

REPRISE D'ACTIVITÉ

Après la crise, les points de vigilance

Par B. CANY, Salles Propres, et S. VANDRIESSCHE, Aspec

Le 11 juin 2020 a eu lieu un symposium vidéo organisé par l'Aspec et visant à donner les éléments de vigilance pour une bonne reprise d'activité en salle propre, après l'arrêt ou la réduction liée à la pandémie.

Parmi les premières installations concernées par cette crise, les zones de confinement biologique se sont appuyées sur un corpus de textes réglementaires déjà existant (voir l'article de Sébastien Allix-Le Guen, Lab-Science) qui fixe les différents niveaux d'exigence applicables à la manipulation d'agents biologiques, dont les échantillons de SARS-CoV-2 à des fins d'analyse et de recherche. Finalement, à court terme, la crise n'a pas eu d'impact significatif sur le design et les règles d'exploitation des laboratoires. En revanche, il est fort probable que le nombre de laboratoires de confinement de niveau 3 soit revu à la hausse dans les prochains mois et que le recours à des installations modulaires soit une stratégie qui se développe sur différents continents.

Par ailleurs, parallèlement à l'amélioration des connaissances sur le SARS-CoV-2, on a vu que les approches en termes de contrôle et de recherche du virus dans l'environnement se précisaient (intervention du docteur Vincent Moulès, virologue chez VirHealth¹). Si dans l'air, l'intérêt semble limité en raison notamment de l'impossibilité de qualifier la capacité infectieuse des échantillons collectés, sur les surfaces en revanche, des perspectives concrètes existent avec la possibilité de tester périodiquement des zones critiques.

Virus nus et enveloppés

La présentation du docteur Moulès a permis de rappeler les deux familles de virus, de resituer le coronavirus SARS-CoV-2 dans la famille des virus enveloppés (**tableau A et figure 1**) et



Bastien Cany et Sylvie Vandriessche.

d'évoquer les modes de transmission. Les virus nus et enveloppés sont des parasites stricts, à savoir qu'ils nécessitent un hôte (homme, animal, insecte ou plante) pour se multiplier. Leur pouvoir d'infectiosité diminue au cours du temps. Parmi les virus, les virus respiratoires (coronavirus, virus influenza, virus parainfluenza, rhinovirus, virus respiratoire syncytial) se transmettent par différentes voies :

- le contact physique direct entre individus ;
- la projection de gouttelettes lors de toux ou d'éternuements

(particules de plus ou moins 100 µm) qui sédimentent rapidement ;

- l'inhalation d'aérosols (particules de quelques micromètres) pouvant pénétrer dans les poumons ou se déposer dans les régions trachéobronchiques et naso-pharyngées ;
- le contact indirect par l'intermédiaire d'objets contaminés (vecteurs passifs : fomites²).

Le transfert par l'intermédiaire de surfaces contaminées est le mode de dissémination principal de virus respiratoires (d'où l'importance apportée au lavage minutieux des mains).

Les études en laboratoire de contamination artificielle et les études épidémiologiques démontrent une contamination et dissémination virale, *via* des aérosols, sur une courte distance (2 à 3 mètres) mais, aujourd’hui, il existe peu d’études sur la transmission des virus par aérosol sur des distances plus importantes.

Les études portant sur la dissémination virale par des surfaces contaminées sont plus nombreuses, cette contamination des surfaces pouvant provenir des fluides physiologiques (sang...), des aérosols et gouttelettes générés *via* la toux et éternuements, des mains contaminées, ou encore lors de la manipulation d’objets contaminés. Les virus peuvent facilement se propager par le nez, la bouche et les yeux quand les mains d’un individu sont contaminées *via* des fomites.

Stabilité sur les surfaces

Un paramètre fondamental de la dissémination virale est la stabilité des virus sur les surfaces, fonction de plusieurs facteurs dont :

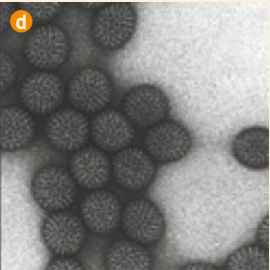
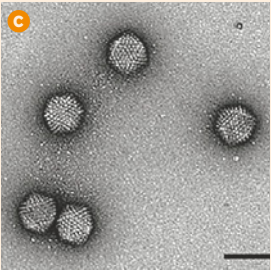
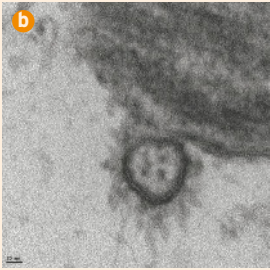
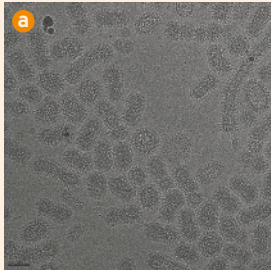
- le type de surface (poreuse/non poreuse) et la nature du matériau : inox, plastique, verre...
- la concentration en virus ;
- le type de virus (enveloppé *versus* non enveloppé) ;
- les paramètres environnementaux (température et humidité) ;
- la présence de substances interférentes (fluides biologiques, matières organiques...).

Les liquides biologiques augmentent la stabilité des virus sur les surfaces tandis que l’augmentation de température joue un effet délétère (Szpiro *et al.*, VirHealth 2020). Pour le SARS-CoV-2, la

A Comparatif virus enveloppés/virus nus		
	Virus enveloppés	Virus nus
Composition	Membrane virale d’origine cellulaire	Capside protéique virale
Stabilité sur surface	+/- (quelques heures à quelques jours)	++ (plusieurs jours à plusieurs mois)
Sensibilité aux paramètres environnementaux (température, hygrométrie, rayonnement...)	++	-/+
Sensibilité à la désinfection	++	-/+
Exemples	Virus influenza, coronavirus, HIV...	Norovirus, adénovirus, poliovirus... Les virus nus sont plus résistants que les virus enveloppés

Le coronavirus fait partie de la famille des virus enveloppés.

1 Exemples de virus



Virus enveloppés : a. virus influenza H3N2, Dr V. Moulès, 2010, Virpath (CIRI) ; b. SARS-CoV-2, Dr Rosa-Calatrava, 2020, Virpath (CIRI). Virus nus : c. adénovirus, Hackenbrack *et al.*, 2016 ; d. rotavirus, Centers for Disease Control and Prevention.

stabilité sur surface est estimée de quelques heures à quelques jours, en fonction des surfaces. Les perspectives en R&D portent sur le développement de nouvelles procédures d’amplification des virus infectieux et défectifs sur les surfaces et dans les aérosols ainsi que la mise au point de nouveaux matériaux et revêtements aux propriétés antivirales (normalisation en développement sur les surfaces à propriétés biocides, en France et à l’international).

Concernant plus spécifiquement les salles propres, deux cas de figure se distinguent : les installations non confrontées à des cas de Covid-19, et à l’inverse celles qui ont accueilli des personnes atteintes par le nouveau coronavirus. En matière de nettoyage, on constate dans le premier cas que les gestionnaires de salles propres ont pour la plupart fait le choix de renforcer leurs procédures de nettoyage/désinfection ainsi que les protections du personnel avec des équipements de ➡

« La mise à blanc est un processus manuel complexe dont la réussite est conditionnée par l'utilisation d'équipements et de tissus appropriés, le recours à des produits efficaces et adaptés aux résultats visés, et surtout par le facteur humain. »

→ protection individuelle (EPI) adaptés. Cela s'est notamment traduit pour les opérations de routine, d'une part, par une hausse des fréquences d'intervention sur les surfaces de contact (poignées de porte, sols...) et les sas personnels (bancs de passage, tabourets...) avec la mise en œuvre de désinfectants à visée virucide. Les interventions sur les locaux communs ou sociaux ont également été plus fréquentes. Et d'autre part, par un recours à des consommables à usage unique ainsi que par une décontamination du matériel, avant et après intervention, souvent suivie d'une mise en quarantaine d'au moins vingt-quatre heures ; ceci a impliqué une rotation des matériels. Dans tous les cas, l'usage de l'aspirateur, voire de la monobrosse, est à limiter pour éviter le risque d'émission et/ou de réémission de poussières. Au contraire, les EPI ont été renforcés.

La mise à blanc

La partie « mise à blanc », abordée par May Masson (Hygiatex Services) et source de confusion sur le terrain, a rappelé l'objectif et les grands principes. Elle est la dernière étape avant la mise en production d'une nouvelle installation ou la remise en production d'une installation existante après arrêt prolongé. Elle consiste en un nettoyage complet et fin de toutes les surfaces (les sols, les murs, les plafonds, les grilles de ventilation...), y compris l'extérieur des équipements industriels et les mobiliers, en vue d'atteindre la classe particulière et/ou les spécifications microbiologiques attendues.

Après un arrêt prolongé de la ventilation et avant la remise en route, outre le nettoyage des locaux, il faut vérifier les systèmes



Sébastien Allix-Le Guen, SFM et LabScience.

de filtration, inspecter l'état des gaines et prévoir le dépoussiérage des centrales de traitement d'air et des réseaux de gaines. La mise à blanc est réalisée en deux étapes :

- une mise à blanc primaire réalisée lorsque les systèmes de ventilation (soufflage/reprise/extraction) sont à l'arrêt pour permettre la sédimentation des particules en suspension dans l'air. Elle vise à éliminer les souillures et les particules visibles sur toutes les surfaces. Elle comporte trois phases : le dépoussiérage des surfaces (aspiration ou balayage humide), la détergence (monobrosse ou balayage humide) et une opération de rinçage. Dans des cas particuliers de contamination, de non-conformité, un balayage humide avec un désinfectant est prévu ;
- faisant suite, et après une remise en route de l'installation de traitement d'air, pendant une durée d'au moins 12 heures, une mise à blanc secondaire. Elle vise une décontamination plus fine des surfaces et consiste en un balayage humide à l'eau suivi, si besoin, d'une désinfection des surfaces.

À noter que dans le cas d'une nouvelle construction ou de travaux dans une salle propre avec

émission importante de poussières, il est indispensable de faire un nettoyage préliminaire (et/ou mise à gris) afin de préparer les locaux à l'étape de la mise à blanc. Lors de ces opérations de mise à blanc, plusieurs facteurs sont à considérer :

- la progression de la séquence de travail : de la zone la plus propre à la plus sale ; de la surface la plus propre à la plus sale ;
- la méthodologie mise en œuvre pour les équipements carterisés, l'utilisation d'aspirateurs, la décontamination des parois (cloisons, plafonds) ;
- les conditions d'utilisation des produits et l'ordre de passage ;
- le temps de contact des désinfectants avec la surface (avec ou sans rinçage).

La mise à blanc est un processus manuel complexe dont la réussite est conditionnée par l'utilisation d'équipements et de tissus appropriés, le recours à des produits efficaces et adaptés aux résultats visés, et surtout par le facteur humain : la mise à blanc doit être mise en œuvre par des agents qualifiés, sensibilisés et formés aux bonnes pratiques de nettoyage et de comportement

en salle propre ; celles-ci pouvant varier d'un domaine d'activités à un autre, en fonction du contexte réglementaire et/ou normatif. Pour le personnel d'intervention, les grands principes à connaître et à appliquer selon les procédures mises en place sont : l'utilisation des sas, le lavage des mains, la procédure standard d'habillage et de déshabillage, les méthodes de transit du matériel par le sas matériels, l'application de procédures de décontamination du matériel en entrée, voire en sortie, de zone propre.

Dans le cas des installations Covid-19, il semblerait que les recommandations AP-HP du 9 avril dernier soient aujourd'hui une référence largement utilisée pour organiser les opérations de bionettoyage avant la reprise de l'activité habituelle. Le consensus porte sur un programme de bionettoyage en trois étapes successives, distinctes : détergence suivie d'un rinçage des surfaces, et une dernière opération de désinfection avec le recours à un produit virucide. Ce programme peut être complété par une désinfection de surfaces par voie aérienne (DSVA).

Premiers retours industriels

Dans le domaine industriel, et comme indiqué lors de l'intervention de Vincent Barbier (Pharmaplan), les premiers retours montrent que peu de salles propres ont été totalement arrêtées ou placées en régime réduit durant la période de confinement. Il est clair que dans un secteur comme l'industrie pharmaceutique, la production a été maintenue avec des modes d'organisation adaptés, en particulier des équipes réduites. Résultat, il

est probable que les arrêts techniques s'effectuent aux périodes habituelles, c'est-à-dire pour la plupart en été ou en hiver. Il n'y aura donc sans doute pas d'impact de la crise sur les procédures d'essai en vue de la requalification des salles après ces arrêts. D'autant plus qu'il est souhaitable de ne pas modifier le calendrier de maintenance des installations de traitement d'air, ce qu'a rappelé Emmanuel Guibal (Sagicoform, voir son article en p. 36). Si les performances des salles propres n'ont pas été maintenues, les paramètres à vérifier en priorité sont : le niveau de propreté particulière, les vitesses et débits d'air ainsi que le taux de brassage horaire, les gradients de pression, le temps de récupération et l'intégrité des filtres. Selon le contexte, des tests additionnels seront réalisés comme la quantification des contaminants microbiologiques ou encore la vérification des schémas aérodynamiques. Le choix des tests à réaliser sera fonction de la criticité du process et des installations « salles propres », des opérations de maintenance effectuées (exemple : changement de filtres) et du calendrier des essais



Vincent Moulès, Virhealth.

périodiques. Les tests pouvant interagir et influencer un résultat, le programme doit figer leur ordre ou encore leur chronologie de déroulement.

Dans les particularités des interventions des essais, le contexte lié à la pandémie Covid-19 incite les intervenants à renforcer les opérations de nettoyage et de désinfection des matériels d'essai préalablement à leur introduction en salles propres. De plus, les essais devront intégrer les ajustements des méthodologies liés à la mise à jour de la norme ISO 14644-3 révisée en 2019 (critère, caractéristiques techniques des appareils...).



May Masson, Hygiattech Services.

Un point particulier a été soulevé sur les produits de désinfection utilisés en salles propres industrielles lors de l'intervention d'Isabelle Valade (Schülke France). Dès lors que ces produits appartiennent à la catégorie TP2, autrement dit qu'il ne s'agit pas de dispositifs médicaux, ils n'ont pas nécessairement été testés vis-à-vis de la virucide. Il faut en effet rappeler que la norme EN 14476-A2, encadrant notamment l'efficacité virucide des produits, vise le milieu médical. Il n'existe pas de référentiel normatif spécifique pour la virucide dans les domaines industriels. Bien que toutes les substances actives usuelles, y compris celles à base d'alcool, soient actives sur les virus nus et donc *a fortiori* sur les virus enveloppés comme le SARS-CoV-2, moins résistants (**figure 2**), il convient aux utilisateurs de s'assurer de l'existence d'un dossier scientifique de validation (essais de toxicologie, études de compatibilité de matériaux, essais de stabilité, essais d'efficacité) disponible auprès du fabricant.

Un point fondamental nouveau à signaler est la responsabilité partagée entre le fabricant et l'utilisateur d'un produit désinfectant, qui doit bénéficier d'une autorisation de mise sur le marché (AMM) délivrée par l'Anses (Agence nationale de sécurité sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail). D'un point de vue des tests normalisés, ce sont les normes d'application (phase 2) qui simulent le mieux les conditions en pratique :

- étape 2, au moyen de porte-germes, pour les surfaces type cloisons, paillasses...
- étape 1, par tests de suspension, pour les nettoyages en place d'équipements (NEP).





Vincent Barbier, Pharmacoplan.

➔ Dans les points pratiques, on note que :

- les produits à base d'ammonium quaternaire et/ou d'amines ne peuvent revendiquer une action complète sur les micro-organismes fongiques (action uniquement sur les levures) ;
- l'alcool isopropylique (IPA) n'est fongicide qu'après 15 minutes (bien après évaporation complète) ;

• les désinfectants de routine sont capables d'agir jusqu'aux champignons fongiques alors que les désinfectants sporicides ont une action sur les endotoxines bactériennes (figure 2).

L'annexe 1 des BPF ou Eudralex (en révision) pour les médicaments stériles propose en salles propres l'application journalière d'un désinfectant de routine (principe actif A), couplée à l'usage périodique d'un désinfectant sporicide (principe actif B).

Critères impactant l'efficacité de la désinfection

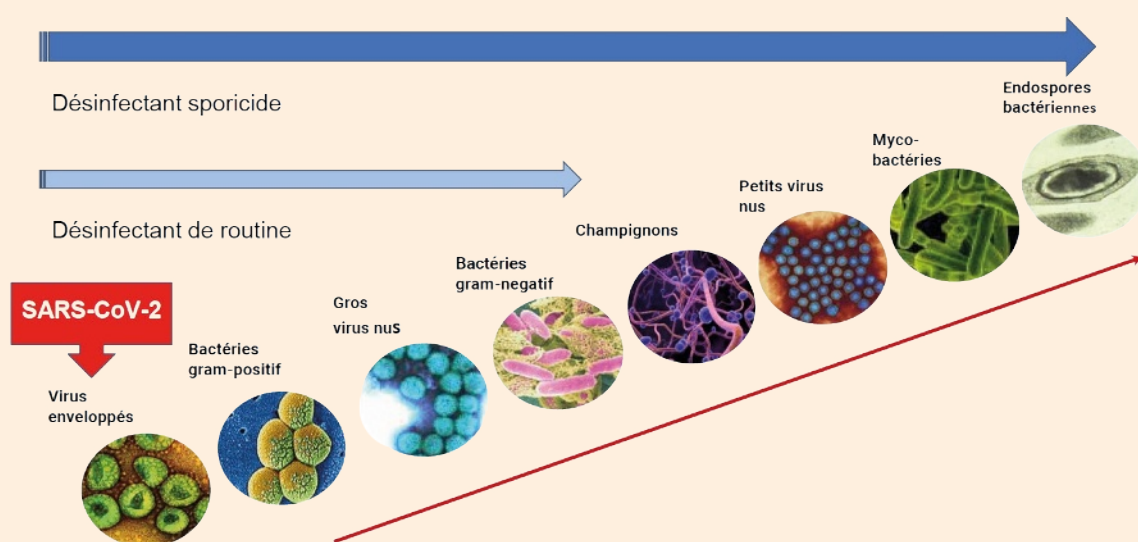
En plus de la nature du produit, les autres critères impactant l'efficacité d'une opération de désinfection seront le temps de contact, la dilution et la séparation des phases de détergence et de désinfection (rappelée dans le projet de révision de l'Annexe 1, pour les médicaments stériles en industrie pharmaceutique). Dans les conséquences pratiques à

venir, il est à craindre une augmentation des prix de vente, notamment sur les alcools, en raison de la forte demande sur ces produits.

Sur le volet d'efficacité d'une opération de biodécontamination, on a vu que si on attendait prochainement les premières publications traitant de l'efficacité de la DSA sur le SARS-CoV-2, on sait déjà que la méthode est efficace sur des virus nus, donc plus résistants, comme celui de la polio. Les grands principes, intérêts, précautions de mise en œuvre et les paramètres à considérer sont rappelés dans l'article proposé, dans ce même numéro, par Jules Boulicot (Bioquell, p. 26). On peut également rappeler que le domaine de la DSA fait, depuis avril 2020, l'objet d'une norme européenne, l'EN 17272, qui introduit de nouveaux critères d'évaluation comme le test d'homogénéité de distribution du biocide. Pour se conformer à la norme européenne, transposée dans la collection des normes françaises, il faudra attendre la fin de l'année pour obtenir des rapports d'essai réalisés par des laboratoires accrédités Cofrac.

L'occasion se présentera d'échanger, à nouveau, sur tous ces sujets d'intérêt au cours des sessions techniques organisées lors du nouvel événement Contamin@Marseille, par l'Aspec, les 12 et 13 octobre prochains, avec des mesures prises adéquates au contexte. ■

2 Action des désinfectants, de routine et sporicides, sur les micro-organismes



Toutes les substances actives usuelles, y compris celles à base d'alcool, sont théoriquement actives sur les virus nus, donc a fortiori sur les virus enveloppés comme le SARS-CoV-2. Source : Schülke France..

1. Laboratoire effectuant des tests d'activité virucide des produits de désinfection selon les normes françaises (FR), européennes (EN) ou américaines (ASTM) : Désinfectants/antiseptiques, lingettes, systèmes de désinfection des surfaces, surfaces et textiles fonctionnalisés ; Développement de procédures de désinfection prenant en compte les conditions sur site et contraintes réglementaires ; Mise au point de procédures expérimentales innovantes et recherche technologique.

2. Dans les termes utilisés en épidémiologie, les fomites sont des surfaces, matières ou objets contaminés par un micro-organisme pathogène et susceptibles de contaminer d'autres objets, des animaux ou des personnes, jouant ainsi un rôle dans la propagation d'une maladie contagieuse. Ce terme est un anglicisme.