

Salles blanches, BPF et classification ISO



Les récents succès des thérapies cellulaires et à médiation immunitaire ont accéléré les possibilités de faire des thérapies cellulaires une forme de traitement courante dans le monde entier.¹ Alors que la recherche sur les cellules souches et la médecine régénérative continuent de gagner en importance clinique, le besoin de reproductibilité, de fiabilité et de performance sans contamination du équipements matériel de laboratoire de base est essentiel au processus de qualité.

Les laboratoires et autres établissements qui travaillent avec des produits biologiquement pertinents ont besoin d'un environnement propre et contrôlé pour établir et maintenir l'intégrité des échantillons. Les événements de contamination coûtent du temps et des ressources, entraînant des retards importants dans la recherche, ainsi que la capacité des patients à recevoir des traitements thérapeutiques.² L'une des précautions les plus importantes que les laboratoires et les fabricants de produits cliniques peuvent prendre pour éviter la contamination est d'établir et de maintenir une salle blanche conforme aux directives des bonnes pratiques de fabrication (BPF). Les réglementations de BPF s'appliquent à toutes les phases de prélèvement, de traitement et de stockage des cellules.³

Menaces sur la production de produits issus de la culture cellulaire

L'assurance stérile ou aseptique est un facteur important pour la fabrication de produits à base de cellules/tissus vivants qui ne peuvent être stérilisés. Les cellules et le matériel biologique initiaux présentent une susceptibilité inhérente à la contamination par des micro-organismes et des contaminants viraux.⁴ Étant donné que l'air atmosphérique est chargé de microparticules de nature potentiellement infectieuse, le maintien d'un environnement de salle blanche adéquat avec un équipement approprié minimise

le risque de facteurs de stress potentiels et d'exposition aux contaminants.⁵ Les contaminants des cultures cellulaires peuvent provenir d'autres cellules de mammifères, de sources microbiennes ou d'une source non vivante. Toute forme de ces contaminants présents dans les cultures cellulaires peut avoir un impact négatif sur les résultats, en produisant une instabilité génétique, une transformation, des changements dans la fonction physiologique normale et des changements dans la susceptibilité virale.⁶

De nombreux contaminants peuvent être détectés aux premiers stades de la culture grâce à des indices visuels, tandis que d'autres contaminants sont plus discrets et difficiles à identifier. Par exemple, la contamination par des microbes et des mycoplasmes peut être détectée relativement facilement, tandis que la contamination par des virus est plus difficile à détecter. En fait, la contamination virale ne se traduit souvent pas par des changements morphologiques globaux, mais plutôt par des modifications de l'ADN qui ne peuvent être discernées visuellement.⁷ L'infection virale peut provenir de lignées cellulaires contaminées, de matières premières contaminées ou d'une dégradation des BPF dans le processus de production et de purification.⁸ La contamination primaire présente également un risque de contamination croisée avec d'autres produits, ce qui entraîne une perte de ressources et de temps encore plus importante.

Qu'est-ce qu'une classification de salle blanche ?

Une salle blanche est un environnement contrôlé où la concentration de particules en suspension dans l'air, comme la poussière, les microbes et les aérosols, est maîtrisée. Les salles blanches sont entretenues et utilisées de manière à minimiser l'introduction, la génération et la rétention de particules dans l'environnement. Toutes les salles blanches qui répondent aux BPF sont classées en fonction du niveau de propreté de l'air qu'elles contiennent.⁹

Le respect des exigences en matière de salles blanches est l'un des points les plus critiques pour les laboratoires qui adhèrent aux exigences des BPF. L'Organisation internationale de normalisation (ISO), un organisme non gouvernemental chargé de promouvoir des normes mondiales pour garantir des produits sûrs, fiables et de haute qualité, a élaboré des classifications associées aux niveaux de certification des salles blanches. L'ISO attribue des désignations de salles blanches en fonction d'un seuil de particules admissibles dans une zone donnée (tableau 1).

Conformément aux exigences des BPF, la classification des salles blanches doit être effectuée selon la norme ISO 14644- 1. Cette classification ISO a un impact sur chaque utilisateur de salle blanche dans la communauté des BPF.

Qui a besoin d'une salle blanche certifiée ISO ?

De nombreux laboratoires et établissements cliniques ont besoin de salles blanches pour diverses raisons. Les contaminants ou les particules présents dans l'air ont un impact considérable sur le processus d'essai et de fabrication des échantillons et des produits. La création de particules par certains matériels de laboratoire peut entraîner une dégradation accélérée, une contamination et une perte totale du matériel biologiquement pertinent.¹⁰



Parmi les 10 médicaments les plus vendus en 2019, 7 étaient des produits biologiques (tableau 2).¹¹ Lors de la fabrication de produits biologiques, il est impératif de reconnaître que toute modification au cours du processus de fabrication, aussi minime soit-elle, peut altérer la qualité et l'efficacité du produit.¹² Par conséquent, au sein des installations BPF, il est important de classer vos zones propres avec précision. L'une des premières étapes de ce processus consiste à mettre en place du mobilier et des équipements certifiés pour les salles blanches.

La conformité aux BPF peut être obtenue lorsque des matériaux de qualité BPF constante provenant de sources bien caractérisées sont mis en œuvre et utilisés.

Tableau 1 : classes de salles blanches telles que définies dans les BPF

Classe approximativement équivalente aux salles blanches FED209	Classe approximativement équivalente aux BPF*	Désignation ISO	≥ 0,1 µm	≥ 0,2 particules/m ³	≥ 0,3 particules/m ³	≥ 0,5 particules/m ³
100	Grade A/B	5	100 000	23 700	10 200	3 520
1000		5,5	316 000	74 800	32 200	11 100
10000		6	1 000 000	237 000	102 000	35 200
10 000		6,5	3 160 000	748 000	322 000	111 100
10 000	Grade C	7				352 000
100 000		7,5				1 110 000
100 000	Grade D	8				3 250 000

Les classes décimales ISO, y compris la classe ISO 5.5, sont désignées à des seuils intermédiaires conformément à la norme ISO 14644-1, annexe E, qui stipule « la spécification des classes de propreté décimales intermédiaires et des seuils de taille des particules ».

* Grades de BPF équivalents tels que définis par l'Organisation mondiale de la santé (OMS).

Tableau 2 : Type de médicament et voie d'administration des principaux médicaments de 2019

		Humira	Keytruda	Revlimid	Imbruvica	Opdivo	Eliquis	Eyelea	Enbrel	Avastin	Rituxan
Biologique	Intraveineux										
	Sous-cutané										
	Intravitréen										
Petite molécule	Oral										

Équipements classés salle blanche

Il est essentiel de maintenir une tenue vestimentaire, un mobilier et un équipement appropriés afin de minimiser le risque d'introduction de particules et de contaminants dans les environnements de salle blanche. Les équipements non qualifiés pour les salles blanches peuvent présenter divers obstacles à une maintenance correcte des salles blanches. Par exemple, les outils et équipements non certifiés dotés de moteurs et d'autres pièces mobiles peuvent introduire un réservoir de particules dans l'environnement. Certains outils et équipements essentiels sont également fournis avec des moteurs et d'autres dispositifs qui ont une multitude de particules potentielles à répandre.

Conformément à la norme ISO 14644-1 et concernant la propreté des particules en suspension dans l'air, la « Partie 14 : Évaluation de l'aptitude à l'emploi des équipements par la détermination de la concentration de particules en suspension dans l'air » a été développé pour évaluer l'aptitude des équipements à être utilisés dans les salles blanches. Cette section d'ISO 14644-1 décrit les méthodes utilisées pour déterminer l'émission totale de particules des équipements et fournit des données qui peuvent être utilisées pour déterminer la charge en particules d'une salle blanche. Pour tous les équipements classés par une société de certification de sécurité internationalement reconnue, les tests doivent respecter la méthodologie d'émission de particules définie par la partie 14 de la norme ISO 14644-1. En outre, avant tout essai, la société de certification doit s'assurer que tous les équipements sont conformes aux principes de conception d'une salle blanche tels que définis par la partie 14 de la norme ISO 14644-1. Tels qu'ils sont décrits par ISO, ces principes garantissent que les équipements sont fabriqués avec des matériaux et des finitions de

surface appropriés, en évitant les zones d'air statique, les principes de conception pour la facilité du nettoyage et les considérations relatives à la maintenance.

Produits PHCbi avec un niveau de salle blanche de classe 5.0, 5.5 et 6.0 selon ISO 14644-1*

Les principaux produits de PHCbi, les équipements de cryoconservation et les incubateurs de culture cellulaire, ont été utilisés dans de nombreuses salles blanches et installations de culture cellulaire (ÉTUDE DE CAS).

* Les produits ci-dessous fabriqués en conséquence ont été confirmés comme ayant été évalués selon ISO 14644-14 pour être classés au niveau de salle blanche de chaque classe.

Numéro de modèle	Date de fabrication
MCO-80IC-PE	août 2019
MCO-170AICUVH-PE	octobre 2019
MCO-230AICUV-PE	octobre 2019
MDF0DU702VX-PE	septembre 2019

Si le maintien des normes de qualité des laboratoires a toujours été essentiel, l'importance accrue accordée aux environnements strictement contrôlés continuera de croître avec la recherche sur les cellules souches et les demandes de la médecine régénérative. Par conséquent, alors que la classification en salle blanche pour la fabrication selon les BPF prend de l'importance, il est essentiel d'évaluer soigneusement le matériel de laboratoire de base et leur rôle dans l'obtention du statut de salle blanche.



MCO-170AICUVH-PE

MCO-230AICUVH-PE

MCO-80IC-PE

MDF-DU702VX-PE

Méthodologie de test

Chaque unité a reçu la classification appropriée après avoir été soumise à la méthodologie de test suivante :

1. Les tests ont été effectués dans une chambre environnementale dynamique avec des conditions d'air, de température et d'humidité définies.
2. La propreté de la chambre est calculée conformément à la norme ISO 14644-14:2016.
3. Le dispositif est chargé dans la chambre et équilibré pendant 24 heures avant le test.
4. Ensuite, les concentrations en nombre de particules ont été surveillées pendant 120 min. Les concentrations de particules (nombre de particules/m³) ont été mesurées pour les particules dans des plages de taille de $\geq 0,1 \mu\text{m}$, $\geq 0,2 \mu\text{m}$, $\geq 0,3 \mu\text{m}$ et $\geq 0,5 \mu\text{m}$ de diamètre.
5. Les concentrations moyennes de particules, la limite de confiance supérieure dans la chambre vide et les classes ISO correspondantes sont calculées et définies conformément à la norme ISO 14644-1:2015.

PHC Europe propose une gamme complète de produits qui représente plus de 50 ans d'innovation et d'application réussie dans la communauté des sciences de la vie. Si vous développez une fabrication BPF, nous pouvons vous aider.

Contactez votre représentant local de la marque PHCbi à l'adresse www.phchd.com/eu/biomedical



Références

1. Balendu Shekhar Jha, Mitra Farnoodian, and Kapil Bharti, "Regulatory considerations for developing a phase I investigational new drug application for autologous induced pluripotent stem cells-based therapy product." *Stem Cells Translational Medicine*. [août 2020]: 10:198-208, <https://doi.org/10.1002/sctm.20-0242> PMID: 32946199
2. Barone, P.W., Wiebe, M.E., Leung, J.C. et al. "Viral contamination in biologic manufacture and implications for emerging therapies." *Nature Biotechnology* 38, [avril 2020]: 563-572, <https://doi.org/10.1038/s41587-020-0507-2> PMID: 32341561
3. Ottria G, Dallera M, Aresu O, Manniello MA, Parodi B, Spagnolo AM, and Cristina ML. "Environmental monitoring programme in the cell therapy facility of a research centre: preliminary investigation." *Journal of Preventive Medicine and Hygiene* 51, no. 4 [déc 2010]:133-8. PMID: 21553557
4. Geraghty RJ, Capes-Davis A, Davis JM, et al. "Guidelines for the use of cell lines in biomedical research." *British Journal of Cancer*. 111, no. 6 [août 2014]: 1021-46, doi:10.1038/bjc.2014.166 PMID: 25117809
5. Segeritz, Charis-P., and Ludovic Vallier. "Cell Culture: Growing Cells as Model Systems In Vitro." *Basic Science Methods for Clinical Researchers* (avril 2017): 151-172, doi:10.1016/B978-0-12-803077-6.00009-6
6. David Pamies, Thomas Hartung. "21st Century Cell Culture for 21st Century Toxicology." *Chemical Research in Toxicology* 30, no. 1 (janvier 2017): 43-52, doi:10.1021/acs.chemrestox.6b00269 PMID: 28092941
7. Merten, OW. "Virus contaminations of cell cultures – A biotechnological view." *Cytotechnology* 39, [juin 2002]: 91-116, doi.org/10.1023/A:1022969101804 PMID: 19003296
8. Bae, J.E., Kim, I.S. "Multiplex PCR for rapid detection of minute virus of mice, bovine parvovirus, and bovine herpesvirus during the manufacture of cell culture-derived biopharmaceuticals." *Biotechnology and Bioprocess Engineering* 15, [février 2011]: 1031-1037, doi.org/10.1007/s12257-009-3137-6
9. "Current Good Manufacturing Practice (CGMP) Regulations." U.S. Food & Drug Administration (FDA), last modified 09/21/2020. www.fda.gov/drugs/pharmaceutical-quality-resources/current-good-manufacturing-practice-cgmp-regulations
10. Fernando Cobo, David Grela, and Ángel Concha. "Airborne particle monitoring in clean room environments for stem cell cultures." *Biotechnology Journal*, 3, no. 1 (janvier 2008): 43-52. doi.org/10.1002/biot.200700122 PMID: 18034434
11. Yip, Stephanie. 2021. Pharmaintelligence.Informa.Com. <https://pharmaintelligence.informa.com/-/media/informa-shop-window/pharma/2020/files/reports/top-10-best-selling-drugs-of-2019.pdf>
12. Moutsatsou, P., Ochs, J., Schmitt, R.H. et al. "Automation in cell and gene therapy manufacturing: from past to future." *Biotechnology Letters*, 41 (septembre 2019): 1245-1253 doi.org/10.1007/s10529-019-02732-z PMID: 31541330

PHC Europe

Membre du groupe PHC

Eikdonk 1 | 4825 AZ Breda | Pays-Bas
T: +31 (0) 76 543 3833

www.phchd.com/eu/biomedical

www.phchd.com/eu/biomedical