

ISOLATEURS

Garantir une protection absolue tout au long du process de fabrication

Par GILLES MAHÉ, Noroit

Les dispositifs de protection rapprochée (isolateurs, Rabs, PSM...) trouvent de plus en plus leur place dans différents domaines réclamant un confinement : établissements de santé, industrie pharmaceutique, R&D, biotechnologies... Quelques exemples de réalisations sur mesure pour différents secteurs.

Les dispositifs permettant de créer un mini-environnement parfaitement contrôlé sont de plus en plus utilisés. Isolateurs, Rabs, postes de sécurité microbiologiques (PSM)... ces systèmes libèrent des contraintes de la salle propre et mettent à disposition des opérateurs des postes de travail aux conditions de confinement idéales (même s'ils doivent la plupart du temps être installés dans un environnement déjà relativement propre et maîtrisé). Actuellement, le besoin pour ce type d'installation est même croissant dans de nombreux domaines :

- dans l'industrie pharmaceutique, il permet de réaliser des process de remplissage aseptique de

manière plus adaptés à des besoins spécifiques (notamment pour les façonniers) ;

- en biopharmaceutique, ils offrent une meilleure flexibilité dans un domaine où les lots sont souvent petits et diversifiés. Les thérapies cellulaires les emploient dorénavant pour la production de médicaments de thérapie innovante (MTI) ou dans les zones de confinement à risques chimiques et microbiologiques (agents cytotoxiques) ;

- en R&D d'une manière générale, un mini-environnement est plus pratique qu'une salle propre. La tendance actuelle à délocaliser la production et à se concentrer sur le développement va donc dans le sens d'un accroissement de ces installations ;



La demande en dispositifs d'isotechnie tend à croître.

- dans le cas des laboratoires d'analyse, dont l'activité concerne notamment le contrôle microbiologique (la demande tend plutôt à s'accroître), les mini-environnements permettent de manipuler aisément les échantillons ;

- dans les pharmacies hospitalières, la préparation magistrale de certains médicaments peut réclamer des conditions drastiques, uniquement obtenues grâce à ces

installations (en l'absence de place pour une salle propre dédiée).

Cette évolution à la hausse se reflète d'ailleurs dans les textes et documents officiels : la FDA (Food and Drug Administration) en a fait une ligne directrice dans son guide sur les bonnes pratiques de fabrication des médicaments stériles produits par process aseptique, la Pharmacopée américaine, l'Association →

« FDA, PDA, ISPE... toutes incitent, au travers de textes, à l'usage des techniques d'isotechnie. »

→ des médicaments par voie parentérale (PDA) et la Société internationale pour l'ingénierie pharmaceutique (ISPE) incitent toutes, au travers de textes, à l'usage des techniques d'isotechnie.

Il faut dire que celles-ci peuvent se prévaloir d'avantages démontrés :

- meilleure protection des opérateurs,
- meilleure protection des produits (le manipulateur restant la principale source de contamination),
- meilleure garantie de stérilité du produit,
- évaluations de risques plus faibles lors du traitement de substances efficaces,
- meilleure atteinte de la classification en activité,
- réduction du coût global (habillement et plusieurs autres dépenses associées étant réduites).

Les isolateurs et leur emploi

Parmi les différents dispositifs d'isotechnie, les isolateurs sont utilisés,

entre autres, pour effectuer des opérations de remplissage aseptique, des tests de stérilité, des reconstitutions de cytotoxiques ou encore des activités de culture cellulaire. Ils permettent d'obtenir un très haut niveau de confinement. La mise en œuvre de ces mesures de protection protège donc le produit fini contre une contamination microbiologique, tout en préservant le personnel et l'environnement externe au moyen de filtres absolus (typiquement HEPA) bloquant tout virus, bactérie ou particule de taille supérieure à 0,3 µm. Les isolateurs évitent toute rupture du confinement des produits dans un environnement stérile. L'utilisation d'enceintes en dépression dans des laboratoires P2 ou P3 permet également de maintenir les opérateurs en dehors des volumes critiques, leur assurant ainsi une protection efficace contre l'ensemble des molécules et agents biologiques qu'ils manipulent.

Les isolateurs sont également très utilisés en milieu hospitalier pour la préparation en continu et souvent en flux tendu de médicaments anticancéreux. L'enceinte de l'isolateur est alors destinée à jouer le rôle de barrière physique entre le milieu extérieur et l'atmosphère interne stérile, alors que la différence de pression entre l'enceinte et le laboratoire évite toute contamination. Ces isolateurs sont typiquement constitués des éléments suivants :

- une zone de travail pour un, deux ou quatre opérateurs,
- un ensemble de stérilisation de surface (ou biodécontamination) à base d'agents oxydants (souvent acide peracétique ou peroxyde d'hydrogène),
- un système de sortie pour effectuer le transfert stérile, continu et sécurisé des préparations, sans rupture de stérilité,

- un dispositif d'évacuation en système clos des déchets, fonctionnant de façon aseptique (conteneurs étanches, tubing ou BetaBag),
- très souvent un module d'entrée-sortie d'urgence,
- des ports d'entrée-sortie étanches permettant de connecter les appareils hébergés vers l'extérieur de l'enceinte,
- un dispositif informatique permettant le suivi et la traçabilité des paramètres de l'isolateur, en particulier des cycles de stérilisation.

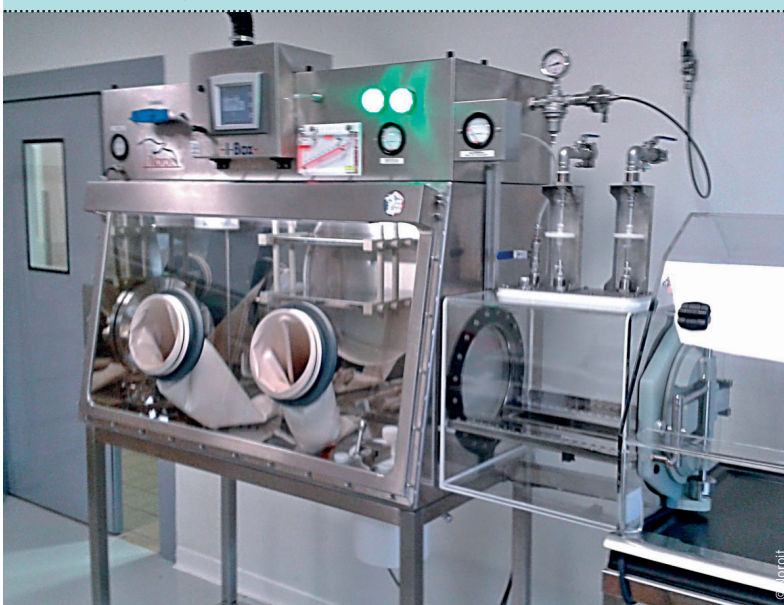
La qualification de l'isolateur est faite en conformité avec les Bonnes Pratiques pharmaceutiques (BPF 2014/1bis et BPP 2007) et les normes en vigueur (NF EN ISO 14644-7, ISO 13408-6...). Ces dispositifs d'isotechnie permettent de garantir la qualité des préparations anticancéreuses.

Pour l'ensemble des acteurs présent dans la chaîne de conception, production et conditionnement des médicaments, l'utilisation des isolateurs devient un passage obligé.

Exemples de réalisations Isolateur pour remplissage aseptique

Noroit a récemment installé un isolateur I-Box+ deux gants avec un sas d'entrée-sortie (figure 1) pour la société Novasep, sur son site du Mans (72). La société Novasep Synthesis est une entreprise de chimie fine spécialisée dans la fabrication de principes actifs et de molécules principalement destinés à l'industrie pharmaceutique. À ce titre, elle est soumise au référentiel des Bonnes Pratiques de fabrication pharmaceutiques (BPF/cGMP) et se doit donc de disposer d'un niveau de service et de qualité irréprochable. L'isolateur est utilisé pour répondre à des applications de

1 Remplissage aseptique



Isolateur deux gants avec un sas d'entrée-sortie.

conditionnement de CMR (cancérogène, mutagène, reprotoxique), classé catégorie 4 SafeBridge (OEL à 5 ng/m^3). Des pesées de précision sont ainsi réalisées quotidiennement dans l'isolateur.

L'I-Box+ est accouplé à une hotte chimique au moyen d'un sas permettant le transfert des échantillons, les préparations sortent de l'isolateur *via* une porte DPTE et un conteneur en polyéthylène, les déchets sont évacués par BetaBag. Compte tenu des enjeux de sécurité liés à la manipulation de CMR, une qualification QI/QO complète a été réalisée à cette occasion :

- contrôle de maintien de la pression de classe 2, suivant la norme ISO 10648-2,
- contrôle de l'étanchéité de l'isolateur (test à l'ammoniac en surpression de 250 pascals),
- contrôle des filtres de l'isolateur, vérification de l'intégrité du filtre H14,
- contrôle de l'affichage de la pression, de la température, du taux d' O_2 et d'hygrométrie,
- contrôle de la classe particulaire ISO 5 dans l'enceinte de manipulation, selon l'ISO 14644-1,
- contrôle de la mise en dépression de sécurité,
- mesure du niveau sonore,
- mesure de l'intensité lumineuse dans le volume de travail.

Fort de cette expérience, un deuxième projet a été initié, concernant un isolateur trois gants accouplé à une double étuve.

Isolateur pour pesage de poudre

Un industriel pharmaceutique a fait concevoir en 2012 un isolateur quatre gants avec poste de pesée intégré, un sas d'entrée et un sas de sortie, créant ainsi un flux de traitement des échantillons (figure 2).

Conformément aux indications des BPF, cet équipement était requis pour limiter les risques de contamination des produits par des contaminants externes, mais aussi pour prévenir totalement les opérateurs de tous risques chimiques. Cet isolateur était destiné à intégrer le service analytique/formulation.

Un puit de pesée fortement lesté est positionné sur le sol du laboratoire pour garantir la précision optimale des pesées. L'isolateur est construit autour de ce puits de pesée, le contact entre l'isolateur et le puits se réduisant à une membrane souple. Ce dispositif unique permet de supprimer tout passage de vibration vers la balance de précision et ainsi d'assurer l'efficacité des manipulations.

Lors de l'installation, Noroit a réalisé un contrôle de l'étanchéité de l'enceinte par remontée de pression suivant la norme ISO 10648-2 : l'enceinte de confinement est de classe 3. Ce contrôle consiste à calculer le taux de fuite par remontée de pression sur une période d'une heure. Le taux de fuite spécifié par la norme devait être inférieur à 0,1 %.

Isolateur en milieu hospitalier : analyse de prélèvements sanguins

Le centre hospitalier de Nancy s'est équipé d'un PSM de type III (selon la norme européenne EN 12469) afin de permettre la réalisation d'examens de biologie de niveau 1 et 2 liés au diagnostic, au suivi et au traitement de patients potentiellement infectés par le virus Ebola (figure 3).

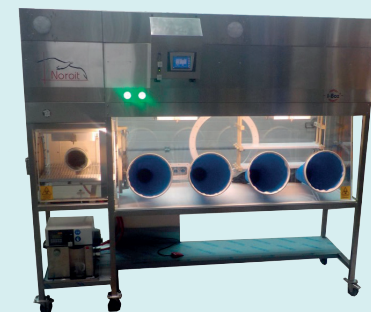
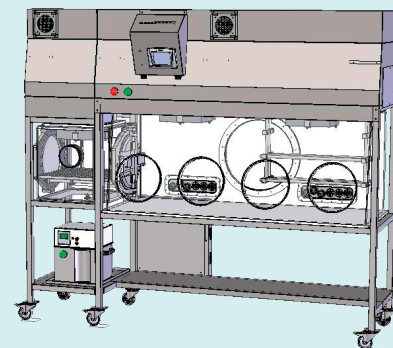
Toutes ces analyses vis-à-vis de micro-organismes hautement pathogènes se déroulent en condition de sécurité extrême dans un laboratoire de type P3 (unité de recherche sur les maladies →

2 Pesage de poudre



Un puit de pesée fortement lesté est positionné sur le sol du laboratoire pour garantir la précision optimale des pesées.

3 PSM de type III



La chambre de manipulation du PSM intègre de nombreux appareils de laboratoire.

→ infectieuses et tropicales), à l'intérieur d'un poste de sécurité microbiologique de niveau III, en classe 2 vis-à-vis de la norme ISO 10648-2, avec sas et dispositif de stérilisation intégré et programmable.

L'enceinte de manipulation du PSM III intègre de nombreux appareils de laboratoire, à savoir un microscope Leica connecté de manière étanche et sécurisée à un écran externe, des automates de bactériologie, un analyseur d'hématologie, une centrifugeuse, etc. Opérationnelle depuis mars 2015, la plateforme réalise également les tests et analyses sur mycobactéries.

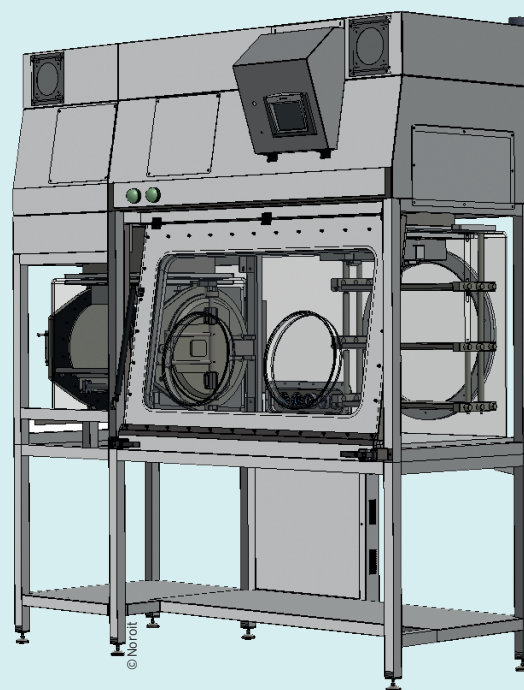
Isolateur pour des applications de culture cellulaire

La société Merck Serono, en Suisse, a signé un contrat pour l'étude spécifique, la fabrication et la validation d'un isolateur deux gants avec sas et stérilisateur à l' H_2O_2 intégré, en classe A/ISO 5 dans un environnement stérile (figure 4).

L'équipement permettra l'étude de germes microbiologiques tels que *Staphylococcus*, *Kocuria*, *Bacillus*, de moisissures et de levures.

La stérilisation se programme très simplement via un écran couleur tactile. L'utilisateur peut ainsi

4 I-Box+ deux gants avec sas et stérilisateur à l' H_2O_2



La façade avant est inclinée à 10° pour garantir une position de travail ergonomique.

choisir de stériliser le sas ou la chambre de manipulation indépendamment. L'écran de contrôle relié à une imprimante permet de conserver une traçabilité des cycles de stérilisation.

La façade avant est inclinée à 10 degrés pour garantir une

position de travail ergonomique. Un joint gonflable assure à l'enceinte une étanchéité parfaite de classe 1 (norme 10648-2).

Pour garantir la protection absolue de l'utilisateur, l'I-Box+ est équipé d'une pédale de sécurité permettant de placer temporairement la chambre de manipulation et le sas en très forte dépression, en cas d'erreur de manipulation ou d'une déchirure accidentelle d'un gant ou d'une manchette.

Qualification et maintenance

Pour assurer un fonctionnement correct des isolateurs et PSM III et assurer la qualité finale des préparations pharmaceutiques et la protection des pharmaciens, une qualification de l'installation (QI) et des éléments opérationnels

(QO) est systématiquement proposée. Concernant chaque appareil installé chez le client, elle suit un plan de qualification bien déterminé :

- QI (qualification de l'installation) : vérification de la conformité au cahier des charges, de la présence des certificats de performance des filtres et de tous les appareils de mesure utilisés et de la documentation technique relative à l'appareil ;
- QO (qualification opérationnelle) : contrôle des performances de l'isolateur en conditions d'utilisation mais sans activité, réalisation de douze à dix-huit tests dynamiques, selon les configurations.

Un contrat de maintenance est également proposé. Il repose intégralement sur le protocole de qualification opérationnelle.

Nettoyage et désinfection des isolateurs

Les Bonnes Pratiques de laboratoire et de maîtrise de la contamination suggèrent que les isolateurs et les dispositifs de transfert associés soient nettoyés et désinfectés après l'achèvement d'une campagne de production.

En résumé, l'isolateur est un environnement confiné qui permet d'assurer une constante dans un procédé industriel nécessitant de protéger le produit, mais aussi et surtout de protéger le personnel et l'environnement.

Par ailleurs, l'industrie pharmaceutique et ses applications connexes exigent une traçabilité : celle-ci est assurée grâce à la conception de l'I-Box+ et aux technologies logicielles embarquées. Les demandes et exigences réglementaires sont suivies à la lettre et même anticipées. ■

Exigences réglementaires

Les principales normes, réglementations et recommandations qui servent de socle à la conception, à la fabrication et à la qualification des isolateurs et PSM III sont :

- EN 12469 : Biotechnologies - Critères de performance pour les postes de sécurité microbiologique, 2000.
- NF EN ISO 14644-1 : Salles propres et environnements maîtrisés apparentés - partie 1 : classification de la propreté particulaire de l'air, 2016.
- NF EN ISO 14644-3 : Salles propres et environnements maîtrisés apparentés - partie 3 : méthodes d'essai, 2006.
- ISO 10648-2 : Classification des enceintes de confinement selon leur étanchéité et méthodes de contrôle associées, 1994.