

Allestimento automatizzato e stabilità dei biosimilari di bevacizumab per iniezione intravitreale

Selmin F.¹, Cancian D.², Krkalic S.², Minghetti P.¹, Anderluzzi G.¹, Paternuosto G.², Flamigni A.², Maestro A.², Barbi E.³, Maximova N.², Bennati G.², Cont G.⁴, Zanon D.²

¹ Department of Pharmaceutical Sciences, Università degli Studi di Milano, Milan, Italy
² Pharmacy and Clinical Pharmacology Department, IRCCS Burlo Garofolo, Trieste, Italy
³ Pediatric Department, IRCCS Burlo Garofolo, Trieste, Italy
⁴ Neonatal Intensive Care Unit, IRCCS Burlo Garofolo, Trieste, Italy

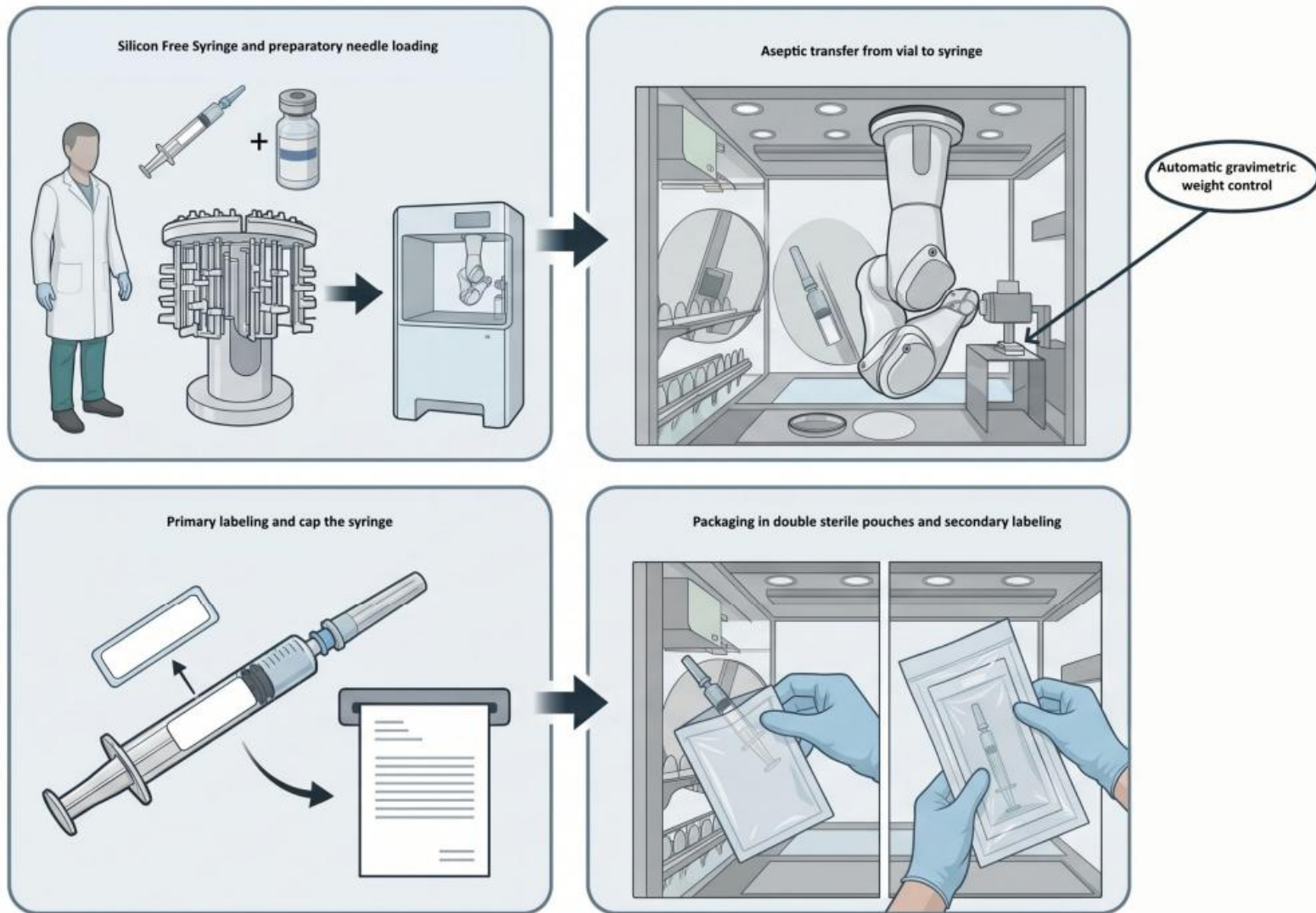
PREMESSA

La crescente complessità delle attività di preparazione **sterile** e l'implementazione dei requisiti dell'Allegato 1 delle GMP hanno spinto le farmacie ospedaliere ad adottare **tecnologie automatizzate** volte a migliorare la **riproducibilità**, la **tracciabilità** e il controllo della **contaminazione**.

I sistemi robotizzati per l'allestimento galenico riducono l'intervento dell'operatore durante le manipolazioni asettiche critiche e possono risultare particolarmente utili per la preparazione di prodotti biologici a **basso volume**.



Il **bevacizumab**, un anticorpo monoclonale ampiamente utilizzato off-label per la somministrazione intravitreale e che richiede il frazionamento di piccoli volumi in siringhe monodose, rappresenta un modello particolarmente impegnativo per valutare l'idoneità dei processi di allestimento automatizzati.



Valutare la stabilità fisico-chimica, biologica e microbiologica del bevacizumab originator (Avastin®) e di un suo biosimilare, allestiti in siringhe prive di silicone mediante un processo automatizzato robotizzato presso una farmacia ospedaliera.

MATERIALI E METODI

Le siringhe per uso intravitreale contenenti **130 µL di soluzione di bevacizumab** (3,25 mg) sono state preparate utilizzando il sistema robotizzato di allestimento ApotecaPed®. La **validazione** del processo ha incluso la valutazione gravimetrica e la simulazione del processo asettico in conformità ai requisiti dell'Allegato 1 delle GMP.

I campioni sono stati conservati a 2-8 °C e analizzati fino a 30 giorni. La **stabilità fisico-chimica** è stata valutata mediante cromatografia ad esclusione dimensionale (SEC-HPLC), diffusione dinamica della luce (DLS) e ispezione visiva. L'**attività biologica** è stata valutata mediante saggio ELISA. La **sterilità** è stata verificata in conformità ai requisiti della Farmacopea Europea.

RISULTATI

- L'allestimento automatizzato ha garantito un riempimento accurato e riproducibile, **con un coefficiente di variazione inferiore al 2%**, mentre le simulazioni di processo asettico hanno avuto esito positivo, senza evidenza di crescita microbica.
- L'analisi mediante SEC-HPLC ha dimostrato il mantenimento della frazione monomerica e **l'assenza di prodotti di degradazione o aggregati** (Figura 1) durante tutto il periodo di conservazione, sia per il farmaco originator sia per i biosimilari (Tabella 1).
- Il DLS (Dynamic Light Scattering) ha confermato la presenza di una **popolazione monodispersa**, senza evidenza della formazione di particelle subvisibili. (Tabella 1).
- La capacità di legame al VEGF è rimasta pari a circa il 95% dei valori iniziali nel corso dello studio, indicando la **conservazione dell'attività biologica** (Figura 2).
- Tutte le siringhe sono rimaste sterili per l'intero periodo di conservazione di 30 giorni.



Figura 1. Cromatogrammi SE di Avastin® (linea blu) e Abevmy® (linea rossa). L'asse X rappresenta il tempo (min), mentre l'asse Y rappresenta le unità di assorbanza (mAU). Il picco principale viene rilevato a circa **17,5 minuti**. La spalla a **16,3 minuti** e il picco a **14,1 minuti** sono stati attribuiti rispettivamente al **dimero** e al **multimero**.

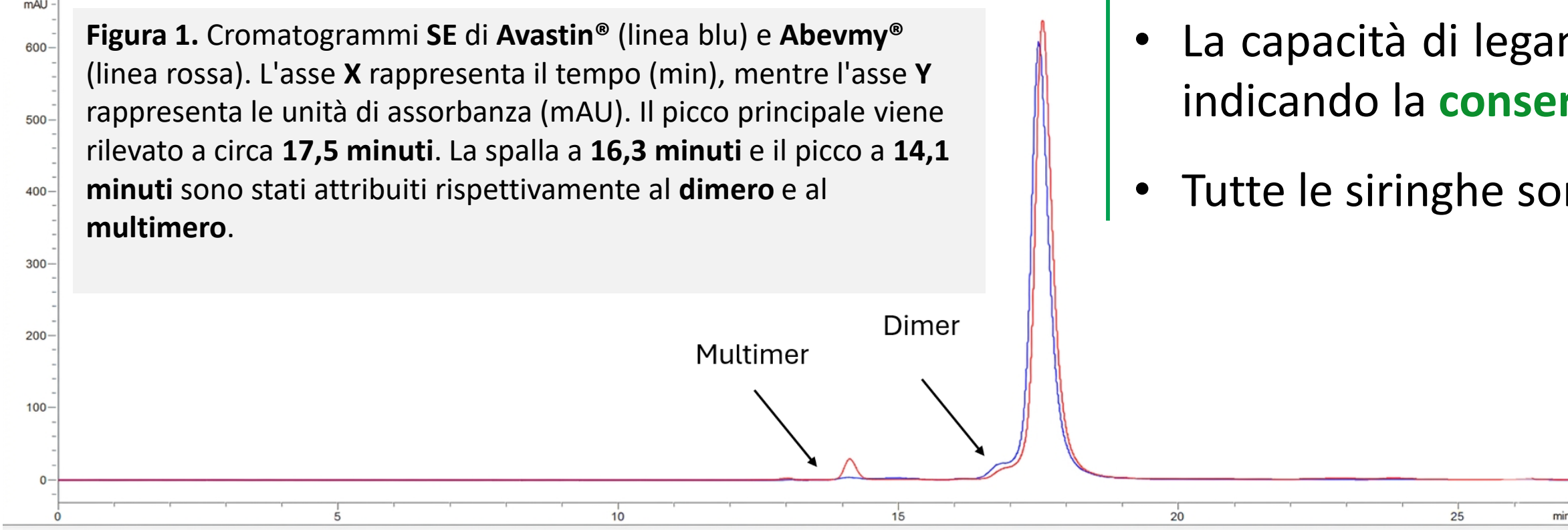


Tabella 1 - Rapporto tra l'area del picco e l'area totale del cromatogramma relativo ad Avastin® e Abevmy® conservati in condizioni refrigerate per un periodo di 4 settimane (n = 3).

Tempo (g)	Avastin (%)			Abevmy (%)		
	Monomero	Dimero	Multimero	Monomero	Dimero	Multimero
0	98,1±0,3	1,9±0,3	1,4±0,1	97,4±0,2	2,6±0,2	0,4±0,0
14	96,8±0,4	1,7±0,3	1,4±0,1	96,9±0,2	2,3±0,2	0,4±0,0
21	96,4±0,1	2,1±0,2	1,4±0,0	96,5±0,2	2,8±0,2	0,3±0,0
28	96,8±0,1	1,8±0,1	1,4±0,0	96,8±0,5	2,6±0,5	0,3±0,0

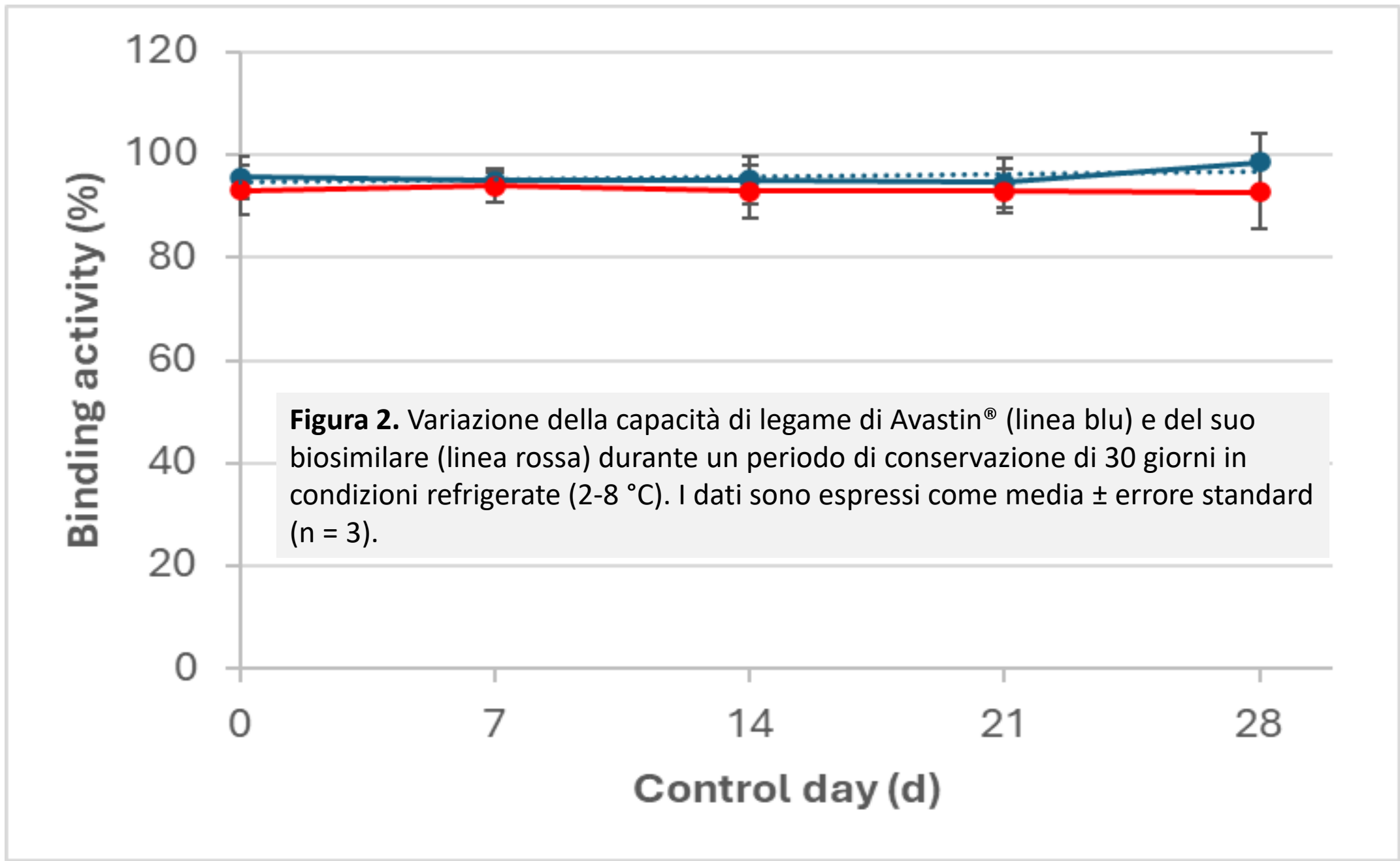


Figura 2. Variazione della capacità di legame di Avastin® (linea blu) e del suo biosimilare (linea rossa) durante un periodo di conservazione di 30 giorni in condizioni refrigerate (2-8 °C). I dati sono espressi come media ± errore standard (n = 3).

L'allestimento robotizzato ha consentito la preparazione asettica e riproducibile di siringhe intravitreali di bevacizumab a basso volume. Sia il bevacizumab, sia il suo biosimilare hanno mantenuto l'integrità fisico-chimica, l'attività biologica e la sterilità per almeno 30 giorni in condizioni di conservazione refrigerata. Questi risultati supportano l'impiego dell'automazione robotizzata come strategia affidabile per migliorare la standardizzazione, la tracciabilità e l'utilizzo costo-efficace dei biosimilari e di altri farmaci biologici ad alto valore economico.

BIBLIOGRAFIA

Ferrara N. Nat Rev Drug Discov. 2004;3(5):391–400.
Rosenfeld PJ et al. N Engl J Med. 2006;355(14):1419–31.
European Medicines Agency. Guideline on the Requirements for Biosimilar Medicinal Products. EMA/CHMP/BWP/247713/2012.
SIFO. Linee guida per l’allestimento di preparazioni intravitreali. 2014.

