

LA BIOCONTAMINATION

**SALLES PROPRES,
ENVIRONNEMENTS MAÎTRISÉS
& ZONES DE CONFINEMENT**

" Toute reproduction intégrale ou partielle faite sans le consentement de l'auteur ou de ses ayants droit ou ayants cause est illicite ; il en est de même pour la traduction, l'adaptation ou la transformation, l'arrangement ou la reproduction par un art ou un procédé quelconque" (loi du 11 mars 1957 - article 40 - alinéas 1 et 2)

" Est également un délit de contre-façon toute reproduction ou diffusion, par quelque moyen que ce soit, d'une œuvre de l'esprit en violation des droits de l'auteur, tels qu'ils sont définis et réglementés par la loi" (loi du 11 mars 1957- article 71 / article 426 du Code Pénal).

" Seules les copies ou reproductions réservées à l'usage privé et non destinées à une utilisation collective sont autorisées ainsi que les courtes citations à caractères d'informations; sous réserve que soient indiqués clairement le nom de l'auteur et la source" (extraits de loi du 11 mars 1957 - article 41 - alinéas 2 et 3).

REMERCIEMENTS

A l'initiative de Michel Thibaudon, président du Conseil scientifique de l'ASPEC, ce guide est une révision de l'édition 2008.

Les travaux ont été coordonnés par Sylvie Vandriessche, responsable S&T de l'ASPEC.

RELECTEURS ET AUTEURS POUR LA MISE A JOUR DE L'ÉDITION 2008 :

Audrey Allion, *APERAM*

Vincent Barbier, *PHARMAPLAN*

Sabine Bessières-Recasens, *MERCK MILLIPORE*

Christine David, *INRS*

Paul Despins, *BIOQUELL*

Sophie Dubacq, *BERTIN TECHNOLOGIES*

Françoise Durand, *Laboratoires ANIOS*

Jean-Marc Evanno, *DEVEA*

Jean-Jacques Godon, Laboratoire de Biotechnologie de l'Environnement – *INRA Narbonne*

Jean-Marc Hanna, *LUCISBIO*

Christophe Hermon, *CTCPA*

Abdel Khadir, *eKope*

Aurélien Krimm, *OCTAPHARMA*

Aurélien Lechat, *CHU Lille*

Guillaume Ledoux, *EUROFINS*

Christophe Lestrez, *ASPEC*

Denis Lopez, *CHU Bordeaux*

Olivia Michel, *bioMérieux*

Franck Polyn, *HeX Group*

Sophie Rouif, *IONISOS*

Martin Serrano-Sanchez, *BERTIN TECHNOLOGIES*

Claude Sigwalt, *ACTINI*

Michel Thibaudon, *ASPEC et RNSA*

Mohamed Youbi-Idrissi, *AIR LIQUIDE*

CRÉDIT PHOTO

GERFLOR – GSF – INRA – SPSE – UBHM MIMA 2

ILLUSTRATIONS (SCHÉMAS)

AFNOR – ACTINI – AIR LIQUIDE – BERTIN TECHNOLOGIES – DIVERSEY – eKope – SANOFI – SANTE PUBLIQUE France – STILMAS

SOMMAIRE

PRÉFACE	4
CHAPITRE 1 INTRODUCTION	12
CHAPITRE 2 BIOCONTAMINATION D'UN ENVIRONNEMENT MAÎTRISÉ	
1 Les agents de la biocontamination	15
1.1 Bactéries	15
1.2 Virus	18
1.3 Champignons (moisissures et levures)	19
1.4 Agents transmissibles non conventionnels	21
1.5 Micro-organismes génétiquement modifiés	21
2 Sources, transferts et cibles	21
2.1 L'air, vecteur de contamination	21
2.1.1 Sources environnementales	22
2.1.2 Sources humaines et/ou animales	23
2.2 L'eau	24
2.3 La notion de biofilm et les supports inertes	24
2.4 Le produit ou le patient	24
2.5 Le personnel	25
3 Impacts sanitaires économiques et sociétaux, réglementation et recommandations	26
3.1 Conséquences sur la santé des personnes	26
3.2 Groupes de risques des agents biologiques pour les professionnels	28
3.3 Cas des établissements de santé	30
3.4 Cas des bio-industries	31
3.5 Autres industries	34
4 Conclusions	34
CHAPITRE 3 LA MAÎTRISE DE LA BIOCONTAMINATION AÉROPORTÉE	
1. Méthodes techniques de prévention	37
1.1 Maîtrise des sources de biocontamination aéroportée	38
1.1.1 Maîtrise des sources humaines	38
1.1.2 Maîtrise des sources environnementales	38
1.2 Maîtrise de la propreté de l'air	39
1.2.1 Définition de la propreté particulière de l'air	39
1.2.2 Niveaux de maîtrise de la contamination microbiologique de l'air	40
1.2.2.1 Établissements de santé	40
1.2.2.2 Secteurs des industries pharmaceutiques et apparentées	41
1.2.2.3 Industrie agroalimentaire	42
1.2.2.4 Industrie cosmétique	42
1.2.2.5 Laboratoires de sécurité, animaleries, OGM	43
1.2.3 Salles propres	43
1.2.3.1 Principes de conception générale	43
1.2.3.2 Spécifications techniques	44
1.2.3.2.1 Cas des établissements de santé	44
1.2.3.2.2 Industries pharmaceutiques et apparentées	44
1.2.3.2.3 Laboratoire de sécurité, animalerie	45
1.2.4 Dispositifs séparatifs	46
1.2.4.1 Postes de sécurité microbiologique (PSM)	47
1.2.4.2 Isolateurs	49
1.2.5 Autres systèmes (épurateurs d'air)	50
2. Maintenance technique et surveillance	50
2.1 Salles propres	50
2.1.1 Principes de maintenance technique des installations de traitement de l'air	50
2.1.1.1 Une maintenance préventive	50
2.1.1.2 Un état de propreté permanent	50
2.1.1.3 Un système filtrant fiable	51
2.1.2 Programme de surveillance	51
2.1.2.1 Un programme de contrôles de fonctionnement	51
2.2 Dispositifs séparatifs	52
2.2.1 Postes de sécurité microbiologique	52
2.2.2 Isolateurs	53
2.2.2.1 Paramètres critiques propres à la technologie	53
2.2.2.2 Paramètres critiques propres au procédé	53
3. Conclusions	53
CHAPITRE 4 SURFACES ET BIOCONTAMINATION	
1. Définition	55
2 Installation d'un biofilm	55
2.1 Transport des micro-organismes	56
2.2 adhésion initiale des cellules microbiennes	56
2.2.1 Interactions physico-chimiques	56

2.2.2	<i>Rugosité et topographie de surface</i>	57
2.3	Consolidation et maturation des cellules adhérentes.....	58
2.4	Colonisation du support.....	58
3	Conséquences de la fixation des micro-organismes sur les surfaces	59
3.1	Résistance aux méthodes de décontamination : état de l'art.....	59
3.1.1	<i>Mise en évidence de la résistance</i>	59
3.1.2	<i>Mécanismes impliqués dans la résistance</i>	60
3.1.2.1	<i>Rôle protecteur de la matrice organique</i>	60
3.1.2.2	<i>Environnement physico-chimique des cellules liées à la structure hétérogène des biofilms</i>	61
3.1.2.3	<i>Modification de l'expression génétique liée au contact des cellules avec le support</i>	61
3.1.2.4	<i>Interactions intercellulaires</i>	62

CHAPITRE 5 SURFACES OUVERTES

1	Conception	66
1.1	Choix des matériaux.....	66
1.2	Précautions de mise en oeuvre.....	68
2	Nettoyage et désinfection chimique des surfaces	69
2.1	Terminologie et généralités.....	69
2.2	Les produits de nettoyage et de désinfection.....	71
2.2.1	<i>Aspects réglementaires</i>	71
2.2.2	<i>Conditionnement des produits de nettoyage et de désinfection</i>	71
2.2.3	<i>Produits de nettoyage</i>	71
2.2.4	<i>Désinfectants</i>	72
2.2.4.1	<i>Principes actifs</i>	72
2.2.4.2	<i>Modes d'action</i>	72
2.2.4.3	<i>Paramètres d'efficacité de la désinfection : normes et spectre d'activité</i>	72
2.2.4.4	<i>Critères de choix d'un désinfectant</i>	74
2.2.5	<i>Incompatibilités</i>	75
2.2.5.1	<i>Incompatibilités produits / matériaux</i>	75
2.2.5.2	<i>Évaluation des compatibilités surface / produit / méthode / contrôle</i>	75
2.3	Les méthodes de nettoyage et de désinfection.....	75
2.3.1	<i>Contamination apportée par le nettoyage</i>	75
2.3.2	<i>In paramètre essentiel : le cercle de Sinner</i>	76

2.3.3	<i>Techniques de nettoyage détaillées</i>	76
2.3.5	<i>Synthèse</i>	80
2.4	Vérification de l'efficacité de nettoyage.....	82
2.4.1	<i>Objectifs</i>	82
2.4.2	<i>Méthodes de contrôle de particules inertes</i>	82
2.4.3	<i>Méthodes microbiologiques de surfaces</i>	82
3	Perspectives	83
3.1	traitements physiques de décontamination des surfaces ouvertes.....	83
3.2	Surfaces antibactériennes.....	83

CHAPITRE 6 MATÉRIELS (FIXES ET PORTATIFS)

1	Définitions et notions de matériels	87
2	Exemples de matériels fixes ou portatifs	88
3	Les matériels et la biocontamination	89
3.1	Les matériels, sources de biocontaminants.....	89
3.2	Les matériels, émetteurs de contaminants.....	89
3.2.1	<i>Matériels hors fonctionnement</i>	89
3.2.2	<i>Matériels en activité</i>	90
3.3	Les matériels, récepteurs de biocontaminants.....	90
4	Conception et entretien des matériels	90
4.1	Textes de référence généraux.....	90
4.1.1	<i>Directives</i>	90
4.1.2	<i>Normes nf en iso 14644</i>	91
4.2	Textes spécifiques par secteurs d'activités.....	93
4.2.1.1	<i>Textes américains</i>	93
4.2.1.2	<i>BPF</i>	93
4.2.2	<i>L'industrie agroalimentaire</i>	95
4.2.2.2	<i>Normes NF EN 1672-2, NF EN ISO 14159 et BP A36-720</i>	95
4.2.2.3	<i>Recommandations EHEDG, CETIM et ACTIA</i>	95
4.2.3	<i>Les établissements de santé</i>	95
4.2.3.1	<i>Recommandations CTIN (devenu CTINLS)</i>	95
4.2.3.2	<i>Recommandations concernant les laveurs-désinfecteurs</i>	96
4.3	Conception d'un matériel.....	96
4.3.1	<i>Choix des matériaux</i>	96
4.3.2	<i>Nettoyabilité</i>	97
4.4	Installation d'un matériel.....	100
4.5	Nettoyage, désinfection et stérilisation.....	100
4.5.1	<i>Nettoyage d'un matériel</i>	101

4.5.1.1	Cas du nettoyage semi-automatique (aspersion et/ou ultra-sons).....	101	4.1.1	Réglementation.....	134
4.5.1.2	Cas du Nettoyage En Place (NEP).....	102	4.1.2	Surveillance de la qualité.....	136
4.5.2	Désinfection / stérilisation d'un matériel.....	104	4.2	Le réseau d'eau chaude sanitaire.....	136
4.5.2.1	Synthèse des différentes méthodes.....	104	5	Eaux des environnements maîtrisés	137
4.5.2.2	Méthodes de désinfection.....	105	5.1	L'eau dans les établissements de santé.....	137
4.5.2.2.1	Désinfection par les UV (méthode physique appliquée essentiellement à l'eau).....	105	5.1.1	Usages spécifiques et qualités de l'eau.....	137
4.5.2.2.2	Désinfection des surfaces par voie aérienne ou DSA (méthode chimique portant sur les surfaces).....	105	5.1.2	Moyens de production.....	139
4.5.2.2.3	Nettoyage et désinfection par la vapeur.....	106	5.1.2.1	Production d'une eau bactériologiquement maîtrisée froide.....	139
4.5.2.3	Méthodes de stérilisation.....	107	5.1.2.2	Production d'une eau bactériologiquement maîtrisée chaude.....	139
4.5.2.3.1	Traitement par la chaleur.....	108	5.1.2.3	Production de l'eau pour hémodialyse.....	139
4.5.2.3.2	Traitement à l'oxyde d'éthylène.....	108	5.1.2.4	Production d'eaux stériles.....	139
4.5.2.3.3	Traitement par irradiation ou radiostérilisation.....	109	5.1.2.5	Production des eaux techniques.....	139
4.6	Compatibilité des matériaux et traitements associés.....	110	5.1.3	Exploitation et maintenance.....	142
4.6.1	Compatibilité avec les méthodes de stérilisation.....	110	5.2	L'eau dans les bio-industries.....	143
4.6.2	Compatibilité des métaux avec H ₂ O ₂ et APA.....	111	5.2.1	Industrie pharmaceutique.....	143
4.6.3	Compatibilités des matériaux avec H ₂ O ₂	112	5.2.1.1	Réglementation et usage des eaux pharmaceutiques.....	143
5	Validation des méthodes de traitement d'un matériel	113	5.2.1.2	Moyens de production.....	143
5.1	Validation du nettoyage.....	113	5.2.1.3	Règles pour le stockage de l'eau à usage pharmaceutique.....	149
5.2	Validation de la désinfection.....	114	5.2.1.4	Règles de conception d'une boucle de distribution en bio-industrie.....	149
5.2.1	Indicateurs biologiques.....	114	5.2.1.5	Choix des équipements et accessoires d'une boucle de distribution en bio-industrie.....	150
5.2.2	Vérification de l'intégrité du matériel.....	117	5.2.1.6	La désinfection.....	151
5.2.3	Hygiène et sécurité.....	117	5.2.1.6.1	Moyens préventifs.....	151
5.3	Validation de la stérilisation.....	118	5.2.1.6.2	Moyens curatifs.....	152
CHAPITRE 7 EAUX			5.2.1.7	Qualification des installations de traitement et de distribution d'eaux pharmaceutiques.....	152
1	Conséquences de la biocontamination des eaux	131	5.2.2	Industrie cosmétique.....	157
2	les constituants de l'eau brute	132	5.2.3	Industrie agroalimentaire (IAA).....	157
3	Les eaux destinées à la consommation humaine	133	5.2.3.1	Usages de l'eau en IAA.....	157
3.1	Réglementation.....	133	5.2.3.2	Moyens de production.....	158
3.2	Exigences de qualité.....	133	5.2.3.3	Désinfection.....	158
4	Installations privées de distribution d'eau potable	134	6	Conclusion	159
4.1	Le réseau d'eau froide.....	134	CHAPITRE 8 GAZ ET VAPEUR D'EAU		
			1	Les gaz	161
			1.1	Particularités du thème.....	161
			1.2	Méthodes de prévention de la contamination.....	162

1.3	Conception hygiénique du réseau.....163
1.3.1	Conception du réseau.....163
1.3.1.1	Études de conception.....163
1.3.1.2	Choix des matériaux.....163
1.3.1.3	Choix des tubes et des accessoires.....164
1.3.2	Installation hygiénique du réseau.....164
1.3.2.1	Bonnes pratiques d'installation.....164
1.3.2.2	Assemblage.....164
1.3.2.3	Sécurité du réseau.....165
1.3.2.4	Mise en propreté du réseau.....165
1.3.3	Qualification du réseau.....165
1.4	Maintenance.....166
2	La vapeur d'eau166
2.1	vapeur d'eau et biocontamination.....166
2.1.1	Biocontamination de la vapeur d'eau et de son condensat.....166
2.1.2	Caractéristiques de décontamination de la vapeur d'eau.....167
2.2	Production et distribution de vapeur d'eau.....167
2.3	Qualité de l'eau d'alimentation.....167
2.4	Réseaux de distribution.....168
2.5	Utilisation de la vapeur d'eau pour l'humidification de l'air.....169
3	Gaz purs et air comprimé pharmaceutiques169
3.1	Usage des différents types de gaz.....169
3.2	Contexte réglementaire et normatif.....170
3.3	Technologies de production de l'air comprimé.....174
3.4	Critères d'acceptation / seuils.....174
3.5	Points de prélèvement.....175
3.6	Qualifications des installations de production et de distribution d'air comprimé ou de gaz purs.....176

CHAPITRE 9 DÉCHETS ET EFFLUENTS

1	Déchets à risques infectieux181
1.1	Les différents types de déchets à risques infectieux.....181
1.2	Conditionnement, entreposage et transport.....183
1.3	Traitement des DASRI.....186
1.3.1	Traitement par incinération.....186
1.3.2	Prétraitement par désinfection.....187
1.4	Traitement des pièces anatomiques d'origine humaine.....189

2	Effluents liquides189
2.1	Les différents types d'effluents liquides.....189
2.2	Traitements des effluents liquides.....189
2.2.1	Traitement par batch.....190
2.2.2	Traitement en continu.....190
2.2.3	Autre moyen de traitement : la voie chimique.....190
2.3	Critères de conception d'une installation de traitement.....192
3	Déchets d'activités de soins mixtes et traitement192
4	Conclusion193

CHAPITRE 10 CONTRÔLES MICROBIOLOGIQUES DE L'ENVIRONNEMENT

1	Contrôles microbiologiques de l'air, des surfaces et des gaz195
1.1	Objectifs et démarche.....195
1.2	Plan d'échantillonnage.....196
1.3	Aspects fondamentaux à prendre en compte.....198
1.3.1	Formation et habilitation du personnel.....198
1.3.2	Identification des échantillons de prélèvement.....199
1.3.3	Conditionnement, stockage et transport des échantillons de prélèvement.....199
1.3.4	Limites des contrôles microbiologiques.....200
1.3.5	Choix de la méthode de prélèvement.....200
1.3.6	Milieux de collecte.....200
1.4	Prélèvements d'air.....201
1.4.1	Méthodes de prélèvement d'air.....201
1.4.1.1	Échantillonneurs passifs (ou boîtes de sédimentation).....201
1.4.1.2	Échantillonneurs actifs.....201
1.4.2	Critères de choix d'un biocollecteur selon les méthodes d'analyse.....204
1.5	Prélèvements des surfaces par techniques conventionnelles.....204
1.6	Prélèvements des gaz.....205
1.6.1	Méthodes de prélèvement des gaz.....206
1.6.3	Critères de choix d'un biocollecteur pour les gaz.....207
1.7	Méthodes d'analyses microbiologiques (air, surfaces, gaz).....207
1.7.1	Méthodes culturales (ou conventionnelles).....207
1.7.2	Méthodes alternatives.....208
1.7.2.1	Méthodes pour le dénombrement et/ou la détection d'une

	contamination	208
1.7.2.1.1	Exemples de méthodes microbiologiques rapides RMM	209
1.7.2.1.2	Exemples de méthodes microbiologiques alternatives AMM	210
1.7.2.2	Méthodes de recherche et développement	213
1.7.2.2.1	Puces à ADN	213
1.7.2.2.2	Empreintes génétiques	214
1.8	Exploitation des résultats (air, surfaces, gaz)	214
1.8.1	Expression des résultats	214
1.8.2	Correction des résultats	215
1.8.3	Traitement des données	215
1.9	Niveaux microbiologiques de référence (air, surfaces)	216
1.9.1	Établissements de santé	216
1.9.1.1	Secteurs de soins	216
1.9.1.2	Pharmacie hospitalière	217
1.9.1.3	Autres activités hospitalières	217
1.9.2	Industrie pharmaceutique	217
1.9.2.1	BPF (Bonnes Pratiques de Fabrication)	217
1.9.2.2	Textes américains	218
1.9.3	Industrie agroalimentaire	219
1.10	Rapport d'essai (air, surfaces, gaz)	219
1.11	Actions correctives (air, surfaces, gaz)	219
2	Contrôles microbiologiques des eaux	220
2.1	Eaux des établissements de santé	220
2.1.1	Objectifs et démarche	220
2.1.1.1	Objectifs	220
2.1.1.2	Stratégie d'échantillonnage	220
2.1.2	Plan d'échantillonnage	221
2.1.3	Aspects fondamentaux à prendre en compte	222
2.1.3.1	Carnet sanitaire	222
2.1.3.2	Bonnes pratiques de prélèvement	222
2.1.3.3	Identification des échantillons	222
2.1.3.4	Conditionnement, stockage et transport des échantillons	222
2.1.4	Méthodes de prélèvement des eaux	223
2.1.5	Méthodes d'analyse de la biocontamination des eaux	223
2.1.5.1	Objectifs	223
2.1.5.2	Méthodes d'analyses microbiologiques	223
2.1.5.3	Autres méthodes analytiques	224
2.1.6	Exploitation des résultats	224
2.1.6.1	Expression des résultats	224
2.1.6.2	Traitement des données	224
2.1.7	Niveaux microbiologiques	224
2.1.8	Rapport d'essai	224

2.1.9	Actions correctives	225
2.2	Eaux en industrie pharmaceutique	225
2.2.1	Objectifs et démarche	225
2.2.1.1	Objectifs	225
2.2.1.2	Stratégie d'échantillonnage	226
2.2.2	Plan d'échantillonnage	227
2.2.3	Aspects fondamentaux à prendre en compte	230
2.2.3.1	Identification des échantillons	230
2.2.3.2	Conditionnement, stockage et transport des échantillons	230
2.2.4	Méthodes de prélèvement des eaux	230
2.2.5	Méthodes d'analyse de la biocontamination des eaux	231
2.2.5.1	Objectifs	231
2.2.5.2	Méthodes d'analyses microbiologiques	232
2.2.5.2.1	Méthodes culturales	233
2.2.5.2.2	Méthodes alternatives	233
2.2.5.3	Méthode d'analyse des endotoxines bactériennes	233
2.2.6	Exploitation des résultats	234
2.2.6.1	Expression des résultats	235
2.2.6.2	Traitement des données	235
2.2.6.2.1	Valeurs individuelles	235
2.2.6.2.2	Cartes de suivi et bilan global	235
2.2.7	Niveaux microbiologiques	236
2.2.9	Rapport d'essai	237
2.2.10	Actions correctives	237
2.2.10.1	Dépassement des niveaux d'alerte	237
2.2.10.2	Dépassement des niveaux d'action	238

CHAPITRE 11 GLOSSAIRE ET ABRÉVIATIONS

1	Glossaire	241
2	Abréviations et sigles	246
2.1	Abréviations	246
2.2	Organismes officiels	249

CHAPITRE 12 RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1	Textes réglementaires	251
2	Normes	254
3	Ouvrages, guides et recommandations	258
4	Revue et publications scientifiques	260