



**Quitterie  
DESJONQUERES  
&  
Mathilde  
VEYRARD**  
BERTIN Technologies

desjonqueres@bertin.fr  
veyrard@bertin.fr

# Contrôle de la qualité de l'air en salles propres

Le contrôle des contaminations biologiques de l'environnement (eau, air, surface), selon la réglementation en vigueur, est nécessaire pour garantir la maîtrise des procédés de production des produits sensibles, la protection du personnel et la prévention des risques sanitaires en environnement publique.

Il est régi par plusieurs référentiels et notamment par la norme ISO 14698, Salles propres et environnements maîtrisés apparentés - Maîtrise de la biocontamination,, qui est en cours de révision par le groupe de travail ISO/TC209 afin de la rendre plus facile à appliquer pour les acteurs des salles propres, et d'y intégrer les avancées technologiques de ces dix dernières années.

## Norme ISO 14698

Alors que la norme ISO 14644, Salles propres et environnements maîtrisés apparentés, décrit la contamination particulaire, la norme ISO 14698 est quant à elle spécifique aux contaminations microbiologiques.

Elle énonce les principes et méthodes pour évaluer et maîtriser la biocontamination en salles propres. La première partie liste diverses caractéristiques des dispositifs de prélèvement. Puis, les exigences auxquelles le dispositif de prélèvement doit répondre

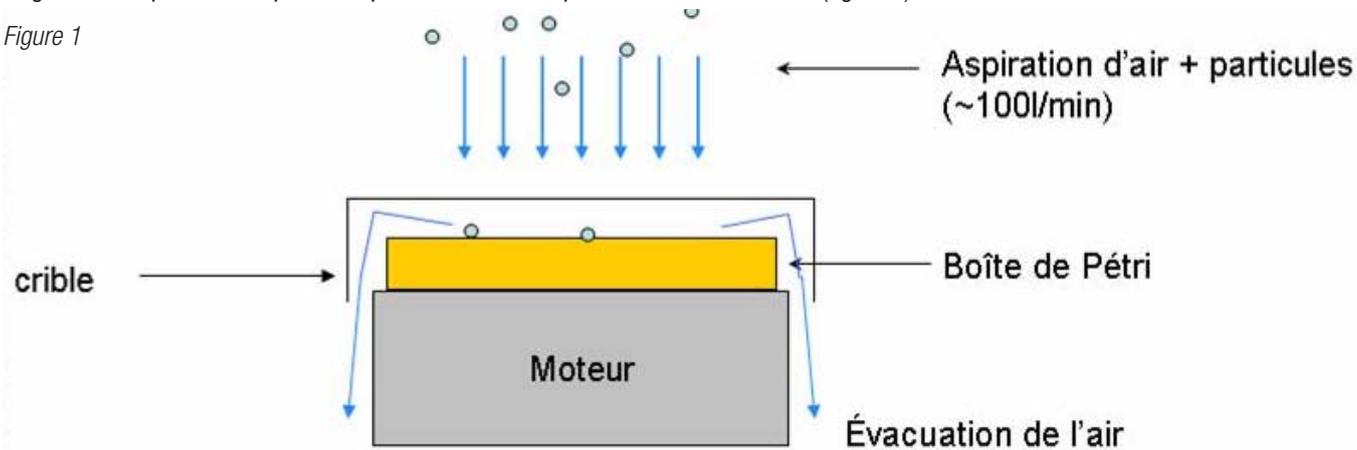
des équipements en salles propres, la facilité de mise en œuvre et la décontamination sont à considérer.

## Méthodes conventionnelles de collecte des particules aéroportées

La norme ISO 14698 cite 2 types de dispositifs de prélèvement d'air : les dispositifs passifs (plaques de sédimentation) et les dispositifs actifs.

Bon outil pour mesurer l'exposition d'un produit à l'environnement pendant un temps donné, la collecte passive n'est pas représentative de la contamination d'un environnement dans son ensemble, mais d'un seul et unique point. Les méthodes actives permettent, par contre, de qualifier et quantifier la contamination microbiologique en Unités Formant Colonie par volume d'air (UFC/ m<sup>3</sup>). L'impaction sur gélose est une de ces méthodes (figure 1).

Figure 1



sont énoncées : un débit d'air suffisant pour prélever 1 m<sup>3</sup> dans un temps *raisonnable* et une vitesse d'impaction appropriée pour permettre le piégeage des particules viables de taille supérieure à 1 µm, tout en assurant la conservation de la viabilité des particules.

Par ailleurs, compte tenu des contraintes de travail et de gestion

Les boîtes de pétri sur lesquelles sont impactés les microorganismes sont ensuite incubées en vue d'un comptage visuel des colonies, 3 à 7 jours après.

L'impaction est considérée comme la méthode de référence. Elle est pourtant limitée en termes de durée de collecte (risque de dessiccation du milieu) et de débit d'air (risque de stress des

microorganismes). De manière générale, les méthodes actuelles fournissent, en plusieurs jours, une information limitée à la flore cultivable.

En cas de menace de contamination microbiologique, des résultats rapides sont nécessaires pour évaluer dans les plus brefs délais les risques et agir en conséquence.

### Méthodes alternatives, Exemple de la technologie cyclonique

Depuis quelques années, de nouvelles techniques performantes, de collecte ou d'analyse, ont été qualifiées en vue d'améliorer la maîtrise de l'aéro-biocontamination.

Parmi les techniques d'analyse, on parle de RMM (Rapid Microbiology Methods) qui ne sont plus basées sur la mise en culture des microorganismes, mais sur l'analyse de leur viabilité et de leurs composants cellulaires. Parmi ces techniques d'analyse autres que la culture, il est possible de citer la PCR, les immuno-analyses, la cytométrie de flux, l'ATP bioluminescence... L'objectif est d'obtenir des résultats plus rapidement (en s'affranchissant du délai d'incubation) et de détecter des contaminations spécifiques dans un bref délai.

Jusqu'alors réservées au contrôle de l'eau et des surfaces, ces méthodes RMM sont désormais applicables au contrôle de l'air grâce à leur couplage avec des méthodes alternatives, notamment avec la collecte cyclonique. Cette technologie permet de concentrer les particules biologiques de l'air dans un échantillon liquide (figure 2) et a été selon la norme ISO 14698 en

termes de préservation des microorganismes, de représentativité de l'environnement, d'utilisation et de décontamination.

### Validation d'un biocollecteur innovant selon la norme ISO 14698

En plus des recommandations fournies par le corps la norme ISO 14698, l'annexe B énonce les conseils relatifs à la validation de biocollecteurs d'air.

#### Matériel et Méthodes

Cette validation repose sur la caractérisation des efficacités physique (capacité à prélever des particules selon leur diamètre) et biologique (efficacité pour la collecte des microorganismes viables) d'un biocollecteur donné. Il convient de choisir une souche d'essai adaptée pour chaque

mesure d'efficacité (*Bacillus atrophaeus* suggérée pour l'efficacité physique et pour l'efficacité biologique, utilisation d'une souche fréquemment présente en salles propres telle que *Staphylococcus epidermidis*).

Des aérosols de différentes tailles sont générés et leur diamètre est mesuré par impacteur en cascade. La collecte est effectuée avec le biocollecteur à qualifier situé à 1 m du générateur d'aérosols. Les échantillons obtenus sont analysés via une mise en culture.

Dans le cas du biocollecteur d'air Coriolis  $\mu$  (figure 3), la qualification a été menée en juillet 2008 par un laboratoire indépendant, le HPA (Porton Down, UK), paramètres : 300 l/min, 5 minutes, soit 1,5 m<sup>3</sup> d'air collecté.

**“ Depuis quelques années de nouvelles techniques performantes, de collecte ou d'analyse, ont été qualifiées en vue d'améliorer la maîtrise de l'aéro-biocontamination. ”**

Figure 2

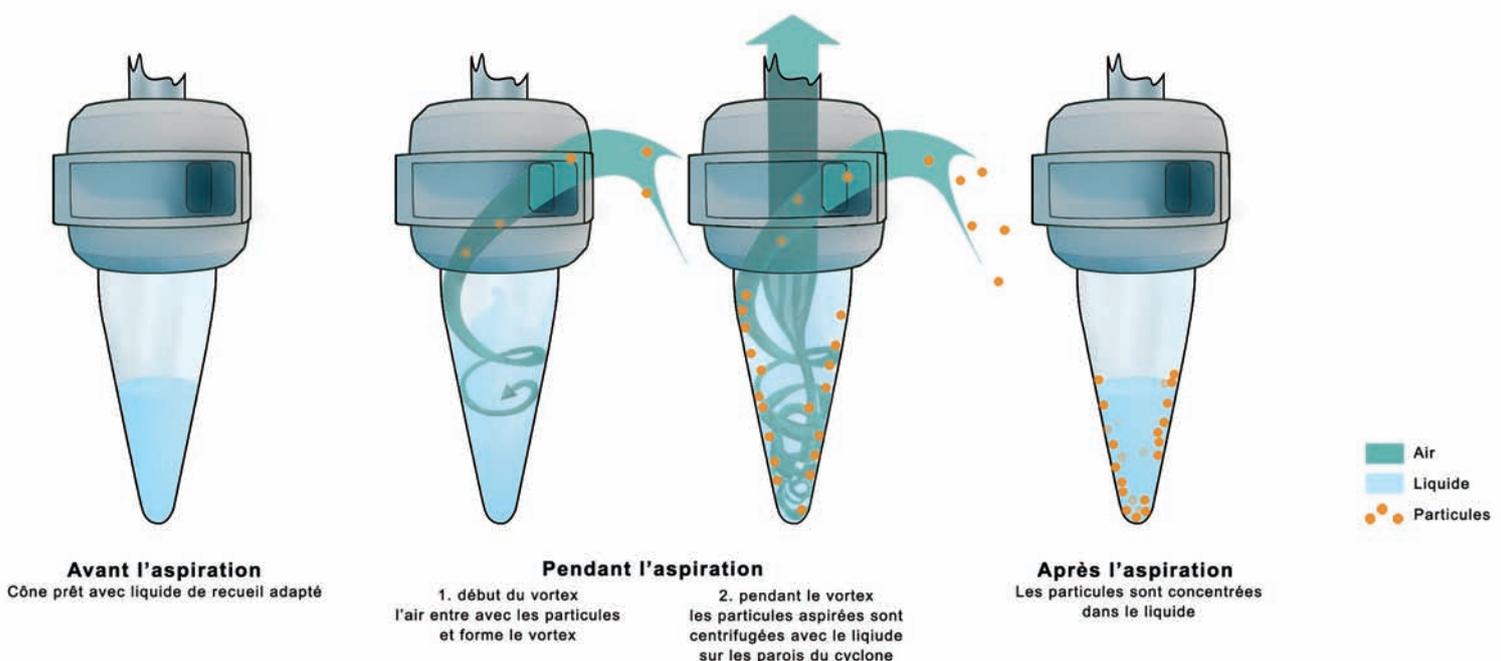


Figure 3



**Résultats**

L'efficacité biologique du biocollecteur cyclonique a été mesurée à 78 % sur la bactérie *Staphylococcus epidermidis* ATCC 14990. L'efficacité physique avec la souche *Bacillus atrophaeus* NCTC 10073 a été mesurée à 61.9 % pour des particules de 0,8 µm, 100.4 % pour celles de 4,4 µm et 110 % pour celles de 16 µm (figures 5 et 6).

Ces résultats ont été comparés à ceux obtenus avec la méthode classique d'impaction (référence du HPA, le Casella Slit Sampler, figure 4) et d'autres impacteurs du marché tels que le RCS High Flow, le Sampl'Air ou l'Air Ideal. Le biocollecteur cyclonique montre une efficacité supérieure ou égale aux impacteurs traditionnels pour les particules de petite taille (1 µm). L'efficacité des impacteurs augmente pour les particules de plus grande taille, jusqu'à atteindre 100 % à partir de diamètres de 4,5 µm. La taille des microorganismes présents dans l'air et notamment en salle propre, étant majoritairement compris entre 3 et 15 µm, on peut alors considérer que le Coriolis est au moins aussi efficace que les impacteurs traditionnels et que, comme précisé précédemment il répond aux exigences de la norme ISO 14698 et présente des résultats de haute performance : jusqu'à 99 % des particules présentes en salles propres. De plus, ces résultats présentent des données en CFU/m<sup>3</sup> alors que l'échantillon liquide issu de la collecte cyclonique peut être directement analysé via d'autres méthodes que la culture.

**“ La norme ISO 14698 réglemente les contrôles microbiologiques en salles propres afin d'y garantir des conditions de propreté tant pour les produits que pour le personnel. ”**

Figure 4

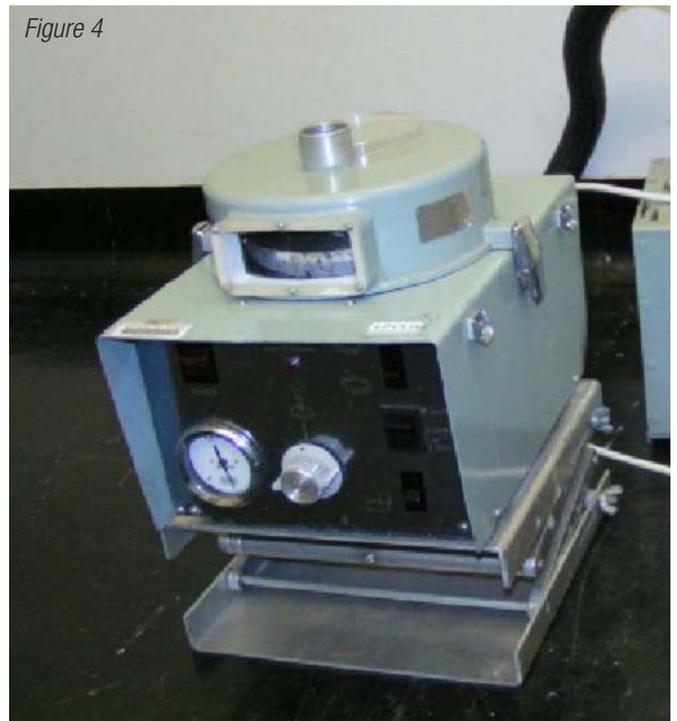


Figure 5

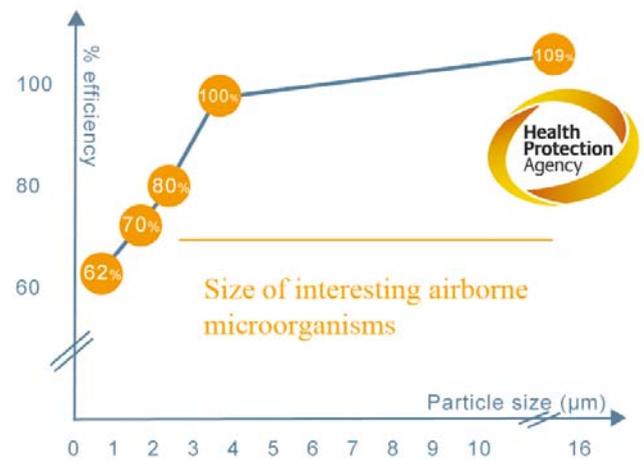


Figure 6

KI dans la suspension (%)	Diamètre des particules (µm)	Efficacité physique (%)
0	0,8	61,9
0.007	1,6	69,8
0.07	2,4	79,8
0.7	4,4	100,4
7	16	109,5

## Conclusion

La norme ISO 14698 réglemente les contrôles microbiologiques en salles propres afin d'y garantir des conditions de propreté tant pour les produits que pour le personnel. La comparaison entre les méthodes traditionnelles d'analyse de l'air par impaction (Impacteurs Casella Slit sampler, RCS High Flow, Sampl'Air et Air Ideal) et la méthode alternative cyclonique a montré des résultats similaires voire supérieurs pour le biocollecteur cyclonique. Le couplage de la technologie cyclonique aux RMM rend notamment possible la détection et la quantification rapide de souches non cultivables ou difficilement cultivables (*Pneumocystis* sp, *Legionella* sp, etc.) jusqu'alors non détectable par les méthodes traditionnelles. Dans le cas d'investigation, il est intéressant de pouvoir obtenir des données spécifiques en seulement quelques heures de manière à éviter un arrêt prolongé d'une chaîne ou encore de mettre en place les actions adaptées à la source et au type de la contamination. La considération de telles innovations dans l'évolution des normes permet d'apporter des données inédites à l'ensemble des acteurs de la contamination biologique de l'air. ■

## Références

- Barthet MC, 2008. Qualité de l'air : les analyses s'affinent - Enjeux n°285, Juin 2008
- Benbough and Al., 1992. Determination of the collection efficiency of a microbial air sampler - Journal of Applied Bacteriology 1993, 74, 170-173
- Carvalho and Al., 2008. Performance of the Coriolis air sampler, a high-volume aerosol-collection system... - Aerobiologia, Oct 2008
- Decker and Al., 1969. Advances in large-volume air sampling - Contamination control August, 13-17
- Desjonquères Q. 2008. Stage général ASPEC - Contrôles microbiologiques en salles propres
- Mrs Sara Speight, Mr Simon Parks, 2008. HPA report n° 41/08 - Sept 2008 (confidential)
- ISO 14698-1:2003, Cleanrooms and associated controlled environments - Biocontamination control - General principles and methods
- Mach C., 2006. PAT, tougher standards push improved microbial air monitoring- CleanRooms, oct 2006
- May F.K., 1945. The Cascade impactor : an instrument for sampling coarse aerosols - Journal of Scientific instruments, 22, 187-195
- Thibaudon. Du Pollen dans vos cellules - Salles Propres n°55, May 2008

### Membrane pour vannes aseptiques

- très haute résistance pour une longue durée de vie
- pas de pollution venant de l'extérieur
- pas de détachement de particules



Membrane Gylon®

# Etanchéité & Anti-Contamination

- éviter les fuites critiques
- éliminer les principales causes de contamination
- réduire les coûts de nettoyage et de maintenance

### Joint pour raccord tri-clamp

- très haute résistance pour une longue durée de vie
- pas de fluage
- pas d'accumulation d'ingrédients
- pas de détachement de particules
- aucun resserrage nécessaire



Gylon® Bio-Pro

**Bio-Guardian®**

silicone chargé avec ions d'argent

→ effet bactériostatique & bactéricide

**Gylon®**

PTFE modifié ultra-résistant

→ ne se dégrade pas

### Joints en Silicone Bio-Guardian

- effet anti-bactérien
- herméticité optimale
- produits adaptés à tous les besoins : profilés, joints gonflables, ou moulés, réalisations sur mesure



Silicone Bio-Guardian®

## Des solutions pour l'industrie pharmaceutique

**certifications FDA & USP VI**



**Garlock**  
SEALING TECHNOLOGIES®  
an EnPro Industries company

**Garlock France**  
90 Rue de la Roche du Geal - 42 029 Saint Etienne  
Tél. 04 77 43 51 00 - www.garlock.eu.com