
	Procédure DECONTAMINATION ET NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS			
	Banque de Tissus et cellules HCL	PR H 15 – version 04	<u>Date d'application</u> 06/12/24	Page 1/9
<u>Document référent :</u> Manuel Qualité		<u>Prochaine révision</u> 12/27	<u>Prorogation</u>	

Historique		
Version	Date d'application	Nature des modifications
01	25/10/13	Création
02	24/04/17	Arrêt de l'utilisation du Bacteranios en alternance avec Surfanios. Surfanios Premium stérile remplace progressivement le Surfanios IP PAE stérile Harmonisation avec les log book
03	31/08/19	Nouveau logo HCL. Arrêt définitif du Surfanios (remplacé par Surfanios premium). Temps d'action du Surfanios premium : 15 min Suppression de la partie concernant la décontamination du matériel qui fait l'objet d'une nouvelle procédure PR H 16.
04	06/12/24	Relecture

Rédacteur (s)	Vérificateur	Approbateur	Approbateur AQ
Nom : P. PASCAL Fonction : Responsable AQ Date : Signature :	Nom : E. VENET Fonction : Responsable Equipements Date : Signature : Nom : M. Rose ROVERE Fonction : Responsable Production MTI Date : Signature :	Nom : C. AUXENFANS Fonction : Personne Responsable/Qualifiée Date : Signature :	Nom : P. PASCAL Fonction : Responsable AQ Date : Signature :

Services/ Responsables concernés	Liste de diffusion contrôlée	Récupération du document	
		Date	Visa
AQ	Bureau RAQ		
Secteur MTI	Réception		
Secteur Tissus/cellules	Réception		

	<p align="center">Procédure</p> <p align="center">DECONTAMINATION ET NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS</p>		
Banque de Tissus et cellules HCL	PR H 15 – version 04	<u>Date d'application</u> 06/12/24	Page 2/9

1. OBJET

Cette procédure décrit le procédé de nettoyage et de décontamination des équipements en vue de maintenir la propreté des locaux et la performance des zones classées.

Avant toute intervention du personnel de maintenance, il sera nécessaire de décontaminer l'équipement qui doit entrer en ZAC au spray avant l'intervention.

Cette procédure a été écrite d'une part sur la base de l'expérience de la BTC/HCL en culture cellulaire et d'autre part avec la collaboration avec les fournisseurs d'équipement et du laboratoire ANIOS.

2. DOMAINE D'APPLICATION

Cette procédure s'applique au secteur MTI (zone de production et laboratoire CQ) *et le secteur Tissus/cellules.*

3. RESPONSABILITES

Ce document s'adresse aux personnels exerçant en zone de production et au laboratoire de CQ.

4. GENERALITES

Référentiels en vigueur :

- Bonnes pratiques de fabrication pharmaceutique MTI (BPF MTI)
- *Bonnes pratiques Tissus cellules (BPTC)*

Définitions (selon BPF pharmaceutique en vigueur)

- Vide de ligne : Opération consistant à éliminer tous documents, produits, matériels inutiles de la zone de fabrication et à s'assurer de la propreté du matériel avant ou après chaque opération.

Abréviations

BPF : Bonnes pratiques de fabrication

BM : Bain marie

IPA : Alcool Isopropylique

5. DOCUMENTS ASSOCIES

Procédures

PR H 09 EP Procédure générale d'entretien des locaux du secteur MTI

PR H 09 Entretien des locaux du secteur Tissus


Instructions

IN 01 H 09 EP Entretien des zones classées du secteur MTI

IN 02 H 09 EP Entretien des zones non classées du secteur MTI

Enregistrements

EN des différents équipements

	<p align="center">Procédure</p> <p align="center">DECONTAMINATION ET NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS</p>		
Banque de Tissus et cellules HCL	PR H 15 – version 04	<u>Date d'application</u> 06/12/24	Page 3/9

6. PRODUITS DE NETTOYAGE

3 produits sont utilisés :

Surfanios Premium IP stérile PAE (prêt à l'emploi) = nettoyant désinfectant qui a l'inconvénient de laisser des traces d'où rinçage ensuite à l'alcool.

- Indications : nettoyage et désinfection des sols, murs et matériels
- Composition : association synergique de 2 principes actifs
 - N - (3-aminopropyl) – N - dodécylpropane – 1, 3 – diamine
 - Chlorure de didécyltriméthylammonium
- Propriétés microbiologiques : large spectre antimicrobien
 - Bactéricide en 5 min à 20°C
 - Fongicide en 15 min à 20°C (**30 min pour Aspergillus**)
 - Virucide en 15 min à 20°C
- Compatibilité vis-à-vis des matériaux notamment :
 - Acier inoxydable brillant ou brossé
 - Aluminium
 - Cuivre
 - Laiton
 - Polychlorure de vinyl (PVC)

- **Alcool 70% (Alcool Ethylique 70% IP stérile ou Alcool Isopropylique (IPA) 70% IP stérile) = désinfectant** qui ne laisse pas de traces

- Indications : désinfection rapide du matériel de fabrication, des surfaces et des gants
- Composition :
 - Ethanol ou Propane-2-ol (Isopropanol)
 - Eau purifiée
- Propriétés microbiologiques :
 - Bactéricide en 5 min à 20°C
 - Fongicide en 15 min à 20°C
 - Activité biocide sur bactéries, levures, moisissures selon EN 13697


- **Anioxyspray WS IP stérile = désinfectant** à large spectre qui ne laisse pas de traces et **sporicide**

- Indications : désinfection à large spectre des sols, murs et matériels
- Composition :
 - Peroxyde d'hydrogène
 - Ethanol
- Propriétés microbiologiques : large spectre antimicrobien
 - Bactéricide en 5 min à 20°C
 - Fongicide en 15 min à 20°C
 - Virucide en 30 min à 20°C
 - Sporicide en 60 min à 20°C en conditions sales et 30 min en conditions propres
 - Activité biocide sur bactéries, levures, moisissures selon EN 13697

Rq : Arrêt de fabrication de l'Anioxyspray en mars 2025. Remplacé par l'Anios Low Peroxide IP stérile.

- **Anios Low Peroxide IP stérile = désinfectant** à large spectre qui ne laisse pas de traces et **sporicide**

- Indications : sporicide pour désinfection rapide à large spectre des sols, murs, équipements, matériels
- Composition :
 - Peroxyde d'hydrogène 1,5%
 - Surfactant qui dégrade la paroi du microorganisme pour que le peroxyde d'hydrogène pénètre

	<p align="center">Procédure</p> <p align="center">DECONTAMINATION ET NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS</p>		
Banque de Tissus et cellules HCL	PR H 15 – version 04	<u>Date d'application</u> 06/12/24	Page 4/9

- *Propriétés microbiologiques :*
 - *Bactéricide en 1 min à 20°C*
 - *Levuricide en 1 min à 20°C*
 - *Moisissures, mycobactéries en 5 min à 20°C*
 - *Virucide en 30 min à 20°C*
 - *Sporicide en 60 min à 20°C en conditions sales et 30 min en conditions propres*
- *Compatibilité vis-à-vis des matériaux utilisés en salle blanche notamment :*
 - *Acier inoxydable*
 - *Verre*
 - *Plexiglass*
 - *Polychlorure de vinyl (PVC)*
 - *Polyéthylène, polypropylène*

Nous utilisons donc un produit nettoyant à base d'ammonium quaternaire, un désinfectant alcoolique à 70% et un désinfectant sporicide. Les produits utilisés ont été choisis pour leur efficacité, leur absence de toxicité sur les cellules en culture cellulaire, leur compatibilité avec les matériaux.

Rq : attention aux produits contenant du glutaraldéhyde car d'après l'expérience de la BTC, le glutaraldéhyde est parfois néfaste pour les cellules donc à ne pas utiliser dans les PSM et les incubateurs.

7. NETTOYAGE DESINFECTION DES EQUIPEMENTS

7.1. DECONTAMINATION DES NOUVEAUX EQUIPEMENTS

Tout EQUIPEMENT (PSM, incubateur, centrifugeuse, réfrigérateur, congélateur, microscope...) doit être nettoyé et désinfecté avant d'entrer en zone de production selon le protocole suivant :

1. Nettoyer avec des Tissus d'essuyage **stériles** imprégnés de **Surfanios Premium IP stérile PAE**
2. Attendre 15 min
3. Rincer les traces et désinfecter avec de **l'Alcool 70% stérile (Ethanol ou IPA)**

En secteur MTI :


- Décontamination n°1 dans le sas équipement
- Décontamination n°2 dans la zone classée B

En secteur Tissus/cellules :

- Décontamination n°1 dans le sas IR131
- Décontamination n°2 dans la zone classée C IR132

Contrôles environnementaux consécutifs à l'entrée d'un nouvel équipement:

- Contrôle des surfaces après les deux décontaminations
- Contrôle de l'aérobiocontamination lors de l'entrée

	Procédure DECONTAMINATION ET NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS		
Banque de Tissus et cellules HCL	PR H 15 – version 04	<u>Date d'application</u> 06/12/24	Page 5/9

7.2. NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS EN ROUTINE

Tout EQUIPEMENT doit être entretenu régulièrement (sanitations) :

- **Zone de production de classe B (secteur MTI) et C (secteur Tissus/cellules)**

Equipement	Etape de Nettoyage	puis étape de Désinfection
PSM, INCUBATEURS, PLAFOND SOUFFLANT	Extérieur et intérieur : Surfanios Premium IP stérile PAE	Alcool 70% (Ethanol ou IPA stériles) Laisser sécher
REFRIGERATEURS, CONGELATEURS	Portes et intérieur Surfanios Premium IP stérile PAE	
CENTRIFUGEUSES, COBE	Extérieur, intérieur, plots, cuve et rotor Surfanios Premium IP stérile PAE	
MICROSCOPES, PIPETBOY*		
BAINS MARIE	Extérieur, intérieur : Surfanios Premium IP stérile PAE	


**Afin de ne pas endommager l'équipement, le Surfanios Premium IP stérile PAE ne sera pas utilisé.*

- **Laboratoire CQ (avec produits stériles déclassés)**

Les équipements du laboratoire CQ sont nettoyés comme ci-dessus mais les produits d'entretien peuvent être « déclassés » : **Surfanios Premium IP stérile PAE** déclassé puis désinfection à **l'Alcool 70% (Ethanol ou IPA stériles) déclassés**.

Rappel : on appelle déclassé un flacon ouvert depuis plus d'une semaine en classe B. Il ne sera plus utilisable en classe B mais peut être utilisé dans une zone moins à risques/ laboratoire CQ.

Le nettoyage des équipements est détaillé ci-dessous.

	<p align="center">Procédure</p> <p align="center">DECONTAMINATION ET NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS</p>		
Banque de Tissus et cellules HCL	PR H 15 – version 04	<u>Date d'application</u> 06/12/24	Page 6/9

7.3. Les Postes à Sécurité Microbiologique (PSM)

7.3.1. La désinfection régulière

● Entre deux lots (vide de ligne) :

- Désinfecter le plan de travail à l'**Alcool 70% stérile** (Ethanol ou IPA)
- Les vitres intérieures, extérieures et les parois latérales peuvent être désinfectées à l'alcool en cas de salissures

● En fin de journée de production :

- Nettoyer le plan de travail avec un tissu imprégné de **Surfanios Premium IP stérile PAE**
- Laisser agir 15 minutes
- Désinfecter le plan de travail à l'**Alcool 70% stérile** (Ethanol ou IPA)
- Les vitres intérieures, extérieures et les parois latérales peuvent être désinfectées à l'alcool en cas de salissures

7.3.2. Le nettoyage hebdomadaire


- Ouvrir la vitre de protection en la basculant
- Nettoyer avec un tissu imprégné de **Surfanios Premium IP stérile PAE** (1 tissu par surface)
 - les parois verticales
 - le fond en dessous du plan de travail
 - le plan de travail
 - la vitre intérieure

rq : sens de nettoyage : du haut en bas et du fond vers les bords

- Laisser agir 15 minutes
- Désinfecter avec un tissu imprégné d'**Alcool 70% stérile** (Ethanol ou IPA) en gardant le même ordre
- Rabattre la vitre de protection
- Nettoyer la vitre extérieure avec un tissu imprégné de **Surfanios Premium IP stérile PAE**, laisser agir 15 minutes puis désinfecter et enlever les traces avec un tissu imprégné d'**Alcool 70% stérile** (Ethanol ou IPA)
- Nettoyer le système d'aspiration avec les mêmes produits : **Surfanios Premium IP stérile PAE** puis **Alcool 70% stérile**

7.3.3. Intervention du personnel de maintenance

En cas d'intervention du personnel de maintenance, désinfecter à l'**Alcool 70% stérile** (Ethanol ou IPA) le PSM avant et après l'intervention.

	<p align="center">Procédure</p> <p align="center">DECONTAMINATION ET NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS</p>		
Banque de Tissus et cellules HCL	PR H 15 – version 04	Date d'application 06/12/24	Page 7/9

7.4. Les incubateurs

7.4.1. Nettoyage hebdomadaire ou en cas d'absence de production

- Nettoyer la porte avec un tissu imprégné de **Surfanios Premium IP stérile PAE**
- Laisser agir 15 minutes minimum
- Rincer à **l'Alcool 70% stérile (Ethanol ou IPA)**
- Bien laisser sécher avant de refermer

7.4.2. Nettoyage de vide de ligne « patient » ou, mensuel en cas d'absence de production

- Vider l'eau
- A l'aide de tissus d'essuyage stériles imprégnés de **Surfanios Premium IP stérile PAE**, laver l'incubateur en commençant par les parois, les claies, les supports de claies, la vitre, la porte intérieure puis la porte extérieure
- Laisser agir 15 minutes minimum
- Rincer avec un tissu d'essuyage stérile imprégné **d'Alcool 70% stérile (Ethanol ou IPA)**
- Quand l'incubateur est bien sec, ajouter 1L à 2L d'eau distillée stérile dans le bac humidificateur
- Remplacer le bac
- Fermer l'incubateur
- Vérifier la température et le pourcentage de CO₂

Rq : en cas d'arrêt prolongé d'un box, les incubateurs peuvent être débranchés. Quand l'activité reprend, les rebrancher et vérifier leur fonctionnement au moins 24h à l'avance. Les nettoyer et faire un contrôle de surfaces.

7.4.3. Intervention préventive et/ou corrective

En cas d'intervention du personnel de maintenance à l'intérieur de l'incubateur, le vider de son contenu et désinfecter à **l'Alcool 70% stérile (Ethanol ou IPA)** une demi-heure avant l'intervention et après l'intervention.

7.5. Les réfrigérateurs et les congélateurs

1/ Les réfrigérateurs

Nettoyage lors du vide de ligne si utilisation ou hebdomadaire en cas d'absence de production :

- Nettoyer la porte et la poignée avec un tissu imprégné de **Surfanios Premium IP stérile PAE**
- Rincer à **l'Alcool 70% stérile (Ethanol ou IPA)** et laisser sécher

Nettoyage annuel

- Vider complètement le réfrigérateur
- Transférer le contenu (matières premières) dans un autre réfrigérateur
- Nettoyer l'intérieur avec un tissu imprégné de **Surfanios Premium IP stérile PAE**
- Rincer à **l'Alcool 70% stérile (Ethanol ou IPA)** et laisser sécher


2/ Les congélateurs

Nettoyage lors du vide de ligne si utilisation ou hebdomadaire en cas d'absence de production :

- Nettoyer la porte et la poignée avec un tissu imprégné de **Surfanios Premium IP stérile PAE**
- Rincer à **l'Alcool 70% stérile (Ethanol ou IPA)** et laisser sécher
- Contrôler la formation de givre au niveau du joint de la porte et l'éliminer si besoin

Nettoyage annuel

- Dégivrer si besoin
- Nettoyer complètement l'intérieur avec un tissu imprégné de **Surfanios Premium IP stérile PAE**
- Rincer à **l'Alcool 70% stérile (Ethanol ou IPA)** et laisser sécher

	<p align="center">Procédure</p> <p align="center">DECONTAMINATION ET NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS</p>		
Banque de Tissus et cellules HCL	PR H 15 – version 04	<u>Date d'application</u> 06/12/24	Page 8/9

7.6. Les centrifugeuses

7.6.1. Nettoyage en cas de vide de ligne ou mensuel en cas d'absence de production

- Nettoyer les pots de centrifugeuses avec **Surfanios Premium IP stérile PAE**
- Laisser agir 15 min, les rincer puis les sécher.
- Laver la chambre de rotor et le rotor avec **Surfanios Premium IP stérile PAE**
- Laisser agir 15 minutes
- Rincer à l'**Alcool 70% stérile (Ethanol ou IPA)** et laisser sécher

7.6.2. Intervention du personnel de la maintenance

En cas d'intervention du personnel de maintenance, désinfecter la centrifugeuse à l'**Alcool 70% stérile (Ethanol ou IPA)** une demi-heure avant l'intervention et après l'intervention.

7.7. Les microscopes

Nettoyage mensuel : la platine est soigneusement dépoussiérée et désinfectée à l'aide d'un tissu d'essuyage imbibé d'**Alcool 70% stérile (Ethanol ou IPA)**

Nettoyage annuel : les objectifs et les oculaires

7.8. Les bains-marie

Après chaque utilisation :

- Vider le BM (remettre l'eau dans le flacon d'eau d'origine)
- Nettoyer l'intérieur et l'extérieur avec du **Surfanios Premium IP stérile PAE**
- Rincer et désinfecter avec de l'**Alcool 70% stérile (Ethanol ou IPA)**
- Laisser sécher
- Vérifier l'absence de traces d'eau
- Refermer avec le couvercle.

7.9. Les systèmes de pipetage automatique (Pipetboy)

Après chaque utilisation, nettoyage avec un tissu imprégné de l'**Alcool 70% stérile (Ethanol ou IPA)**


7.10. Le dispositif d'aspiration de surnageant (pompe à vide)

Après chaque utilisation, nettoyage avec un tissu imprégné de **Surfanios Premium IP stérile PAE**

7.11. La hotte chimique

Nettoyage mensuel :

- Vider la hotte
- Nettoyer l'extérieur et l'intérieur (parois, fond, plan de travail) avec un tissu imprégné de **Surfanios Premium IP stérile PAE** déclassé
- Rincer et désinfecter à l'**alcool 70% stérile (Ethanol ou IPA)** déclassé.

	<p align="center">Procédure</p> <p align="center">DECONTAMINATION ET NETTOYAGE DES EQUIPEMENTS</p>		
Banque de Tissus et cellules HCL	PR H 15 – version 04	<u>Date d'application</u> 06/12/24	Page 9/9

8. NETTOYAGE EN CAS DE NON UTILISATION D'UN PSM ou D'UN INCUBATEUR

Lorsqu'un PSM ou un incubateur n'est pas utilisé pendant plusieurs semaines consécutives :

Pour le PSM :

- Nettoyer soigneusement à **l'alcool 70% stérile (Ethanol ou IPA)**, le plan de travail, le fond après démontage du plan, les parois et la vitre de la hotte
- Fermer et arrêter complètement le PSM.

Pour l'incubateur :

- Nettoyer soigneusement les claies à **l'alcool 70% stérile (Ethanol ou IPA)**
- Vider l'eau de l'incubateur et sécher complètement le bac
- Arrêter complètement l'incubateur mais laisser porte et contre-porte entrouvertes.

Dans tous les cas, apposer une étiquette signalétique mentionnant date et état de l'appareil :

Etiquette rouge = appareil non validé par la métrologie Etiquette verte = appareil validé par la métrologie.

9. NETTOYAGE EXCEPTIONNEL EN CAS DE CONTAMINATION

► Incubateur

□ Protocole :

- Vider l'eau du bac
- Effectuer un nettoyage complet de l'incubateur avec du **Surfanios Premium IP stérile PAE**
- Attendre au moins 15 min (30 min si *Aspergillus*)
- Effectuer un nettoyage complet de l'incubateur avec un **désinfectant sporicide contenant du peroxyde d'hydrogène** tel que Anioxyspray ou équivalent
- Attendre 45 min
- Effectuer un nettoyage complet de l'incubateur puis avec de **l'Alcool 70% /Ethanol ou IPA**

Rq : Le protocole peut être appliqué à d'autres équipements.

□ Si ce protocole a échoué, faire un cycle de décontamination H₂O₂

- Retirer le bac humidificateur et son couvercle, les placer sur les étagères pour les décontaminer
- Ouvrir une bouteille de réactif de H₂O₂ par décontamination
- Verser le réactif dans le générateur puis le connecter
- Fermer la porte et appuyer sur bouton H₂O₂ en façade pendant 5 sec puis menu OK pour démarrer le cycle
- ➔ Pendant le cycle de décontamination la température va monter jusqu'à 45 °C et la porte sera condamnée pendant 3 h

Une fois nettoyé, remplir le bac humidificateur avec 1L à 2L d'eau distillée stérile et le replacer dans l'incubateur.

10. NETTOYAGE EN CAS DE DEVERSEMENT

Selon le protocole et rapport « Validation de décontamination cellulaire 12-01 » :

- Nettoyer au **Surfanios Premium IP stérile PAE**
- Attendre 15 min
- Rincer et désinfecter à **l'alcool 70% stérile (Ethanol ou IPA)**.

Rappel : utilisation de produits d'entretien stériles en classe A (PSM) et en classe B

11. ENREGISTREMENT

Chaque entretien doit être consigné sur la fiche d'enregistrement de l'appareil concerné.

