

TABLE DES MATIERES

TABLE DES MATIERES	10
LISTE DES ABREVIATIONS.....	13
INTRODUCTION	15
1^{ERE} PARTIE : LE RISQUE DE CONTAMINATION BIOLOGIQUE EN INDUSTRIE	
PHARMACEUTIQUE.....	16
1. LA QUALITE MICROBIOLOGIQUE DES MEDICAMENTS	17
1.1. Les médicaments stériles	18
1.1.1. Environnement de production.....	18
1.1.2. Procédés de fabrication	20
1.1.3. Contrôles microbiologiques d'un produit stérile.....	21
1.2. Les médicaments non stériles	22
1.2.1. Environnement de production.....	22
1.2.2. Contrôles microbiologiques d'un produit non stérile	23
1.3. Les conséquences de la biocontamination.....	24
1.3.1. Sur le produit.....	24
1.3.2. Sur le patient.....	25
2. LES SOURCES ET PREVENTIONS DE LA BIOCONTAMINATION.....	25
2.1. Main-d'œuvre.....	26
2.2. Milieu	27
2.3. Matière	29
2.4. Matériel	29
2.5. Méthode.....	30
3. SURVEILLANCE ENVIRONNEMENTALE, LES MOYENS DE CONTROLE^[13]	30
3.1. Contrôles microbiologiques de l'air	31
3.1.1. La méthode par impaction sur gélose	31
3.1.2. La méthode par sédimentation	32
3.2. Contrôles microbiologiques des surfaces	32
3.2.1. La méthode par empreinte	33
3.2.2. La méthode par écouvillonnage	33
3.3. Contrôle du personnel.....	34
3.4. Mise en incubation	34
3.5. La flore environnementale	36
4. LES MOYENS DE LUTTE, LE NETTOYAGE ET LA DESINFECTION^[22]	38
4.1. Terminologies	38

4.1.1.	Nettoyage – lavage – désinfection.....	38
4.1.2.	Détergent – désinfectant – antiseptie.....	38
4.2.	Activités des désinfectants.....	40
4.3.	Le nettoyage avec « TACT »	41
4.3.1.	La température	41
4.3.2.	L'action mécanique	42
4.3.3.	L'action chimique.....	42
4.3.4.	Le temps de contact	42
5.	FAMILLES DES DESINFECTANTS^[26]	42
5.1.	Site et mode d'action.....	43
5.2.	Spectres d'activité et indications.....	44
5.3.	Caractères toxicologiques.....	44
2^{EME}	PARTIE : LE CADRE REGLEMENTAIRE DES PRODUITS DESINFECTANTS	45
1.	LA REGLEMENTATION DES DESINFECTANTS^[27]	46
1.1.	Définitions.....	47
1.2.	Le classement des produits biocides	47
2.	LE REGLEMENT DES PRODUITS BIOCIDES (RPB).....	49
2.1.	De la directive au règlement	50
2.2.	Les objectifs	50
2.3.	Les structures impliquées ^{[31] [32]}	51
2.3.1.	En Europe	51
2.3.2.	En France.....	52
3.	MISE SUR LE MARCHE D'UN PRODUIT BIOCIDE	52
3.1.	Approbation des substances actives ^[34]	53
3.1.1.	Nouvelle SA.....	53
3.1.2.	Renouvellement des SA	57
3.1.3.	SA existante – Régime transitoire	58
3.2.	Mise sur le marché des produits biocides ^{[38][39]}	59
3.2.1.	L'AMM nationale	60
3.2.2.	La reconnaissance mutuelle	60
3.2.3.	L'AMM de l'Union	60
3.2.4.	L'AMM simplifiée	60
3.3.	Étiquetage des produits biocides.....	60
4.	IMPACT RPB SUR LES UTILISATEURS^[41]	61

3^{EME} PARTIE : IMPACT EN INDUSTRIE PHARMACEUTIQUE, ANALYSE D'UN CAS

CONCRET	63
1. CONTEXTE DE LA VALIDATION DE LA METHODE DE DESINFECTION	64
1.1. Contexte sur site pharmaceutique.....	64
1.2. Contexte règlementaire.....	66
2. LE DESINFECTANT	67
2.1. Choix du désinfectant	67
2.2. Contrôle des spécifications du produit.....	70
2.2.1. Les essais d'endotoxines et de stérilité.....	70
2.2.2. Les essais physico-chimiques	71
2.2.3. Les essais après ouverture de flacon	71
3. LE PROTOCOLE DE VALIDATION DE LA DESINFECTION	71
3.1. Les acteurs.....	72
3.2. Le matériel de désinfection	74
3.3. Les objectifs du protocole.....	74
3.4. Le mode opératoire de désinfection	74
3.4.1. Charge du passe-plat.....	75
3.4.2. Méthode de désinfection.....	75
3.5. Les prélèvements environnementaux.....	78
3.5.1. Le matériel de prélèvement	78
3.5.2. Plan d'échantillonnage	78
4. LE RAPPORT DE VALIDATION	80
4.1. Limites internes acceptables	81
4.2. Résultats.....	81
4.2.1. Biocharge / Désinfection du passe-plat	81
4.2.1. Biocharge / Désinfection du matériel	82
4.3. Conclusion du projet.....	86
CONCLUSION	87
BIBLIOGRAPHIE	89
TABLE DES ILLUSTRATIONS.....	95
TABLE DES TABLEAUX.....	96
ANNEXES	97

LISTE DES ABREVIATIONS

5M	Matériel, Matière, Méthode, Main-d'œuvre, Milieu
A3P	Association pour les Produits Propres et Parentéraux
ACE	Autorité Compétente d'Évaluation
ADN	Acide Désoxyribo-Nucléique
AFNOR	Association Française de Normalisation
AMM	Autorisation de Mise sur le Marché
ANSES	Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'alimentation, de l'environnement et du travail
ANSM	Agence Nationale de Sécurité du Médicament et des produits de santé
BFS	Soufflage, Remplissage et Scellage (<i>Blow, Fill and Seal</i>)
BP	Boîte de Pétri
BPF (GMP)	Bonnes Pratiques de Fabrication (<i>Good Manufacturing Practices</i>)
CCLIN	Centre de Coordination de Lutte contre les Infections Nosocomiales
CCS	Stratégie de Contrôle de la Contamination
CLP	Classification, étiquetage, emballage des substances et des mélanges (<i>Classification, Labelling and Packaging</i>)
CT	(Boîte) Count-Tact®
CTA	Centrale de Traitement d'Air
DGAT	Dénombrement des Germes Aérobieux Totaux
DHT	« Temps d'attente sale » (<i>Dirty Hold Time</i>)
DJA	Dose Journalière Admissible
DM	Dispositif Médicaux
DMLT	Dénombrement des Moisissures et Levures Totales
DPB	Directive des Produits Biocides
DRfA	Dose de Référence Aigüe
ECHA	Agence Européenne des Produits Chimiques (<i>European Chemicals Agency</i>)
EDQM	Direction Européenne de la Qualité du Médicament
EM	État Membre
EPI	Équipement de Protection Individuelle
FDA	Administration Américaine des denrées alimentaires et des médicaments (<i>Food and Drug Administration</i>)
GTS	Gélose Trypticase Soja
HSE	Hygiène Sécurité Environnement

INRS	Institut National de Recherche et de Sécurité pour la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles
ISO	Organisation Internationale de Normalisation (<i>International Organization for Standardization</i>)
JO	Journal Officiel
JP	Pharmacopée Japonaise
LAL	Lysat d'Amœbocyte de Limule
LD	Ligne Directrice
NA	Non Applicable
NAEO	Niveau Acceptable d'Exposition de l'Opérateur
OMS(WHO)	Organisation Mondiale de la Santé (<i>World Health Organization</i>)
PBT	(substances) Persistantes, Bio-accumulatrices et Toxiques
PIC/S	Convention sur l'inspection pharmaceutique et programme de coopération en matière d'inspection pharmaceutique (<i>Pharmaceutical Inspection Convention and Pharmaceutical Inspection Co-operation Scheme</i>)
R4PB	Registre des Produits Biocides
RABS	Système de barrière d'accès restreint (<i>Restricted Access Barrier System</i>)
REACH	Enregistrement, Évaluation, Autorisation et Restriction des substances chimiques (<i>Registration, Evaluation, Authorisation and Restriction of Chemicals</i>)
RPB	Règlement des Produits Biocides
SA	Substance Active
TACT	Température, Action mécanique, Chimique et Temps de contact
TP	Type de Produit
TRH	Taux de Renouvellement Horaire
UE	Union Européenne
UFC	Unité Formant des Colonies
USP	Pharmacopée Américaine
vPvB	(substances) très Persistantes et très Bio accumultrices (<i>very Persistent and very Bioaccumulative</i>)
ZAC	Zone à Atmosphère Contrôlée

INTRODUCTION

Les microorganismes sont présents partout. La plupart sont inoffensifs et participent à l'équilibre de notre organisme, mais d'autres sont des agents pathogènes et peuvent être dangereux pour l'Homme. Dans le contexte de l'industrie pharmaceutique, il est primordial de maîtriser les contaminations microbiologiques afin de garantir la qualité, l'efficacité et la sécurité des médicaments administrés au patient.

Les Bonnes Pratiques de Fabrication (BPF) ont établi des stratégies de nettoyage et de désinfection contribuant à la réduction des risques de contamination. Le nettoyage et la désinfection sont des opérations qui font partie intégrante de la production, et qui nécessitent des procédures et des méthodes validées. Les désinfectants et détergents utilisés pour ces opérations contiennent des substances actives destinées à lutter contre les microorganismes nuisibles pour le patient. Mais les propriétés de ces produits peuvent également porter préjudice à la santé humaine, animale ou à l'environnement. C'est pourquoi ils font l'objet d'un encadrement réglementaire très strict. La réglementation des désinfectants a été modifiée récemment afin de garantir un plus haut niveau de protection et d'harmoniser le marché et la gestion de ce type de produits dans l'Union européenne.

La première partie de cette thèse sera consacrée à la contamination biologique et aux risques associés au sein de l'industrie pharmaceutique, pour les médicaments stériles et non stériles. La deuxième partie exposera le cadre réglementaire des biocides, et les changements liés au passage de la directive au règlement. Enfin, dans un troisième temps sera présenté un retour d'expérience sur la mise en place d'un nouveau sporicide au sein d'une unité de production injectable.

**1^{ERE} PARTIE : LE RISQUE DE CONTAMINATION BIOLOGIQUE EN
INDUSTRIE PHARMACEUTIQUE**

La contamination est définie par les BPF^[1] comme « l'introduction non intentionnelle d'impuretés de nature chimique ou microbiologique, ou de matière étrangère, à l'intérieur ou à la surface d'une matière première, d'un intermédiaire, ou d'une substance active, pendant la production, l'échantillonnage, le conditionnement ou le reconditionnement, le stockage ou le transport ».

Ces « impuretés », décrites ci-dessus, correspondent aux agents contaminants et sont classées en 3 types :

- La contamination biologique (biocontamination),
- La contamination particulaire,
- La contamination chimique.

Dans le contexte de cette thèse, nous nous attacherons plus particulièrement à la contamination biologique dans son ensemble.

La contamination biologique, ou biocontamination, est la présence de microorganismes indésirables sur une surface, dans un produit ou dans un environnement contrôlé.

Les microorganismes peuvent être séparés en trois groupes : les bactéries, les virus et les levures-moisissures. Invisibles à l'œil nu, ils se développent suivant des conditions de température, d'humidité, de pH et de milieu nutritif propres à chacun. Ces paramètres doivent être maîtrisés afin de minimiser leur développement au sein d'une industrie pharmaceutique.

1. La qualité microbiologique des médicaments

Pour garantir la qualité des médicaments exigée dans les réglementations, des contrôles microbiologiques de l'air et des surfaces sont réalisés tout au long de la chaîne de production, de la matière première au produit fini. Ces contrôles sont plus ou moins stricts en fonction du type de médicament, ou de sa forme galénique et donc de sa voie d'administration.

Ainsi, les exigences en matière de contamination microbiologique (présence, nature, concentration des microorganismes) pour un médicament injectable qui se doit d'être stérile, seront différentes de celles pour un comprimé sec non obligatoirement stérile.

1.1. Les médicaments stériles

La majorité des produits stériles sur le marché sont des médicaments injectables (parentéraux). L'administration parentérale permet d'injecter le médicament à l'intérieur d'un tissu ou directement dans la circulation sanguine par effraction du tissu cutané. La substance active arrive très rapidement vers le cœur et les centres nerveux, et son effet est quasi-immédiat.

Un médicament non stérile injecté à un patient peut provoquer un état infectieux très grave. Cette voie d'administration est donc une voie à haut risque. C'est pourquoi, la stérilité et l'apyrogénicité constituent des critères obligatoires de qualité microbiologique et de sécurité pour l'administration de ce type de médicament chez l'Homme.

1.1.1. Environnement de production

Le processus de fabrication des médicaments stériles est un processus aseptique qui impose des exigences très strictes afin d'éviter les risques de contamination microbienne, particulière et pyrogène. La fabrication est réalisée dans des zones à atmosphère contrôlée (ZAC) permettant de maîtriser l'environnement de production. Elles sont définies dans les normes de la série ISO 14644^[2] et reprises dans la ligne directrice 1 des BPF^[3].

On distingue 4 classes de ZAC selon leurs exigences de propreté environnementale : A, B, C et D, A étant la classe la plus exigeante. La classe B est l'environnement immédiat d'une zone de travail de classe A pour les opérations de préparation et de remplissage aseptiques. Le tableau 1 ci-dessous présente quelques exemples d'opérations réalisées dans les différentes ZAC :

Classe	Opérations sur des produits stérilisés dans leur récipient final	Opérations sur des préparations aseptiques
A	Remplissage de produits, si l'opération présente des risques inhabituels.	Préparation et remplissage aseptiques.
C	Préparation de solutions, si l'opération présente des risques inhabituels. Remplissage de produits.	Préparation de solutions destinées à être filtrées.
D	Préparation de solutions et d'accessoires aux fins de remplissage.	Manipulation d'accessoires après nettoyage.

Tableau 1: Exemples d'opérations réalisées dans les différentes ZAC^[3]

Pour respecter les exigences environnementales de ces classes, les BPF ont établi des recommandations concernant le nombre maximal de particules en suspension dans l'air, ainsi que la contamination microbiologique, mesurée en UFC (Unité Formant des Colonies), que l'on retrouve dans les tableaux ci-dessous. Le tableau 2 représente les limites recommandées actuelles de la contamination biologique et le tableau 3 représente les limites recommandées que l'on peut retrouver dans la prochaine version de l'annexe 1 des GMP, (*Good Manufacturing Practices*), attendue pour le premier semestre 2020.

Classe	Échantillon d'air UFC/m³	Boîtes de Pétri (diamètre 90 mm) UFC/4 heures	Géloses de contact (diamètre 55 mm) UFC/plaque	Empreintes de gant (5 doigts) UFC/gant
A	<1	<1	<1	<1
B	10	5	5	5
C	100	50	25	-
D	200	100	50	-

Tableau 2: Limites actuelles de contamination biologique^[3]

Classe	Échantillon d'air UFC/m³	Boîtes de Pétri (diamètre 90 mm) UFC/4 heures	Géloses de contact (diamètre 55 mm) UFC/plaque
A	1	1	1
B	10	5	5
C	100	50	25
D	200	100	50

Tableau 3: Limites futures de contamination biologique^[4]

La qualité de l'air et des surfaces est suivie en permanence via des compteurs particuliers et des contrôles microbiologiques, que nous détaillerons par la suite.

1.1.2. Procédés de fabrication

Pour obtenir un produit stérile, différents procédés, décrits dans la ligne directrice 1 des BPF^[2], peuvent être utilisés :

La répartition aseptique conventionnelle est dédiée aux médicaments, tels que les solutions ou les liquides, qui ne peuvent pas être stérilisés dans leur récipient final, ne supportant pas la chaleur de la stérilisation par la chaleur humide. On utilise donc la méthode de la filtration stérilisante, qui permet de filtrer le produit via un filtre stérile à pores de diamètre nominal de 0,22 micron, ou moins. Ce filtre est qualifié avec un microorganisme de référence, *Brevundimonas diminuta*, choisi pour sa très petite taille, de longueur 0,6 à 0,8 μm et de diamètre 0,3 μm ^[5]. Le produit est filtré au plus près du point de remplissage puis recueilli dans un récipient stérilisé. Ce procédé est effectué en classe A, elle-même entourée d'un environnement de classe B.

L'isotechnie rend possible la répartition aseptique en classe A entourée d'une classe C ou D. En effet, ce procédé permet de confiner la production du médicament afin de réduire les contaminations apportées par l'environnement et par l'être humain. Les deux technologies les plus couramment utilisées par les entreprises pharmaceutiques sont les RABS (*restricted access barrier system*) et les isolateurs. La technologie des RABS consiste à installer une barrière rigide entre la zone critique du procédé de fabrication, la classe A, et la zone réservée pour les opérateurs, la classe B. Cette séparation est cependant non stricte et l'environnement reste identique à une salle conventionnelle, à la différence de l'isolateur, qui crée un espace de confinement aseptique maîtrisé, classe A, séparant clairement le procédé de l'opérateur, en classe C ou D. Selon l'étude de comparaison réalisée par l'A3P (association pour les produits propres et parentéraux), l'isolateur est la solution la plus économiquement rentable ; en effet, il permet de réduire la facture énergétique de 15 à 20% et le niveau de surveillance de l'environnement. ^[6]

Le BFS (*blow, fill and seal* – soufflage, remplissage et scellage)^[7] est un procédé « trois en un » car toutes les opérations sont effectuées dans une seule et même machine, de la fabrication du contenant, à son remplissage avec le produit et son scellage. Le nombre limité d'interventions humaines (cycle automatique) et la zone de remplissage restreinte, en permanence sous un flux d'air stérile, permettent de limiter les contaminations du médicament.

La stérilisation terminale est un procédé qui permet d'obtenir un produit exempt de microorganismes viables et non viables dans son récipient final. Le remplissage des produits destinés à la stérilisation terminale doit être réalisé en classe A, B ou C^[3].

Il existe différentes méthodes de stérilisation comme la stérilisation par la vapeur, par la chaleur sèche ou par irradiation ionisante.

La stérilisation par la vapeur est la technique de première intention, car elle est la méthode la plus efficace pour éliminer une large variété de microorganismes.

La stérilisation par irradiation ionisante conviendra plutôt aux produits craignant la chaleur. Cette méthode permet la formation de radicaux libres entraînant la rupture des liaisons protéiques et donc l'altération des acides nucléiques des bactéries. La méthode par chaleur sèche, longue et coûteuse, est à proscrire.

1.1.3. Contrôles microbiologiques d'un produit stérile

La Pharmacopée exige deux types de test sur un produit fini stérile : un test de stérilité, permettant la recherche de microorganismes, et un test d'endotoxines. Les endotoxines sont des substances pyrogènes issues des bactéries Gram négatif. Un médicament peut être stérile et pyrogène, car ces bactéries, une fois mortes, libèrent ces substances de nature polysaccharidique capables de provoquer des élévations brusques et importantes de la température corporelle. Ce test des endotoxines est donc un test indirect qui traduit la présence passée de microorganismes au cours du procédé de fabrication, et/ou peut-être encore actuelle.

1.2. Les médicaments non stériles

Les médicaments non stériles regroupent de nombreuses formes galéniques telles que les comprimés, les gélules, les sirops, les pommades, les suspensions.

1.2.1. Environnement de production

Contrairement aux exigences BPF pour les médicaments stériles, la fabrication des médicaments non obligatoirement stériles ne requiert pas de zone particulière en matière de confinement. Néanmoins, certaines opérations de fabrication de formes sèches dites « à risque » peuvent faire l'objet d'une surveillance particulière et nécessitent un environnement classé D. Les étapes identifiées comme « à risque » sont celles où les matières sont manipulées, comme les opérations de pesées.

Le niveau de protection et de propreté de l'air doit être déterminé en fonction du produit fabriqué et du processus utilisé : le tableau 4 ci-dessous expose trois niveaux de protection que l'on peut retrouver pour la fabrication des formes pharmaceutiques non stériles.

Ces niveaux de protection sont mis en place via des centrales de traitement d'air (CTA) équipées de filtres spécifiques pour chaque zone.

Niveau	Condition	Exemple de zone	Filtration recommandée
Niveau 1	Général	Zone où il n'y a pas de risque de contamination pour le produit.	Filtre primaire moyenne efficacité uniquement (G4).
Niveau 2	Protégé	Zone dans laquelle des mesures sont prises pour protéger les matières.	Zones protégées 100% air extérieure, filtre primaire moyenne efficacité (G4) et filtre secondaire haute efficacité (F8 ou F9).
Niveau 3	Contrôlé	Zone dans laquelle des conditions environnementales spécifiques sont définies, contrôlées et surveillées pour prévenir les contaminations ou les dégradations des matières.	Air recyclé et air ambiant, en cas de risque de contamination croisée. Filtre primaire moyenne efficacité (G4), filtre secondaire haute efficacité (F8 ou F9) et filtre tertiaire très haute efficacité (H13).

Tableau 4 : Exemples de niveaux de protection pour les formes sèches^[8]

1.2.2. Contrôles microbiologiques d'un produit non stérile

Contrairement aux médicaments obligatoirement stériles, la Pharmacopée Européenne accepte, selon la voie d'administration, une faible charge microbienne (biocharge) dans le produit fini et l'absence de germes spécifiés considérés comme « pathogènes », selon la voie d'administration (tableau 5).

Les analyses réalisées sur les formes sèches permettent de déterminer si le produit est conforme aux exigences de sa catégorie.

La Pharmacopée Européenne^[9] donne des critères d'acceptation applicables aux produits pharmaceutiques non stériles sur la base de deux types de tests :

- Le dénombrement microbien qui comprend le dénombrement des germes aérobies totaux (DGAT) pour les bactéries et le dénombrement des moisissures et levures totales (DMLT),
- La détection de microorganismes spécifiés pouvant être pathogènes pour l'Homme : *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Aspergillus brasiliensis*, *Candida albicans* et les Salmonelles.

Voie d'administration	DGAT (UFC/g ou UFC/mL)	DMLT (UFC/g ou UFC/mL)	Microorganismes spécifiés
Voie orale : préparations non aqueuses	10 ³	10 ²	Absence d' <i>Escherichia coli</i> (1 g ou 1 mL)
Voie orale : préparations aqueuses	10 ²	10 ¹	Absence d' <i>Escherichia coli</i> (1 g ou 1 mL)
Voie rectale	10 ³	10 ²	-
Voie buccale Voie gingivale Voie cutanée Voie nasale Voie auriculaire	10 ²	10 ¹	Absence de <i>Staphylococcus aureus</i> (1 g ou 1 mL) Absence de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1 g ou 1 mL)
Voie vaginale	10 ²	10 ¹	Absence de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1 g ou 1 mL) Absence de <i>Staphylococcus aureus</i> (1 g ou 1 mL) Absence de <i>Candida albicans</i> (1 g ou 1 mL)
Voie transdermique (limites pour un dispositif transdermique, film protecteur et support compris)	10 ²	10 ¹	Absence de <i>Staphylococcus aureus</i> (1 dispositif) Absence de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1 dispositif)
Inhalation (des exigences spécifiques s'appliquent aux préparations liquides dispensées au moyen de nébuliseurs)	10 ²	10 ¹	Absence de <i>Staphylococcus aureus</i> (1 g ou 1 mL) Absence de <i>Pseudomonas aeruginosa</i> (1 g ou 1 mL) Absence de bactéries gram-négatives résistantes aux sels biliaires (1 g ou 1 mL)
♦ Disposition spéciale de la Ph. Eur. pour les préparations pour administration par voie orale contenant des matières premières d'origine naturelle (animale, végétale ou minérale), lorsqu'un prétraitement antimicrobien est impossible et que l'Autorité compétente admet une DGAT des matières premières supérieure à 10 ³ UFC/g ou UFC/mL.	10 ⁴	10 ²	Au maximum 10 ² UFC de bactéries gram-négatives résistantes aux sels biliaires (1 g ou 1 mL) Absence de salmonelles (10 g ou 10 mL) Absence d' <i>Escherichia coli</i> (1 g ou 1 mL) Absence de <i>Staphylococcus aureus</i> (1 g ou 1 mL)♦
♦ Disposition spéciale de la Ph. Eur. pour les prémélanges pour aliments médicamenteux pour usage vétérinaire contenant des excipients d'origine végétale sur lesquels un traitement antimicrobien est impossible.	10 ⁵	10 ⁴	Au maximum 10 ⁴ UFC de bactéries gram-négatives résistantes aux sels biliaires (1 g ou 1 mL) Absence d' <i>Escherichia coli</i> (1 g ou 1 mL) Absence de salmonelles (25 g ou 25 mL)♦

Tableau 5: Critères d'acceptation de la qualité microbiologique des formes pharmaceutiques non stériles

L'exigence des contrôles microbiologiques est quantitative, mais limitée dans la recherche d'espèces qui sont à proscrire. Pour garantir la qualité du produit et la sécurité du patient, il est conseillé de réaliser une analyse de risque microbiologique au regard de différents facteurs^[9]:

- L'utilisation du produit : risque variable selon la forme galénique et la voie d'administration (nasale, respiratoire),
- La nature du produit : aptitude à favoriser la croissance microbienne (haute teneur en eau), propriétés antimicrobiennes adéquates,
- La catégorie de patients visée : risque potentiellement différent pour les nourrissons, les jeunes enfants, les personnes âgées,
- L'emploi d'agents immunosuppresseurs, de corticostéroïdes et l'existence de pathologies, de blessures, de lésions organiques, chez le patient concerné.

1.3. Les conséquences de la biocontamination

1.3.1. Sur le produit

La conséquence de la biocontamination ne sera pas la même en fonction du type de médicament considéré. En effet pour un médicament stérile, la moindre contamination induit obligatoirement une non-conformité du produit. Pour un médicament non obligatoirement stérile, en fonction du niveau et du type de contamination, le produit peut être conforme.

La biocontamination d'un médicament peut altérer le produit ; par exemple, certains lots de la spécialité Galactogil en 2007 ont dû être retiré du marché par l'ANSM (agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé), les patients ont fait remonter la présence d'une mauvaise odeur et d'un goût inhabituel, les analyses de ce médicament ont mis en évidence une contamination microbienne par *Bacillus subtilis* et *Bacillus lentus*.^[10]

Si un médicament contaminé est libéré sur le marché, les conséquences de sa contamination peuvent devenir un risque potentiel pour le patient.

1.3.2. Sur le patient

Les conséquences de l'administration au patient d'un médicament biocontaminé dépendent de plusieurs facteurs : la pathogénicité de la bactérie, sa virulence et son éventuel caractère toxigène, l'âge et/ou l'état de santé du patient, la voie d'administration et la quantité de substance infectieuse. La pathogénicité est la capacité à envahir l'organisme et/ou la capacité à produire des toxines. Une bactérie peut être :

- Commensale → elle constitue la flore commensale de l'hôte, dans ce cas elle ne sera généralement pas dangereuse pour le patient ; par exemple les entérobactéries.
- Pathogène spécifique → elle provoque des infections quel que soit le patient, sauf dans le cas des porteurs sains ; par exemple *Mycobacterium tuberculosis*.
- Pathogène opportuniste → elle entraîne des troubles uniquement chez un hôte immunodéficient ; par exemple *Pseudomonas aeruginosa*.

Les conséquences d'une telle contamination dépendent du système immunitaire de l'hôte, mais également de la nature de l'agent pathogène. En effet, les patients qui sont plus facilement atteints sont les personnes âgées ou les immunodéprimés (patients malades et/ou sous traitement), qui ont leurs défenses affaiblies, ou les bébés, qui possèdent un système immunitaire encore immature.

2. Les sources et préventions de la biocontamination

Les sources de biocontamination sont communes à toute production pharmaceutique, mais les préventions de celles-ci seront différentes en fonction des exigences réglementaires. Un médicament stérile demande un niveau de protection plus élevé qu'un médicament non stérile, avec des installations, des méthodes et des équipements de protections individuelles (EPI) plus complexes.

Pour mettre en évidence les sources potentielles de biocontamination, il est possible d'utiliser la méthode des « 5M ». C'est une des méthodes d'analyse permettant d'identifier les différentes causes d'un problème, classées selon les 5 points suivants : matière, matériel, main-d'œuvre, milieu et méthode. Chacun des 5M est associé à un chapitre des BPF dans lesquels sont présentées les règles de prévention contre la contamination.

2.1. Main-d'œuvre

L'Homme est la principale source de biocontamination en industrie pharmaceutique. En effet, notre peau est recouverte par des milliards de bactéries qui, lorsqu'ils ne sont pas pathogènes, constituent notre flore résidente dite saprophyte (tableau 6).

De plus, l'Homme contamine en permanence l'air qui l'entoure en générant des particules inertes telles que les cellules mortes de la peau ou les cheveux.

Partie du corps/fluide corporel	Nombres de germes
Mains	100 à 1000/cm ² de peau
Front	10000 à 100000/cm ² de peau
Cuir chevelu	1000000/cm ² de peau
Aisselles	1000000 à 10000000/cm ² de peau
Sécrétions nasales	10000000/g
Salive	100000000/g
Matières fécales	100000000/g

Tableau 6: Flore microbienne de l'Homme^[11]

Pour limiter les risques de contaminations, il est primordial que le personnel respecte des procédures d'hygiène et d'habillement. Dans chaque zone d'activité, le personnel doit porter une tenue adaptée pour sa propre protection mais également pour protéger le produit, notamment si l'opérateur est en contact direct avec celui-ci.

En production aseptique, le port de gant stérile est obligatoire et le vêtement stérile ne doit libérer ni fibre, ni particules et doit retenir les particules émises par l'opérateur. Lors de l'habilitation, l'opérateur doit être capable d'enfiler, trois fois de suite, sa tenue et ses gants sans apporter de contamination ; des prélèvements microbiologiques sont réalisés afin de vérifier leur stérilité.

L'hygiène des mains est essentielle, car elles sont vectrices de nombreux microorganismes. Il est obligatoire de réaliser un lavage des mains de 30 secondes minimum au savon doux suivi d'une désinfection au gel hydro-alcoolique de 30 secondes minimum avant d'entrer en zone périphérique de la production injectable et en zone de production pour les formes sèches. Ces étapes de lavage et de désinfection des mains doivent être rigoureusement suivies afin d'éviter le manu-portage des microorganismes en zone de production.

Le lavage et les désinfections des mains s'effectuent en 7 étapes précises (figure 1).



Figure 1: Les 7 étapes de lavage et de désinfection des mains^[12]

Toutes ces pratiques sont acquises au cours de formations de base sur la théorie et la pratique des BPF. Le personnel de l'entreprise doit également suivre des formations appropriées aux tâches qui lui sont attribuées. Ces formations sont continues et périodiquement évaluées.

2.2. Milieu

Après le personnel, l'environnement de travail est sans nul doute l'un des facteurs prépondérants concernant le risque de contamination lors de la fabrication de médicaments. Sa maîtrise est définie dès la conception des locaux, dans un cahier des charges rigoureux, qui doit permettre de garantir le respect des BPF, et autres exigences réglementaires.

Conception des locaux

La zone de production doit être conçue de manière à éviter les dépôts de poussières et la croissance des microorganismes. Pour cela, le choix des matériaux est important et le design doit être pensé afin que les surfaces soient lisses et imperméables, sans fissures ni recoins. L'agencement des locaux doit permettre un nettoyage et une désinfection faciles.

Pour éviter les contaminations, des flux de circulation du personnel, des matières et des déchets doivent être étudiés et mis en place. Les sas, qui peuvent prendre l'apparence d'un passe-plat, d'un vestiaire ou d'un passe-chariot, ont un rôle important dans les flux de circulation. Ils permettent le transfert de ces différents flux d'un point A à un point B sans perturber les locaux qui l'entourent : entrée / sortie du personnel, entrée des matières premières / sortie des produits finis. En effet, ces sas, qui sont obligatoires, créent une barrière entre une zone dite « propre » où l'on retrouve la zone d'activité, et une zone « sale » de circulation. Cette barrière est à la fois physique et aérodynamique, par un jeu de gradients de pression atmosphérique.

La zone propre est généralement en surpression pour éviter les contaminations de celle-ci. Mais une salle contenant des poudres doit être en dépression pour éviter la dissémination des poudres, et ainsi protéger le personnel extérieur.

- Traitement de l'air

La réglementation impose d'avoir des locaux de classes particulières bien distinctes selon l'activité réalisée. Ces classes particulières sont décrites dans les normes de la série ISO 14644-1^[2], reprises également dans les BPF pour les ZAC.

Pour respecter ces classes, des centrales de traitement de l'air sont mises en place dans les zones de production. La conception des CTA doit être soignée et conçue en fonction du produit à protéger. Ainsi, un produit cytotoxique demandera un flux d'air neuf, tandis que l'air utilisé dans les locaux de production d'un médicament non obligatoirement stérile pourra être recyclé.

La maintenance préventive pour ces installations ne doit pas être négligée, car les CTA permettent de maîtriser la qualité de l'air par sa filtration, son renouvellement, ainsi que la régulation de la pression, de la température et de l'hygrométrie.

Ces trois paramètres sont suivis continuellement et notamment en ZAC, où le médicament stérile a besoin d'être protégé de toutes contaminations^[3] :

- Un système de cascade de pression est établi entre les zones de « propreté » différente, l'objectif étant d'éviter de contaminer les zones les plus propres par les zones les moins propres (par exemple : contamination de la classe B par la classe D). Les différentiels de pression sont de 10-15 pascals.
- La température et l'humidité relative dépendent de la nature du produit, des opérations réalisées et du confort du personnel qui y travaille. Une trop haute humidité relative en zone aseptique favorise le développement des microorganismes, notamment des moisissures. Une trop faible humidité relative favorise l'attraction des particules par le phénomène d'électricité statique.

- Le taux de renouvellement horaire (TRH) exprime la capacité « d'auto-nettoyage » du local. Plus le produit doit être protégé et/ou plus le local est « sale », plus le TRH doit être élevé. Le TRH est le nombre de fois, en une heure, où le volume d'air soufflé est égal au volume du local pour un local de 100 m³. Par exemple, pour un soufflage de 100 m³/heure, le TRH est de 1/heure ; pour un soufflage de 1000 m³/heure, le TRH sera de 10/heure. Le TRH doit permettre le retour au niveau de propreté prévu en 15 à 20 minutes environ.

2.3. Matière

Les matières représentent l'ensemble des éléments qui constituent un médicament : les matières premières (principes actifs, excipients), les articles de conditionnements (primaires et secondaires), les produits semi-ouvrés, les produits finis. Les matières concernent également les utilités et les produits de nettoyage / désinfection.

Dès réception, chaque contenant de matière est vérifié afin de contrôler l'étiquetage, et l'intégrité des scellés. Afin d'éviter les confusions et les contaminations, toutes les matières sont clairement identifiées. Chaque lot de matière est prélevé pour être analysé par le laboratoire du contrôle qualité, afin d'assurer la conformité de la matière selon les spécifications du fournisseur.

Les échantillons doivent être représentatifs du lot de matière ; des méthodes d'échantillonnage doivent spécifier le nombre de contenants à échantillonner, la partie du contenant ainsi que la quantité. Les contenants échantillonnés seront identifiés.

2.4. Matériel

Les équipements de production doivent être conçus pour faciliter le nettoyage et la désinfection. On privilégiera donc du matériel démontable, non émetteur de contaminants, à surface lisse et sans recoin.

Tout matériel destiné à entrer en zone de production doit être propre et désinfecté et/ou stérilisé. Des autoclaves et des passe-plats à double porte sont mis en place afin d'éviter les contaminations entre les zones de différentes classes. Chaque matériel doit être clairement identifié pour éviter les confusions entre le matériel dédié, le matériel sale et propre.

2.5. Méthode

Les méthodes, essentielles au sein d'une entreprise pharmaceutique, incluent les différentes étapes d'un procédé, en général depuis l'entrée des matières jusqu'au conditionnement des produits finis. Les méthodes sont écrites et formalisées par des documents qualité.

Il existe différents niveaux de documentation :

- les documents généraux tels que les processus et les procédures qui permettent d'établir un ensemble de règles et d'actions pour obtenir un résultat défini,
- les instructions de travail tels que les modes opératoire, les imprimés, qui permettent de décrire dans le détails les opérations à réaliser,
- les enregistrements pour tracer les résultats des opérations.

3. Surveillance environnementale, les moyens de contrôle^[13]

Pour prouver que les conditions microbiologiques conformes aux exigences de la réglementation ont été maintenues tout au long de la production, un monitoring de l'environnement doit être mis en place. Ce monitoring doit obligatoirement inclure les points les plus critiques qui sont en contact direct avec le produit et/ou le contenant, via une analyse de risque.

Le contrôle particulière est également important car un microorganisme n'est jamais isolé dans l'air, il est toujours lié à un support qui peut-être, soit une surface, soit une particule en suspension dans l'air, on parle alors de bio-aérosol.

Par conséquent, le contrôle particulière est représentatif du risque de contamination microbiologique ; plus l'environnement a une contamination particulière élevée et plus il présente un risque élevé de contamination microbiologique.

Plusieurs techniques permettent de mettre en évidence les microorganismes dans l'air, sur les surfaces et les tenues des opérateurs. Le personnel, dédié au contrôle qualité de l'environnement, est habilité à ces méthodes de contrôle. Tous les prélèvements, permettant de déterminer la qualité microbiologique de l'environnement, sont effectués dans les meilleures conditions d'asepsie :

- Ports de gants stériles,
- Tenue adaptée,
- En évitant de parler durant les prélèvements.

3.1. Contrôles microbiologiques de l'air

Les contrôles microbiologiques de l'air vont permettre d'analyser la zone de production, en activité et au repos, afin d'établir une cartographie de la flore environnementale.

Il existe deux méthodes de contrôle de l'air :

- La méthode par impaction,
- La méthode par sédimentation.

Ces deux méthodes utilisent des milieux gélosés favorisant, selon leur composition, la prolifération et le développement des microorganismes.

3.1.1. La méthode par impaction sur gélose

La méthode par impaction sur gélose est un dispositif actif de prélèvement microbien (figure 2). Elle permet de déterminer le taux de contamination microbienne d'1 m³ d'air a minima et donc d'estimer la qualité de l'air sur le plan microbien.

L'air est prélevé à travers une tête perforée (crible préalablement stérilisé) puis projeté sur un milieu de culture gélosé, qui peut être choisi en fonction de la flore microbienne (durée du prélèvement environ 10 minutes).

Le contrôle est généralement réalisé selon la conception des locaux :

- soit sous bouche de ventilation, à environ 1,20 m du sol,
- soit au plus près du plan de travail de l'atelier ou du lieu d'exposition du produit.

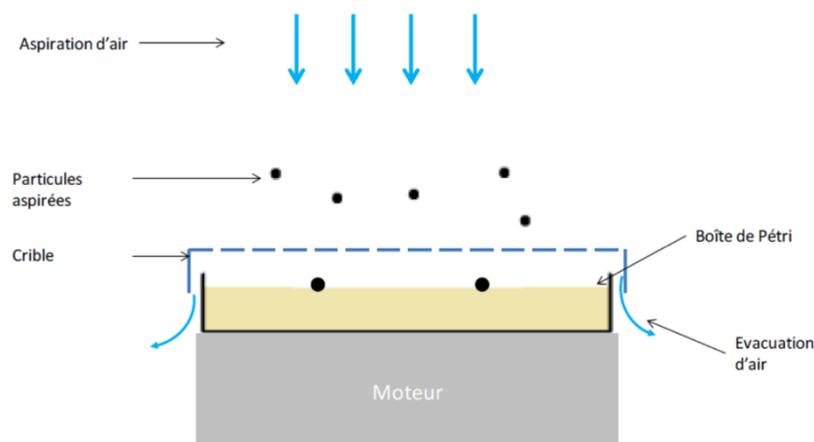


Figure 2: Méthode par impaction sur gélose^[14]

L'avantage de cette méthode est qu'elle permet de faire une cartographie de la zone de production, en activité et au repos. Ainsi, en fonction de la qualité de l'air microbien, des actions préventives pourront être mises en place pour éviter toute contamination.

L'inconvénient de cette méthode est qu'elle nécessite l'usage d'un équipement spécifique, qui doit être utilisé par une personne habilitée.

De plus, la qualité du milieu gélosé est importante ; pour éviter sa dessiccation, le milieu doit être coulé au maximum trois semaines avant son utilisation et à une hauteur suffisante dans la boîte de Pétri.

3.1.2. La méthode par sédimentation

La méthode par sédimentation est un dispositif passif de prélèvement microbien (figure 3).

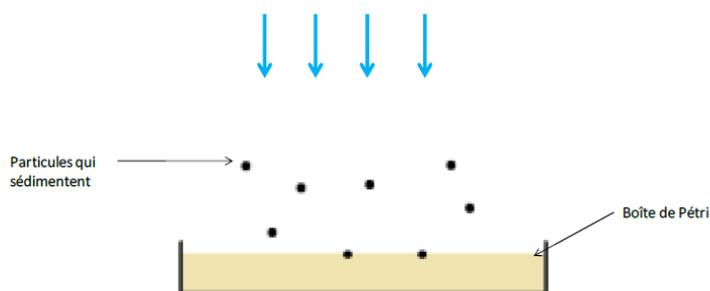


Figure 3: Méthode par sédimentation^[14]

Elle consiste en l'exposition d'une boîte de Pétri (BP) contenant un milieu spécifique pendant une durée déterminée (généralement 4 heures).

Le plus souvent, la gélose trypticase soja est utilisée ; elle convient à la culture de nombreux germes aérobies communs qui s'y développent rapidement.

Cette méthode n'est pas représentative de la contamination d'un environnement dans son ensemble mais d'un seul et unique point, où elle tient compte, en condition d'activité, des flux et mouvements liés à la ventilation et aux personnes. Il est donc important de bien choisir le point de contrôle pour se rendre compte de l'impact gestuel des opérateurs sur le risque de contamination.

3.2. Contrôles microbiologiques des surfaces

À l'instar des contrôles microbiologiques de l'air, les contrôles microbiologiques des surfaces vont permettre l'élaboration d'une cartographie de la flore environnementale.

Des contrôles tournants peuvent être réalisés afin d'obtenir plus de données sur les points critiques et ainsi renforcer les préventions environnementales, telles que le nettoyage et la désinfection.

On détermine le taux de contamination microbienne des surfaces, plafonds, sols, murs par les deux méthodes suivantes :

- La méthode par empreinte,
- La méthode par écouvillonnage.

3.2.1. La méthode par empreinte

Les boîtes count-tact® (CT), contenant un milieu nutritif gélosé, ont un diamètre de prélèvement de 25 cm². Le milieu contient des agents neutralisants ayant pour but d'inactiver les désinfectants résiduels présents sur la surface à tester et permet donc des tests comparatifs avant et après désinfection. Le fournisseur pourra valider cette neutralisation, afin d'assurer que les agents neutralisants sont efficaces sur les résidus de produits désinfectants présents sur le site et éventuellement présents sur les surfaces.

Les CT sont à appliquer directement sur la surface à contrôler. Le temps de contact est de quelques secondes en exerçant une pression uniforme sans décrire de mouvement linéaire ou circulaire. L'opérateur peut également utiliser un applicateur permettant de standardiser le prélèvement, avec une force d'appui de 25g/cm² pendant 10 secondes.

Après toute utilisation de CT, la surface contrôlée est à nettoyer par passage d'un tissu imbibé de désinfectant.

3.2.2. La méthode par écouvillonnage

Un écouvillon stérile est frotté contre la surface à contrôler. Cet écouvillon peut être sec ou humidifié à l'aide d'un diluant-neutralisant ou d'un milieu de rinçage stérile. La surface à contrôler peut-être une surface équivalente à la surface d'une boîte CT, soit environ 25 cm² délimité à l'aide d'un gabarit, ou toute la surface du matériel (figure 4). Tout en le tournant lentement, l'écouvillon est passé sur la surface à prélever en stries parallèles rapprochées. Le prélèvement de la même zone est répété par des stries perpendiculaires aux premières.

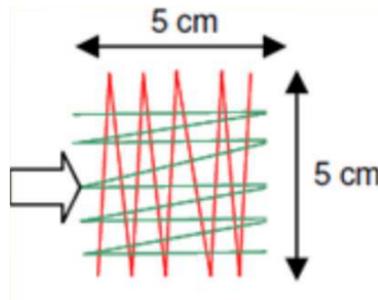


Figure 4: Méthode par écouvillonnage^[15]

L'écouvillon permet ensuite d'ensemencer des milieux de culture. La surface contrôlée est à nettoyer par passage d'un tissu imbibé de désinfectant.

D'autres supports de prélèvements peuvent être utilisés tels que les « éponges » ou les tissus d'essuyage. Cette technique permet d'échantillonner des surfaces importantes et/ou irrégulières ne permettant pas un prélèvement par contact. La nature du matériau des écouvillons est importante, car elle permet de réaliser différents effets de prélèvements / de « grattages » qui donneront des résultats différents et/ou complémentaires.

3.3. Contrôle du personnel

Le personnel est un vecteur important de microorganismes, 70 à 80 % des microorganismes isolés en ZAC sont d'origine humaine.

Des échantillons microbiologiques des surfaces des doigts de gants de chaque opérateur doivent être prélevés à l'aide de BP, à chaque entrée et sortie de la zone stérile en classe B et en cours de production.

Des prélèvements supplémentaires peuvent être réalisés pour le personnel travaillant en zones de classe A/B, par exemple des prélèvements de la tenue, sur la cagoule, les avant-bras et le torse.

3.4. Mise en incubation

Les prélèvements sont ensuite mis en incubation en étuve, dans un environnement propice au développement microbien. La multiplication des microorganismes va dépendre de la température et du milieu choisi. Les microorganismes seront ensuite identifiés au genre et le cas échéant à l'espèce, afin de déterminer la source probable du contaminant.

Le programme d'incubation des milieux de culture est bien documenté pour la production des médicaments stériles en milieu aseptique. Même s'il semble normal que les contrôles réalisés en zone non classée, pour les médicaments non obligatoirement stériles, suivent le même programme d'incubation, il existe peu de documentation à ce sujet.

Alors que rien n'est indiqué dans l'annexe I des BPF, plusieurs réglementations recommandent la durée et la température d'incubation des prélèvements (tableau 7).

Référence	Test	Conditions d'incubation	
		Température en °C	Durée
ISO 14698-1 ^[13]	DGAT	Non précisé	2 à 5 jours
	DMLT	Non précisé	5 à 7 jours
USP <1116> ^[16]	DGAT / DMLT	20-35	≥ 72 h
FDA ^[17]	DGAT	30-35	48 à 72 h
	DMLT	20-25	5 à 7 jours
JP ^[18]	DGAT	30-35	> 5 jours
	DMLT	20-25	> 5 jours
	Aérobie	25-30	> 5 jours
	Anaérobie	30-35	> 5 jours
WHO ^[19]	DGAT/DMLT	20-25°C pendant 3 à 5 jours puis 30-35°C pendant 2 à 3 jours	

Tableau 7: Recommandations programme d'incubation des milieux de culture

Le programme d'incubation des milieux de culture reste encore actuellement un sujet de discussion. Après une enquête, l'association A3P a noté une variabilité de programmes d'incubation au sein des entreprises pharmaceutiques. La plupart utilise un temps d'incubation de 3 jours minimum à 20-25°C, puis de 2 jours minimum à 30-35°C, quand d'autres préfèrent 2 jours minimum à 30-35°C uniquement^[20].

3.5. La flore environnementale

L'évaluation de la biocontamination va permettre de suivre et de maîtriser la flore environnementale des zones de production. En effet, les microorganismes peuvent provenir d'habitats différents comme l'Homme, l'eau, l'environnement.

Le tableau 8 ci-dessous représente les origines et habitats des microorganismes les plus fréquemment rencontrés en salle propre.

Micro-organisme	Origine/Habitat
<i>Micrococcus sp.</i> (luteus, lylae...) <i>Staphylococcus sp.</i> (epidermidis...)	Homme (nez, bouche, pharynx)
<i>Corynebacterium sp.</i> (jeikeium, appendicis...) <i>Acinetobacter sp.</i> (lwoffii);	Homme
<i>Rhodococcus sp.</i> , <i>Brevibacterium sp.</i> <i>Pseudomonas sp.</i> , <i>Ralstonia sp.</i>	Environnement, homme Eau
<i>Aspergillus sp.</i> <i>Cladosporium sp.</i> <i>Penicillium sp.</i>	Environnement, air
<i>Bacillus sp.</i> (licheniformis, sphaericus...), <i>Paenibacillus sp.</i>	Environnement, air

Tableau 8 : Isolats environnementaux les plus couramment rencontrés et habitat^[21]

La connaissance de la flore microbienne permet de connaître l'origine de la contamination. Des actions adaptées pourront ainsi être mises en œuvre pour améliorer la qualité de l'environnement.

Prenons l'exemple d'une évaluation de la biocontamination au sein d'une zone de production stérile sur une année.

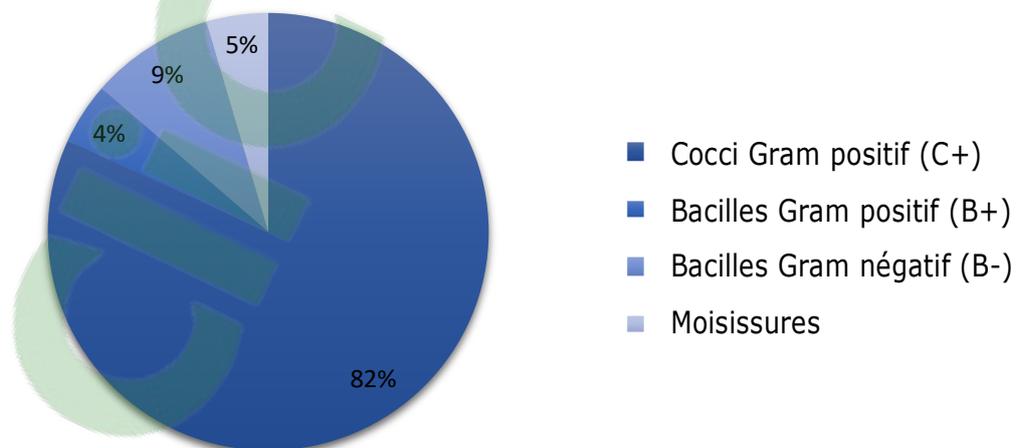


Figure 5: Exemple de distribution des isolats par type en classe A/B

La figure 5 ci-dessus montre qu'on retrouve 4 grands types de microorganismes :

- Les Cocci Gram positif (C+) représentent 82%, soit la majorité des microorganismes isolés. *Micrococcus* et *Staphylococcus* sont les deux genres bactériens les plus retrouvés. Ces bactéries sont présentes essentiellement chez l'Homme et l'espèce animale.
- Les Bacilles Gram négatifs (B-) représentent 9% de la contamination. Les deux bactéries retrouvées sont *Pseudomonas cedrina* vivant majoritairement dans l'eau et le sol, ainsi que *Moraxella osloensis* évoluant chez l'Homme et les animaux mammifères.
- Les moisissures et les Bacilles Gram positif (B+ - sporulés / non sporulés) sont retrouvés respectivement à 5% et 4% dans la zone de production. Ces microorganismes proviennent le plus souvent du sol et de l'environnement.

Dans cet exemple, la majorité des contaminations proviennent de l'Homme et de l'environnement extérieur. Pour diminuer les contaminations microbiologiques et selon le type de microorganismes, on pourra mettre en place différentes actions :

- Former les opérateurs à l'importance du respect de l'habillement, de la gestuelle, du lavage et de la désinfection des mains ainsi que de l'hygiène de vie,
- Identifier les points critiques, notamment les interfaces entre les zones de classe différentes,
- Éviter de faire entrer dans la zone de production des matériaux tels que les cartons qui sont les principaux supports de développement pour les moisissures,
- Utiliser des sas de transfert personnel / matériel permettant d'assurer une barrière physique et aérodynamique entre deux zones de classes différentes,
- Maitriser la désinfection du matériel entrant en zone de production par des méthodes approuvées et des produits efficaces.

Lors de la fabrication des médicaments, les agents microbiens, selon le degré de confinement et de propreté en place, sont présents dans l'environnement de production, sur les équipements et matériels de fabrication. Ces microorganismes pourront également être apportés par les matières premières et les opérateurs eux-mêmes. Ces contaminations biologiques induisent un risque pour le patient.

4. Les moyens de lutte, le nettoyage et la désinfection^[22]

Au sein des entreprises pharmaceutiques, plusieurs moyens sont mis en place pour garantir la maîtrise des contaminations biologiques, tels que les systèmes de traitement d'air, les sas, les tapis de décontamination, le confinement. Cette maîtrise est indispensable pour la qualité du médicament et la sécurité du patient.

Le nettoyage et l'utilisation de solutions désinfectantes permettent également de lutter contre la biocontamination, par des actions mécanique et chimique.

4.1. Terminologies

4.1.1. Nettoyage – lavage – désinfection

Les termes de nettoyage, lavage, désinfection sont très souvent mal utilisés ; il convient de définir clairement au sein du site pharmaceutique le sens donné à ces termes. Ainsi le mot « nettoyage » englobe très souvent la partie lavage qui fait appel à un agent détergent et la partie désinfection qui nécessite l'emploi d'un produit désinfectant (figure 6).

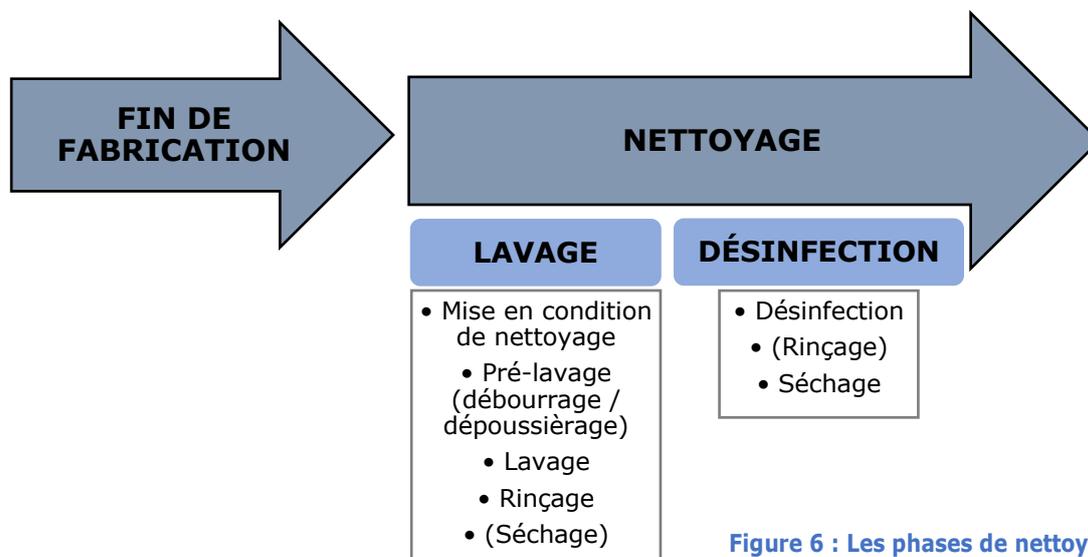


Figure 6 : Les phases de nettoyage

4.1.2. Détergent – désinfectant – antiseptie

Les termes détergent et désinfectant sont très souvent confondus ou mal utilisés alors qu'ils ont tous les deux des activités physicochimiques et des spécifications distinctes. Ces deux produits ont donc un rôle différent, mais peuvent être complémentaires en fonction de la nature de l'intervention désirée.

Un détergent ou agent de nettoyage a pour objectif de détacher les microorganismes et les salissures d'une surface par leur mise en suspension ou en solution. C'est pourquoi une étape de rinçage est généralement nécessaire après le passage d'un détergent.

Le détergent « prépare le terrain » et améliore ainsi l'efficacité du désinfectant en augmentant la surface de contact des microorganismes avec celui-ci ainsi qu'en éliminant les facteurs d'interférence représentés par les salissures.

Les produits détergents renfermeront des agents tensioactifs pouvant être associés à des agents chélatants, dispersants, et à des composés alcalins, acides ou neutres. L'effet détergent résultera donc de plusieurs effets cumulés, le pouvoir mouillant, l'effet saponifiant et dispersant.

Un désinfectant va s'attaquer aux différents éléments organiques des microorganismes afin de les éliminer ou de les tuer. Il renfermera une ou plusieurs substances actives biocides. On distinguera : les antiseptiques, destinés à éliminer les microorganismes au niveau des tissus vivants, et les désinfectants, encore appelés biocides, utilisés pour désinfecter les milieux inertes. On parle ainsi de la désinfection des mains mais d'antisepsie de la plaie (tableau 9).

	Désinfection	Antisepsie
Objectifs	Éliminer et/ou détruire les microorganismes	
Durée de l'effet obtenu	Momentanée	
Action sur l'infection / Utilisation	Prévention pour la peau saine / Sur des matériaux inertes	Traitement pour la peau lésée et les muqueuses

Tableau 9: Comparaison des opérations de désinfection et d'antisepsie^[23]

Certains produits renfermeront à la fois des agents détergents et des substances actives biocides, on parlera alors de détergents-désinfectants. La présence d'agents tensio-actifs dans une solution peut avoir un double rôle : permettre une action de détergence et faciliter la réaction de l'agent désinfectant sur la structure microbienne.

4.2. Activités des désinfectants

Les désinfectants seront caractérisés par leur spectre d'activité antimicrobienne, défini dans la norme européenne EN 14885^[24]. Ainsi, pour revendiquer un spectre d'activité, le produit devra être conforme aux normes d'efficacité décrites dans ce document.

Les désinfectants peuvent avoir la capacité de réduire, dans des conditions définies, le nombre de :

- Cellules viables appartenant à des bactéries: activité bactéricide,
- Cellules viables du groupe des mycobactéries: activité tuberculocide ou mycobactéricide,
- Cellules végétatives viables de levures et de spores de moisissures: activité fongicide,
- Spores bactériennes viables: activité sporicide,
- Particules virales infectieuses: activité virucide.

Les désinfectants peuvent également avoir la capacité d'inhiber, dans des conditions définies :

- Le développement des cellules bactériennes viables: activité bactériostatique,
- Le développement des champignons (moisissures et/ou levures): activité fongistatique,
- La germination des spores bactériennes dormantes: activité sporistatique.

La désinfection ne permet pas d'atteindre un état stérile, exempt de microorganismes viables, mais permet une réduction de la charge microbienne en fonction de son type d'activité. Généralement les niveaux de réduction logarithmique requis pour revendiquer une activité sont les suivants :

- Bactéricidie: 5 log,
- Fongicidie et levuricidie: 4 log,
- Sporicidie: 3 log,
- Virucidie: 4 log.

Cette exigence pourra toutefois varier selon le domaine d'application du produit et le type de norme utilisé. L'activité des désinfectants dépendra également des conditions d'usage : le spectre, la concentration, le temps de contact.

4.3. Le nettoyage avec « TACT »

Le TACT (température, action mécanique, chimique et temps de contact), représenté par le cercle de Sinner (figure 7), sont 4 paramètres critiques interdépendants qui contribuent à obtenir un nettoyage de qualité. L'efficacité du nettoyage dépend de l'équilibre entre ces 4 facteurs. Si l'un des facteurs est diminué, il faudra compenser en augmentant un ou plusieurs facteurs.

Attention, l'efficacité du nettoyage va également dépendre de la nature des surfaces et du type de souillure que l'on nettoie et/ou le temps de latence entre la fin de la production et le nettoyage. Cette durée est appelée le *dirty hold time* (DHT) et doit être définie et validée.

En fonction du DHT, les paramètres et les performances de nettoyage ne seront pas les mêmes. En effet, plus le DHT sera long, plus il aura un risque d'avoir un assèchement ou un développement bactérien avec formation de biofilm, et plus l'efficacité du nettoyage sera compromise.

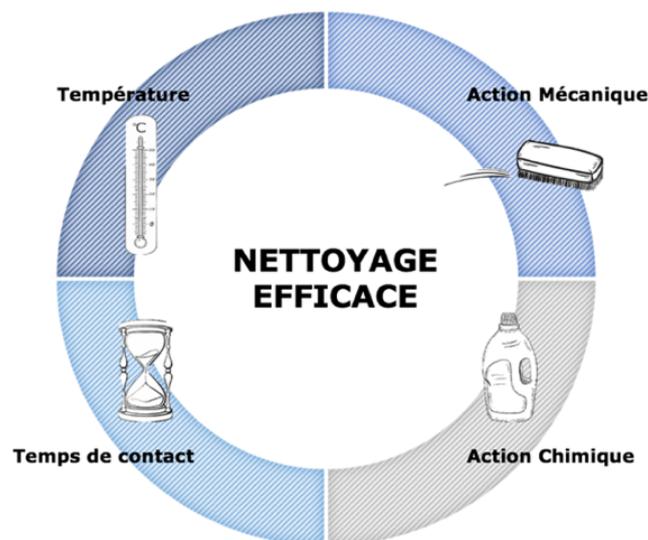


Figure 7 : Le cercle de Sinner

4.3.1. La température

La température va permettre de favoriser la pénétration de substances actives des détergents au niveau de leur cible. Généralement, une augmentation de la température facilite le nettoyage, mais il existe des exceptions ; il est donc important d'adapter la température à la nature des souillures et aux détergents utilisés.

Par exemple les détergents acides ont un effet sur les souillures minérales ou métalliques. Les détergents neutres sont préconisés pour avoir une action sur les souillures hydrosolubles. Et les détergents alcalins ont une action sur les souillures organiques, telles que l'huile ou les graisses.^[25]

4.3.2. L'action mécanique

L'action mécanique est l'action de frotter à l'aide de brosses, lingettes, balais, ou de manière automatisée. Elle a pour but d'améliorer l'efficacité des détergents car elle permet de mettre en suspension les salissures ou microorganismes, de les disperser, fragmenter, pour les éliminer plus facilement.

4.3.3. L'action chimique

L'action chimique est réalisée par l'utilisation d'un détergent et/ou d'un désinfectant. Cette action va dépendre de la concentration du produit choisi, de la nature du principe actif ou de la composition de la formule.

4.3.4. Le temps de contact

Le temps de contact est le temps nécessaire pour que l'action chimique du produit utilisé agisse sur sa cible, pendant le temps de séchage. Un temps de séchage moyen dans une salle propre (classe A/B) dépendra du taux de renouvellement horaire.

5. Familles des désinfectants^[26]

Il existe différentes « familles » de désinfectants, essentiellement constituées selon la nature chimique de la substance active biocide du produit :

- Les ammoniums quaternaires,
- Les alcools,
- Les aldéhydes,
- Les amines,
- Les biguanides,
- Les oxydants non halogénés,
- Les oxydants halogénés (chloré et iodé).

Dans chacune des familles, des substances actives sont ou seront approuvées comme biocides selon les exigences du règlement biocide. Elles pourront ainsi être utilisées dans des formulations désinfectantes pour des applications définies.

5.1. Site et mode d'action

Pour être efficaces, les désinfectants vont agir en différents points de la cellule, au niveau de la membrane cytoplasmique du microorganisme et/ou du contenu interne.

Le tableau 10 ci-dessous décrit les principales cibles et modes d'action des différentes classes de désinfectants.

Familles	Exemples	Cible et mode d'action
Ammoniums quaternaires	Chlorure de didécylméthylammonium	Liaison aux acides gras et groupes phosphates de la membrane cellulaire, fuite de constituants cellulaires et lyse de la cellule
Alcools	Éthanol, isopropanol	Dénaturation des protéines cytoplasmiques et membranaires, inhibition de la synthèse des acides nucléiques et des protéines
Aldéhydes	Glutaraldéhyde, Formaldéhyde	Altération de la paroi cellulaire, inhibition de la synthèse des acides nucléiques et des protéines
Amines	Glucoprotamine Alkylamine	Similaire aux ammoniums quaternaires
Biguanides	Chlorhexidine	Liaison aux acides gras et groupes phosphates de la membrane cellulaire, fuite de constituants cellulaires, coagulation du cytosol
Oxydants non halogénés	Peroxyde d'hydrogène Acide peracétique	Production de radicaux libres qui interagissent avec les lipides, protéines et ADN

Familles	Exemples	Cible et mode d'action
Oxydants halogénés : chloré et iodé	Hypochlorite de sodium Povidone-iodée	Destruction des protéines membranaires et chromosomiques (halogénéation)

Tableau 10: Cible et mode d'action des familles des désinfectants

5.2. Spectres d'activité et indications

Remarque : Les spectres d'activité (tableau 11) seront fonction de la molécule elle-même, de sa concentration et des conditions d'usage (temps de contact, température).

Légende : 0 aucune activité / + activité moyenne / ++ bonne activité / +++ très bonne activité

	Bactéries à Gram +	Bactéries à gram-	Mycobactéries	Spores bactériennes	Levures ou Moisissures	Virus Enveloppés	Virus Nus
Alcool isopropylique ou éthylique 70 %	+++	+++	++	0	++	++	+
Phénols	+++	+++	0	0	+	++	+
Aldéhydes	+++	+++	++	+	+++	++	++
Ammoniums quaternaires	+++	++	0	0	++	++	0
Chlore et dérivés	+++	+++	++	++	++	++	++
Peracides (acide peracétique)	+++	+++	+++	+++	+++	+++	+++
Peroxyde d'hydrogène	++	+++	++	++	++	++	++
Amines	+++	+++	++	0	++	++	+

Tableau 11: Spectre d'activité des principes actifs désinfectants^[21]

5.3. Caractères toxicologiques

Chaque substance active biocide et chaque formule biocide résultante seront caractérisées par des propriétés éco-toxicologiques et toxicologiques.

Celles-ci figureront sur l'étiquetage et la fiche de données de sécurité permettant ainsi à l'utilisateur d'être informé des mesures de protection individuelle à mettre en œuvre (port d'EPI) et ainsi de pouvoir utiliser le produit en toute sécurité.

**2^{EME} PARTIE : LE CADRE REGLEMENTAIRE DES PRODUITS
DESINFECTANTS**

1. La réglementation des désinfectants^[27]

Les désinfectants sont aujourd'hui considérés comme des produits biocides et/ou comme des dispositifs médicaux et sont réglementés et soumis en Europe, aux exigences du règlement biocide ou du règlement des dispositifs médicaux.

Aujourd'hui en Europe, chaque produit a trouvé sa place en termes de réglementation (figure 8). La classification des produits cosmétiques, phytopharmaceutiques, détergents, dispositifs médicaux et biocides est bien définie et aboutie. Il reste néanmoins quelques produits comme les additifs pour lesquels la classification n'est pas évidente.

Nous ne considérerons ici que le statut des désinfectants en tant que produits biocides. Des interactions existent entre les réglementations européennes et le règlement biocide ; ainsi les produits biocides doivent se conformer aux exigences en matière d'étiquetage au règlement CLP (*classification, labelling, packaging of substances and mixtures*) et au règlement REACH (*registration, evaluation, authorization and restriction of chemicals*); les substances actives biocides sont exemptées du règlement REACH, mais les autres substances utilisées dans la formulation des produits doivent être enregistrées conformément au règlement REACH.

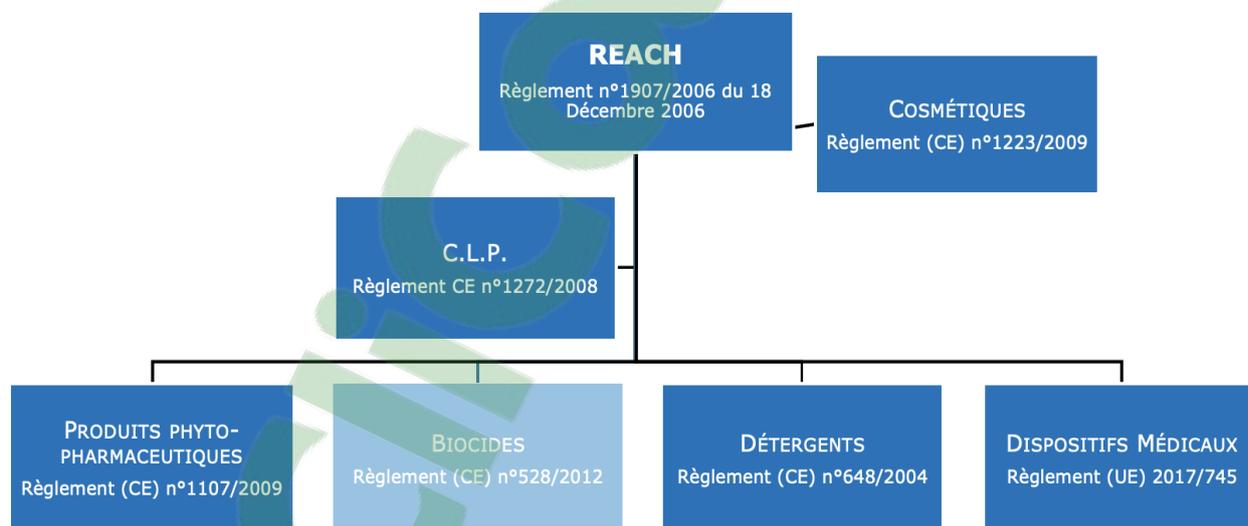


Figure 8: La réglementation Européenne des substances chimiques

1.1. Définitions

Selon l'article 3 du règlement (CE) 528/2012^[27], un produit biocide est « toute substance ou tout mélange, sous la forme dans laquelle il est livré à l'utilisateur, constitué d'une ou plusieurs substances actives, en contenant ou en générant, qui est destiné à détruire, repousser ou rendre inoffensifs les organismes nuisibles, à en prévenir l'action ou à les combattre de toute autre manière, par une action autre qu'une simple action physique ou mécanique » et « toutes substances ou tout mélange généré par des substances ou des mélanges qui ne relèvent pas eux-mêmes du premier tiret, destiné à être utilisé pour détruire, repousser ou rendre inoffensifs les organismes nuisibles, pour en prévenir l'action ou pour les combattre de toute autre manière par une action autre qu'une simple action physique ou mécanique. »

Les désinfectants, par leur action chimique sur les microorganismes, sont considérés comme étant des produits biocides.

À la différence de la directive, le règlement prend en compte les articles traités définis comme « toute substance, tout mélange ou tout article qui a été traité avec un ou plusieurs produits biocides ou dans lequel un ou plusieurs produits biocides ont été délibérément incorporés ». « Un article traité ayant une fonction principalement biocide est considéré comme un produit biocide ».

1.2. Le classement des produits biocides

Les produits concernés par le règlement biocide sont répartis en groupes selon leur domaine d'application. Ainsi, on distingue, décrits en annexe V du règlement biocide, les 4 groupes suivants au sein desquels on compte 22 types de produits (TP) :

- Groupe 1 : Désinfectants

Ces TP ne prennent pas en compte les produits nettoyants, tels que les lessives, qui ne sont pas destinés à avoir un effet biocide.

- Groupe 2 : Produits de protection (bois, caoutchouc, cuir, matériaux de construction).

Ces TP concernent les produits visant à prévenir le développement microbien et le développement des algues.

- Groupe 3 : Produits de lutte contre les nuisibles (rongeurs, oiseaux, insectes).
- Groupe 4 : Autres produit biocides (les produits anti-salissures et les fluides pour l'embaumement et la taxidermie).

Le groupe 1 des désinfectants rassemble les TP 1 à 5^[28].

- Le TP1 regroupe les produits d'hygiène humaine,

Le but principal de ces produits est de désinfecter la peau ou le cuir chevelu. Les produits cosmétiques et les antiseptiques ne sont pas concernés car ce ne sont pas des produits biocides.

- Le TP2 regroupe les désinfectants et produits algicides non destinés à l'application directe sur des êtres humains ou des animaux,

Ce sont des produits utilisés pour désinfecter les surfaces, matériaux, les équipements et le mobilier, l'air, les eaux non utilisées pour la consommation humaine ou animale, les toilettes chimiques, les eaux usées, les déchets d'hôpitaux et le sol. Les produits destinés spécifiquement à la désinfection des Dispositifs Médicaux (DM) ne sont pas concernés par ce groupe ; ces produits sont régis par le règlement relatif aux DM et sont considérés comme des dispositifs médicaux, néanmoins certains produits peuvent avoir un double statut réglementaire, biocide TP2 et DM.

- Le TP3 regroupe les produits d'hygiène vétérinaire,
- Le TP4 regroupe les désinfectants pour les surfaces en contact avec les denrées alimentaires et les aliments pour animaux,
- Le TP5 concerne les désinfectants pour l'eau potable destinée aux hommes et aux animaux.

Une substance active biocide pourra être approuvée pour un usage dans plusieurs types de produit ; de même une formulation biocide pourra contenir plusieurs substances biocides et/ou pourra être destinée à des applications relevant de différents TP.

Les détails de la classification de ces produits sont retrouvés sur le site internet de l'ECHA (l'Agence Européenne des Produits Chimiques).

Cllicours.COM

Exemple extrait du site de l'ECHA (tableau 12) : La substance ADBAC/BKC (n° CAS 68424-85-1) est approuvée pour un usage en TP 8 et est en cours d'analyse pour des usages en TP 2, 3, 4 et 10^[29].

Substance name	EC /List no	CAS no	Product-type	Approval start date	Approval end date
Alkyl (C12-16) dimethylbenzyl ammonium chloride (ADBAC/BKC (C12-16))	270-325-2	68424-85-1	PT02		
Alkyl (C12-16) dimethylbenzyl ammonium chloride (ADBAC/BKC (C12-16))	270-325-2	68424-85-1	PT03		
Alkyl (C12-16) dimethylbenzyl ammonium chloride (ADBAC/BKC (C12-16))	270-325-2	68424-85-1	PT04		
Alkyl (C12-16) dimethylbenzyl ammonium chloride (ADBAC/BKC (C12-16))	270-325-2	68424-85-1	PT08	01/02/2015	31/01/2025
Alkyl (C12-16) dimethylbenzyl ammonium chloride (ADBAC/BKC (C12-16))	270-325-2	68424-85-1	PT10		

Tableau 12: Extrait du site de l'ECHA

2. Le règlement des produits biocides (RPB)

La directive biocide dès sa mise en œuvre en 1998, s'inscrit dans une volonté, au niveau européen, de maîtrise de l'efficacité des produits biocides dans le respect de la santé humaine de la santé animale et de l'environnement.

Les objectifs de ces réglementations sont une :

- Harmonisation et libre circulation des substances et des produits biocides sur le marché européen,
- Assurance que les produits biocides ne peuvent entrer sur le marché européen que s'ils sont autorisés et conformes aux exigences.

La réglementation concernant les biocides s'inscrit dans la continuité du règlement européen REACH, entré en vigueur en juin 2007 pour protéger la santé humaine et l'environnement contre les risques liés aux substances chimiques. Ce règlement concerne l'enregistrement, l'évaluation et l'autorisation de toutes les substances chimiques, ainsi que les restrictions applicables à ces substances^[30].

2.1. De la directive au règlement

Avant la législation européenne, il n'existait aucune approche harmonisée au sein de l'Union européenne, concernant la réglementation des substances actives (SA) et des produits biocides et les substances actives biocides n'étaient pas définies ni contrôlées.

Le cadre réglementaire a été posé en 1998 avec la directive 98/8/CE sur les produits biocides (DPB). Cette directive a été le premier essai d'harmonisation de la législation européenne sur les biocides. L'objectif de la DPB était d'évaluer les SA biocides, tout en permettant aux produits biocides existants de rester sur le marché.

La mise en place de cette directive a été un échec, à cause d'un manque d'harmonisation des exigences des pays, des retards importants dans le programme, et du fait que tous les produits biocides n'ont pas été pris en compte par les définitions.

En conséquence, cette directive a été remplacée par le nouveau règlement sur les produits biocides appelé RPB (UE N°528/2012), entré en vigueur le 1er septembre 2013 dans tous les États membres sans nécessité de le transposer en droit national et toujours en cours d'implémentation. Un règlement est l'instrument juridique approprié pour remplacer une directive afin de fixer les règles, claires, précises et directement applicables.

2.2. Les objectifs

Ainsi, le nouveau règlement biocide reprend les principes de base de la directive, tels que :

- L'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) d'un produit biocide,
- L'examen des substances actives (SA) par la Commission européenne afin de définir une liste positive des SA autorisées,
- Le principe de reconnaissance mutuelle des AMM entre États membres.

Tout en mettant en place de nouvelles dispositions, comme :

- Les familles de produits, avec une classification des TP,
- La possibilité d'autorisation de l'Union (mise en place progressive),
- La prise en compte des articles traités et des SA générées in situ,
- Le partage obligatoire des données,
- Le principe d'exclusion et de substitution,
- La procédure d'autorisation simplifiée, pour les produits contenant des SA « à faible risque ».

Ce règlement européen prévoit un système plus efficace et sécurisé en matière de mise sur le marché et d'utilisation des produits biocides. Le but étant de garantir un haut niveau de sécurité et de protection de la santé humaine et animale et de l'environnement.

2.3. Les structures impliquées^{[31] [32]}

2.3.1. En Europe

L'ECHA est une agence communautaire basée à Helsinki, qui a pour rôle de réguler les substances chimiques, en évaluant la dangerosité des actifs chimiques en fonction des données des entreprises. Elle est chargée de gérer les procédures d'enregistrement, d'évaluation, d'autorisation et de restriction relatives aux substances chimiques afin d'assurer la cohérence au niveau de l'Union européenne.

Les autorités compétentes sont des partenaires de coopération de l'ECHA dans chaque État membre (EM). Ces autorités sont en charge de l'évaluation des dossiers des substances actives et des produits biocides.

La Commission européenne est l'organe décisionnel vis à vis de l'approbation des substances actives et des produits biocides.

2.3.2. En France

L'ANSES (l'Agence Nationale de Sécurité Sanitaire de l'Alimentation, de l'environnement et du travail) est l'autorité compétente, en France, qui délivre ou non les autorisations de mise sur le marché en évaluant les dangers, les risques et l'efficacité des SA et des produits biocides.

Tous les produits chimiques et biocides doivent être déclarés à **l'INRS** (l'Institut National de Recherche et de Sécurité pour la prévention des accidents du travail et des maladies professionnelles) sur le site SYNAPSE à des fins de toxicovigilance.

Simmbad, cogéré par le Ministère de l'environnement et l'ANSES, est un système informatique inventoriant l'ensemble des produits biocides mis sur le marché français. Les produits doivent être déclarés sur ce site avant leur mise sur le marché effective. Ce site permet également la gestion des **certibiocides** visant à former les professionnels amenés à utiliser, vendre ou acheter certains types de produits biocides. Encadré par l'arrêté du 9 octobre 2013 et entré en vigueur en juillet 2015, ce dispositif permet d'assurer une utilisation durable et raisonnée de ces produits.

3. Mise sur le marché d'un produit biocide

Un produit biocide peut être enregistré dans le RPB dès lors que toutes les substances actives qu'il contient ont été approuvées. Chaque SA a une date de décision et de révision différente. Les délais pour une autorisation de produit biocide dépendent donc de la ou des substances actives contenues dans la formulation.

La mise sur le marché d'un produit biocide se déroule donc en 2 étapes :

- L'évaluation des substances actives biocides aboutissant à leur autorisation ou non pour un Type de Produit donné,
- L'évaluation des produits qui les contiennent en vue de l'obtention d'une AMM.

Le schéma récapitulatif des différents statuts des substances actives est disponible en annexe 1^[33].

3.1. Approbation des substances actives^[34]

Les substances actives biocides doivent être évaluées afin de minimiser les risques de leur utilisation, vis-à-vis de la santé humaine, animale et de l'environnement. L'approbation d'une SA dépend de son utilisation et donc de l'exposition des utilisateurs, de l'environnement.

L'évaluation est effectuée en fonction :

- Du danger intrinsèque de la substance active,
- De l'exposition de l'Homme, des animaux et de l'environnement,
- De l'efficacité.

L'approbation d'une SA est spécifique à un type de produits ; ce sont des couples « substances actives / TP » qui ont été notifiés au programme d'examen des substances actives, qui sont évalués et qui font l'objet ou non d'un règlement d'approbation.

3.1.1. Nouvelle SA

Une nouvelle substance active est « une substance qui, à la date du 14 mai 2000, ne se trouvait pas sur le marché en tant que substance active d'un produit biocide à d'autres fins que les activités de recherche et développement scientifiques ou de recherche et développement axés sur les produits et les processus »^[27].

Une demande d'approbation d'une nouvelle SA peut être faite à tout moment.

L'autorisation d'une substance active biocide est décrite dans le chapitre 2 du règlement biocide n°528/2012. Pour demander l'approbation d'une SA, le demandeur doit soumettre un dossier auprès de l'ECHA. Une plateforme informatique (registre des produits biocides R4PB) a été créée pour les demandes d'autorisation, les échanges des données entre le demandeur, l'ECHA, les autorités compétentes de l'État membre et la Commission européenne^[32].

La soumission du dossier est réalisée en plusieurs étapes. Chaque étape doit être finalisée pour passer à l'étape suivante. La figure 9 récapitule la procédure à suivre pour l'approbation d'une nouvelle substance active.

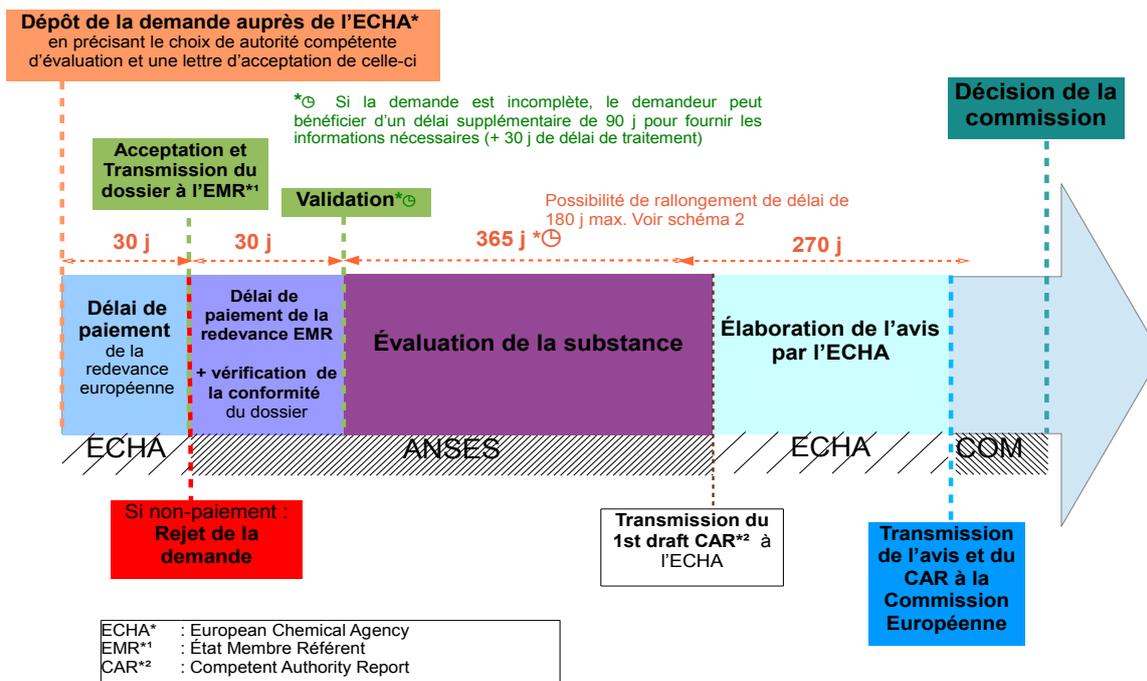


Figure 9: Procédure pour l'approbation des SA^[34]

En fonction du type de demande, des redevances sont à payer à l'ECHA et à l'autorité compétente. Ces redevances sont définies dans la loi ; un non-paiement de celle-ci est un motif de rejet d'une demande d'AMM. Lorsque l'ECHA valide la demande, l'autorité compétente a 1 an pour évaluer la substance.

L'évaluation de la substance est effectuée en fonction du rapport bénéfice / risque. Les conclusions de cette évaluation sont transmises à l'ECHA qui émet un avis dans un délai de 270 jours. Cet avis servira à la Commission européenne pour l'approbation de la substance active.

L'approbation des SA en tant que biocide est officiellement annoncée dans le Journal officiel (JO) de l'Union européenne, précisant :

- L'identité de la substance : nom commun, dénomination, numéro d'identification,
- La date d'approbation et la date d'expiration de l'approbation (date d'approbation + 10 ans),
- Le type de produit avec les conditions spécifiques associées.

Par exemple, le tableau ci-dessous (tableau 13) a été publié dans le Règlement d'exécution (UE) 2016/672 de la Commission du 2 avril 2016, approuvant l'acide peracétique en tant que substance active existante destinée à être utilisée dans les produits biocides relevant des types de produits 1, 2, 3, 4, 5 et 6^[35].

ANNEXE						
Nom commun	Dénomination UICPA Numéros d'identification	Degré de pureté minimal de la substance active (%)	Date d'appro- bation	Date d'expira- tion de l'appro- bation	Type de produit	Conditions spécifiques
Acide peracé- tique	Dénomination UICPA: Acide peroxyéthanóïque No CE: 201-186-8 No CAS: 79-21-0	La spécification est fondée sur le peroxyde d'hydrogène et l'acide acétique, matériaux de base qui servent à fabriquer l'acide peracétique. Acide peracétique dans une so- lution aqueuse contenant de l'acide acétique et du peroxyde d'hydrogène.	1 ^{er} octobre 2017	30 septembre 2027	1	L'évaluation du produit porte en particulier sur l'exposition, les risques et l'efficacité liés aux utilisations faisant l'objet d'une demande d'autorisation mais n'ayant pas été prises en considération dans l'évaluation des risques de la substance active réalisée à l'échelon de l'Union. Les autorisations de produits biocides sont octroyées aux conditions suivantes: 1) en raison de la présence de peroxyde d'hydrogène, les autorisations des produits biocides sont sans préjudice du règlement (UE) n° 98/2013; 2) pour les utilisateurs professionnels, des procédures opérationnelles sûres sont établies et des mesures organisationnelles appropriées sont adoptées.
					2	L'évaluation du produit porte en particulier sur l'exposition, les risques et l'efficacité liés aux utilisations faisant l'objet d'une demande d'autorisation mais n'ayant pas été prises en considération dans l'évaluation des risques de la substance active réalisée à l'échelon de l'Union. Les autorisations de produits biocides sont octroyées aux conditions suivantes: 1) en raison de la présence de peroxyde d'hydrogène, les autorisations des produits biocides sont sans préjudice du règlement (UE) n° 98/2013; 2) pour les utilisateurs professionnels, des procédures opérationnelles sûres sont établies et des mesures organisationnelles appropriées sont adoptées. Le port d'un équipement de protection individuelle approprié est requis lorsqu'il n'est pas possible de ramener l'exposition à un niveau acceptable par d'autres moyens; 3) compte tenu des risques mis en évidence pour les eaux de surface, les produits destinés à la désinfection des eaux usées ne sont pas autorisés, sauf s'il peut être démontré que les risques peuvent être ramenés à un niveau acceptable.

30.4.2016

FR

Journal officiel de l'Union européenne

L 111/5

Tableau 13: Exemple d'approbation d'une SA (JO de l'Union Européenne) [33]

Concernant l'approbation des SA biocides dont l'impact sur la santé humaine, animale et l'environnement est plus préoccupante, le règlement biocide prend en compte de nouveaux critères : les critères d'exclusion et de substitution.

a. Critères d'exclusion

Les critères d'exclusions sont développés dans l'article 5 du chapitre II du règlement. Au cours de leur évaluation, les substances actives répondant à ces critères ne seront pas approuvées^[27] :

- Les substances cancérigènes, mutagènes et reprotoxiques de catégorie 1A et 1B conformément au règlement CLP n°1272/2008,
- Les substances perturbant le système endocrinien pouvant être néfastes pour l'Homme,
- Les substances persistantes, bio-accumulatrices et toxiques (PBT),
- Les substances très persistantes et très bio-accumulatrices (vPvB).

Cependant, il existe des dérogations lorsqu'il est démontré que :

- Le risque pour les êtres humains, les animaux ou l'environnement d'une exposition à la SA contenue dans un produit biocide, dans les conditions réalistes les plus défavorables d'utilisation (systèmes fermés), est négligeable,
- Il existe des preuves que la SA est indispensable pour prévenir ou combattre un risque grave pour la santé humaine, animale ou pour l'environnement,
- Le fait de ne pas approuver la SA aurait des conséquences négatives disproportionnées pour la société par rapport aux risques que son utilisation représente pour la santé humaine, animale et pour l'environnement.

La substance active qui démontre au moins une des conditions sera approuvée pour une durée de 5 ans maximum (au lieu de 10 ans).

b. Critères de substitution

Si une SA comporte certaines propriétés dangereuses intrinsèques, la substitution de cette SA peut être envisagée. Les critères de substitution sont développés dans l'article 10 du chapitre II du règlement.

Une SA est considérée comme substituable si l'une des conditions suivantes est remplie ^[27]:

- La substance répond à un critère d'exclusion mais peut tout de même être approuvée,
- La substance est classée en tant que sensibilisant respiratoire,
- La dose journalière admissible (DJA), la dose de référence aiguë (DRfA) ou le niveau acceptable d'exposition de l'opérateur (NAEO) est nettement inférieur à ceux de la majorité des SA approuvées pour le même TP et le même scénario d'utilisation,
- La substance répond à deux des critères requis pour être considérée comme PBT,
- La substance suscite des préoccupations liées à la nature des effets critiques créant des situations d'utilisation qui restent préoccupantes (exemple : potentiel élevé de risque pour les eaux souterraines, même avec des mesures de gestion très restrictives),
- La substance contient un pourcentage significatif d'isomères non actifs ou d'impuretés.

Lorsque la substitution est envisagée, il est possible de comparer le produit biocide contenant la SA avec d'autres produits biocides autorisés ou avec des méthodes non chimiques de lutte ou de prévention. S'il est démontré que d'autres produits, présentant un risque nettement inférieur pour la santé humaine, animale et l'environnement, sont suffisamment efficaces, le produit biocide contenant la/les SA dont la substitution est envisagée devra être interdit ou soumis à des restrictions.

L'approbation ou le renouvellement de la SA dont la substitution est envisagée sont valables pour une durée maximale de 7 ans.

3.1.2. Renouvellement des SA

Selon le Chapitre III du Règlement Biocides, il est possible de faire une demande de renouvellement d'une substance active à l'ECHA, 550 jours avant la date d'expiration de l'approbation en cours^[27].

La demande doit contenir^[36] :

- Toutes les données pertinentes qui ont été générées depuis que l'approbation initiale ou le renouvellement précédent a été accordé,
- Une évaluation indiquant si les conclusions de l'évaluation initiale ou précédente de la SA sont toujours valables ainsi que tout élément justificatif,
- Une confirmation écrite signée par l'autorité compétente d'évaluation (ACE) qui accepte d'évaluer la demande de renouvellement.

À la réception des redevances, l'ECHA accepte la demande et en informe le demandeur ainsi que l'ACE. Dans les 90 jours suivant l'acceptation, l'ACE doit déterminer s'il est nécessaire de procéder à une évaluation exhaustive de la demande de renouvellement.

Si l'ACE décide que l'évaluation complète n'est pas nécessaire, elle doit formuler, dans un délai de 180 jours, une recommandation relative au renouvellement de l'approbation de la SA et la soumet à l'ECHA ; une copie de la recommandation est envoyée au demandeur. Mais si une évaluation complète est nécessaire, l'ACE fournit la recommandation dans les 365 jours suivant l'acceptation de la demande.

L'ECHA établit ensuite un avis au renouvellement et le soumet à la Commission, qui décide du renouvellement ou non de la substance active biocide.

3.1.3. SA existante – Régime transitoire

Une SA existante est une « substance qui, à la date du 14 mai 2000, se trouvait sur le marché en tant que substance active d'un produit biocide »^[27]. Ces SA existantes sur le marché peuvent faire l'objet d'un programme de réexamen.

L'article 89 du règlement biocide décrit des mesures transitoires pour les produits biocides qui contiennent uniquement des SA existantes incluses dans le programme de réexamen. En effet, le régime transitoire permet la mise à disposition et l'utilisation sur le marché de ces produits biocides, avant la date d'approbation de la SA, sous réserve de satisfaire les obligations des législations nationales de l'EM concerné (figure 10).

Clicours.COM

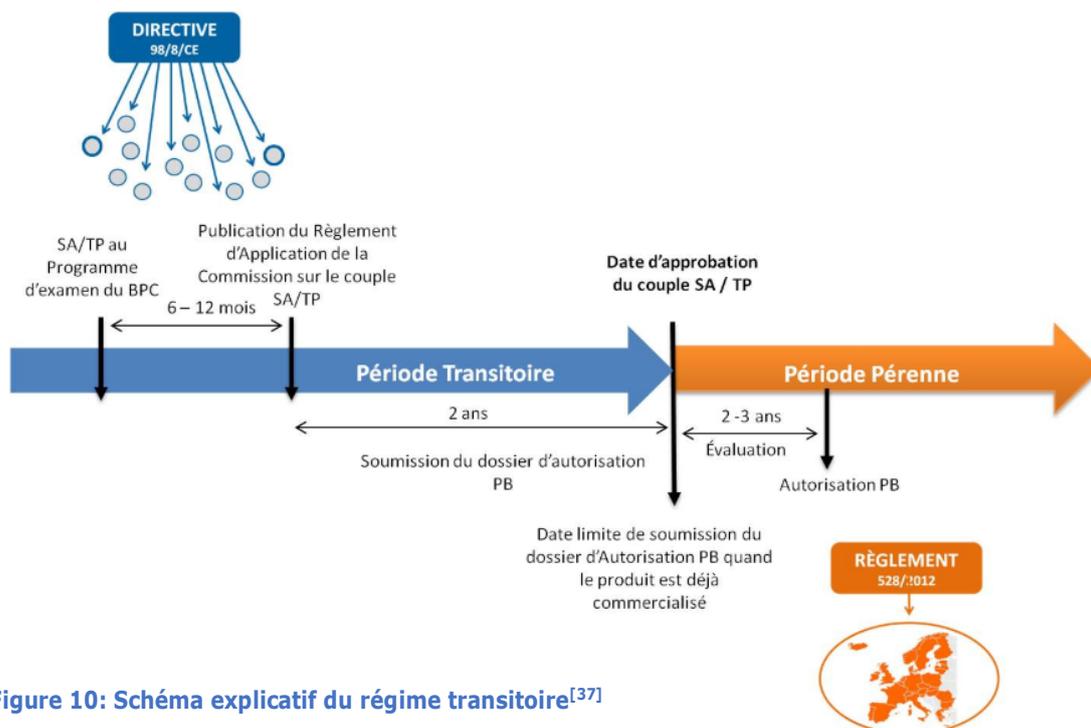


Figure 10: Schéma explicatif du régime transitoire^[37]

À la différence d'une demande d'approbation d'une nouvelle SA, la demande d'approbation d'une SA existante est soumise à un délai déterminé. D'ici 2024, toutes les substances actives existantes seront normalement approuvées ou rejetées.

3.2. Mise sur le marché des produits biocides^{[38][39]}

Une fois que toutes les SA sont approuvées, le produit biocide destiné à être mis sur le marché, doit obtenir une autorisation de mise sur le marché.

Il existe 4 types de procédure de demande d'AMM :

- L'AMM nationale,
- La reconnaissance mutuelle,
- L'AMM de l'Union,
- L'AMM simplifiée.

3.2.1. L'AMM nationale

Si le produit est destiné à n'être mis sur le marché que dans un seul pays, le demandeur soumet la demande à l'autorité compétente du pays.

L'État membre (EM) fait son évaluation et statue sur l'attribution de l'autorisation dans les 365 jours suivant la validation de la demande. Cette autorisation nationale peut être étendue à d'autres États membres via une reconnaissance mutuelle, en séquence ou en parallèle.

3.2.2. La reconnaissance mutuelle

La reconnaissance mutuelle en séquence ne peut se faire qu'après obtention d'une première autorisation nationale dans un EM. À la différence de la reconnaissance mutuelle en parallèle (ou en simultanée), qui se fait en même temps que l'AMM nationale. Le demandeur fait sa demande à l'EM de référence en indiquant la liste de tous les EM concernés. L'EM de référence évalue la demande en même temps que les EM concernés évaluent la demande de reconnaissance mutuelle.

3.2.3. L'AMM de l'Union

Cette AMM permet au demandeur de vendre ses produits biocides dans l'ensemble de l'Union européenne en une seule démarche. Cette autorisation donne les mêmes droits et obligations dans tous les EM que ceux obtenus via les autorisations nationales.

3.2.4. L'AMM simplifiée

Si le produit remplit tous les critères de l'article 25 du règlement des biocides, le demandeur peut soumettre une demande via la procédure d'autorisation simplifiée. Cette AMM convient pour les produits contenant des substances actives « à faible risque ».

3.3. Étiquetage des produits biocides

Le système européen d'étiquetage a été revu sous la forme d'un nouveau règlement, le règlement CLP, qui s'applique depuis janvier 2009. Ce règlement est applicable avec des périodes transitoires, de façon à harmoniser au niveau européenne la classification, l'étiquetage, l'emballage et le transport des substances actives et des mélanges.

Les dangers que présentent les substances chimiques doivent être clairement communiqués aux travailleurs et consommateurs de l'Union européenne.

Selon l'article 17 du règlement n°1272/2008, l'étiquette doit contenir en caractères apparents et indélébiles, les informations suivantes^[40] :

- Le nom, l'adresse et le numéro de téléphone du ou des fournisseurs,
- La quantité nominale de la substance ou du mélange dans l'emballage mis à la disposition du grand public, sauf si cette quantité est précisée ailleurs sur l'emballage,
- Les identificateurs de produit,
- Les pictogrammes de danger, s'il y a lieu,
- Les mentions d'avertissement pertinentes, s'il y a lieu,
- Les mentions de danger, s'il y a lieu,
- Les conseils de prudence, s'il y a lieu,
- Une section réservée à des informations supplémentaires, s'il y a lieu.

4. Impact RPB sur les utilisateurs^[41]

Le changement réglementaire des biocides a un impact sur les utilisateurs de produits désinfectants. En fonction de la réglementation et des usages, les utilisateurs doivent être vigilants sur le choix du fournisseur ainsi que le produit biocide.

Les utilisateurs doivent faire attention au type de produit biocide utilisé, qui doit correspondre à son utilisation sur le site concerné. Ainsi, en industrie pharmaceutique, on retrouvera des produits du TP 2, destinés à la désinfection des surfaces, du matériel de production et de l'environnement. On trouvera également le TP 1 pour les produits de désinfection des mains.

Les utilisateurs doivent s'assurer que les produits biocides utilisés sont et/ou seront enregistrés dans le pays d'exploitation concerné. Pour cela, il est important de se rapprocher de son ou ses fournisseurs pour connaître l'avenir de leurs produits. Si le produit n'est pas soumis au RPB, le produit ne peut être vendu que 6 mois après la date de limite du RPB et utilisé par le client pendant 6 mois supplémentaires. Le fournisseur doit s'engager à en informer ses clients suffisamment tôt afin que celui-ci puisse anticiper et initier en interne les changements de produits, et/ou de fournisseurs, le cas échéant.

Au sein d'un site pharmaceutique, un changement de produit désinfectant n'est pas anodin, car il faut contrôler les spécifications fournisseurs et valider son efficacité sur le terrain. La validation de la désinfection d'un produit peut être fastidieux, impliquant du temps et des coûts, et doit être anticipée en fonction du plan de charge de l'usine. Une validation impact également de nombreux départements du secteur tels que la production, les achats, l'équipe HSE, l'assurance qualité opérationnelle et fournisseur.

Les utilisateurs pourront retrouver une situation stable une fois que cette période d'approbation et d'enregistrement sera terminée, dans environ 5-6 ans.

Il n'est plus possible aujourd'hui de fabriquer ses propres solutions biocides « maison ». En effet, depuis le 1^{er} septembre 2015, un produit biocide ne peut être mis sur le marché de l'UE uniquement si le fournisseur de SA ou le fournisseur de produit est inclus dans la liste officielle dite « article 95 », pour le ou les types de produit auxquels le produit appartient. Le fournisseur doit donc être validé et inscrit sur la liste de l'article 95 du règlement, pour ensuite déposer le dossier du produit biocide. Cette liste peut être retrouvée et téléchargée sur le site de l'ECHA^[42]. La production « maison » d'une solution alcoolique à des fins biocides sur un site pharmaceutique, relève donc du RPB. Les biocides produits sur un site pharmaceutique doivent être validés par le RPB et nécessite donc une autorisation.

**3^{EME} PARTIE : IMPACT EN INDUSTRIE PHARMACEUTIQUE, ANALYSE
D'UN CAS CONCRET**

L'évolution du cadre réglementaire des produits biocides a obligé les fabricants à retirer certains produits du marché et/ou à mettre en place de nouveaux désinfectants en accord avec la réglementation des produits biocides. Les entreprises pharmaceutiques doivent donc s'adapter à ces changements et revalider la mise en place de ces nouveaux désinfectants.

La mise en situation présentée dans cette 3^{ème} partie a été réalisée sur un site français dans une unité de production injectable. Cette unité produit majoritairement des anticoagulants et des anti-arythmiques par voie injectable en répartition aseptique et en stérilisation finale. Ce site pharmaceutique a été confronté au changement de produits désinfectants lié aux changements réglementaires des biocides. Le développement de ce cas concret relate les conditions de la mise en place d'un nouveau produit désinfectant.

1. Contexte de la validation de la méthode de désinfection

La validation de la méthode de désinfection regroupe un certain nombre d'étapes qui rentrent dans le cadre de cette procédure de désinfection :

- Le choix du produit selon son efficacité,
- Le choix du matériel associé à l'usage du produit : balai, lingette,
- Le mode opératoire, la gestuelle, l'organisation,
- L'habilitation des opérateurs, contrôle de la bonne exécution des tâches (procédé manuel).

1.1. Contexte sur site pharmaceutique

Remarque : Les produits désinfectants concernés dans ce cas concret seront désignés par des chiffres, comme l'indique le tableau 14 ci-dessous :

Produits stériles	Type de produit	Composition
<i>Produit 1</i>	<i>Désinfectant à large spectre prêt à l'emploi</i>	<i>Ammonium quaternaire, éthanol, biguanide</i>
<i>Produit 2</i>	<i>Désinfectant à large spectre prêt à l'emploi</i>	<i>Ammonium quaternaire, éthanol, glutaraldéhyde</i>
<i>Produit 3</i>	<i>Désinfectant sporicide à diluer</i>	<i>Solution d'acide peracétique, peroxyde d'hydrogène, acide acétique (0,39%)</i>
<i>Produit 4</i>	<i>Désinfectant sporicide prêt à l'emploi</i>	<i>Solution d'acide peracétique, peroxyde d'hydrogène, acide acétique (< 10%)</i>

Tableau 14: Présentation des produits impliqués

À la suite du règlement des produits biocides, les deux produits désinfectants 1 et 2 n'ont pas été reconduits sur le marché par le fournisseur, du fait de la classification de certains composants. Certaines substances, telles que le glutaraldéhyde, ont néanmoins été approuvées pour une courte durée (5 ans) et inscrites sur la liste des composants à substitution. Le fournisseur a préféré se tourner vers des substances autorisées et moins nocives pour une durée d'approbation plus longue (10 ans).

Au sein de l'unité injectable, trois passe-plats sont installés afin de faire entrer ou sortir du matériel dans/hors la zone de production. Pour rappel, on distingue 4 classes de ZAC selon leurs exigences de propreté environnementale : A, B, C et D. A étant la classe la plus exigeante et D la zone la « plus sale ».

Un passe-plat a pour but de transférer du matériel, préalablement désinfecté, entre deux environnements aux propriétés et classifications distinctes. Il permet donc de faire passer du matériel en n'interférant que très peu sur la pression ou la propreté de la salle blanche.



Le passe-plat impliqué dans la validation de la désinfection permet l'introduction, de la classe D à la classe B, de trois types de matériel (figure 12) :

- Du matériel stérile en plusieurs poches : les éléments de contrôle pour l'environnement (BP, boîtes CT, écouvillons), les désinfectants (bidons, aérosols, sprays),
- Du matériel non stérile ne supportant pas la chaleur de l'autoclave et ne pouvant être décontaminé par voie aérienne : poche déchet, manche à balai,
- De matériel non stérile mis en poche afin de pouvoir le stocker en classe B : allume-gaz, matériel de maintenance.

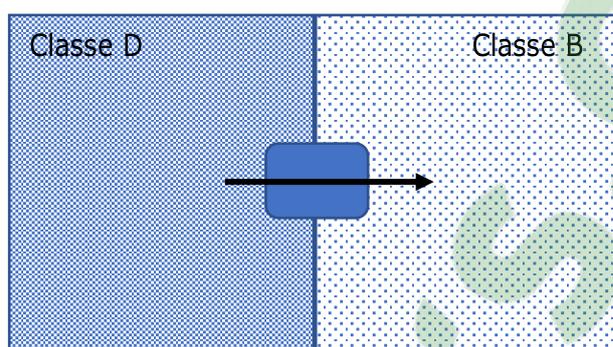


Figure 11: Principe d'un passe-plat

Avant d'être posé dans le passe-plat, le matériel est soigneusement désinfecté au produit 1, ou en alternance tous les quinze jours, au produit 2, pour éviter l'apparition de résistances. Les éléments désinfectés restent dans le passe-plat pendant un temps de contact de deux heures avant d'être sortis côté classe B.

Ce matériel, destiné à être utilisé en classe A ou B lors de la répartition aseptique, n'est pas en contact direct avec le produit.

Un nouveau désinfectant a donc dû être mis en place pour le transfert de ce matériel.

1.2. Contexte réglementaire

Au fil des années, les réglementations pharmaceutiques ne cessent d'évoluer dans le but de diminuer les risques de contaminations, et notamment au niveau du transfert de matériel. En effet, selon les BPF^[3], le transfert de matériel représente l'une des plus grandes sources de contaminations potentielles.

Elles préconisent donc la conception de sas spécifiques de transfert de matériel pour assurer la séparation physique et minimiser la contamination microbienne et particulaire entre les différentes zones.

Pour les sas menant aux zones grades A et B, seuls le matériel et les équipements inclus dans la liste de qualification sont autorisés. Le matériel non approuvé nécessitant un transfert doit constituer une exception et être justifié.

Selon la FDA, pour garantir la propreté microbiologique de la zone de répartition aseptique, il est essentiel de contrôler de manière adéquate le matériel lors de son transfert entre deux zones de classifications différentes, notamment d'une classe moins stricte vers une classe plus stricte (classe D vers une classe B). Pour ce faire, des procédures et modes opératoires de désinfection du matériel doivent être mis en place et respectés^[43].

La révision de l'annexe 1 des GMP^[4] met en exergue que le niveau de risque du transfert de matériel doit être associé à la classe la plus stricte (classe A). C'est pourquoi, la révision de l'annexe 1 des GMP et le PIC/S (*pharmaceutical inspection convention and pharmaceutical inspection co-operation scheme*)^[44] mettent en avant l'utilisation de désinfectant sporicide pour la désinfection du matériel avant l'introduction dans le sas de transfert.

Afin de répondre aux exigences réglementaires biocides, mais également aux autres réglementations, les produits désinfectants 1 et 2 ont été remplacés par un désinfectant sporicide.

2. Le désinfectant

2.1. Choix du désinfectant

Le choix d'un produit désinfectant doit être l'aboutissement d'une démarche pluridisciplinaire incluant : les besoins et les objectifs de l'unité injectable, l'étude des dossiers scientifiques des produits désinfectants en liste et la réalisation d'essais.

Deux produits ont été proposés pour le projet de mise en place d'un produit sporicide : les produits 3 et 4 (tableau 14).

Les données des deux produits ont été demandées auprès des fournisseurs : la plaquette commerciale du produit, la fiche technique, la fiche de données de sécurité et le certificat d'analyse.

L'ensemble de ces documents permet de disposer des informations suivantes :

- L'indication du produit,
- La composition en principe actif,
- Les données physico-chimiques du produit,
- L'activité anti-microbienne et les normes associées : activités bactéricide, fongicide, sporicide et virucide,
- Les conditions de stockage (température, humidité, lumière) et les durées de conservation (avant et après ouverture et/ou dilution),
- La stabilité du produit dans son conditionnement et/ou après sa dilution,
- Les compatibilités / incompatibilités avec les matériaux et matériel,
- La toxicité du produit, les précautions d'emploi, la protection du personnel (EPI),
- Le mode d'élimination du produit et les risques environnementaux.

Dans un premier temps, la comparaison des produits est élaborée à l'aide des données fournisseurs en fonction du cahier des charges du site pharmaceutique (caractéristiques physico-chimiques, efficacité anti microbienne, toxicologie, sécurité).

Les évaluations des activités anti microbienne sont pratiquées avec des méthodes standardisées (normes spécifiques) permettant d'évaluer l'activité d'un produit, de manière identique, quel que soit le pays européen ou le laboratoire qui effectue le test.

Ces normes sont indispensables, car elles permettent de tester et de comparer l'efficacité des produits désinfectants entre eux, en fonction :

- de la concentration,
- du temps de contact,
- des substances interférentes,
- de la souche représentative.

Dans un deuxième temps, il est nécessaire de vérifier dans l'environnement de la zone de production (souche site) et sur différents supports (inox, gants néoprène) les activités des produits sporicides. La validation sur le terrain peut être réalisée après le choix du produit, en tenant compte du temps nécessaire, de la disponibilité du matériel, du personnel et du budget.

	Produit sporicide 3	Produit sporicide 4
Composition	Solution d'acide peracétique, peroxyde d'hydrogène, acide acétique (0,39%)	Solution d'acide peracétique, peroxyde d'hydrogène, acide acétique (< 10%)
Conditionnement/stockage	Double emballage À diluer	Double emballage Prêt à l'emploi
Données physico-chimique	pH = 2,3 (produit concentré) odeur faible	pH = 1,8 odeur de vinaigre
Activité bactéricide	EN 1276 - EN 13697	EN 1276 - EN 13697
Activité fongicide	EN 1650 - EN 13697	EN 1650 - EN 13697
Activité sporicide	EN 13704 - EN 13697	EN 13704
Activité virucide	EN 14476	EN 14476

Tableau 15: Comparaison des produits sporicides 3 et 4

À la différence du produit 3, le produit 4 est prêt à l'emploi, donc plus simple d'utilisation. Les deux produits sont stériles à double emballage permettant de les utiliser en zone aseptique.

Les activités antimicrobiennes des deux produits ont été évaluées avec les mêmes normes européennes pour les activités bactéricide, fongicide, virucide et sporicide. Le produit 3 a été testé avec une norme en plus, EN 13697, pour l'activité sporicide.

Les deux produits sporicides sont constitués des mêmes principes actifs mais en concentration différente. En effet, le produit 3 est composé d'une plus faible concentration en acide acétique, le désinfectant est donc moins acide avec une odeur plus faible, ce qui rend l'utilisation de ce sporicide plus tolérable pour les opérateurs.

L'étude et la comparaison des dossiers des deux produits sporicides proposés dans ce cas ont permis de choisir le produit sporicide 3.

2.2. Contrôle des spécifications du produit

Lorsque le choix du produit est réalisé, les laboratoires de contrôle analytique et microbiologique vont réaliser des essais sur trois lots différents du désinfectant sporicide choisi, afin de contrôler les spécifications du produit : des essais d'endotoxines et de stérilité, des essais physico-chimiques et des essais de stabilité du produit. Ces essais sont documentés par des protocoles et des rapports internes.

2.2.1. Les essais d'endotoxines et de stérilité

Conformément à la ligne directrice 1 des BPF, « les désinfectants et les détergents doivent être contrôlés sur le plan de la contamination microbienne »^[3]. Les essais d'endotoxines et de stérilité ont pour objectif de vérifier le taux de contamination microbienne des désinfectants utilisés au niveau des zones propres et stériles de production.

a. La filtration sur membrane – essai de stérilité

La technique utilisée sur le site de production au sein du laboratoire de microbiologie est la filtration sur membrane, réalisée sous isolateur. Des dispositifs stériles munis de membranes, dont le diamètre des pores est inférieur ou égal à 0,45 µm, permettent de retenir d'éventuelles contaminations. Les membranes sont ensuite rincées par des diluants puis ces dispositifs sont remplis de milieux de culture appropriés :

- Milieu liquide à l'hydrolysate de caséine et de trypticase soja destiné principalement à la recherche des bactéries aérobies mais capable de détecter les levures et moisissures,
- Milieu liquide au thioglycolate destiné principalement à la recherche des bactéries anaérobies mais capable de détecter des germes aérobies.

La durée d'incubation est de 14 jours à $22,5 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ ou à $32,5 \pm 2,5^{\circ}\text{C}$ en fonction de la nature du milieu de culture ^[45].

b. La colorimétrie cinétique – essai d'endotoxines

L'essai est basé sur la réaction des endotoxines bactériennes Gram négatif avec un lysat d'amœbocyte de limule (LAL). Selon la Pharmacopée européenne, cet essai peut être réalisé selon trois méthodes : la gélification, la turbidimétrie et la colorimétrie^[46].

La technique utilisée sur le site de production au sein du laboratoire de microbiologie est la colorimétrie cinétique. C'est une méthode quantitative qui permet de mesurer, par photométrie, la coloration jaune d'une substance chimique chromogène libérée au cours de la réaction endotoxines / LAL. La vitesse de la coloration de l'échantillon est fonction de la concentration en endotoxines. Des courbes étalons sont réalisées, à l'aide de solutions de concentrations connues, pour ensuite comparer la concentration en endotoxines dans l'échantillon^[47].

2.2.2. Les essais physico-chimiques

Des essais physico-chimiques sur le produit pur sont réalisés pour confirmer les données établies par le fournisseur : aspect/couleur - pH - densité - indice de réfraction.

2.2.3. Les essais après ouverture de flacon

Un produit désinfectant peut être conservé dans son conditionnement d'origine non ouvert jusqu'à sa date de péremption, dans des conditions de stockage préconisées par le fournisseur. Une fois le désinfectant ouvert, il peut y avoir une perte d'activité du désinfectant et/ou une potentielle contamination de ce produit. Il est donc important de suivre les recommandations du fournisseur, d'indiquer la date d'ouverture du désinfectant et de fermer le produit après chaque utilisation. Cependant, il est nécessaire d'effectuer l'ensemble des tests précisés en fonction des conditions d'utilisation (ouvertures, environnement).

Au sein de l'unité injectable, les essais de stabilité sont réalisés en conditions réelles de production, après la mise en place du désinfectant. Le bidon de désinfectant est ouvert en production autant de fois que nécessaire et avant la fin d'utilisation du désinfectant, le bidon est envoyé au laboratoire de microbiologie pour refaire l'ensemble des analyses : essais de stérilité, endotoxines, essais physico-chimiques.

3. Le protocole de validation de la désinfection

Le protocole de validation de la méthode de désinfection est un document interne à l'entreprise qui permet de donner les directives. Ce protocole a été mis en place et validé préalablement par les responsables du projet avant le début de celui-ci.

Ce document comprend :

- La responsabilité des différents acteurs impliqués,
- Les principes et les objectifs à atteindre,
- La description de l'environnement, du mode opératoire de désinfection (références des procédures) et des équipements nécessaires,
- La description des tests microbiologiques : plan d'échantillonnage, méthode de prélèvement, incubation, critères d'acceptation.

3.1. Les acteurs

La réalisation d'une validation d'un désinfectant nécessite une équipe polyvalente, constituée d'acteurs appartenant à différents départements de l'entreprise pharmaceutique. Les services principaux impliqués sont l'assurance qualité, la production et le laboratoire de contrôle analytique et de microbiologie.

L'assurance qualité a un rôle central car elle est chargée de s'assurer que la validation du désinfectant est réalisée en accord avec les réglementations et les procédures en vigueur. L'assurance qualité approuve également les modes opératoires, procédures et les protocoles et rapports en lien avec la validation.

La production est l'unité qui s'occupe de la mise en place du désinfectant.

Tout le service est impliqué, du responsable de production aux opérateurs. La production va regrouper l'ensemble des documents nécessaires à la validation du désinfectant : documentation produit, procédures et modes opératoires, planning. Ces documents sont nécessaires pour choisir le produit sporicide et rédiger par la suite le protocole de validation de la désinfection. La production crée, rédige, diffuse et fait respecter les modes opératoires et procédures.

Les laboratoires de contrôle analytique et de microbiologie ont pour rôle de qualifier le désinfectant avant son utilisation à l'aide de différents essais : essais physico-chimiques, de stérilité, d'endotoxines, de stabilité. Au cours de la validation de la désinfection, le laboratoire de microbiologie valide les méthodes de prélèvements, analyse les échantillons apportés par la production à la fin des essais et donne les résultats. Il participe donc à la rédaction du rapport en lien avec la validation de la désinfection.

Pour que le projet se déroule au mieux, les tâches ont été listées. Le tableau 16 ci-dessous reprend l'impact du changement de désinfectant, les tâches associées et les responsabilités par service.

Actions	Responsabilités
Contrôler la conséquence de l'utilisation du désinfectant sur la santé du personnel, sur l'environnement (Instructions, EPI)	Hygiène sécurité environnement (HSE)
Qualifier le fournisseur (questionnaire, audit, agrément)	Assurance qualité fournisseur
Qualifier le sporicide (essais) Valider la désinfection	Production, laboratoire microbiologie, analytique, assurance qualité
Rédiger le Protocole / rapport Mettre à jour la documentation	Production, laboratoire microbiologie, analytique, assurance qualité
Gérer les stocks, l'approvisionnement, les codes articles	Service technique/réglementaire
Former les opérateurs	Production

Tableau 16: Liste des actions à réaliser pour la mise en place d'un nouveau désinfectant

Toutes les personnes participant aux opérations de désinfection ainsi qu'aux prélèvements doivent être formées et habilitées aux protocoles et modes opératoires d'entrée en ZAC, de désinfection, d'utilisation de produits désinfectants, aux techniques de prélèvements et d'analyse.

Ces formations sont indispensables pour le personnel entrant en ZAC, pour comprendre et connaître le mécanisme des contaminations, afin d'adopter un comportement approprié.

Ces formations sont continues et réévaluées périodiquement afin de maintenir les compétences des opérateurs. L'habilitation du personnel est documentée et enregistrée en interne.

3.2. Le matériel de désinfection

Les lingettes utilisées pour la désinfection du matériel doivent résister au produit sporicide ainsi qu'à l'abrasion des surfaces à nettoyer. Ce matériel ne doit pas relarguer de contaminants particuliers, chimiques ou microbiologiques.

Afin de limiter les risques de contamination, ces lingettes sont à usage unique.

3.3. Les objectifs du protocole

Pour cette validation, l'équipe responsable du projet a décidé de valider la désinfection du passe-plat lui-même ainsi que du matériel entrant.

Les objectifs de ce protocole sont les suivants :

- Déterminer la biocharge du passe-plat,
- Valider l'efficacité de la désinfection du passe-plat avec le produit sporicide,
- Déterminer la biocharge du matériel non stérile introduit par le passe-plat,
- Valider l'efficacité de la désinfection avec le produit sporicide de l'ensemble du matériel entrant par le passe-plat,
- Diminuer le temps d'attente du matériel dans le passe-plat de deux heures à trente minutes.

Le protocole de validation a donc été divisé en deux parties distinctes :

- ✓ 1^{ère} partie : « Détermination de la biocharge du passe-plat et validation de sa désinfection avec le produit sporicide ».
- ✓ 2^{ème} partie : « Détermination de la biocharge du matériel non stérile et validation de la désinfection avec le produit sporicide de l'ensemble du matériel entrant par le passe-plat ».

Trois essais sont nécessaires pour valider la méthode de désinfection. Cette méthode est manuelle, ces trois essais ont donc été réalisés avec trois opérateurs différents et des jours différents pour valider la méthode de désinfection dans le « pire cas ».

3.4. Le mode opératoire de désinfection

Le mode opératoire de désinfection doit être rédigé en tenant compte des réalités et contraintes des utilisateurs. Le respect de ce mode opératoire garantit une désinfection optimale du matériel avec le produit sporicide.

3.4.1. Charge du passe-plat

Selon la révision de l'annexe 1 des GMP^[3], le matériel entrant en classe B doit être inscrit sur une liste de qualification. La charge du passe-plat a donc été revue entièrement pour établir une liste des besoins de matériel (matériel – quantité) pour la production au quotidien. Cette liste a été réalisée en collaboration avec les opérateurs/opératrices de répartition, le service de maintenance ainsi que les opérateurs/opératrices d'environnement, chargés de la désinfection de ce matériel.

Dans le cadre de cette validation, la désinfection est réalisée sur une charge maximale du passe-plat, afin de réaliser la validation dans le « pire cas » aussi appelé « *worst case* » (annexe 2).

3.4.2. Méthode de désinfection

La désinfection est réalisée par un(e) opérateur/opératrice muni(e) :

- de gants stériles,
- de lunettes de sécurité,
- d'un masque 3M filtre 6059 ABEK1,
- d'une charlotte bleue en classe D ou une cagoule en classe C, en plus de la tenue adaptée.

a. Méthode de désinfection du passe-plat

L'opérateur/opératrice réalise une désinfection totale du passe-plat par pulvérisation du désinfectant sporicide en godille du haut vers le bas :

- du plafond,
- de chaque paroi (y compris la porte côté classe B),
- du plateau,
- de l'intérieur de la porte (côté classe D),
- du cadre de la porte.

Selon le temps de contact recommandé pour ce désinfectant et en tenant compte du temps de renouvellement d'air dans le passe-plat, celui-ci est fermé pendant 30 minutes avant ouverture en classe B pour réaliser les contrôles.

b. Méthode de désinfection du matériel

Le passe-plat est constitué de 3 paniers filaires en inox permettant d'entreposer le matériel désinfecté et d'un support bidon. Pour réaliser la désinfection du matériel, l'opérateur/opératrice utilise deux chariots :

- ✓ un chariot pour entreposer le matériel à désinfecter,
- ✓ un chariot utilisé comme « champ stérile » afin d'aider l'opérateur/opératrice à désinfecter le matériel.

Désinfection du passe-plat : L'opérateur/opératrice réalise une désinfection totale du passe-plat par pulvérisation du produit sporicide en godille du haut vers le bas.

Désinfection du chariot « champ stérile » : Le chariot « champ stérile » est préalablement essuyé à l'alcool isopropylique. Avant de poser les poches, l'opérateur/opératrice pulvérise du désinfectant sporicide sur le plateau du chariot suivie d'un essuyage. Ce chariot sera désinfecté de la même manière régulièrement pendant toute la durée du protocole.

Introduction du matériel dans le passe-plat

Si le matériel arrive sans poche (figure 12), l'opérateur/opératrice doit :

Sous flux classe C :

- Pulvériser du produit sporicide dans une poche autoclavable,
- Pulvériser et essuyer du produit sporicide soigneusement sur toutes les surfaces du matériel,
- Mettre le matériel dans la poche et sceller la poche.

En classe D sur le chariot devant le passe-plat :

- Poser le matériel sur le chariot « champ stérile » préalablement désinfecté,
- Désinfecter la poche par pulvérisation de produit sporicide,
- Essuyer la poche avant de poser le matériel dans le passe-plat.

Exceptions : les poches déchets, le compteur de particules et les manches télescopiques à balai ne sont pas mis en poche. L'opérateur/opératrice procède à une désinfection du matériel par pulvérisation de produit sporicide puis essuie le matériel avant de le poser dans le passe-plat.

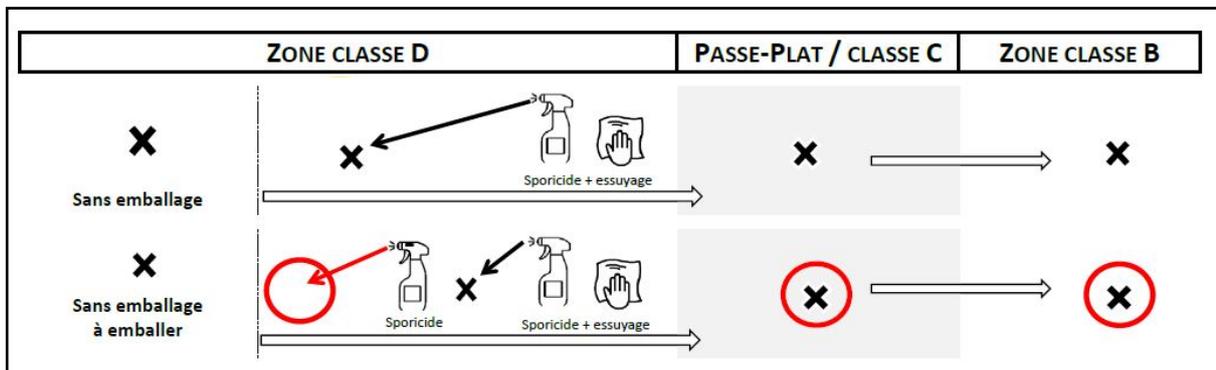


Figure 12: Désinfection au sporicide du matériel non stérile sans poche

Si le matériel ne présente qu'une seule poche (figure 13), l'opérateur/opératrice doit :

- Poser le matériel sur le chariot « champ stérile » préalablement désinfecté,
- Pulvériser du produit sporicide sur la poche,
- Essuyer la poche avant de poser le matériel dans le passe-plat.

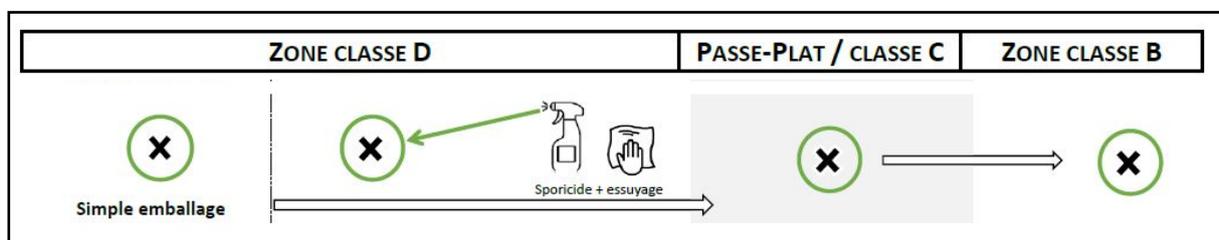


Figure 13: Désinfection au sporicide du matériel stérile à une poche

Si le matériel arrive avec deux ou plus de poches (figure 14), l'opérateur/opératrice doit :

- Poser le matériel sur le chariot « champ stérile » préalablement désinfecté,
- Retirer la poche externe,
- Pulvériser du produit sporicide sur le matériel,
- Essuyer le matériel,
- Poser le matériel dans le passe-plat.

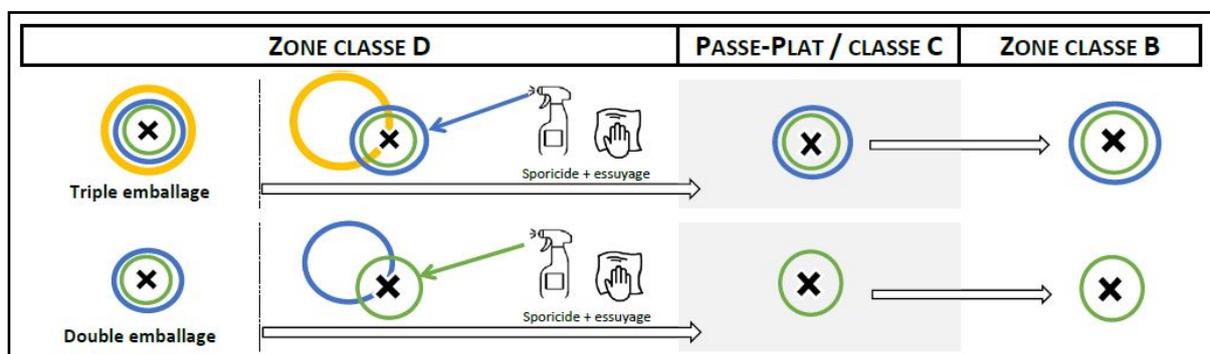


Figure 14: Désinfection au sporicide du matériel stérile à plusieurs poches

Une fois que tout le matériel est introduit dans le passe-plat, l'opérateur/opératrice réalise une désinfection totale du passe-plat par pulvérisation de produit sporicide en godille du haut vers le bas. Le passe-plat est ensuite refermé pour une durée de 30 minutes, avant de réaliser les contrôles en classe B.

3.5. Les prélèvements environnementaux

3.5.1. Le matériel de prélèvement

Le matériel de prélèvement doit être adapté à la surface à contrôler. Il ne doit pas être abrasif pour la surface du matériel, ni relarguer des contaminants. La réussite du prélèvement repose sur le plan d'échantillonnage élaboré ainsi que du respect du protocole.

Les surfaces du matériel contrôlé sont planes, le choix de la méthode de prélèvement s'est donc porté sur la méthode par contact, simple et rapide.

Les prélèvements sont effectués avec deux types de gélose :

- Les géloses trypticase Soja (GTS) CT (diamètre 55mm) utilisées pour le contrôle des surfaces planes telles que les parois du passe-plat et le matériel,
- Les BP GTS (diamètre 90mm) utilisées pour le contrôle des empreintes de gants après réalisation de l'ensemble des contrôles de l'essai.

Ces prélèvements seront directement remis au laboratoire de microbiologie du site pour incubation avant de réaliser la lecture.

3.5.2. Plan d'échantillonnage

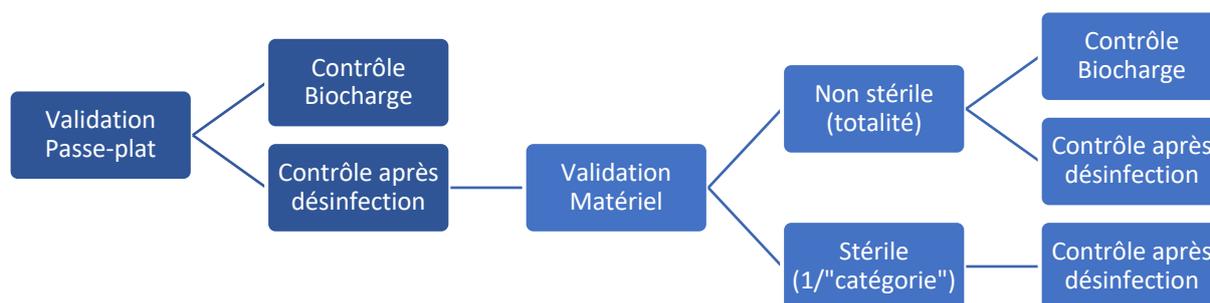


Figure 15: Récapitulatif des contrôles microbiologiques

La figure 15 ci-dessus récapitule les prélèvements microbiologiques (biocharge et après désinfection au produit sporicide) effectués au cours du protocole de validation.

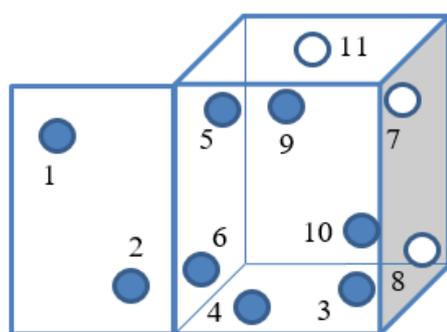
Des biocharges avant la désinfection du passe-plat sont réalisées ainsi que sur l'ensemble du matériel non stérile uniquement, c'est-à-dire en condition « *worst case* ». La biocharge désigne le nombre de germes qui se trouve sur une surface ou sur un matériel. L'identification de la biocharge permet de :

- Connaître la flore microbienne,
- Montrer l'efficacité de la désinfection ou de la résistance des microorganismes.

Les points de prélèvement sont les mêmes pour les biocharges et les contrôles après désinfection au produit sporicide du matériel et du passe-plat.

a. Prélèvements du passe-plat

Les géloses CT (figure 16) seront apposées de la manière suivante pour l'évaluation de la biocharge et après désinfection au produit sporicide :



- (1)-(2) Porte côté classe D
- (3)-(4) Plateau
- (5)-(6) Paroi gauche
- (7)-(8) Paroi droite
- (9)-(10) Porte côté classe B
- (11) Plafond

Figure 16: Points de prélèvement microbiologique du passe-plat

Les prélèvements pour la biocharge du passe-plat sont réalisés côté classe D.

Les prélèvements après désinfection au produit sporicide du passe-plat sont réalisés côté classe B, suivie du contrôle des gants de l'opérateur/opératrice par BP.

b. Prélèvements du matériel

Le matériel à contrôler après la désinfection au produit sporicide, a été choisi en fonction de sa stérilité ou non. Le matériel contenu dans une ou plusieurs poches est stérile, le nombre de contrôles est donc diminué par rapport au matériel non stérile. L'ensemble du matériel non stérile (sans poche ou mis en poche) sera contrôlé, car il est considéré comme relevant d'une situation « *worst case* ».

Pour chaque « catégorie » de matériel stérile (3 poches / 2 poches / 1 poche), un seul matériel a été sélectionné pour contrôle dans le cadre de l'essai. Le matériel a été choisi en fonction de la difficulté à le désinfecter (grande taille, recoins).

Les poches seront également prélevées pour vérifier leur désinfection au produit sporicide.

Le tableau 17 ci-dessous récapitule les prélèvements effectués sur le matériel.

Nombre de poche avant passe-plat	Prélèvement avant désinfection (biocharge)	Nombre de poche dans le passe-plat	Prélèvement après désinfection
3	NA	2	Poche
2	NA	1	Poche
1	NA	1	Poche
0	Matériel	0	Matériel
0	Matériel + poche	1	Matériel + poche

Tableau 17: Récapitulatif des prélèvements microbiologiques du matériel

Les prélèvements pour la biocharge du matériel et des poches sont réalisés côté classe D.

Les prélèvements après désinfection au produit sporicide du matériel et des poches sont réalisés côté classe B, suivie du contrôle des gants de l'opérateur/opératrice par BP.

4. Le rapport de validation

Le rapport de validation est établi après réception des résultats des prélèvements par le laboratoire de microbiologie. Ce document rappelle les objectifs du protocole de validation et les conditions opératoires des essais. Il contient l'ensemble des résultats présentés de façon synthétique, qui sont comparés aux limites d'acceptation. Les observations et les écarts produits au cours de la validation figurent également dans le rapport. Les conclusions du rapport doivent être rédigées de façon claire et doivent conduire à des recommandations ou des propositions d'améliorations de la procédure de désinfection le cas échéant.

4.1. Limites internes acceptables

Les biocharges et désinfections réalisées sont validées si le nombre de microorganismes est conforme aux limites prédéterminées (tableau 18). Les limites des classes D, C et des alarmes de la classe B, sont déterminées à partir des limites recommandées de la contamination biologique des BPF. Les alertes en classe B ont été ajoutées en interne. Elles ont été choisies par rapport à un historique de résultats au sein de l'unité injectable, et permettent de mettre en place des actions préventives ou correctives avant d'atteindre la limite des BPF (alarme).

Validation de la désinfection du passe-plat et du matériel			
Classe B		Classe C	Classe D
Zone intermédiaire		Zone intermédiaire	
Surface (CT)	Alerte : ≤ 3 UFC/CT	≤ 25 UFC/CT	≤ 50 UFC/CT
	Alarme : ≤ 5 UFC		
Gants (BP)	Alerte : ≤ 1 UFC/BP	NA	NA
	Alarme : ≤ 5 UFC/BP		

Tableau 18: Limites internes acceptables - validation de la désinfection au sporicide

4.2. Résultats

4.2.1. Biocharge / Désinfection du passe-plat

Contrôles microbiologiques du passe-plat			
Passe-plat		Gants opérateurs / opératrices	
Sans désinfectant (biocharge) (n° essai : 1-2-3)	Avec sporicide (n° essai : 4-5-6)	Sans désinfectant (biocharge) (n° essai : 1-2-3)	Avec sporicide (n° essai : 4-5-6)
Essai 1 : conforme < 1 UFC/CT	Essai 4 : conforme < 1 UFC/CT	NA	Essai 4 : conforme < 1 UFC/CT
Essai 2 : conforme < 1 UFC/CT	Essai 5 : conforme < 1 UFC/CT	NA	Essai 5 : conforme < 1 UFC/CT
Essai 3 : conforme < 1 UFC/CT	Essai 6 : conforme < 1 UFC/CT	NA	Essai 6 : conforme < 1 UFC/CT

Tableau 19: Résultats des contrôles microbiologiques du passe-plat

Les 3 biocharges réalisées, essais n°1-3 (tableau 19) sont conformes aux limites prédéterminées. Le protocole de désinfection du passe-plat au produit sporicide sélectionné a été réalisé sur 3 essais, essais n°4-6, qui sont conformes aux limites acceptables. On peut conclure que cette méthode de désinfection du passe-plat au produit sporicide est efficace.

4.2.1. Biocharge / Désinfection du matériel

Tableau 20: Résultats des contrôles microbiologiques du matériel

Contrôles microbiologiques du matériel			
Count-tact® (3 poches → 2 poches)		Manchettes (2 poches → 1 poche)	
Sans désinfectant (biocharge) (n° essai : 1-2-3)	Avec sporicide (n° essai : 4-5-6)	Sans désinfectant (biocharge) (n° essai : 1-2-3)	Avec sporicide (n° essai : 4-5-6)
NA	Essai 4 : conforme < 1 UFC/CT	NA	Essai 4 : conforme < 1 UFC/CT
NA	Essai 5 : conforme < 1 UFC/CT	NA	Essai 5 : conforme < 1 UFC/CT
NA	Essai 6 : conforme < 1 UFC/CT	NA	Essai 6 : conforme < 1 UFC/CT
Flacons stériles (1 poche → 1 poche)		Gants opérateurs/opératrices	
Sans désinfectant (biocharge) (n° essai : 1-2-3)	Avec sporicide (n° essai : 4-5-6)	Sans désinfectant (biocharge) (n° essai : 1-2-3)	Avec sporicide (n° essai : 4-5-6)
NA	Essai 4 : conforme < 1 UFC/CT	NA	Essai 4 : conforme < 1 UFC/CT
NA	Essai 5 : conforme < 1 UFC/CT	NA	Essai 5 : conforme < 1 UFC/CT
NA	Essai 6 : conforme < 1 UFC/CT	NA	Essai 6 : conforme < 1 UFC/CT

Contrôles microbiologiques du matériel			
Allume gaz (0 poche → 1 poche)		Poche allume gaz	
Sans désinfectant (biocharge) (n° essai : 1-2-3)	Avec sporicide (n° essai : 4-5-6)	Sans désinfectant (biocharge) (n° essai : 1-2-3)	Avec sporicide (n° essai : 4-5-6)
Essai 1 : Conforme 2AG-1 : 5 UFC/CT <i>Bacillus simplex</i> <i>Kocuria rhizophila</i> <i>Micrococcus luteus</i> 3AG-1 : 2UFC/CT <i>Staph hominis</i> <i>Bacillus species</i> le reste <1 UFC/CT	Essai 4 : conforme < 1 UFC/CT	Essai 1 : Conforme 3PAG(1)-1: 2UFC/T <i>Micrococcus luteus</i> <i>Staph epidermidis</i> le reste <1 UFC/CT	Essai 4 : conforme < 1 UFC/CT
Essai 2 : conforme < 1 UFC/CT	Essai 5 : conforme < 1 UFC/CT	Essai 2 : Conforme 1PAG(1)-2:1UFC/CT <i>Micrococcus luteus</i> le reste <1 UFC/CT	Essai 5 : conforme < 1 UFC/CT
Essai 3 : conforme < 1 UFC/CT	Essai 6 : conforme < 1 UFC/CT	Essai 3 : conforme < 1 UFC/CT	Essai 6 : conforme < 1 UFC/CT
EPI sporicide (0 poche → 1 poche)		Poche EPI sporicide	
Sans désinfectant (biocharge) (n° essai : 1-2-3)	Avec sporicide (n° essai : 4-5-6)	Sans désinfectant (biocharge) (n° essai : 1-2-3)	Avec sporicide (n° essai : 4-5-6)
Essai 1 : conforme EPI(3)-1: 1UFC/CT <i>Gemella haemolysans</i> le reste < 1UFC/CT	Essai 4 : Conforme EPI(3)-4: 1UFC/CT <i>Staphylococcus</i> <i>Staph epidermidis</i> le reste <1 UFC/CT	Essai 1 : conforme < 1 UFC/CT	Essai 4 : conforme < 1 UFC/CT
Essai 2 : Conforme EPI(4)-2: 2UFC/CT <i>Micrococcus luteus</i> <i>Staphylococcus succinus</i> le reste <1 UFC/CT	Essai 5 : conforme < 1 UFC/CT	Essai 2 : Conforme 3PEPI(2)-2:3UFC/CT <i>Kocuria rosea</i> le reste <1 UFC/CT	Essai 5 : conforme < 1 UFC/CT
Essai 3 : Conforme EPI (2)-3 : 3UFC/CT <i>Staph epidermidis</i> , <i>Staph capitis</i> le reste < 1 UFC/CT	Essai 6 : conforme < 1 UFC/CT	Essai 3 : Conforme 2EPI(1)-3 : 6UFC/CT <i>Staph epidermidis</i> <i>Staph capitis</i> le reste < 1 UFC/CT	Essai 6 : Conforme 2PEPI(1)-6:1UFC/CT <i>Staph epidermidis</i> le reste < 1 UFC/CT

Contrôles microbiologiques du matériel			
Tube de graisse (0 poche → 1 poche)		Poche tube de graisse	
Sans désinfectant (biocharge) (n° essai : 1-2-3)	Avec sporicide (n° essai : 4-5-6)	Sans désinfectant (biocharge) (n° essai : 1-2-3)	Avec sporicide (n° essai : 4-5-6)
Essai 1 : conforme 2TG-1 : 4UFC/CT <i>Staph capitis</i> <i>Staph epidermidis</i> 3TG-1 : 1UFC/CT <i>Micrococcus luteus</i> le reste <1 UFC/CT	Essai 4 : conforme < 1 UFC/CT	Essai 1 : conforme < 1 UFC/CT	Essai 4 : conforme < 1 UFC/CT
Essai 2 : conforme < 1 UFC/CT	Essai 5 : conforme < 1 UFC/CT	Essai 2 : conforme < 1 UFC/CT	Essai 5 : conforme < 1 UFC/CT
Essai 3 : conforme 3TG-3 : 1 UFC/CT <i>Staph epidermidis</i> le reste < 1 UFC/CT	Essai 6 : conforme < 1 UFC/CT	Essai 3 : conforme 1PTG(1)-3 : 1 UFC/CT <i>Sporidesmiella fusiformis</i> le reste < 1 UFC/CT	Essai 6 : conforme < 1 UFC/CT
Tête de vanne (0 poche → 1 poche)		Poche tête de vanne	
Sans désinfectant (biocharge) (n° essai : 1-2-3)	Avec sporicide (n° essai : 4-5-6)	Sans désinfectant (biocharge) (n° essai : 1-2-3)	Avec sporicide (n° essai : 4-5-6)
Essai 1 : conforme < 1 UFC/CT	Essai 4 : conforme < 1 UFC/CT	Essai 1 : conforme < 1 UFC/CT	Essai 4 : conforme < 1 UFC/CT
Essai 2 : conforme VA-2: 2UFC/CT <i>Staph epidermidis</i>	Essai 5 : conforme < 1 UFC/CT	Essai 2 : conforme < 1 UFC/CT	Essai 5 : conforme < 1 UFC/CT
Essai 3 : conforme VA-3 : 2 UFC/CT <i>Bacillus halotolerans / mojavensis / subtilis / tequilensis</i> <i>Staph species</i>	Essai 6 : conforme < 1 UFC/CT	Essai 3 : conforme < 1 UFC/CT	Essai 6 : conforme < 1 UFC/CT

Contrôles microbiologiques du matériel			
Manche télescopique à balai (0 poche)		Compteur (0 poche)	
Sans désinfectant (biocharge) (n° essai : 1-2-3)	Avec sporicide (n° essai : 4-5-6)	Sans désinfectant (biocharge) (n° essai : 1-2-3)	Avec sporicide (n° essai : 4-5-6)
Essai 1 : conforme < 1 UFC/CT	Essai 4 : conforme < 1 UFC/CT	Essai 1 : conforme CP(1)-1: 4UFC/CT <i>Moraxella osloensis</i> <i>Micrococcus luteus</i> le reste <1UFC/CT	Essai 4 : conforme < 1 UFC/CT
Essai 2 : conforme < 1 UFC/CT	Essai 5 : conforme < 1 UFC/CT	Essai 2 : conforme CP(1)-2: 2UFC/CT <i>Micrococcus luteus</i> <i>Moraxella osloensis</i> le reste <1UFC/CT	Essai 5 : conforme < 1 UFC/CT
Essai 3 : conforme < 1 UFC/CT	Essai 6 : conforme < 1 UFC/CT	Essai 3 : conforme CP(1)-3 : 2 UFC/CT <i>Bacillus altitudinis/pumilus,safensis</i> CP(2)-3 : 11 UFC/CT et CP(3)-3 : 2 UFC/CT <i>Staph capitis</i>	Essai 6 : conforme < 1 UFC/CT
Poche déchet (0 poche)			
Sans désinfectant (biocharge) (n° essai : 1-2-3)		Avec sporicide (n° essai : 4-5-6)	
Essai 1 : conforme 2PD(1)-1: 1UFC/CT - <i>Staphylococcus epidermidis</i> 2PD(2)-1: 6UFC/CT - <i>Mycosphaerella species, Bacillus amyloliquefaciens / siamensis / velezensis, Paenisporosarcina sp., Kocuria rhizophila</i> 2PD(3)-1: 3UFC/CT - <i>Staphylococcus epidermidis, Micrococcus luteus</i> 2PD(4)-1: 2UFC/CT - <i>Mycosphaerella species, Microbacterium lemovicicum</i> 3PD(2)-1: 1UFC/CT - <i>Penicillium crustosum</i> le reste <1UFC/CT		Essai 4 : conforme < 1 UFC/CT	
Essai 2 : conforme 1PD(1)-2 : 1 UFC/CT - <i>Micrococcus luteus</i> 1PD(2)-2 : 1 UFC/CT- <i>Staphylococcus hominis</i> le reste <1 UFC/CT		Essai 5 : conforme < 1 UFC/CT	
Essai 3 : conforme 1PD(2)-3 : 1 UFC/CT - <i>Bacillus halosaccharovorans</i> le reste < 1 UFC/CT		Essai 6 : conforme < 1 UFC/CT	

Le matériel non stérile a été contrôlé avant désinfection (3 biocharges). Un germe *Bacillus species* (1 UFC/CT) a été retrouvé sur un matériel. Le résultat est conforme à la limite prédéterminée. Ce germe indésirable n'a pas été retrouvé sur le matériel après désinfection au produit sporicide. On peut conclure que les 3 biocharges avant désinfection sont conformes aux limites prédéterminées.

La validation de la désinfection du matériel a été réalisée sur 3 essais, essais n°4-6 (tableau 20). Les essais 4 et 6 montrent un résultat à 1 UFC/CT sur un matériel, ces résultats sont conformes aux limites acceptables. Les 3 essais sont conformes aux limites prédéterminées. On peut conclure que cette méthode de désinfection au produit sporicide stérile (produit C) du matériel introduit dans le passe-plat est efficace. La diminution du temps d'attente des éléments dans le passe-plat de 2 heures à 30 minutes est validée.

Au terme de la validation de la désinfection, l'ensemble de la documentation en lien avec cette validation sera mis à jour en fonction des modifications effectuées.

4.3. Conclusion du projet

Cette validation d'un produit sporicide pour la désinfection du matériel transféré de la classe D à la classe B a permis de :

- remettre à jour la liste de matériel entrant en zone stérile via le passe-plat,
- diminuer le temps de contact du matériel avec le désinfectant dans le passe-plat de 2 heures à 30 minutes,
- répondre aux exigences réglementaires,
- donner la preuve scientifique et documentée, de la maîtrise de la propreté microbiologique du matériel,
- réduire le risque de contamination des médicaments en zone aseptique.

CONCLUSION

Avant la mise en place du règlement biocide n° 528/2012, les produits désinfectants destinés à l'industrie pharmaceutique en France, n'étaient pas soumis à autorisation spécifique par les autorités compétentes avant leur mise sur le marché.

Depuis des décennies, ces produits font partie intégrante de notre quotidien, personnel et/ou professionnel pour des applications multiples. La méconnaissance ou la mauvaise utilisation de ces substances et formules chimiques peuvent conduire à un risque pour la santé humaine, animale ou l'environnement.

Les nouvelles réglementations qui se mettent en place depuis une dizaine d'année contribuent à une meilleure connaissance de ces substances et des risques associés à leurs usages ; la réglementation biocide ayant pour objectif de maîtriser ou de limiter les substances chimiques, afin de protéger la santé de l'utilisateur et l'environnement.

Des données nouvelles ou complémentaires sont maintenant accessibles et ont permis de rationaliser l'usage et les modalités d'application des produits désinfectants en Europe. Leurs utilisations sont et seront ainsi structurées dans les domaines définis par type de produits.

Ainsi, à l'instar des médicaments, chaque produit sera soumis à une autorisation de mise sur le marché afin de pouvoir être commercialisé. Ce processus permettra de définir de manière exhaustive les risques liés à leur utilisation, mais également de garantir un certain niveau de qualité.

Les contraintes liées à la nouvelle réglementation ont pour conséquence la réduction du nombre de produits biocides sur le marché. Le niveau d'exigence augmentant, l'offre est alors plus restreinte, le nombre de substances actives biocides disponibles évolue peu et le nombre de fournisseur diminue également. En conséquence, tous ces facteurs conduisent à s'interroger sur l'avenir des produits chimiques désinfectants.

Dans le cas précis de l'industrie pharmaceutique, plusieurs réflexions sont à mener dans le contexte actuel de la stratégie à mettre en place pour le contrôle des risques de contamination (CCS).

Dans un premier temps, l'amélioration de certains procédés de fabrication pourrait être vraisemblablement envisagée afin de mieux maîtriser les risques microbiens au cours de la production.

Concernant le traitement « décontaminant » des surfaces et équipements, il faudra éventuellement reconsidérer l'usage de procédés physiques tels que ceux utilisés en stérilisation et imaginer ou adapter leur usage dans le contexte de la production pharmaceutique. Ainsi des traitements par rayonnements ionisants sont utilisés comme agents de stérilisation d'articles de conditionnement directement en ligne ; de même des procédés tels que les rayonnements UV, la lumière pulsée pourraient sans doute être applicables à certaines étapes de fabrication.

Avec l'essor des nanotechnologies et le développement des surfaces traitées, ces procédés voient leurs applications se développer dans le domaine de la santé et du grand public.

Depuis peu, l'industrie agroalimentaire utilise la lumière pulsée permettant de « stériliser » les emballages et les opercules en ligne sans avoir recours à des produits chimiques^[48].

Les hôpitaux installent des surfaces en cuivre antimicrobien sur les endroits les plus critiques (poignées, interrupteurs, rampes d'accès), permettant de réduire les contaminations microbiennes^[49]. Les nanoparticules d'argent sont également utilisées comme surface antimicrobienne pour certains dispositifs médicaux^[50] ou les emballages agroalimentaires^[51].

Mais ces nouveaux procédés pourraient-ils convenir pour l'industrie pharmaceutique ?

Beaucoup de points restent à maîtriser concernant la mise en œuvre de ces procédés, leur coût, leur conformité aux exigences du milieu pharmaceutique, la maîtrise de leur toxicité, de leur pérennité, la reproductibilité et la répétabilité des effets.

En attendant l'évolution de ces procédés, l'évolution de la réglementation permet l'utilisation des biocides est de manière plus rationnelle et sécurisée pour les utilisateurs.

Les bénéfices pour l'utilisateur sont en terme d'efficacité, avec des produits dont l'activité est obligatoirement évaluée selon des normes européennes permettant de déterminer une dose d'emploi efficace ; en terme de sécurité, car les formules mises sur le marché ont fait l'objet de validation complète sur l'évaluation des risques pour la santé et l'environnement selon le domaine d'application auquel elles sont destinées, les substances présentant des profils toxicologiques et/ou éco toxicologiques défavorables ayant fait l'objet de substitutions.

The logo for Clicours.COM is displayed in white text on a light blue rectangular background.

BIBLIOGRAPHIE

- [1] ANSM. *Guide des bonnes pratiques de fabrication*. Paris, France: **2019**. Partie II, *Bonnes pratiques de fabrication pour les substances actives utilisées comme matières premières dans les médicaments*. p.104-108.
- [2] AFNOR. *Norme ISO 14644-1 : Salles propres et environnements maîtrisés apparentés – Partie 1 : Classification de la propreté particulaire de l'air*. La Plaine Saint-Denis, France : AFNOR, **2016**. 54p.
- [3] ANSM. *Guide des bonnes pratiques de fabrication*. Paris, France: **2019**. Ligne directrice 1, *Fabrication des médicaments stériles*. p.252-268.
- [4] Commission Européenne. *Good Manufacturing Practice*. Révision annexe 1, *Manufacture of Sterile Medicinal Products*. [En ligne]. Format PDF, disponible sur https://ec.europa.eu/health/sites/health/files/files/gmp/2017_12_pc_annex1_consultation_document.pdf, consulté le 4 octobre 2019.
- [5] Sofise®. *Filtration stérilisante : décryptage pour vos applications en pharma-biotech*. [En ligne]. <https://blog.sofise-filtration.com/industries/pharma-biotech/filtration-sterilisante-decryptage-pour-vos-applications-en-pharma-biotech>, consulté le 16 novembre 2019.
- [6] Dominique Sierakowski et Philippe Jérôme. Cahier pratique : Répartition aseptique sous isolateur ou open RABS ?. *A3P, La Vague*, **février 2012**, n°33.
- [7] Christophe Benoit. BFS : procédé aseptique alternatif innovant. *A3P, La Vague*, **mars 2014**, n°41, p.11-14.
- [8] WHO. *Annex 5 : Supplementary guidelines on good manufacturing practices for heating, ventilation and air-conditioning systems for non-sterile pharmaceutical dosage forms*. [En ligne]. WHO Technical Report Series, **2011**, n°961. Format PDF, disponible sur https://www.who.int/medicines/areas/quality_safety/quality_assurance/SupplementaryGMPhHeatingVentilationAirconditioningSystemsNonSterilePharmaceuticalDosageFormsTRS961Annex5.pdf, consulté le 30 mars 2019.
- [9] EDQM. *Pharmacopée Européenne : Qualité microbiologique des produits pharmaceutiques non stériles*. 8^{ème} édition. Strasbourg: Conseil de l'Europe, **2014**. Point 5.1.4, p.601-602.

- [10] ANSM. *Alerte du 29/10/2007 : Retrait de lots de la spécialité GALACTOGIL, granulés.* [En ligne]. <https://ansm.sante.fr/S-informer/Communiqués-Communiqués-Points-presse/Contamination-microbienne-de-lots-de-Galactogil>, consulté le 16 novembre 2019.
- [11] Lisa Creusot. *La décontamination par voie aérienne des locaux dans l'industrie pharmaceutique (...).* **2011**. Thèse de doctorat : Pharmacie. Université de Lorraine. Faculté de pharmacie de Nancy. 99p.
- [12] CCLin est. *L'hygiène des mains des professionnels de santé.* [En ligne]. Format PDF, disponible sur http://nosobase.chu-lyon.fr/recommandations/cclin_arlin/cclinEst/2012_hygiene_mains_CCLinEst.pdf, consulté le 24 octobre 2019.
- [13] AFNOR. *Norme ISO 14698-1 : Salles propres et environnements maîtrisés apparentés, Maîtrise de la biocontamination - Partie 1 : Principes Généraux et Méthodes.* La Plaine Saint-Denis, France : AFNOR, **2004**. 35p.
- [14] Laura Tordjman-Valency. *Défi du dénombrement microbien dans l'industrie pharmaceutique: les nouvelles méthodes alternatives sont-elles appliquées?.* **2016**. Thèse de doctorat : Pharmacie. Université de Grenoble Alpes. Faculté de pharmacie de Grenoble. 92p.
- [15] Ousmane Traoré. *Surveillance de l'environnement.* [En ligne]. Format PDF, disponible sur http://www.cpias-auvergnerrhonealpes.fr/animation/es/2018/28_09_18/7_%20controle_environnement.pdf, consulté 01 mars 2019.
- [16] United States Pharmacopeial Convention. *Microbiological control and monitoring of aseptic processing environments.* 38^{ème} édition. **2015**. Chap. 1116, p.1191-1203.
- [17] FDA. *Sterile Drug Products produced by aseptic processing – current Good Manufacturing Practice.* p.35. [En ligne]. Disponible sur <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/sterile-drug-products-produced-aseptic-processing-current-good-manufacturing-practice>, consulté le 03 septembre 2019.
- [18] JP XVI. *General Information : Microorganisms.* p.2213. [En ligne]. Format PDF, disponible sur <http://jpdbs.nihs.go.jp/jp16e/000152788.pdf>, consulté le 03 septembre 2019.
- [19] WHO. *Environmental Monitoring of Clean Rooms in Vaccine Manufacturing Facilities.* [En ligne]. Point 62, p.29. Format PDF, disponible sur

https://www.who.int/immunization_standards/vaccine_quality/env_monitoring_cleanrooms_final.pdf, consulté le 03 septembre 2019.

[20] Roland Guinet. Les contrôles environnementaux suite aux rencontres de microbiologie. *A3P, La Vague*, **septembre 2012**, n°35, p.17-19.

[21] Françoise Durand. La validation des désinfectants. *Salles propres*, **février-mars 2015**, n°96, p.36-40.

[22] Richard Massicotte. *Désinfectants et désinfection en hygiène et salubrité : principes fondamentaux*. [En ligne]. Format PDF, disponible sur <https://publications.msss.gouv.qc.ca/msss/fichiers/2009/09-209-03F.pdf>, consulté le 01 mars 2019.

[23] CCLin sud-ouest. *Le bon usage des antiseptiques*. [En ligne]. Format PDF, disponible sur https://www.sfm.uqam.ca/upload/consensus/cclin_antisept_usage.pdf, consulté le 05 janvier 2019.

[24] AFNOR. *NF EN 14885 : Antiseptiques et désinfectants chimiques – application des normes européennes sur les antiseptiques et désinfectants chimiques*. La Plaine Saint-Denis, France : AFNOR, **2018**.

[25] Yoann Pelzer. *Nettoyage et désinfection des équipements de conditionnement : enjeux, problématiques et solutions d'amélioration continue sur un site de fabrication de produits pharmaceutiques et cosmétiques*. **2018**. Thèse de doctorat : Pharmacie. Université de Toulouse. Faculté de pharmacie de Toulouse. 113p.

[26] Hervé Ney. *Mode d'action des désinfectants – quelques notions*. [En ligne]. Format PDF, disponible sur http://www.sssh.ch/uploads/media/4_De__sinfectants_SSSH_SR_mars_2013_Herve__.pdf, consulté le 29 mars 2019.

[27] Règlement (UE) du 22 mai 2012 relatif à la mise à disposition sur le marché et l'utilisation des produits biocides. *Journal Officiel de l'Union européenne*. **2012**. N°528/2012.

[28] ECHA. *Types de produits*. [En ligne]. Disponible sur <https://echa.europa.eu/fr/regulations/biocidal-products-regulation/product-types>, consulté le 22 août 2019.

[29] ECHA. *Information on biocides*. [En ligne]. Disponible sur <https://echa.europa.eu/fr/information-on-chemicals/biocidal-active->

substances?p_p_id=dissactivesubstances_WAR_dissactivesubstancesportlet&p_p_lifecycle=1&p_p_state=normal&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_pos=2&p_p_col_count=3&_dissactivesubstances_WAR_dissactivesubstancesportlet_javax.portlet.action=dissActiveSubstancesAction, consulté le 22 août 2019.

[30] ECHA. *Comprendre REACH*. [En ligne]. Disponible sur <https://echa.europa.eu/fr/regulations/reach/understanding-reach>, consulté le 23 août 2019.

[31] Ministère de la transition écologique et solidaire. *Produits biocides*. [En ligne]. Disponible sur <https://www.ecologique-solidaire.gouv.fr/produits-biocides#e2>, consulté le 23 août 2019.

[32] Françoise Durand. La réglementation biocide appliquée aux désinfectants utilisés dans l'industrie pharmaceutique : ce qu'il faut savoir.... *A3P, La Vague*, **juillet 2017**, n°54, p.22-25.

[33] ANSES. *Quand ?*. [En ligne]. Format PDF, disponible sur https://www.helpdesk-biocides.fr/index.php?option=com_content&view=article&id=83&Itemid=88&lang=fr, consulté le 25 août 2019.

[34] ANSES. *Approbation de substances actives*. [En ligne]. Disponible sur https://www.helpdesk-biocides.fr/index.php?option=com_content&view=article&id=109&Itemid=127&lang=fr, consulté le 25 août 2019.

[35] Règlement d'exécution (UE) de la commission du 29 avril 2016 approuvant l'acide peracétique en tant que substance active existante destinée à être utilisée dans les produits biocides relevant des types de produits 1, 2, 3, 4, 5 et 6. *Journal Officiel de l'Union européenne*. **2016**. N°2016/672.

[36] ECHA. *Renouvellement des substances actives*. [En ligne]. Disponible sur <https://echa.europa.eu/fr/regulations/biocidal-products-regulation/approval-of-active-substances/renewal-of-active-substances>, consulté le 27 août 2019.

[37] Ecomundo. *Période transitoire*. [En ligne]. Disponible sur <https://www.ecomundo.eu/fr/reglement-biocides/periode-transitoire>, consulté le 27 août 2019.

- [38] ECHA. *Autorisation des Produits biocides*. [En ligne]. Disponible sur <https://echa.europa.eu/fr/regulations/biocidal-products-regulation/authorisation-of-biocidal-products>, consulté le 24 août 2019.
- [39] Ecomundo. *Les différents types d'AMM biocides*. [En ligne]. Disponible sur <https://www.ecomundo.eu/fr/blog/differents-types-amm-biocides>, consulté le 24 août 2019.
- [40] Règlement (CE) du 16 décembre 2008 relatif à la classification, à l'étiquetage et à l'emballage des substances et des mélanges. *Journal Officiel de l'Union Européenne*. **2008**. N°1272/2008.
- [41] ECHA. *Fournisseurs ou utilisateurs de biocides*. [En ligne]. Disponible sur <https://echa.europa.eu/fr/support/getting-started/biocides/using-biocidal-products-or-treated-articles>, consulté le 27 août 2019.
- [42] ECHA. *Fournisseurs approuvés*. [En ligne]. Disponible sur <https://echa.europa.eu/fr/regulations/biocidal-products-regulation/approved-suppliers>, consulté le 27 août 2019.
- [43] FDA. *Sterile Drug Products produced by aseptic processing – current Good Manufacturing Practice*. [En ligne]. p.11. Disponible sur <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/sterile-drug-products-produced-aseptic-processing-current-good-manufacturing-practice>, consulté le 28 octobre 2019.
- [44] PIC/S. *Recommendation on the validation of aseptic processes*. [En ligne]. Point 9.4.2, p.13. Format PDF, disponible sur file:///Users/JackBauer/Downloads/pi007_6recommendationonasepticprocesses.pdf, consulté le 28 octobre 2019.
- [45] EDQM. *Pharmacopée Européenne : Stérilité*. 8^{ème} édition. Strasbourg: Conseil de l'Europe, **2014**. Point 2.6.1.
- [46] EDQM. *Pharmacopée Européenne : Endotoxines bactériennes*. 8^{ème} édition. Strasbourg: Conseil de l'Europe, **2014**. Point 2.6.14.
- [47] G. Greff-Mirguet. Échantillonnage et analyse des endotoxines dans l'air. Étude bibliographique. *Cahiers de Notes Documentaires - Hygiène et Sécurité du Travail*, **2002**, n°187, p.73-87. [En ligne]. Disponible sur <https://hal.archives-ouvertes.fr/hal-01628302/document>, consulté le 28 octobre 2019.

[48] Claranor. *Principe et action sur les microorganismes*. [En ligne]. Disponible sur <http://www.claranor.fr/la-lumiere-pulsee>, consulté le 19 novembre 2019.

[49] Hygiène en laboratoire. *Surface antibactérienne : l'utilisation du cuivre*. [En ligne]. Disponible sur <http://www.hygiene-laboratoire.com/surface-antibacterienne-cuivre/>, consulté le 19 novembre 2019.

[50] Inserm. *Un film antimicrobien pour les implants de demain*. [En ligne]. Disponible sur <https://presse.inserm.fr/un-film-antimicrobien-pour-les-implants-de-demain/20638/>, consulté le 19 novembre 2019.

[51] ANSES. *Exposition aux nanoparticules d'argent*. [En ligne]. Disponible sur <https://www.anses.fr/fr/content/exposition-aux-nanoparticules-d%E2%80%99argent>, consulté le 19 novembre 2019.

TABLE DES ILLUSTRATIONS

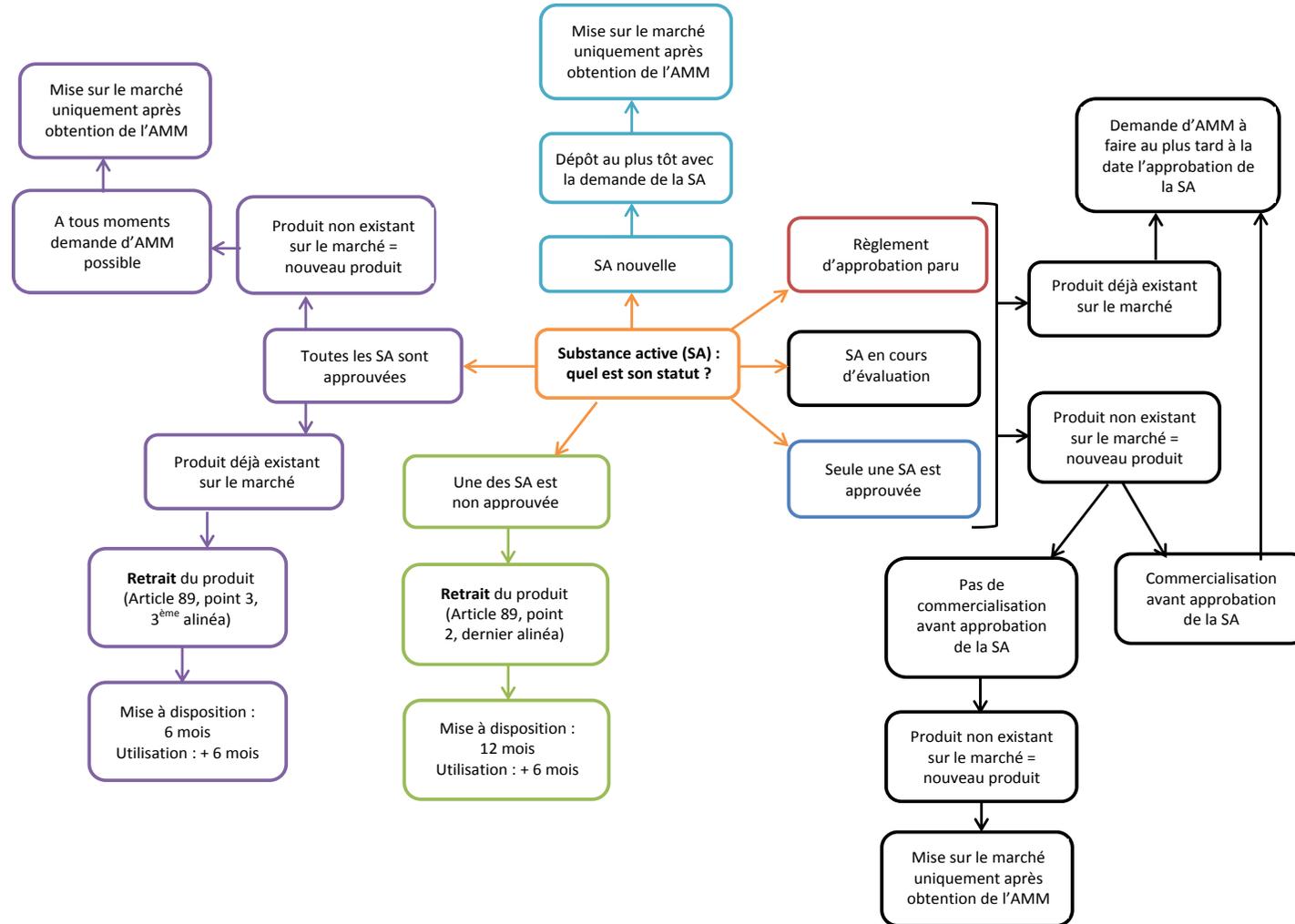
Figure 1: Les 7 étapes de lavage et de désinfection des mains ^[12]	27
Figure 2: Méthode par impaction sur gélose ^[14]	31
Figure 3: Méthode par sédimentation ^[14]	32
Figure 4: Méthode par écouvillonnage ^[15]	34
Figure 5: Exemple de distribution des isolats par type en classe A/B.....	36
Figure 6 : Les phases de nettoyage	38
Figure 7 : Le cercle de Sinner	41
Figure 8: La réglementation Européenne des substances chimiques.....	46
Figure 9: Procédure pour l'approbation des SA ^[34]	54
Figure 10: Schéma explicatif du régime transitoire ^[37]	59
Figure 11: Principe d'un passe-plat.....	66
Figure 12: Désinfection au sporicide du matériel non stérile sans poche	77
Figure 13: Désinfection au sporicide du matériel stérile à une poche.....	77
Figure 14: Désinfection au sporicide du matériel stérile à plusieurs poches	77
Figure 15: Récapitulatif des contrôles microbiologiques	78
Figure 16: Points de prélèvement microbiologique du passe-plat.....	79

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1: Exemples d'opérations réalisées dans les différentes ZAC ^[3]	18
Tableau 2: Limites actuelles de contamination biologique ^[3]	19
Tableau 3: Limites futures de contamination biologique ^[4]	19
Tableau 4 : Exemples de niveaux de protection pour les formes sèches ^[8]	22
Tableau 5: Critères d'acceptation de la qualité microbiologique des formes pharmaceutiques non stériles.....	23
Tableau 6: Flore microbienne de l'Homme ^[11]	26
Tableau 7: Recommandations programme d'incubation des milieux de culture	35
Tableau 8 : Isolats environnementaux les plus couramment rencontrés et habitat ^[21]	36
Tableau 9: Comparaison des opérations de désinfection et d'antisepsie ^[23]	39
Tableau 10: Cible et mode d'action des familles des désinfectants.....	44
Tableau 11: Spectre d'activité des principes actifs désinfectants ^[21]	44
Tableau 12: Extrait du site de l'ECHA.....	49
Tableau 13: Exemple d'approbation d'une SA (JO de l'Union Européenne) ^[33]	55
Tableau 14: Présentation des produits impliqués	65
Tableau 15: Comparaison des produits sporicides 3 et 4	69
Tableau 16: Liste des actions à réaliser pour la mise en place d'un nouveau désinfectant.	73
Tableau 17: Récapitulatif des prélèvements microbiologiques du matériel.....	80
Tableau 18: Limites internes acceptables - validation de la désinfection au sporicide.....	81
Tableau 19: Résultats des contrôles microbiologiques du passe-plat	81
Tableau 20: Résultats des contrôles microbiologiques du matériel	82

ANNEXES

Annexe 1 : Récapitulatif des différents statuts des Substances Actives^[33]



Annexe 2 : Charge maximale du passe-plat pour la validation de la désinfection au sporicide

Matériel fréquent	Quantité	Nombre poches avant passe-plat	Nombres poches dans passe-plat
Boîte de Pétri	30 paquets de 10	3	2
Boîte count-tact®	30 paquets de 10	3	2
Écouvillon manchette	7 paquets de 10	3	2
Manchette	10 manchettes	2	1
Bidon de désinfectant	6 bidons	2	1
Spray isopropylique	4 sprays	2	1
Bombe de désinfectant	8 bombes	2	1
Marqueur	1 paquet de 12	2	1
Stylo	1 paquet de stylos	2	1
Flacon sporicide + eau pour dilution	2 x 2 flacons	2	1
Lingette imprégnée d'alcool	10 paquets	1	1
Flacon stérile en sachet	5 flacons	1	1
Lingette siliconée	2 paquets	1	1
Allume gaz	4 allumes gaz	0	1
Tube de graisse	4 tubes	0	1
EPI sporicide	1 EPI	0	1
Cellule + tête de vanne	1 cellule + tête de vanne	0	1
Poche déchet	25 poches	0	0
Manche télescopique à balai	6 manches	0	0
Compteur de particule	1 compteur	0	0

Évolution du cadre réglementaire des produits désinfectants, un impact en industrie pharmaceutique

RESUME

La maîtrise des contaminations microbiologiques en production pharmaceutique permet de garantir la qualité, l'efficacité et la sécurité des médicaments. Les produits désinfectants contiennent des substances actives destinées à lutter contre les microorganismes nuisibles pour le patient. Ces produits, considérés comme produits biocides, ont, dans certaines conditions, des propriétés susceptibles de porter préjudice à la santé humaine, animale ou à l'environnement. C'est pourquoi ils font l'objet d'un encadrement réglementaire très strict. Le cadre réglementaire des produits biocides a été posé avec la directive 98/8/CE. Son objectif était d'évaluer les substances actives biocides, tout en permettant aux produits biocides existants de rester sur le marché. La mise en place de cette directive n'ayant pas aboutie, elle a donc été remplacée par le règlement des produits biocides appelé RPB (UE n°528/2012), reprenant les principes de base de la directive tout en mettant en place de nouvelles dispositions. Ce nouveau règlement prévoit un système plus efficace et sécurisé en matière de mise sur le marché et d'utilisation des produits biocides. L'évolution du cadre réglementaire des produits biocides a obligé les fabricants à retirer certains produits sur le marché et/ou à mettre en place de nouveaux désinfectants. Les utilisateurs doivent donc s'adapter à ces changements, et être vigilants sur ces aspects de la réglementation afin d'anticiper et d'organiser la mise en place de nouveaux produits désinfectants.

La 3^{ème} partie de cette thèse propose un exemple d'application des évolutions réglementaires à travers un cas concret de mise en place d'un nouveau produit désinfectant dans une unité de production injectable. Cet exemple montre que la validation d'un nouveau procédé de désinfection peut-être fastidieux : de nombreuses contraintes liées au planning de production, à la disponibilité du personnel ainsi que du matériel sont à prendre en compte.

Cette situation, liée à la période de mise en place du règlement, n'est que temporaire. Une fois que la période d'approbation et d'enregistrement sera terminée (au moins jusqu'en 2024), les produits sur le marché seront autorisés pour 10 ans, et la situation redeviendra stable pour les fabricants ainsi que les utilisateurs.

Mots-clés : Biocontamination, désinfectant, produit biocide, désinfection, nettoyage, produit sporicide, validation

Evolution of the regulatory framework for disinfectant products, an impact in the pharmaceutical industry

ABSTRACT

Controlling microbiological contaminations in pharmaceutical production ensures quality, efficiency and security of medication. Disinfectant products contain active substances aimed to fight against the microorganisms that could be harmful to the patient. These products, considered as biocidal products, may have, in some environments, harmful properties towards human and animal health, or towards the environment. Therefore they are subject to a very strict regulatory framework. The biocidal products' regulatory framework was created with the directive 98/8/CE. Its purpose was to evaluate the active biocidal substances, while allowing the existing biocidal products to remain on the market. Since the establishment of this directive was not achieved, it was replaced by the regulation on biocidal products, called RPB (UE n°528/2012), which incorporates the main principles of the directive, while also adding some provisions. This new rule plans for a more efficient and secure system for placing on the market and using biocidal products. The regulatory framework evolution of these biocidal products forced the manufacturers to retire some products and/or to put new disinfectants in place. The users now have to face these changes, and be vigilant on these regulatory aspects in order to anticipate and organise the establishment of the new disinfectant products. The 3rd part of this thesis displays an example of the application of the rules through the concrete case of a new disinfectant product implementation in an injection product unit. This example shows that the validation of a new disinfection process can be fastidious : many constraints linked to the production planning and to the staff and material availability are to be considered.

This situation, directly linked to the rule implementation period, is only temporary. Once the approbation and registration period is over (by 2024), the products on the market will be authorized for 10 years, and the situation will be back to stable for the manufacturers and for the users as well.

Keywords : Bioburden, disinfectant, biocidal product, disinfection, cleaning, sporicidal product, validation