактериологические посевы выполняются в день введения клеточного продукта и в последующем 1 раз в 2 недели до выхода из нейтропении.

1.9. Лабораторный и клинический мониторинг через 3, 6, 9, 12 месяцев после введения клеточного продукта включает:

1.9.1. Контроль общего анализа крови с формулой.

1.9.2. Биохимический анализ крови.

1.9.3. Определение уровня IgG, IgM в периферической крови.

1.9.4. Определение каппа и лямбда свободных цепей в периферической крови.

1.9.5. Электрофорез/иммунофиксация белков сыворотки и суточной мочи.

1.9.6. Коагулограмма (включая определение Д-димеров).

1.9.7. Иммунограмма.

1.9.8. Мониторинг персистенции CAR-T лимфоцитов в периферической крови.

1.9.9. Миелограмма.

1.9.10. Определение показателей МОБ методом ИФТ.

1.9.11. Исследование периферической крови методом ПЦР к ЦМВ, вирусу простого герпеса 1 и 2 типов, вирусу герпеса человека 6 типа, вирусу Эпштейна-Барр.

1.9.12. Низкодозовое КТ/МРТ/ПЭТ-КТ (при наличии очагов остеодеструкции) на 3 месяц после введения клеточного продукта.

1.9.13. Электрокардиография.

1.9.14. Полное физикальное исследование, включающее неврологический осмотр и мониторинг витальных функций (ЧД, ЧСС, АД).

ВОЗМОЖНЫЕ ОШИБКИ И ОСЛОЖНЕНИЯ

Описаны проблемы, которые могут возникнуть при выполнении метода с описанием причин возникновения и путей их устранения (см. таблица 4).

Таблица 4 - Возможные ошибки при получении анти-BCMA CAR T-клеток и пути их устранения

Проблема	Возможная причина	Пути устранения
Недостаточное количество Т-лимфоцитов в продукте лейкофереза	Несоблюдение норм забора и транспортировки материала лейкофереза	Забор материала должен осуществляться в отделении трансфузиологии в стерильную тару, содержащую антикоагулянт, длительность хранения при транспортировке не более 6 часов при температуре от +4 до +25°C
	Лимфопения у пациента в момент лейкофереза; наличие вирусной инфекции; короткий срок после химиотерапии	Повторить лейкоферез с тщательным соблюдением критериев проведения лейкофереза. Оценить абсолютное количество Т-лимфоцитов в ПК до лейкофереза. Увеличить объем забираемого продукта лейкофереза.
	Потеря лимфоцитов на этапе выделения фракции МНК	Проверить качество среды-разделителя с градиентом плотности и метод выделения МНК.
Образование сгустков после разморозки лейкофереза или МНК	Сгусток фибрина связанный с коагуляцией	Проверить наличие и качество антикоагулянта в таре для забора и хранения крови / продукта лейкофереза
	Лизис части клеток в процессе заморозки	Неверный состав смеси для заморозки клеток или условия заморозки, хранения или разморозки клеток Добавить ДНКазу в суспензию клеток сразу после разморозки в концентрации 100 мкг/мл
Низкая жизнеспособность Т-клеток при пассировании	Неподходящий pH растворов для отмывки клеток	pH должна быть в диапазоне 7,2–7,4
	Цитотоксическое действие питательной среды	Использовать качественные растворы, протестированные для использования с культурами клеток
	Температура среды и растворов чрезмерно низкая	Использовать среды и растворы, прогретые до комнатной температуры
	Грубые механические манипуляции с клетками	Избегать чрезмерно активного пипетирования образцов со вспениванием, длительного центрифугирования
	Недостаточная активация Т-клеток на момент трансдукции	Строго следовать протоколу активации, описанному производителем активационных частиц.

Низкая эффективность трансдукции	Низкий функциональный титр рекомбинантных лентивирусных частиц	Соблюдать режим хранения и транспортировки рекомбинантных лентивирусных частиц
Медленная скорость роста CAR-T клеток или отсутствие роста	Плохое качество ростовой среды, сыворотки или цитокинов	Использовать непросроченные среды от надежных производителей. Использовать специальные среды для экспансии Т-лимфоцитов. Убедиться, что цитокины доставлялись и хранились в условиях глубокой заморозки. Проверить функциональную активность цитокинов, использовать правильную концентрацию цитокинов, или увеличить ее относительно заявленной в 1,5-2 раза.
	Нормальный рост CD4+ клеток, но резко замедленный рост CD8+ клеток.	Выделять и активировать избыточное количество CD8+ клеток. Поместить CD4 и CD8 клетки в совместную культуру.
Наличие признаков микробной контаминации CAR T-клеточного продукта	Контаминация питательных сред и растворов, используемых в процессе пассирования	Использовать качественные растворы, тестированные для использования с культурами клеток
	Контаминация культуральной посуды и расходных материалов	Использовать только стерильную лабораторную посуду и расходные материалы на этапах пассирования клеточной культуры
	Контаминация рабочих поверхностей и помещения	Систематическая уборка помещения бокса и ламинарного шкафа с асептическими средствами, стерилизация дозаторов и микропипеток, используемых для стерильных работ