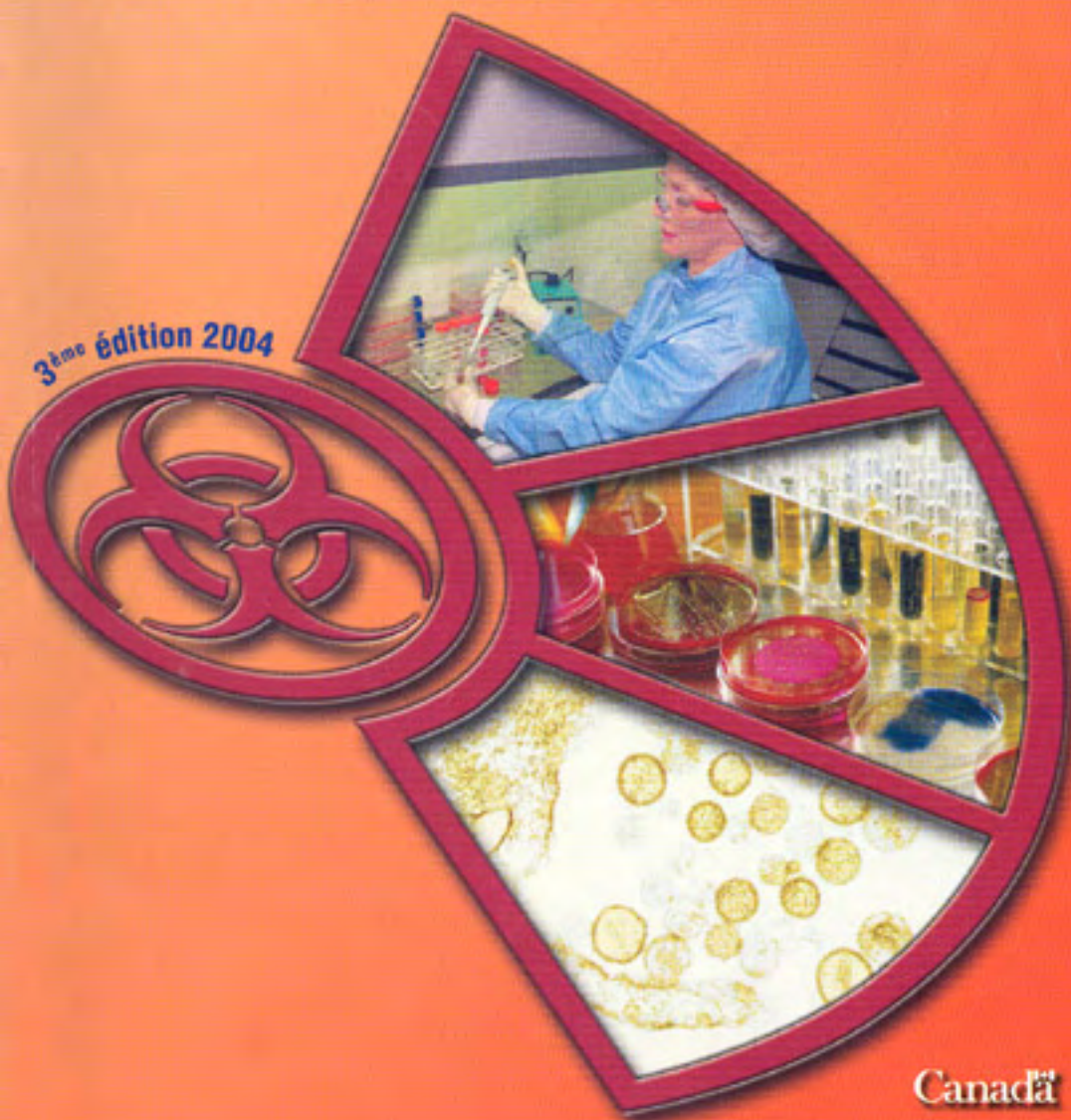


Lignes directrices en matière de biosécurité en laboratoire

3^{ème} édition 2004



Lignes directrices en matière de biosécurité en laboratoire

Troisième édition

*Publié sous la direction du Ministre de la Santé
Direction générale de la santé de la population et de la santé publique
Centre de mesures et d'interventions d'urgence*

Notre mission est d'aider les Canadiens et les Canadiennes
à maintenir et à améliorer leur état de santé.

Santé Canada

Also available in English under the title:
Laboratory Biosafety Guidelines

Tous droits réservés. Il est interdit de reproduire ou de transmettre le contenu de cette publication, sous quelque forme ou par quelque moyen que ce soit, enregistrement sur support magnétique, reproduction électronique, mécanique, ou par photocopie, ou autre, ou de l'emmagasiner dans un système de recouvrement, sans l'autorisation écrite préalable du Ministre des Travaux publics et Services gouvernementaux, Ottawa, Ontario, K1A 0S5

Photographies de la page couverture firstlight.ca; papier supérieur/
firstlight.ca; Pascal Parrot/corbis/firstlight.ca

© Sa Majesté la Reine du Chef du Canada, représentée par le Ministre de la Santé (2004)

N° de cat. H39-4/49-2004F H39-4/49-2004F-PDF H39-4/49-2004F-HTML

ISBN 0-662-77453-1 0-662-77454-X 0-662-77455-8

N° de publication 4253

Comité de rédaction

Maureen Best

Directrice, Bureau de la sécurité
des laboratoires
Santé Canada
Ottawa (Ontario)

Mary Louise Graham

Chef, Division de la biosécurité
Bureau de la sécurité des
laboratoires
Santé Canada
Ottawa (Ontario)

Roland Leitner

Agent, Sécurité de
l'environnement
University of Calgary
Calgary (Alberta)

Marc Ouellette

Professeur, Centre hospitalier de
l'université Laval
Québec (Québec)

Ken Ugwu

Ingénieur principal, Confinement
biologique, Bureau de la sécurité
des laboratoires, Santé Canada
Ottawa (Ontario)

Collaborateurs

Cette troisième version des *Lignes directrices en matière de biosécurité en laboratoire* n'aurait pas été possible sans la contribution des personnes suivantes :

Harvey Artsob

Chef du laboratoire des zoonoses
et des agents pathogènes spéciaux
Centre scientifique canadien de
santé humaine et animale
Winnipeg (Manitoba)

James Campbell

Président, University Biosafety
Committee
Université de Toronto
Toronto (Ontario)

Wayne Conlan

Agent de recherche
Conseil national de la recherche
Ottawa (Ontario)

Pamela Dunn

Chercheuse scientifique
Aventis Pasteur Ltée.
North York (Ontario)

Sandra Fry

Directrice, Division des biorisques,
du confinement et de la sécurité
Agence canadienne d'inspection
des aliments
Ottawa (Ontario)

Fred George

(Production à grande échelle)
Alberta Research Council
Edmonton (Alberta)

Andrew Graham

(Production à grande échelle)
Aventis Pasteur Ltée
Toronto (Ontario)

David Groves

Service de microbiologie médicale
St. Joseph's Hospital
Professeur, Département de
pathologie et de médecine
moléculaire
Faculté des sciences de la santé
McMaster University
Hamilton (Ontario)

Toni Hays

(Production à grande échelle)
Apotex Fermentation Inc.
Winnipeg (Manitoba)

Marianne Heisz

Chef, Division des interventions
en cas d'urgence et de
bioterrorisme
Bureau de la sécurité des
laboratoires
Santé Canada
Ottawa (Ontario)

Jean Joly

Directeur, Laboratoire de santé
publique du Québec
Sainte-Anne-de-Bellevue
(Québec)

George Khachatourians

(Production à grande échelle)
Département de microbiologie
appliquée et des sciences
alimentaires
University of Saskatchewan
Saskatoon (Saskatchewan)

Paul Langevin

(conseiller technique)
Biocontainment Services
Kanata (Ontario)

Louise Linarez

Superviseure technique
Provincial Laboratory of Public
Health
Edmonton (Alberta)

Jim Orzechowski

(conseiller technique)
Directeur général
Smith Carter Architects and
Engineers Inc.
Winnipeg (Manitoba)

Mark Parrington

Chercheur principal et chef de la
section de microbiologie
Aventis Pasteur Ltée
North York (Ontario)

Bruce Peat

(conseiller technique)
Directeur général
H.E.P.A. Filter Services Inc.
Concord (Ontario)

Anthony Ridgway

(Production à grande échelle)
Programme des produits
thérapeutiques
Santé Canada
Ottawa (Ontario)

Richard Stokes

Professeur associé
University of British Columbia
Vancouver
(Colombie-Britannique)

Lee Thompson

Directeur de la biosécurité et des
ressources institutionnelles de
confinement
The University of Texas Medical
Branch
Galveston, TX, É.-U.

Stefan Wagener

Directeur scientifique
Bureau de biosécurité et
l'environnement
Centre scientifique canadien de
santé humaine et animale
Winnipeg (Manitoba)

Remerciements

Tous nos remerciements à Danielle Plouffe et à Jasmine Boudreau qui ont fourni le soutien administratif nécessaire à la production de ce document, à Andréanne Bonhomme, pour son aide technique, et à la Section des publications scientifiques et services multimédias.

Abbreviations

ACIA	▸ Agence canadienne d'inspection des aliments
ACN	▸ Association canadienne de normalisation
CVC	▸ Chauffage, ventilation et climatisation
EBS	▸ Enceinte de sécurité biologique
HEPA	▸ Haute efficacité pour éliminer les particules de l'air
NC1	▸ niveau de confinement 1
NC2	▸ niveau de confinement 2
NC3	▸ niveau de confinement 3
NSF	▸ National Sanitation Foundation
OACI	▸ Organisation de l'aviation civile internationale

OMS	▸ Organisation mondiale de la Santé
Pa	▸ Pascal (mesure de la pression)
RIAA	▸ Règlement sur l'importation des agents anthropopathogènes
SC	▸ Santé Canada
SIMDUT	▸ Système d'information sur les matières dangereuses utilisées au travail
SMACNA	▸ Sheet Metal and Air Conditioning Contractors National Association
TMD	▸ transport des marchandises dangereuses

Table des matières

Chapitre 1

Introduction	1
------------------------	---

Chapitre 2

Sécurité biologique	4
2.1 Groupes de risque.	4
2.2 Niveaux de confinement	5
2.3 Évaluation du risque	7
2.4 Surveillance médico-sanitaire	10
2.5 Gestion de la biosécurité	10
2.6 Sécurité biologique des laboratoires.	13

Chapitre 3

Manipulation de matières infectieuses	19
3.1 Pratiques opérationnelles en laboratoire	20
3.1.1 Pratiques de base	20
3.1.2 Niveau de confinement 2.	23
3.1.3 Niveau de confinement 3.	25
3.1.4 Niveau de confinement 4.	28

Chapitre 4

Conception et aménagement	32
4.1 Matrice 1 : Emplacement et accès	32
4.2 Matrice 2 : Surfaces, revêtements et mobilier	36
4.3 Matrice 3 : Chauffage, ventilation et climatisation	38
4.4 Matrice 4 : Périmètre de confinement.	43
4.5 Matrice 5 : Services	45

Chapitre 5

Mise en service, accréditation et renouvellement d'accréditation des laboratoires des niveaux de confinement 3 et 4	50
5.1 Introduction	50
5.1.1 Mise en service	50
5.1.2 Accréditation	51
5.1.3 Renouvellement d'accréditation	51
5.2 Intégrité de la pièce	52
5.2.1 Matrice 6 : Intégrité de la pièce	53
5.2.1 Test de perte de pression	54
5.3 Systèmes de traitement de l'air	55
5.3.1 Matrice 7 : Systèmes de traitement de l'air	56
5.4 Matrice 8 : Services et appareils de laboratoire	60

Chapitre 6

Production de microorganismes à grande échelle	63
6.1 Introduction	63
6.2 Portée	64
6.3 Pratiques opérationnelles et exigences de conception et d'aménagement	64
6.3.1 Niveau de confinement grande échelle 1	65
6.3.2 Niveau de confinement grande échelle 2	66
6.3.3 Niveau de confinement grande échelle 3	67

Chapitre 7

Lignes directrices propres à certaines activités	69
7.1 Animaux de laboratoire	69
7.1.1 Exigences générales	69
7.1.2 Primates non humains	71
7.2 ADN recombinant et manipulations génétiques	75
7.3 Lignées cellulaires	78

7.3.1	<i>Évaluation du risque</i>	78
7.3.2	<i>Contamination par des agents infectieux</i>	79
7.3.3	<i>Expérimentation sur soi</i>	82

Chapitre 8

	Décontamination	86
8.1	Introduction	86
8.2	Autoclaves	88
8.3	Désinfection chimique	89
8.4	Décontamination gazeuse des pièces	90
8.5	Systèmes de traitement des effluents liquides	91
8.6	Irradiation	92
8.7	Incinération	93
8.8	Nouvelles techniques	93

Chapitre 9

	Enceintes de sécurité biologique	97
9.1	Introduction	97
9.2	Classes et caractéristiques des enceintes de sécurité biologique.	97
9.3	Installation et accréditation	101
9.4	Utilisation de l'enceinte.	102

Chapitre 10

	Aspects de la réglementation associée à la manipulation de substances infectieuses	113
10.1	Importation et transfert d'agents pathogènes humains	113
10.2	Exportation d'agents pathogènes	114
10.3	Transport.	115
10.4	Importation, transfert et confinement des agents pathogènes animaux.	117
	Répertoire	120

Chapitre 1

Introduction

Bien que l'importance des pratiques de biosécurité et de confinement soit aujourd'hui plus reconnue, la manipulation des microorganismes demeure source d'infection, voire de mortalité, au sein du personnel de laboratoire ⁽¹⁻⁴⁾. Des cas de transmission secondaire éventuellement dus à une contamination probable du personnel ou de l'environnement peuvent aussi atteindre le grand public⁽¹⁻⁵⁾. Au Canada, le nombre de laboratoires où sont manipulés des agents pathogènes est en augmentation constante, de même que le nombre de scientifiques désireux d'importer des souches nouvelles ou exotiques à des fins d'analyses poussées. Le personnel de laboratoire peut diminuer le risque de transmission en respectant des pratiques et des principes établis de biosécurité et de confinement biologique. Par ailleurs, les organismes de réglementation doivent de plus en plus relever le défi d'une manipulation d'agents pathogènes sûre et sans danger.

Le but des premières *Lignes directrices en matière de biosécurité en laboratoire* était d'aider le gouvernement, l'industrie, les universités, les hôpitaux et les autres laboratoires de microbiologie et de santé publique à concevoir des programmes et des protocoles de biosécurité. Ce document, qui avait aussi une portée technique, proposait des recommandations et donnait des renseignements sur la conception, la construction et la mise en service des installations de confinement. Son influence sur les principaux intéressés a été telle qu'une consultation élargie (par courrier et sur le Web) a été organisée afin de permettre à tous les intervenants d'exprimer leurs opinions et de commenter les conséquences des recommandations. Les observations et la rétroaction suscitées par cet avant-projet ont été examinées et, le cas échéant, intégrées.

Cette troisième édition tient compte des pratiques et des principes de biosécurité et de confinement biologique les plus récents et propose une approche fondée sur le rendement. Les mesures simples et raisonnables qu'elle contient ne négligent cependant pas les dernières techniques et les solutions toujours nouvelles qui contribuent à la réussite du confinement. Elle a été rédigée parallèlement à la deuxième édition des *Normes sur le confinement des installations vétérinaires* de l'Agence canadienne d'inspection des aliments⁽⁶⁾ pour que ces deux documents puissent, chaque fois que possible, préciser des exigences de confinement semblables. Ses ajouts sont notamment un chapitre sur les primates non humains. Une section distincte sur la manipulation des mycobactéries sera aussi disponible. Cette section répondra aux

préoccupations constantes des professionnels de la biosécurité et esquissera les grandes lignes d'une approche à plusieurs niveaux, en fonction des procédures utilisées. Ces sections seront disponibles sur le site Web du Bureau de la sécurité des laboratoires à l'adresse ci-dessous.

Contrairement à la version précédente, celle-ci ne propose aucune liste de groupes de risque d'agents pathogènes humains. La liste sera disponible au Bureau de la sécurité des laboratoires de Santé Canada et peut être consultée sur le site Web du Bureau. En effet, la publication de listes ponctuelles ne permettait ni d'actualiser le risque de façon permanente et dynamique, ni d'ajouter des agents pathogènes nouveaux ou en émergence au moment opportun. Le choix du niveau de confinement approprié aux matières éventuellement infectieuses tient compte de la reconnaissance et de l'examen des nouveaux facteurs de risque, ainsi que de l'acquisition des nouvelles connaissances. La liste des groupes de risque d'agents pathogènes humains sera disponible sur le site Web du Bureau de la sécurité des laboratoires, à http://www.phac-aspc.gc.ca/ols-bsl/index_f.html

Enfin, il convient de souligner l'importance des pratiques et des procédures utilisées par le personnel de laboratoire compétent. Comme l'indique le *Manuel de biosécurité en laboratoire* de l'Organisation mondiale de la Santé, « aucune enceinte de sécurité biologique, installation, ou méthode, ne peut garantir seule la sécurité si l'opérateur n'utilise pas des techniques sûres, dont le fondement est une solide information »⁽⁷⁾. Il incombe à chacun, y compris aux responsables et au personnel de laboratoire, d'utiliser à bon escient les informations de ces *Lignes directrices* et de travailler de manière sûre et sécuritaire.

Références

1. Collins, C.H., et Kennedy, D.A. *Laboratory-acquired infections*. Dans : *Laboratory-acquired infections: history, incidence, causes and preventions*. Oxford, UK: Butterworth-Heinemann, 1999;1-37.
2. Harding, A.L, et Brandt Byers, K. *Epidemiology of laboratory-associated infections*. Dans : Fleming, D.O., et Hunt, D.L. *Biological safety: principles and practices*. Washington, DC: ASM Press, 2000; 35-54.
3. Sewell, D.L. (1995) *Laboratory-associated infections and biosafety*. Clin Microbiol Rev. 1995;8:389-405.
4. Gaidamonvich, S.Y., Butenko, A.M., et Leschinskaya, H.V. *Human laboratory acquired arbo-, arena-, and hantavirus infections*. J Am Biol Safety Assoc. 2000; 5:5-11.
5. Richmond, J.Y. et McKinney, R.W. *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*. Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 1999;1-250.
6. *Normes sur le confinement des installations vétérinaires*. Agriculture et Agro-alimentaire Canada, Ministre des Approvisionnements et Services Canada, No. 1921/F, 1996.
7. *Manuel de sécurité biologique en laboratoire*, Organisation mondiale de la Santé (OMS), Genève : 1993;1-133.

Chapitre 2

Sécurité biologique

2.1 Groupes de risque

D'une façon générale, la répartition des organismes infectieux par groupe de risque sert à classer ces derniers en fonction du risque qu'ils présentent pour la santé. Les facteurs qui déterminent ces groupes de risque sont basés sur les caractéristiques particulières de l'organisme :

- ▶ pathogénicité,
- ▶ dose infectieuse,
- ▶ mode de transmission,
- ▶ gamme d'hôtes,
- ▶ disponibilité des mesures préventives efficaces,
- ▶ disponibilité des traitements efficaces.

Les catégories de risque sont établies sur la base des situations courantes vécues en laboratoire de recherche ou de la croissance des organismes utilisés en petites quantités à des fins diagnostiques ou expérimentales. Quatre niveaux de risque sont définis comme suit⁽¹⁾.

Groupe de risque 1 (risque faible pour la personne, faible pour la collectivité)

Agent biologique peu susceptible d'infecter une personne saine ou un animal sain.

Groupe de risque 2 (risque modéré pour la personne, faible pour la collectivité)

Agent pathogène susceptible de provoquer une maladie humaine ou animale, mais qui constitue rarement à priori un danger grave pour le personnel de laboratoire, pour la collectivité, pour le bétail ou pour l'environnement. L'exposition en laboratoire provoque rarement une infection grave. Toutefois,

il existe en pareil cas des mesures préventives et thérapeutiques efficaces, et le risque de propagation est limité.

Groupe de risque 3 (risque élevé pour la personne, faible pour la collectivité)

Agent pathogène provoquant généralement une maladie humaine grave ou ayant de lourdes conséquences économiques, mais qui se transmet rarement par simple contact de personne à personne et qui cause rarement des maladies ne pouvant être traitées par des agents antimicrobiens ou antiparasitaires.

Groupe de risque 4 (risque élevé pour la personne, élevé pour la collectivité)

Agent pathogène entraînant généralement une maladie humaine très grave, souvent impossible à traiter, facilement transmissible par simple contact, directement ou indirectement, de personne à personne ou d'un animal à une personne et vice-versa.

La classification des agents pathogènes humains par groupe de risque est disponible au Bureau de la sécurité des laboratoires, au (613) 957-1779, ou sur le site Web du Bureau, à http://www.phac-aspc.gc.ca/ols-bsl/index_f.html

2.2 Niveaux de confinement

L'objectif d'une telle classification n'est pas d'établir des règles de manipulation du risque biologique en laboratoire, et celle-ci exclut par exemple les protocoles de manipulation d'organismes donnés. L'objectif des niveaux de confinement est de décrire le niveau de confinement minimum approprié à une manipulation sans danger d'un organisme en laboratoire. En plus des caractéristiques inhérentes de chaque organisme, telles que décrites à la section 2.1, les niveaux de confinement tiennent non seulement compte des besoins de conception et d'aménagement des installations, mais aussi des exigences opérationnelles et techniques associées à la manipulation d'un agent pathogène donné⁽²⁾. Ils s'appliquent à toutes les

installations, y compris aux laboratoires cliniques et aux laboratoires de diagnostic, de recherche, d'enseignement ou de production travaillant à l'échelle de laboratoire (pour les installations de production à grande échelle, voir le chapitre 6). Les quatre niveaux de confinement sont définis comme suit.

Niveau de confinement 1

Ce niveau de confinement s'applique au laboratoire de base pour la manipulation des agents du groupe de risque 1. Le niveau de confinement 1 n'exige aucune caractéristique de conception particulière autre que celles propres aux laboratoires fonctionnels et bien conçus. Il n'est pas nécessaire de prévoir des enceintes de sécurité biologique. Les manipulations peuvent se faire sur des paillasse à découvert. Les pratiques normales des laboratoires de microbiologie de base assurent le confinement nécessaire.

Niveau de confinement 2

Ce niveau de confinement convient à la manipulation des agents du groupe de risque 2. Les principaux risques d'exposition associés à des organismes devant être manipulés en niveau de confinement 2 sont l'ingestion, l'inoculation et l'exposition des membranes muqueuses. Les agents pathogènes manipulés dans un niveau de confinement 2 ne sont généralement pas transmissibles par voie aérienne, mais il est important d'éviter la production d'éclaboussures et d'aérosols (qui peuvent se répandre sur les paillasse et se révéler dangereux pour la santé s'ils sont ingérés après contamination des mains)⁽³⁾. Les principaux dispositifs de confinement sont les enceintes de sécurité biologique et les centrifugeuses à rotors scellés ou munis de godets de sécurité. Le personnel doit porter des équipements de protection personnels appropriés (gants, sarraus, lunettes, etc.). Des éviers seront prévus pour se laver les mains. Des installations de décontamination (autoclaves) limiteront le risque de contamination environnementale.

Niveau de confinement 3

Ce niveau de confinement convient à la manipulation des agents du groupe de risque 3. Les agents pathogènes manipulés en niveau de confinement 3 sont transmissibles par voie aérienne et ont souvent une dose infectieuse faible, mais suffisante pour provoquer une maladie grave, voire mortelle. Des barrières primaires et secondaires additionnelles limiteront la libération d'organismes infectieux en laboratoire et dans l'environnement. Les autres exigences liées à la prévention de la transmission de tels organismes sont une protection respiratoire appropriée, des filtres HEPA pour traiter l'air évacué du laboratoire et un accès strictement contrôlé au laboratoire.

Niveau de confinement 4

Ce niveau de confinement extrême autorise la manipulation d'agents transmissibles par aérosol, comportant souvent une faible dose infectieuse et entraînant des maladies graves, souvent mortelles, pour lesquelles en général aucun traitement ou vaccin n'est disponible. Il représente une unité fonctionnellement isolée et, si nécessaire, structurellement indépendante des autres unités. Le périmètre du laboratoire sera scellé afin d'isoler complètement l'agent infectieux, et la pression à l'intérieur de l'installation sera négative. Le chercheur portera une combinaison de surpression pour être également isolé de l'agent pathogène, ou bien l'agent sera maintenu dans une enceinte de sécurité biologique de niveau 3. L'air et les autres effluents produits en laboratoire seront décontaminés.

2.3 Évaluation du risque

L'évaluation du risque est une étape décisive dans le choix du niveau de confinement nécessaire à un travail microbiologique. Le niveau de confinement et les pratiques opérationnelles devraient être déterminés par une évaluation détaillée du risque entreprise par chaque laboratoire, à laquelle devraient participer des personnes ayant des expertises et des responsabilités variées (directeurs et

responsables du laboratoire, chercheur principal, microbiologiste expérimenté, responsable de la biosécurité et comité de biosécurité, etc.).

L'évaluation du risque peut s'appuyer sur les informations disponibles, notamment sur le groupe de risque des organismes en cause (voir le chapitre 2, section 1, Groupes de risque). Outre cette classification fondée sur les facteurs de risque propres aux organismes, d'autres facteurs liés à la manipulation en laboratoire devraient être évalués, à savoir :

- ▶ possibilité de production d'aérosols,
- ▶ quantité d'agents pathogènes,
- ▶ concentration des agents,
- ▶ stabilité dans l'environnement (taux de dégradation de l'agent),
- ▶ type de travail envisagé (p. ex., *in vitro*, *in vivo*, exposition expérimentale à des aérosols),
- ▶ utilisation d'organismes recombinants (p. ex., insertion de gènes pouvant coder pour des toxines ou des facteurs de virulence, modification de la gamme d'hôtes, pouvoir oncogène, faculté de réplication, réversion vers un type sauvage).

Le niveau de confinement requis pour un agent pathogène dépend des procédures cliniques et des manipulations généralement associées au travail à l'échelle laboratoire. Il est possible d'envisager de réduire le niveau de confinement lorsqu'une procédure donnée, par exemple l'identification primaire d'un agent, entraîne un risque moindre que celui qu'entraînerait la manipulation d'une culture vivante. Ainsi, des épreuves diagnostiques initiales pour le virus de l'immunodéficience humaine (VIH) pourraient être établies dans un laboratoire de niveau 2 à condition de respecter les protocoles opérationnels des laboratoires de niveau 3, mais la croissance et la manipulation d'une culture de VIH pourrait exiger à la fois un aménagement de laboratoire et des protocoles de niveau 3.

À l'inverse, il peut être nécessaire d'accroître le niveau de confinement lorsque l'évaluation locale du risque conclut que

les procédures posent un danger plus grand que la routine à l'échelle laboratoire ou entraînent des manipulations à des fins diagnostiques. Par exemple, un travail diagnostique ou un travail de recherche sur *Corynebacterium diphtheriae* (transmission par aérosol) à l'échelle laboratoire peut être réalisé dans des installations de niveau 2, mais une exposition expérimentale d'animaux à des aérosols de cette bactérie pourrait exiger des niveaux supérieurs de confinement et des procédures opérationnelles plus strictes.

L'introduction d'une production à grande échelle pourrait signifier l'utilisation d'installations de confinement de niveau plus élevé. L'expression « grande échelle » signifie le plus souvent des volumes manipulés dans un seul contenant de plus de 10 litres. La manipulation de grandes quantités de matières infectieuses exige des précautions particulières (voir le chapitre 6). Le seuil de 10 litres n'est cependant pas une valeur absolue. L'analyse du risque d'une étude caractérisée par une pathogénicité élevée, un mode de transmission particulier et une dose infectieuse faible et nécessitant des volumes inférieurs à 10 litres, mais supérieurs aux volumes à l'échelle de la recherche, peut signifier un risque plus important que des manipulations à l'échelle de la recherche et entraîner un aménagement et des procédures opérationnelles de niveau de confinement plus élevé. Par exemple, une analyse du risque d'une procédure exigeant la production de quantités de 5 litres de *Mycobacterium tuberculosis* multirésistante peut indiquer qu'un niveau de confinement 3 à grande échelle est plus approprié qu'un niveau de confinement 3 à échelle diagnostique et laboratoire. Par conséquent, le seuil de 10 litres entre l'échelle laboratoire et la grande échelle n'a qu'une valeur indicative. Une analyse approfondie du risque devrait être réalisée dans chaque cas.

Pour d'autres conseils sur les évaluations de risque et pour des informations facilitant ce type d'évaluations, veuillez consulter *CDC/NIH Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories* ⁽⁴⁾ ou le site Web du CDC, à <http://www.cdc.gov/od/ohs/>

2.4 Surveillance médico-sanitaire

Les programmes de surveillance médico-sanitaire (y compris les examens précédant les affectations et les examens périodiques) doivent être adaptés aux agents utilisés et aux programmes des laboratoires mis en place. Il convient donc de déterminer et d'établir les détails d'un programme de surveillance médico-sanitaire en utilisant une méthode d'évaluation des risques, basée sur les pratiques canadiennes et internationales^(1,4,5) démontrant clairement les raisons, les indications et les avantages du programme. Celui-ci peut entre autres comprendre mais n'est pas limité par un examen médical, un dépistage ou des tests sérologiques, l'entreposage de sérum ou des immunisations, mais il peut aussi comprendre d'autres examens jugés nécessaires d'après les résultats de l'exercice d'évaluation. L'évaluation des risques devrait être effectuée par un groupe multidisciplinaire incluant la direction et les professionnels de santé en sécurité et santé au travail. Cette évaluation tiendrait également compte de la santé des personnes qui manipulent des organismes à haut risque lorsque l'état immunitaire de ces personnes doit être connu avant toute décision d'immunisation, de prophylaxie, etc.⁽¹⁾.

Seul le personnel respectant ces exigences médicales (p. ex., immunisations) peut pénétrer dans un laboratoire à moins que celui-ci n'ait été correctement décontaminé. D'autres protocoles précis peuvent être élaborés et appliqués pour protéger de la même façon les autres personnes qui pénètrent dans ces installations.

2.5 Gestion de la biosécurité

Bien que la sécurité du personnel soit du ressort des directeurs et des responsables des laboratoires de microbiologie, il peut se révéler utile de confier la gestion de la biosécurité à une ou plusieurs personnes. Beaucoup de laboratoires confient officieusement cette tâche à une personne qualifiée (p. ex., microbiologiste expérimenté) qui s'en acquitte à temps partiel,

ou bien la répartisse à un groupe de personnes. Ce mandat peut aussi être officiellement confié à un expert désigné en biosécurité ayant une connaissance concrète des pratiques et des procédures du laboratoire.

La gestion de la biosécurité peut aussi comprendre l'instauration d'un comité institutionnel chargé de l'application d'un programme de biosécurité (ce type de comité est obligatoire dans certains établissements et universités). Le responsable de la biosécurité (ou la personne chargée de ce dossier) devrait travailler en collaboration avec le comité grâce à des réunions régulières, présenter des problèmes et des sujets de préoccupation précis et suggérer des améliorations aux directives et protocoles. Par ailleurs, le comité est à la disposition du responsable de la biosécurité en cas d'évaluation de risque, de différend sur des questions de biosécurité ou d'autres questions connexes. La composition du comité doit être pensée avec le plus grand soin. Lorsque possible, celui-ci devrait regrouper des personnes ayant des expertises diverses, le responsable de la biosécurité, au moins un membre de chaque équipe de recherche (le chercheur) et du personnel technique (le technicien), et un représentant de la direction. La participation d'un conseiller médical est également souhaitable.

Il convient aussi d'établir la structure de la gestion de la biosécurité dans chaque installation. Cette structure sera fonction du degré de coordination et des ressources disponibles pour sa mise en application. Les facteurs déterminants sont entre autres :

- ▶ la taille de l'installation (superficie et nombre d'employés),
- ▶ la concentration de laboratoires multiples
- ▶ les niveaux de confinement (laboratoire de niveau 2, laboratoires multiples de niveau 3),
- ▶ la complexité des méthodes (diagnostics de routine, recherche, grande échelle, travail recombinant),
- ▶ le partage éventuel d'espace de laboratoire (chercheurs multiples, organismes divers),

- ▮ la réalisation d'activités expérimentales ou diagnostiques avec des animaux (souris hébergées dans des cages placées dans des isolateurs, installations pour animaux de grande taille).

La gestion de la biosécurité peut entraîner les questions suivantes :

- ▮ l'inventaire des besoins de formation et l'aide à la création et à l'implantation de programmes de formation en biosécurité (biosécurité générale, utilisation d'enceintes de sécurité biologique, biosécurité des animaux, initiation et perfectionnement du personnel, formation pour les unités de confinement supérieur),
- ▮ évaluation du risque, le cas échéant, et préparation des recommandations de modification des procédures ou d'aménagement des laboratoires,
- ▮ vérification régulière de l'efficacité du programme de biosécurité et du système de gestion associé,
- ▮ participation à des enquêtes en cas d'accident et incitation à divulguer tout incident survenu dans l'installation ou le laboratoire,
- ▮ diffusion d'informations nouvelles et pertinentes au sein du personnel de laboratoire,
- ▮ coordination et surveillance des procédures de décontamination, de désinfection et d'élimination des matières infectieuses dans l'installation ou le laboratoire,
- ▮ coordination de la réception, de l'expédition et du transport dans l'installation des matières infectieuses, en conformité avec le Système d'information sur les matières dangereuses utilisées au travail et avec le *Règlement sur le transport de marchandises dangereuses*,
- ▮ constitution d'un système de conservation des dossiers et d'un système d'entreposage sécuritaire pour toutes les matières infectieuses pénétrant dans l'installation,
- ▮ coordination des opérations d'intervention en cas d'urgence,

- ▮ coordination constante des questions de biosécurité avec le personnel de soutien, les équipes d'entretien des lieux et les fournisseurs.

Les installations équipées de laboratoires de niveaux 3 et 4 ont d'autres obligations en matière de biosécurité, à savoir :

- ▮ accréditation et renouvellement d'accréditation du laboratoire (voir le chapitre 5),
- ▮ enquête en cas de défaillance opérationnelle ou de bris du confinement lié à l'aménagement et la mise en place de mesures correctrices,
- ▮ contrôle de l'accès aux zones de confinement,
- ▮ coordination avec les organismes de réglementation concernés, dont la Commission canadienne de sûreté nucléaire, Transports Canada, Santé Canada et l'Agence canadienne d'inspection des aliments.

2.6 Sécurité biologique des laboratoires

De nos jours, les installations chargées de la manutention des agents infectieux ont besoin non seulement d'un programme de biosécurité, mais également d'un plan de sécurité biologique des laboratoires. Alors que la biosécurité concerne tous les aspects du confinement pour empêcher l'exposition ou le rejet accidentel des agents pathogènes, la sécurité biologique des laboratoires est mise en place pour prévenir le vol, le mauvais usage ou le rejet intentionnel des agents pathogènes. Que ce soit pour l'avancement de la science, le diagnostic des agents qui sont la cause de maladies ou la mauvaise utilisation de ces technologies, en raison de la nature des travaux (c.-à-d. procédures, matériel, etc.), il y a malheureusement une possibilité de double usage avec ces agents⁽⁶⁾. Un grand nombre de recommandations internationales⁽⁷⁻¹⁰⁾ et d'exposés de position⁽¹¹⁻¹⁶⁾ peuvent aider à gérer les menaces biologiques.

Puisque la planification et la mise en œuvre d'un plan de sécurité biologique des laboratoires doivent être adaptées à la nature de chaque établissement, aux types de recherches et de

diagnostics effectués, à l'environnement local, il est nécessaire qu'un groupe de travail diversifié y prenne part. On doit envisager d'inclure des directeurs scientifiques, des chercheurs principaux, des employés de laboratoire, des administrateurs, des agents de sécurité, du personnel de sûreté, du personnel d'entretien et des organismes d'application de la loi, le cas échéant. En outre, on doit inclure l'agent responsable lorsqu'un tel agent est désigné dans un établissement. Un agent responsable est généralement responsable de l'élaboration et de la mise en œuvre des plans de sécurité, de sûreté et d'intervention d'urgence et de la formation qui s'y rattache. À ce titre, on communiquera en temps opportun les cas de vol, de perte ou de rejet des agents pathogènes à cet agent responsable. Cette personne a la responsabilité de ne permettre qu'aux personnes autorisées à avoir accès à ces agents pathogènes et a un rôle à jouer dans le transfert et le transport des agents pathogènes à partir de l'établissement. Cette personne peut contribuer à la mise à jour de dossiers d'information détaillés qui sont nécessaires pour obtenir un compte rendu complet de toutes les activités ayant rapport aux agents pathogènes.

Une évaluation détaillée des risques constitue un élément important d'un plan de sécurité biologique des laboratoires (voir aussi le chapitre 2.3)^(7,10). Les responsables de l'évaluation des risques liés à la sécurité biologique des laboratoires doivent examiner et énumérer les biens pertinents, définir les menaces, souligner les vulnérabilités et déterminer les mesures de prévention ou les stratégies d'atténuation propres à chaque établissement. Ensuite, le plan de sécurité biologique des laboratoires doit porter sur les facteurs suivants^(8,11,15) : protection matérielle; pertinence et fiabilité du personnel; responsabilisation relative aux agents pathogènes, intervention connexe en cas d'incident ou d'urgence.

Sachant l'importance et les événements courants en ce qui a trait à la sécurité biologique des laboratoires, cette section a été rajoutée suite à la réunion finale des collaborateurs. Cependant, les exigences spécifiques ont été incluses dans les matrices telles que révisées par les collaborateurs.

Protection matérielle

L'évaluation des risques liée à la protection matérielle doit inclure tous les niveaux de l'examen de la sécurité biologique des laboratoires : sûreté du périmètre, sûreté de l'établissement, sûreté des laboratoires et sûreté propre aux agents pathogènes, et on doit y souligner les procédures visant à protéger l'endroit, p. ex., accès par carte, claviers numériques, verrous de sécurité, etc. Tous les laboratoires doivent adopter des pratiques de biosécurité dans le but de réduire au minimum les possibilités d'entrée non autorisée sur les lieux, dans les endroits réservés aux animaux et à l'entreposage ainsi que l'enlèvement non autorisé de matières infectieuses de l'établissement. De même, il est nécessaire de traiter de la sécurité de l'information relative aux données et à la technologie électronique.

Pertinence et fiabilité du personnel

La vérification des références et des autorisations de sécurité peut être exigée avant que l'accès aux installations de confinement soit autorisé aux employés. Durant le processus de l'évaluation des risques locaux, ces éléments devraient être considérés lorsqu'un plan de sécurité biologique des laboratoires est élaboré. L'utilisation d'insignes d'identité avec photo pour les employés et d'insignes temporaires pour les visiteurs accompagnés peuvent également permettre d'identifier les personnes qui ont l'autorisation d'entrer dans les zones réglementées. Des procédures sont nécessaires afin d'approuver et d'accorder l'accès aux visiteurs dans les zones contrôlées. Dans cette mesure, l'accès aux installations réservées aux agents pathogènes et à l'entreposage est limité aux utilisateurs et aux personnes légitimes seulement. On doit s'assurer de fournir une formation en matière de biosécurité à tous les membres du personnel auxquels on a donné l'accès à ces installations.

Responsabilisation relative aux agents pathogènes

Les procédures de responsabilisation relatives aux agents pathogènes doivent comporter les exigences relatives à l'inventaire en ce qui concerne l'étiquetage approprié, le

contrôle de la possession interne, l'inactivation et l'élimination des cultures après utilisation ainsi que les transferts à l'intérieur et à l'extérieur de l'établissement. Ces contrôles d'inventaire permettent également de vérifier les secteurs d'entreposage des agents pathogènes et de savoir à qui incombe la responsabilité de ces agents. On doit mettre régulièrement les inventaires à jour afin d'inclure les nouveaux ajouts résultant des diagnostics, de la vérification des épreuves de compétence, ou de la réception d'autres emplacements ainsi que l'enlèvement des agents pathogènes après les transferts ou l'utilisation de méthodes appropriées d'inactivation et d'élimination. La tenue des dossiers doit comprendre les inventaires d'agents pathogènes, le nom des personnes qui ont accès aux agents pathogènes ainsi qu'aux endroits où ils sont entreposés ou utilisés, et les documents de transfert. En outre, il doit exister une méthode de notification pour permettre de définir, de signaler et d'apporter des mesures correctives aux problèmes en matière de sûreté, c'est-à-dire, les divergences contenues dans les inventaires, les défauts du matériel, les manquements à la sûreté, le rejet des agents pathogènes, etc.

Intervention en cas d'incidents ou d'urgence en matière de biosécurité

Il est nécessaire de mettre au point un protocole de déclaration et d'enquêtes sur les incidents de sûreté, p. ex., matières infectieuses manquantes ou entrée non autorisée. Il doit exister un mécanisme pour le signalement et l'expulsion des personnes non autorisées. Les plans d'intervention en cas d'incidents ou d'urgence en matière de sécurité biologique des laboratoires doivent comporter des mesures d'intervention en cas d'événements intentionnels (alertes à la bombe, etc.), d'événements non intentionnels (rejet accidentel) ou d'événements naturels (pannes électriques, phénomènes météorologiques violents). On doit s'assurer d'offrir une formation à tout le personnel concerné.

Les exigences en matière de sécurité biologique des laboratoires concernant les installations chargées de la manutention des agents infectieux, de niveaux de sécurité 3

et 4, seront en général plus rigoureuses que celles qui sont exigées dans les laboratoires cliniques et de recherche de niveau de sécurité 2. Les recommandations relatives aux pratiques de sécurité biologique des laboratoires (p. ex., entreposage des agents pathogènes, inventaires, registres pour l'inscription des entrées) et des dispositifs de sécurité de conception matérielle (verrous de sécurité, accès réglementé) ont été intégrées aux exigences relatives à chaque niveau de sécurité aux chapitres 3 et 4.

On doit demander conseil aux experts en sûreté et/ou en application de la loi lors de l'élaboration de protocoles en matière d'évaluation des menaces et de sûreté propres à chaque établissement. Les pratiques de sûreté et d'évaluation des menaces doivent régulièrement faire l'objet d'examens et de mises à jour en vue de refléter les nouvelles menaces identifiées.

Références

1. *Manuel de sécurité biologique en laboratoire*, Organisation mondiale de la Santé (OMS), Genève : 1993;1-133.
2. Collins, C.H., et Kennedy, D.A. *Equipment- and technique-related hazards*. Dans : *Laboratory-acquired infections: history, incidence, causes and preventions*. Oxford, U.K: Butterworth-Heinemann, 1999; 65-109.
3. Collins, C.H., et Kennedy, D.A. *Exposure, sources and routes of infection*. Dans : *Laboratory-acquired infections: history, incidence, causes and preventions*. Oxford, U.K: Butterworth-Heinemann, 1999; 38-53.
4. Richmond, J.Y. et McKinney, R.W. *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*. U.S. Government Printing Office, Washington, DC: 1999;1-250.
5. *The management, design and operation of microbiological containment laboratories*. Advisory Committee on Dangerous Pathogens, UK: Health and Safety Executive, 2001; 7-16.

6. *Biotechnology Research in an Age of Terrorism: Confronting the Dual Use Dilemma*. Washington, DC: The National Academic Press, 2004.
7. *Public Health Response to Biological and Chemical Weapons: WHO Guidance*. Geneva: World Health Organization, Draft 2003.
8. *Interim Final Rule: CDC; Possession, Use, and Transfer of Select Agents and Toxins*. Federal Register, Department of Health and Human Services, 2002; 240 (67): 76885-76905.
9. Richmond, J.Y. et McKinney, R.W. *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*. Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 1999;1-250.
10. *Laboratory Security and Emergency Response Guidance for Laboratories Working with Select Agents*. MMWR, 2002;51(RR-19):1-6.
11. *ABSA Biosecurity Task Force White Paper: Understanding Biosecurity*. American Biological Safety Association, January 2003. (<http://www.absa.org/0301bstf.html>).
12. *Biosafety, Biosecurity, and Biological Weapons*. Germany: The Sunshine Project, October 2003;1-22.
13. Salerno, R., et Koelm, J.G. *Biological Laboratory and Transportation Security and the Biological Weapons Convention*. Albuquerque, New Mexico: Sandia National Laboratories, SAND No.2002-1067P, February 2002; 1-9. (<http://cns.miis.edu/research/cbw/biosec/pdfs/sandia.pdf>).
14. Barletta, M., *Biosecurity Measures for Preventing Bioterrorism*. Center for Nonproliferation Studies, Monterey Institute of International Studies, 2002; 1-11.
15. Tucker, J.B., *Biosecurity: Limiting Terrorist Access to Deadly Pathogens*. Washington, DC: United States Institute of Peace, Peaceworks, 2003; 1-51.
16. *Controls Over Biological, Chemical, and Radioactive Materials at Institutions Funded by the U.S. Department of Agriculture*. Washington, DC: United States Department of Agriculture, Report No. 50099-14-At, September 2003; 1-43. (<http://www.usda.gov/oig/webdocs/50099-14-At.pdf>).

Chapitre 3

Manipulation de matières infectieuses

Les personnes qui manipulent des matières infectieuses en laboratoire s'exposent à des risques biologiques et peuvent contracter des infections. Les infections acquises au laboratoire ne sont pas rares - plus de 5 000 cas et 190 décès ont été rapportés jusqu'en 1999⁽¹⁾. Toutefois, ces chiffres sont sans doute très en dessous de la vérité car tous les cas ne sont pas rapportés^(2,3). De plus, environ 20 % seulement des infections acquises en laboratoire sont attribuables à une seule exposition connue⁽⁴⁾.

Les infections se transmettent de différentes façons. Les matières infectieuses peuvent être ingérées, inhalées, entrer en contact avec les muqueuses, y compris les conjonctives (transfert de microorganismes vers les yeux par des mains contaminées), ou encore pénétrer par des lésions cutanées.

Les événements susceptibles d'entraîner des infections sont entre autres l'exposition à des aérosols infectieux, les éclaboussures et les déversements, les piqûres accidentelles avec des aiguilles, les coupures avec des objets tranchants ou du verre brisé, les morsures et les égratignures dues à des animaux ou à des ectoparasites, le pipetage à la bouche (qui est interdit), les accidents survenant lors de la centrifugation et la propagation secondaire de matières infectieuses à l'extérieur des laboratoires. L'exposition à des aérosols est peut-être le plus grand danger pour le personnel de laboratoire⁽⁵⁾. Les aérosols sont dangereux en raison du risque d'inhalation, d'ingestion, de contact avec les muqueuses, etc. Des pratiques et des techniques opérationnelles doivent être utilisées pour réduire la production d'aérosols associée aux procédures courantes de laboratoire.

La section ci-dessous présente les pratiques opérationnelles des quatre niveaux de confinement (voir le chapitre 2) devant être respectées lors de la manipulation des différents agents pathogènes humains à l'échelle laboratoire.

3.1 Pratiques opérationnelles en laboratoire

3.1.1 Pratiques de base

Tous les laboratoires où sont manipulés des matières infectieuses doivent respecter les pratiques de base suivantes.

1. Tout le personnel doit avoir accès à un manuel de procédures (de sécurité) et se conformer à ses exigences. Ce manuel sera régulièrement révisé et mis à jour.
2. Le personnel doit recevoir une formation sur les risques inhérents à son travail et sur les précautions à prendre pour prévenir toute exposition à des agents infectieux et toute dispersion inopportune de ces agents. Il convient de s'assurer que le personnel a assimilé cette formation. Un document attestant cette formation doit être signé par l'employé et par le responsable. Des cours de recyclage devraient également être mis sur pied.
3. Il est interdit de boire, de manger, de fumer, de conserver des aliments, des objets ou des ustensiles personnels, de se maquiller et de mettre ou d'enlever des lentilles cornéennes dans le laboratoire. Les lentilles cornéennes ne sont autorisées que si le port de lunettes n'est pas approprié. Le port de bijoux n'est également pas recommandé.
4. Le pipetage à la bouche est interdit, quelle que soit la substance, dans tous les laboratoires.
5. Les cheveux longs doivent être attachés de manière à ne pas entrer en contact avec les mains, les spécimens, les récipients ou les appareils.
6. L'accès au laboratoire et aux zones de soutien est limité au personnel autorisé.
7. Les portes des laboratoires doivent être fermées en tout temps (cette règle ne s'applique pas aux aires ouvertes à l'intérieur d'un laboratoire).

8. Les blessures ouvertes, coupures, égratignures et écorchures doivent être recouvertes de pansements étanches.
9. Le laboratoire doit être en parfait état d'ordre et de propreté. Tout ce qui n'est pas relié au travail et qui est difficile à décontaminer (journaux, livres, correspondance) devrait être restreint. Le travail d'écriture et de rédaction des rapports devrait se faire dans des lieux séparés des zones de manipulation des matières infectieuses.
10. Les membres du personnel de même que les visiteurs, stagiaires et autres personnes entrant ou travaillant dans le laboratoire doivent porter des vêtements protecteurs bien fermés et des chaussures à bouts fermés.
11. Les procédures prévoyant une protection du visage et des yeux doivent être déterminées avec soin, et le choix des moyens de protection doit être adapté au risque. Des lunettes et des masques protecteurs doivent être portés s'il est nécessaire de se protéger les yeux et le visage contre des projections de liquide et l'impact d'objets, que ce soit lors d'opérations de routine ou en cas exceptionnels (p. ex., accidents).
12. Le port de gants (en latex, vinyle, copolymère, etc.) est obligatoire lorsqu'une procédure risque d'entraîner un contact cutané direct avec des matières présentant un danger biologique ou avec des animaux infectés. Les gants doivent être enlevés avant de quitter le laboratoire et décontaminés avec les autres déchets de laboratoire avant d'être éliminés. Des gants en cote de mailles peuvent être portés sous les gants.
13. Les vêtements protecteurs ne doivent pas être portés à l'extérieur du laboratoire. Les vêtements de laboratoire ne doivent pas être rangés avec les vêtements de ville.
14. En cas d'exposition possible ou certaine, les vêtements contaminés doivent être décontaminés avant d'être nettoyés (sauf si des installations de blanchissage situées dans le laboratoire de confinement ont prouvé leur efficacité en matière de décontamination).

15. L'utilisation d'aiguilles, de seringues et d'autres objets pointus devrait être strictement limitée. Les aiguilles et les seringues devraient exclusivement être réservées aux injections parentérales et aux prélèvements de liquides biologiques chez les animaux de laboratoire et dans les flacons à diaphragme. Le personnel qui manipule des seringues et des aiguilles doit prendre grand soin d'éviter de s'auto-inoculer et de produire des aérosols pendant leur utilisation et élimination. Ces manipulations doivent, le cas échéant, être réalisées dans une enceinte de sécurité biologique. Les aiguilles ne devraient pas être pliées, coupées, enlevées de la seringue ou remises sur la seringue, mais plutôt être rapidement déposées dans un récipient à l'épreuve des perforations (en conformité avec les normes de l'Association canadienne de normalisation Z316.6-95 [R2000])⁽¹⁶⁾, avant d'être éliminées.
16. Les personnes qui manipulent des matières potentiellement ou sûrement contaminées doivent se laver les mains même si elles ont porté des gants, avant de quitter le laboratoire.
17. Les surfaces de travail doivent être nettoyées et décontaminées avec des produits désinfectants appropriés après chaque déversement de substances éventuellement dangereuses et à la fin de chaque journée. Les surfaces de travail devenues perméables (fissurées, ébréchées, mal ajustées) doivent être réparées ou remplacées.
18. Les appareils et le matériel contaminés doivent être correctement désinfectés et étiquetés comme tels avant de quitter le laboratoire pour être réparés ou éliminés.
19. L'efficacité des autoclaves servant à la décontamination doit être régulièrement vérifiée à l'aide d'indicateurs biologiques (inspection hebdomadaire, selon la fréquence d'utilisation). Les résultats et les registres des cycles (heure, température et pression) seront consignés dans un dossier.

20. Toutes les matières contaminées, qu'elles soient solides ou liquides, seront décontaminées avant d'être réutilisées ou éliminées. Ces matières seront placées dans des contenants prévenant leur dispersion lors de leur enlèvement. Les laboratoires possédant un autoclave central doivent respecter les règles applicables au niveau de confinement 2.
21. Des désinfectants efficaces contre les agents manipulés doivent être disponibles en tout temps dans les zones de manipulation ou de conservation des matières infectieuses.
22. Les matières infectieuses doivent être transportées dans des récipients étanches à l'intérieur des installations (c.-à-d. entre les laboratoires d'une même installation).
23. Le responsable du laboratoire doit immédiatement être averti de tous les cas de déversement, d'accident, d'exposition à des matières infectieuses et de bris de confinement. Un registre écrit de ces incidents et accidents doit être tenu à jour, et les résultats des enquêtes doivent être utilisés pour la formation permanente.
24. Un programme efficace de lutte contre les insectes et les rongeurs doit être en place.

3.1.2 Niveau de confinement 2

Outre les pratiques de base décrites ci-dessus, les installations de confinement de niveau 2 doivent se conformer aux exigences opérationnelles minimales suivantes.

1. Les laboratoires de niveau 2 doivent imposer des pratiques saines de microbiologie afin d'éviter la dispersion de matières infectieuses.
2. Des enceintes de sécurité biologique doivent être utilisées pour les procédures susceptibles de produire des aérosols infectieux ou impliquant des concentrations élevées ou de grandes quantités de matières infectieuses. Les responsables des laboratoires devraient, après consultation avec le responsable de biosécurité et le comité de

biosécurité, effectuer une analyse de risque pour déterminer les procédures ainsi que les concentrations et les volumes nécessitant l'utilisation d'une enceinte de sécurité biologique.

3. Des panneaux de mise en garde indiquant la nature du danger (danger biologique, niveau de confinement, etc.) doivent être apposés à l'extérieur de chaque laboratoire. Lorsque les agents infectieux manipulés en laboratoire exigent des précautions supplémentaires, les informations appropriées doivent être mentionnées sur le panneau qui doit également indiquer comment rejoindre le responsable du laboratoire ou tout autre responsable.
4. L'accès doit être strictement réservé au personnel du laboratoire, aux animaliers, au personnel d'entretien et à toute autre personne autorisée.
5. Tous les employés qui travaillent dans une zone de confinement doivent avoir reçu une formation adéquate et respecter les protocoles opérationnels des projets en cours. Les stagiaires seront accompagnés par un membre du personnel ayant suivi cette formation. Les visiteurs, le personnel d'entretien, les concierges et les autres personnes dont la présence est jugée appropriée doivent aussi avoir suivi une formation pertinente et/ou être soumis à une surveillance proportionnelle aux activités qu'ils doivent exécuter dans la zone de confinement.
6. Le laboratoire doit prévoir et avoir à portée de main un plan d'urgence écrit précisant les procédures à suivre en cas de nettoyage de déversement, de bris de l'enceinte de sécurité biologique, d'incendie, de fuite d'un animal et autres urgences. Le nom de toutes les autres personnes pénétrant dans les installations pendant une intervention d'urgence doit également être noté.

3.1.3 Niveau de confinement 3

Outre les pratiques de base et les exigences minimales des installations de confinement de niveau 2 décrites ci-dessus, les installations de confinement de niveau 3 doivent se conformer aux exigences ci-dessous.

1. Un programme de gestion de la biosécurité doit avoir été mis en place avec les autorités compétentes pour contrôler les pratiques de sécurité et de confinement (voir le chapitre 2, section 2.5).
2. Toutes les personnes qui pénètrent dans le laboratoire de confinement doivent avoir suivi un cours de formation sur les procédures du laboratoire et montrer qu'elles ont bien compris les instructions. La formation doit être attestée, et un document doit être signé par l'employé et par le responsable.
3. Le personnel qui travaille dans la zone de confinement doit connaître les détails de la conception et de l'aménagement des lieux (p. ex., gradients de pression entre les différentes zones, direction des flux d'air, signaux d'alarme en cas de panne du système de pression de l'air, périmètre de confinement).
4. Le protocole du fonctionnement du laboratoire doit être conçu et lu par le personnel, qui doit certifier par écrit en avoir bien compris les instructions. Celui-ci doit expliquer les procédures d'entrée et de sortie des personnes, des animaux, des appareils, des échantillons et des déchets. En plus du protocole de base, chaque projet doit avoir son propre protocole.
5. Le personnel doit avoir prouvé sa maîtrise des techniques et des pratiques de microbiologie.
6. Le personnel de laboratoire doit périodiquement faire des tests de fumée (placer une poire à fumée à la porte séparant le sas de la zone de confinement, et les autres portes, le cas échéant) pour vérifier le courant d'air directionnel. Il est également nécessaire de vérifier le confinement (vérifier les indications du dispositif de

surveillance de pression) avant de pénétrer dans ce type de laboratoire.

7. Personne ne doit entrer dans une zone de confinement sans être parfaitement préparé et sans avoir prévu tout le matériel nécessaire. En cas d'oubli, respecter les circuits établis (ne pas repartir chercher ce qui a été oublié, mais plutôt téléphoner pour se faire apporter le nécessaire ou encore sortir de l'enceinte en respectant les protocoles en vigueur).
8. Le nettoyage usuel du laboratoire doit être fait par le personnel qui utilise les installations de confinement ou par des employés spécialisés, formés pour cette tâche.
9. Les portes du laboratoire de confinement doivent toujours être fermées à clé.
10. Les agents infectieux devraient être conservés à l'intérieur du laboratoire de confinement. Ceux qui sont conservés à l'extérieur de cette zone doivent être mis sous clé, dans des récipients étanches. En pareil cas, les procédures d'intervention en cas d'urgence doivent tenir compte de l'existence de ces agents à l'extérieur du niveau de confinement 3.
11. Les articles personnels tels que les sacs à main et vêtements de ville doivent être rangés hors du laboratoire de confinement.
12. Les siphons ne doivent jamais s'assécher (p. ex., utilisation régulière des éviers, amorces automatiques, emplissage des siphons dans les endroits utilisés peu fréquemment).
13. Les fournitures et les échantillons de laboratoire peuvent être apportés dans la zone de confinement ou passés par un passe-plats. Lorsque l'autoclave avec sas sert au passage de matériel vers le niveau 3, mettre en route un cycle de stérilisation avant d'ouvrir la porte extérieure « côté propre ».
14. Avant d'entrer dans un laboratoire de niveau 3, le personnel doit retirer ses vêtements de ville et ses bijoux et enfiler une tenue et des chaussures spéciales de

laboratoire. Limiter au maximum les risques de contamination cutanée au moment d'enlever sa tenue et ses chaussures avant de quitter la zone de confinement. Le port de vêtements protecteurs intégraux (c.-à-d. couvrant intégralement les vêtements de ville) est une solution acceptable. En cas d'exposition probable ou avérée, tous les vêtements, y compris les vêtements de ville, doivent être correctement décontaminés. Le personnel de laboratoire qui manipule des organismes non infectieux par inhalation, tel le VIH, n'est pas obligé de retirer ses vêtements de ville.

15. D'autres vêtements protecteurs (p. ex., sarraus serrés aux poignets, avec fermeture arrière, gants, protection respiratoire⁽⁷⁾) peuvent être portés par-dessus la tenue de laboratoire en cas de manipulation directe de matières infectieuses, et retirés après usage (c.-à-d. réservés pour des manipulations dans l'enceinte de sécurité biologique).
16. La centrifugation des matières infectieuses doit se faire dans des récipients fermés, placés dans des godets de sécurité ou des rotors scellés, qui seront déchargés dans une enceinte de sécurité biologique.
17. Les animaux ou arthropodes qui ont été expérimentalement infectés doivent demeurer dans le laboratoire ou dans une animalerie de niveau de confinement approprié.
18. En cas d'exposition probable ou avérée à des aérosols, des protocoles fondés sur des analyses de risque faites localement doivent prévoir s'il est nécessaire de prendre une douche avant de quitter le laboratoire.
19. Toutes les manipulations de matières infectieuses doivent se faire dans une enceinte de sécurité biologique. En cas d'impossibilité, d'autres dispositifs primaires de confinement associés à de l'équipement et des vêtements personnels protecteurs doivent être utilisés. Aucune manipulation de matières infectieuses entraînant l'utilisation de contenants ouverts ne sera réalisée sur la paillasse.

20. Les appareils thermolabiles qui ne peuvent être stérilisés en autoclave avant de sortir du niveau 3 doivent être décontaminés dans la barrière de confinement (p. ex., par fumigation avec de la formaldéhyde, vaporisation de peroxyde d'hydrogène ou autre solution appropriée, par désinfection au moyen de produits chimiques ou selon toute autre méthode ayant prouvé son efficacité).
21. Les procédures d'urgence en cas de panne des systèmes de ventilation ou autres procédures d'urgence associées à un bris de confinement doivent être écrites, facilement accessibles et respectées.
22. En cas d'extrême urgence, la santé et la sécurité des personnes sont prioritaires. Les protocoles de sortie doivent prévoir la possibilité de court-circuiter les procédures usuelles de sortie. En pareil cas, une zone désignée doit avoir été préalablement déterminée afin de procéder à d'autres mesures de décontamination (désinfection des chaussures, douches, changement de vêtements, etc.).

3.1.4 Niveau de confinement 4

Outre les pratiques de base et les exigences opérationnelles minimales des installations de confinement de niveaux 2 et 3 décrites ci-dessus, les installations de confinement de niveau 4 doivent se conformer aux exigences suivantes.

1. Des protocoles doivent prévoir toutes les urgences, notamment les détériorations des combinaisons pressurisées, les pannes d'arrivée d'air, le mauvais fonctionnement des douches chimiques et autres urgences.
2. Les employés qui ont contracté une maladie fébrile inexplicquée doivent immédiatement aviser leur responsable. Celui-ci doit communiquer avec tous les employés qui s'absentent sans justification.
3. En cas d'exposition accidentelle d'un employé à des agents manipulés en niveau de confinement 4, l'employeur doit communiquer avec l'hôpital ou avec le centre de soins

local afin de s'assurer que le personnel de ces établissements est averti de la nature de l'exposition et que des méthodes de traitement appropriées sont en place.

4. Tenir à jour un registre de toutes les entrées et sorties du laboratoire de confinement, avec mention des dates et des heures.
5. Les cultures et les stocks d'agents infectieux doivent être conservés en lieu sûr, à l'intérieur du laboratoire de confinement. Tenir à jour un inventaire des agents pathogènes.
6. Une vérification quotidienne des systèmes de confinement (flux d'air directionnels, quantité de désinfectant disponible pour la douche chimique, points critiques de confinement des enceintes de sécurité biologique de classe III, etc) et des équipements de survie (approvisionnement d'air de réserve, etc.) doit être effectuée avant d'entrer en niveau 4.
7. Le personnel doit retirer ses vêtements de ville (y compris ses sous-vêtements) et ses bijoux et enfiler une tenue et des chaussures de laboratoire prévues à cette fin avant d'entrer en niveau 4.
8. Les employés doivent porter des combinaisons pressurisées (pour le travail en niveau 4, mode combinaison) qui doivent régulièrement être inspectées (fuites, etc.).
9. Les employés qui portent des combinaisons pressurisées ne doivent pas quitter le laboratoire sans prendre une douche chimique d'une durée appropriée. Les produits désinfectants doivent être adaptés aux agents manipulés, être dilués selon les instructions et fraîchement préparés, le cas échéant. Cette exigence ne s'applique pas aux installations de confinement de niveau 4 utilisant des enceintes de sécurité biologique de classe III.
10. Les employés doivent prendre une douche avant de quitter le laboratoire de confinement.
11. Les appareils ne peuvent sortir du laboratoire de confinement sans avoir été correctement décontaminés

ou sans que le responsable de la biosécurité ou toute autre autorité compétente n'ait autorisé leur déplacement.

12. Une personne compétente sera toujours disponible à l'extérieur du laboratoire de niveau 4, prête à intervenir en cas d'urgence, lorsque quelqu'un y travaille.
13. Les petits animaux de laboratoire, les primates et les insectes infectés par des agents de groupe de risque 4 seront hébergés dans un système de confinement partiel (p. ex., cages placées dans des enceintes de confinement munies de filtres HEPA).
14. Toutes les procédures doivent être réalisées dans une enceinte de sécurité biologique, avec une combinaison pressurisée, ou à l'intérieur d'une enceinte de sécurité biologique de classe III.
15. Les manipulations et les soins spécialisés qu'exigent les grands animaux ne sont pas abordés dans ces *Lignes directrices*. Pour plus de détails, prière de se référer à l'édition actuelle des *Normes sur le confinement des installations vétérinaires* de l'Agence canadienne d'inspection des aliments⁽⁸⁾. Il est possible de communiquer directement avec ce bureau en téléphonant à la Division des biorisques, du confinement et de la sécurité, (613-221-7088) ou en consultant son site Web, à <http://www.inspection.gc.ca/francais/sci/lab/biof.shtml>

Références

1. Harding, A.L, et Brandt Byers, K. *Epidemiology of laboratory-associated infections*. Dans : Fleming, D.O., et Hunt, D.L. *Biological safety: principles and practices*. Washington, DC: ASM Press, 2000; 35-54.
2. Pike, R.M. *Laboratory-associated infections: incidence, fatalities, causes and preventions*. *Annu. Rev. Microbiol.* 1979; 33:41-66.
3. Collins, C.H., et Kennedy, D.A. Preface. Dans : *Laboratory-acquired infections: history, incidence, causes and preventions*. Oxford, U.K: Butterworth-Heinemann, 1999; ix-xi.

4. Pike, R.M. *Laboratory-associated infections. Summary and analysis of 3921 cases*. Health Lab Sci, 1976;105-114, volume 13.
5. Collins, C.H., et Kennedy, D.A. *Exposure, sources and routes of infection*. Dans : *Laboratory-acquired infections: history, incidence, causes and preventions*. Oxford, U.K: Butterworth-Heinemann, 1999; 38-53.
6. *Evaluation of Single Use Medical Sharps Containers for Biohazardous and Cytotoxic Waste*. CSA standard Z316.6-95(R2000), Canadian Standards Association, Toronto, ON, 2000.
7. *Choix, utilisation et entretien des respirateurs*. Standard Z94.4-F02. Toronto : Association canadienne de normalisation, 2002.
8. *Normes sur le confinement des installations vétérinaires*. Agriculture et Agro-alimentaire Canada, Ministre des Approvisionnements et Services Canada, No. 1921/F, 1996.

Chapitre 4

Conception et aménagement

Ce chapitre propose des conseils sur la conception et l'aménagement des quatre niveaux de laboratoire énoncés au chapitre 2.

Cinq grands groupes conceptuels sont définis, à savoir : emplacement du laboratoire et accès, surfaces (sols, murs, plafonds et produits d'étanchéité), revêtements et mobilier, chauffage, ventilation et climatisation (CVC), périmètre de confinement, services (eau, tuyauterie, gaz, électricité et caractéristiques de sécurité). Des informations sur la mise en service, l'accréditation et le renouvellement d'accréditation des caractéristiques de confinement détaillées dans ces groupes sont présentées au chapitre 5.

Légende : ● - obligatoire ○ - recommandé

4.1 Matrice 1

Emplacement et accès

Matrice 1	Niveau de confinement				Emplacement et accès
	1	2	3	4	
1	●	●	●	●	Laboratoire séparé des endroits publics par des portes.
2		●	●	●	Accès limité au personnel autorisé.
3		●	●	●	Panneaux de mise en garde appropriés placés sur les portes de la zone de confinement (danger biologique, niveau de confinement, personnes ressources, conditions d'entrée, etc.).
4	●	●	●	●	Portes suffisamment grandes pour laisser passer les appareils prévus.
5		●	●	●	Verrouillage possible des portes donnant accès à la zone de confinement. (Cette exigence ne s'applique pas à l'intérieur de la zone de confinement.)

Matrice 1	Niveau de confinement				Emplacement et accès
	1	2	3	4	
6			●	●	Portes munies d'un système de contrôle d'accès (carte-clé, etc.) ou équivalent.
7			○	●	Systèmes de verrouillage électronique doublés par un système de verrouillage conventionnel.
8		○	●	●	Bureaux à l'extérieur de la zone de confinement. Possibilité de prévoir des bureaux de travail administratif pour la collecte des données à l'intérieur de la zone à condition que ceux-ci soient situés en dehors des espaces de laboratoire.
9			●	●	Vestibule (sas à double porte) d'entrée.
10			●		La ou les portes du vestibule séparant le vestiaire des vêtements « propres » du vestiaire des vêtements « sales » ne peuvent être ouvertes en même temps que la porte de la zone de confinement ou la porte d'entrée du vestiaire « propre ». (Solutions acceptables : portes à verrouillage réciproque, alarmes visuelles ou sonores, protocoles.)
11				●	La ou les portes du vestibule situées entre le vestiaire des vêtements de ville et le vestiaire des tenues de laboratoire ne peuvent être ouvertes lorsque la porte d'entrée vers la zone de confinement ou celle du vestiaire des tenues de laboratoire est ouverte (verrouillage réciproque uniquement).
12			●	●	Les portes à verrouillage réciproque, lorsqu'il y en a, doivent être munies d'un système manuel de sortie en cas d'urgence.

Matrice 1	Niveau de confinement				Emplacement et accès
	1	2	3	4	
13			●	●	L'entrée à la zone de laboratoire doit donner accès à au moins une anti-chambre qui séparera le vestiaire des vêtements de ville du vestiaire des tenues de laboratoire destinées à cette zone (c.-à-d. le vestiaire de vêtements « sales » du vestiaire de vêtements « propres »)
14			●	●	La sortie du laboratoire doit donner accès à une douche et à une porte de la barrière de confinement (c.-à-d. entre les vestiaires de vêtements « sales » et de vêtements « propres »). (Cette exigence ne s'applique pas aux laboratoires de niveau 3 où sont manipulés des organismes non infectieux par inhalation, tel le VIH.)
15				●	Entrée dans la zone de confinement par un vestibule à portes hermétiques (joints pneumatiques ou à compression). Cette exigence ne s'applique pas aux laboratoires utilisant uniquement des enceintes de sécurité biologique de niveau 3.
16				●	Entrée dans la zone de confinement avec vestiaire pour les combinaisons et douche chimique à la barrière de confinement (c.-à-d. entre le laboratoire et le vestiaire des combinaisons) ; sortie avec douche classique située entre le vestiaire « sale » et le vestiaire « propre ». Les exigences de douche chimique et de vestiaire pour combinaisons ne s'appliquent pas aux laboratoires utilisant uniquement des enceintes de sécurité biologique de classe III.

Matrice 1	Niveau de confinement				Emplacement et accès
	1	2	3	4	
17			○	●	Zones de confinement situées à proximité immédiate des services mécaniques afin de minimiser le risque de contamination de ces installations.
18			○	●	Zones de confinement situées à distance des murs de l'enveloppe extérieure du bâtiment.
19			○	○	Laboratoire de soutien adjacent à la zone de confinement pour les manipulations de soutien.

4.2 Matrice 2

Surfaces (sols, murs, plafonds et produits d'étanchéité), revêtements et mobilier

Matrice 2	Niveau de confinement				Surfaces (sols, murs, plafonds et produits d'étanchéité), revêtements et mobilier
	1	2	3	4	
1		○	●	●	Les surfaces des portes, des cadres, du mobilier et des paillasse ne doivent pas être absorbantes (éviter toutes matières organiques).
2		●	●	●	Les surfaces de travail des paillasse ne doivent pas être absorbantes.
3	○	●	●	●	Selon leur fonction au laboratoire, les surfaces doivent résister aux éraflures, aux taches, à l'humidité, aux produits chimiques et à la chaleur.
4	○	○	●	●	Les surfaces doivent résister aux impacts propres aux laboratoires.
5		○	●	●	Les surfaces doivent être continues et compatibles avec les matériaux adjacents et les matériaux qui se chevauchent (afin de préserver l'adhérence et la continuité du périmètre). Les joints soudés des sols et des murs sont acceptables en niveau 3.
6			●	●	La continuité du joint entre le mur et le sol doit être préservée (de préférence, prévoir une moulure concave).
7			●	●	Les surfaces intérieures doivent réduire le mouvement des gaz et des liquides à travers la membrane du périmètre.
8	○	●	●	●	Les revêtements intérieurs doivent résister aux gaz et aux produits chimiques, selon la fonction du laboratoire (résistance aux désinfectants chimiques, à la fumigation, etc.).

Matrice 2	Niveau de confinement				Surfaces (sols, murs, plafonds et produits d'étanchéité), revêtements et mobilier
	1	2	3	4	
9			●	●	Les revêtements intérieurs doivent être lavables.
10				●	La stabilité structurelle doit résister à 1,25 fois la pression maximale prévue en cas de panne du ventilateur d'arrivée et d'évacuation d'air (les murs ne doivent subir aucun dommage ou distorsion).
11	○	○	●	●	Paillasse à revêtement sans joint.
12	○	○	○	○	Les bords des paillasse doivent contenir les déversements (prévoir par exemple de hauts rebords et un dispositif d'arrêt d'écoulement).
13	○	○	○	●	Les bords et les angles des paillasse, portes, tiroirs, poignées de porte, etc. doivent être arrondis.
14	○	○	○	○	La jonction mur-paillasse des dossier anti-éclaboussures placés près d'un mur (si existante) doit être scellée.
15	○	○	○	○	Les étagères de rangement des réactifs doivent avoir de hauts rebords.
16	○	○	○	○	Les tiroirs doivent être munis de loquets de retenue pour assurer leur maintien en place.
17				○	Les tiroirs doivent être construits d'une seule pièce.
18	○	○	○	○	Les portes des meubles ne doivent pas se fermer d'elles-mêmes.

4.3 Matrice 3 Chauffage, ventilation et climatisation (CVC)

Matrice 3	Niveau de confinement				CVC
	1	2	3	4	
1		○	●	●	L'air doit provenir à 100 % de l'extérieur.
2			●	●	Le courant d'air directionnel doit se diriger vers les zones de niveau de confinement plus élevées (p. ex., maintien d'un différentiel de pression de ± 25 Pa).
3			●	●	Affichage visuel de surveillance des pressions différentielles à l'entrée de la zone de confinement.
4				●	L'efficacité des filtres des conduites de surveillance des pressions différentielles pénétrant dans la barrière de confinement doit être au moins égale à celle des filtres HEPA.
5			●	●	Des avertisseurs sonores ou visuels doivent être installés à l'intérieur et à l'extérieur de la zone de confinement afin de signaler toute défaillance des systèmes d'arrivée d'air (avertissant le personnel de soutien et les autres employés).
6			●		Lorsque jugé nécessaire après évaluation locale du risque, la conduite d'arrivée sera équipée d'une protection antiretour (filtre HEPA ; volet à scellant hermétique antiretour).
7				●	Alimentation en air avec filtration HEPA.

Matrice 3	Niveau de confinement				CVC
	1	2	3	4	
8			●	●	<p>Arrivée d'air indépendante des autres zones de laboratoire. L'arrivée d'air d'un laboratoire de niveau de confinement 3 peut être associée à celle de niveaux inférieurs sous réserve d'une protection antiretour (filtres HEPA, volet à scellant hermétique antiretour, etc.) placée en aval de la connexion.</p> <p>(Critère recommandé, mais non obligatoire, pour les laboratoires de niveau 3 où sont manipulés des organismes non infectieux par inhalation, tel le VIH.)</p>
9			●	●	<p>Interdépendance du système d'arrivée d'air (ventilateurs, clapets, produits électriques) avec le système d'évacuation de façon à prévenir une surpression prolongée du laboratoire.</p>
10			●	●	<p>Évacuation de l'air avec filtration HEPA.</p> <p>(Critère non obligatoire pour les laboratoires de niveau 3 où sont manipulés des organismes non infectieux par inhalation, tel le VIH.)</p>
11				●	<p>Évacuation de l'air avec deux étapes de filtration HEPA.</p>
12			●	●	<p>Installation de filtres HEPA dans le système d'arrivée et d'évacuation de l'air conformément aux exigences IEST-RP-CC001.3⁽¹⁾.</p>
13				●	<p>Résistance à des changements structurels en cas d'application d'une pression de 2500 Pa [10 pouces colonnes d'eau] des boîtiers des filtres HEPA d'arrivée d'air.</p>

Matrice 3	Niveau de confinement				CVC
	1	2	3	4	
14			●		Résistance à des changements structurels en cas d'application d'une pression de 2500 Pa [10 pouces colonnes d'eau] des boîtiers des filtres HEPA lorsque ceux-ci servent de protection antiretour, conformément à une évaluation locale du risque.
15			●	●	Résistance à des changements structurels en cas d'application d'une pression de 2500 Pa [10 pouces colonnes d'eau] des boîtiers des filtres HEPA d'évacuation d'air. Les filtres doivent pouvoir être scellés et décontaminés. (Critère recommandé, mais non obligatoire, pour les laboratoires de niveau 3 où sont manipulés des organismes non infectieux par inhalation, tel le VIH.)
16			●	●	Indépendance du système d'évacuation d'air par rapport à celui des autres zones du laboratoire. L'évacuation d'air d'un niveau de confinement 3 peut être combinée à celle de niveaux inférieurs à condition d'installer un filtre HEPA en amont de la connexion. (Critère recommandé pour les laboratoires de niveau 3 où sont manipulés des organismes non infectieux par inhalation, tel le VIH.)
17			○	●	Accessibilité des systèmes d'arrivée et d'évacuation d'air. Ceux-ci doivent être situés à l'extérieur de la zone de confinement afin de faciliter les réparations et inspections, l'entretien et le nettoyage.

Matrice 3	Niveau de confinement				CVC
	1	2	3	4	
18				●	Les conduites d'arrivée d'air situées à l'extérieur du périmètre de confinement (c.-à-d. entre le périmètre de confinement et le filtre HEPA ou le volet à scellant hermétique antiretour) doivent être hermétiquement scellées conformément à la classe A de la Sheet Metal and Air Conditioning Contractors National Association (SMACNA) ⁽²⁾ .
19			●		Les conduites d'arrivée d'air situées à l'extérieur du périmètre de confinement (c.-à-d. entre le périmètre de confinement et le filtre HEPA ou le volet à scellant hermétique antiretour) doivent être hermétiquement scellées conformément à la classe A de la SMACNA ⁽²⁾ lorsque l'évaluation du risque local prévoit une protection antiretour.
20			●	●	Les conduites d'évacuation d'air situées à l'extérieur du périmètre de confinement (c.-à-d. entre le périmètre de confinement et le filtre HEPA ou le volet à scellant hermétique antiretour) doivent être hermétiquement scellées conformément à la classe A de la SMACNA ⁽²⁾ . (Critère non obligatoire pour les laboratoires de niveau 3 où sont manipulés des organismes non infectieux par inhalation, tel le VIH.)

Matrice 3	Niveau de confinement				CVC
	1	2	3	4	
21			●	●	<p>Des dispositifs de surveillance de circulation d'air et des sondes de gaine doivent être installés en aval des filtres HEPA de la conduite d'évacuation d'air et en amont du volet à scellant hermétique antiretour d'alimentation ou du filtre. Si situés en amont, les rentrées d'air des conduites doivent être scellées conformément à la classe A de la SMACNA⁽²⁾.</p> <p>(Critère non obligatoire pour les laboratoires de niveau 3 où sont manipulés des organismes non infectieux par inhalation, tel le VIH.)</p>
22			●	●	<p>Les volets à scellants hermétiques antiretour et les filtres HEPA doivent être installés à proximité du périmètre de confinement.</p> <p>(Critère non obligatoire pour les laboratoires de niveau 3 où sont manipulés des organismes non infectieux par inhalation, tel le VIH.)</p>

4.4 Matrice 4 Périmètre de confinement

Matrice 4	Niveau de confinement				Périmètre de confinement
	1	2	3	4	
1	○	●			Accès à un autoclave ou à tout autre moyen acceptable de traitement et d'élimination des déchets.
2			●	●	Autoclave avec scellé biologique (barrière à double porte) situé à la barrière de confinement. Il est préférable de placer les composantes mécaniques de l'autoclave à l'extérieur de la zone de confinement pour en faciliter l'entretien. (Pour les laboratoires de niveau 3 où sont manipulés des organismes non infectieux par inhalation tels que le VIH, il n'est pas obligatoire de prévoir un autoclave à double porte.)
3			●		Portes interdépendantes de l'autoclave avec sas, ou installation d'avertisseurs sonores ou visuels prévenant l'ouverture simultanée des deux portes.
4				●	Portes interdépendantes de l'autoclave avec sas, et installation d'avertisseurs sonores ou visuels prévenant l'ouverture simultanée des deux portes.
5			●	●	Prévoir à la barrière de confinement d'autres techniques ayant prouvé leur efficacité en matière de traitement des déchets (incinération, élimination chimique, gaz, etc.) pour les matières qui ne peuvent être décontaminées par autoclavage (matériel thermosensible, prélèvements, pellicules, etc.).

Matrice 4	Niveau de confinement				Périmètre de confinement
	1	2	3	4	
6			●	●	Les pénétrations entraînant un bris de continuité de la membrane de confinement doivent être scellées avec un produit d'étanchéité non rétrécissant.
7			●	●	Toutes les conduites et tout le câblage situés à la barrière de confinement doivent être scellés à l'aide d'un produit d'étanchéité non rétrécissant.
8	●	●			Les fenêtres qui peuvent être ouvertes doivent être munies de moustiquaires.
9			●	●	Les fenêtres de la barrière de confinement doivent être scellées. Le vitrage doit fournir un degré de sécurité adéquat.
10			○	○	Des fenêtres d'observation doivent être installées à la barrière de confinement.

4.5 Matrice 5 Services (eau, tuyauterie, gaz, électricité et équipements de sécurité)

Matrice 5	Niveau de confinement				Services (eau, tuyauterie, gaz, électricité et équipements de sécurité)
	1	2	3	4	
1	●	●			Installer des crochets pour les sarraus à la sortie du laboratoire. Vestiaires séparés pour les vêtements « propres » et « sales ».
2	●	●	●	●	Prévoir des lavabos situés près de la sortie du laboratoire ou dans le sas pour le lavage des mains. (Ce critère ne s'applique pas aux laboratoires de niveau 4 qui exigent le port de combinaisons pressurisées.)
3		○	●	●	Prévoir des lavabos munis d'un dispositif mains-libres pour le lavage des mains.
4			●	●	Enceintes de sécurité biologique et autres dispositifs primaires de confinement.
5		○			Enceintes de sécurité biologique et autres dispositifs primaires de confinement. Utilisations possibles de ces appareils : procédures susceptibles de générer des aérosols, concentrations élevées d'agents pathogènes et grands volumes, types d'agents utilisés.
6		●	●		Douchette d'urgence pour les yeux, conformément aux normes applicables (ANSI Z358.1-1998) ⁽³⁾ .
7		●			Douche en cas d'urgence, conformément aux normes applicables (ANSI Z358.1-1998) ⁽³⁾ .

Matrice 5	Niveau de confinement				Services (eau, tuyauterie, gaz, électricité et équipements de sécurité)
	1	2	3	4	
8			●		Douche déluge en cas d'urgence lorsqu'il est impossible de limiter les quantités de produits chimiques dangereux dans le laboratoire, conformément aux normes applicables (ANSI Z358.1-1998) ⁽³⁾ .
9			●	●	Les conduites de distribution d'eau domestique desservant la ou les zones de laboratoire doivent être munies d'un dispositif antireflux conformément aux normes CAN/CSA-B64.10-01/B64.10.1-01 ⁽⁴⁾ , et valve d'isolement. Doivent être situées à proximité de la barrière de confinement.
10			●		Canalisations d'égout et tuyauterie connexe (y compris condensat d'autoclave) séparées des zones de confinement moins élevées et reliées à un système d'égout des effluents à la sortie de l'établissement (en aval de toute autre connexion).
11				●	Canalisations d'égout et tuyauterie connexe (y compris condensat d'autoclave) séparées des zones de confinement moins élevées et reliées à un système de stérilisation des effluents.
12				●	Installation en pente des canalisations d'égout reliées à un système de stérilisation des effluents afin d'assurer un écoulement par gravité. Il convient d'envisager d'installer des valves pour isoler des sections de tuyauterie et effectuer une décontamination sur place. Le système de stérilisation des effluents (canalisations, valves, réservoirs) doit résister à la chaleur et aux agents chimiques.

Matrice 5	Niveau de confinement				Services (eau, tuyauterie, gaz, électricité et équipements de sécurité)
	1	2	3	4	
13			●	●	Le drain du condensat d'autoclave doit avoir une connexion fermée. Pour un niveau de confinement 3, une connexion ouverte est permise si elle est située à la barrière de confinement.
14			●	●	Des siphons de drainage doivent être fournis pour la profondeur du siphon hermétique exigée compte tenu des différentiels de pression d'air.
15			○	●	Ne pas installer de siphons de sol, sauf si essentiel (douches, animaleries, etc.).
16				●	Les événements de plomberie (y compris du système de stérilisation des effluents) doivent être équipés de filtres d'une efficacité au moins égale à celle des filtres HEPA et munis d'un dispositif permettant leurs isolement et décontamination.
17			●		Les événements de plomberie doivent être indépendants de ceux des zones de confinement moins élevé ou être combinés à ces derniers sous réserve de la mise en place de filtres d'une efficacité au moins égale à celle des filtres HEPA en amont de la connexion. (Critère non obligatoire pour les laboratoires de niveau 3 où sont manipulés des organismes non infectieux par inhalation, tel le VIH.)
18			○	●	Les bouteilles de gaz comprimé doivent être entreposées à l'extérieur du laboratoire.
19				●	Les conduites de gaz alimentant le laboratoire (dioxyde de carbone, air comprimé) doivent être munies d'un dispositif antireflux.

Matrice 5	Niveau de confinement				Services (eau, tuyauterie, gaz, électricité et équipements de sécurité)
	1	2	3	4	
20			●	●	Prévoir une pompe à vide portable dans le laboratoire. Réduire au maximum le risque de contamination interne de la pompe (filtration HEPA des conduites de vide, utilisation de siphons désinfectants, etc.).
21				●	Fournir avec l'air comprimé respirable des équipements de protection pressurisés personnels (c.-à-d. reliés au tuyau d'air des combinaisons), des compresseurs d'air et une réserve d'air de secours permettant une autonomie de 30 minutes par personne. Des connexions pour tuyaux d'air doivent être prévues dans toutes les pièces entraînant le port de combinaisons, y compris celles de la douche chimique et le vestiaire des combinaisons.
22			●	●	Éclairage d'urgence doit être installé.
23			●	●	Les systèmes de sécurité et de sécurité des personnes, l'éclairage, les systèmes CVC, les enceintes de sécurité biologique et autres équipements essentiels doivent être reliés à un groupe électrogène d'urgence.
24			●	●	Les disjoncteurs doivent être situés à l'extérieur de la zone de confinement biologique.
25			○	○	Les ballasts et les démarreurs des lumières fluorescentes doivent être situés à l'extérieur de la zone de confinement.
26			●	●	Le laboratoire doit être muni d'un système de communication entre la zone de confinement et la zone de soutien.

Matrice 5	Niveau de confinement				Services (eau, tuyauterie, gaz, électricité et équipements de sécurité)
	1	2	3	4	
27			●	●	Système (télécopieur, ordinateur, etc.) permettant le transfert électronique d'informations et de données du laboratoire vers le périmètre extérieur. (Les documents de la zone de confinement peuvent sortir après une procédure de décontamination appropriée [par autoclave, irradiation, micro-ondes]. Ces pratiques ne sont néanmoins pas recommandées de façon systématique).
28				●	Surveillance de la zone de travail (surveillance vidéo en circuit fermé, etc.) à l'extérieur du périmètre du laboratoire (bureau de sécurité/bio-sécurité, etc.).

Références

1. *HEPA and ULPA filters*, IEST-RP-CC001.3. The Institute of Environmental Science and Technology, Rolling Meadows, IL, 1993.
2. *HVAC Air Duct Leakage Test Manual*, Sheet Metal and Air Conditioning Contractors National Association, Inc. (SMACNA), Chantilly, Virginia, 1985.
3. *American National Standard for Emergency Eyewash and Shower Equipment*, ANSI Z358.1-1998. American National Standards Institute, Inc., Arlington, Virginia, 1998.
4. *Guide de sélection et d'installation des dispositifs antirefoulement/Guide d'entretien et de mise à l'essai à pied d'œuvre des dispositifs antirefoulement*, CAN/CSA-B64.10-F01/B64.10.1-F01. Association canadienne de normalisation, Toronto, ON, 2001.

Chapitre 5

Mise en service, accréditation et renouvellement d'accréditation des laboratoires des niveaux de confinement 3 et 4

5.1 Introduction

Aux fins de ce document, la « mise en service » signifie la vérification de la construction et de la performance des éléments essentiels de confinement et constitue une partie de l'ensemble des procédures d'accréditation. L'« accréditation » marque la réussite de la mise en service et atteste la conformité des installations et des protocoles opérationnels aux exigences énoncées dans ce document. Le « renouvellement d'accréditation » confirme que les installations respectent toujours les exigences de cette version des *Lignes directrices* ainsi que les procédures de renouvellement d'accréditation définies dans ce chapitre.

5.1.1 Mise en service

Les procédures de mise en service visent à s'assurer que les installations, les appareils et les systèmes finals sont conformes à leur conception et aux plans et devis de construction. Il est préférable d'implanter ces procédures au début de l'étape de planification et de vérifier leur conformité pendant la construction et jusqu'à l'obtention de l'accréditation.

Pour s'assurer du respect des critères de conception des niveaux de confinement prévus et de la conformité d'utilisation du laboratoire, les installations doivent suivre un plan de mise en service détaillé entraînant la vérification et la documentation des éléments essentiels du confinement, la mise en marche des appareils, le calibrage du système de

surveillance, l'équilibrage des pressions et le contrôle des performances. S'inscrivent dans ce processus un cahier des charges exhaustif et un jeu complet de dessins, une bonne compréhension de l'utilisation des installations et du travail prévu, une liste des exigences associées aux appareils, tous les résultats des tests et une intelligence de la finalité du fonctionnement des systèmes. La mise en service est une exigence préalable à l'accréditation des laboratoires de niveaux de confinement 3 et 4.

5.1.2 Accréditation

Ce chapitre propose une matrice des éléments essentiels de confinement qu'il convient de vérifier à l'étape initiale de l'accréditation. Il est également important d'établir des protocoles opérationnels avant de manipuler des agents pathogènes dans le laboratoire de niveau de confinement approprié. La formation du personnel est un aspect crucial de ce processus qui peut comprendre un travail initial avec des agents pathogènes généralement manipulés dans des zones de confinement moins élevé. Les utilisateurs doivent non seulement comprendre les procédures scientifiques, mais aussi le fonctionnement des systèmes de confinement. Des registres détaillés du processus d'accréditation et des résultats des tests doivent être tenus à jour.

5.1.3 Renouvellement d'accréditation

Le renouvellement d'accréditation est une étape qui concerne certains éléments du confinement. Toutes sortes de facteurs influencent la nature et la fréquence de cette démarche. Ainsi, la vérification du courant d'air directionnel, la détection visuelle des fuites dans le périmètre de la zone, le recalibrage des jauges et des régulateurs cruciaux et la surveillance de l'efficacité des systèmes de stérilisation, tels que les autoclaves, sont des mesures qui peuvent être prises de façon routinière sans nuire au fonctionnement du laboratoire de confinement. Les informations relatives à la nécessité et à la fréquence de remplacement des filtres sont obtenues par la surveillance de la résistance au travers de ces filtres HEPA

(c.-à-d. au moyen de jauges de pression) installés dans les systèmes de traitement d'air. S'il convient de vérifier l'intégrité du périmètre de la salle et des conduites d'air après un changement structurel, il est cependant inutile de vérifier à nouveau les caractéristiques de sûreté intégrée des systèmes de surveillance de CVC en provoquant des pannes si celles-ci n'ont pas été mises à niveau ou si leur conception n'a pas été modifiée.

5.2 Intégrité de la pièce

Des tests à l'aide de poires à fumée peuvent être faits pour vérifier l'intégrité d'une zone de confinement et détecter les fuites de périmètre. Tous les joints, tous les angles et toutes les pénétrations scellées pouvant entraîner une solution de continuité doivent être inspectés. Des tests de perte de pression destinés à vérifier l'intégrité de la zone de confinement confirmeront l'étanchéité du périmètre (c.-à-d. la possibilité que les gaz et les liquides ne traversent la membrane du périmètre et ne s'échappent des perforations prévues pour les services).

Légende : ● - obligatoire ○ - recommandé
--

5.2.1 Matrice 6 Intégrité de la pièce

Matrice 6	Niveau de confinement	
	3	4
		Intégrité de la pièce
1	●	<p>L'étanchéité des aires de confinement doit être vérifiée visuellement et avec une poire à fumée ou un autre moyen visuel. Faites l'inspection des murs, des planchers et des plafonds pour voir s'il y a des fentes, des ébréchures ou de l'usure. Vérifiez l'étanchéité des murs et des planchers ainsi que les joints des murs et des plafonds.</p> <p>Critères d'acceptation : dans le but de confirmer l'étanchéité de toutes les pénétrations (c.-à-d. l'équipement et les services, entre autres) et des joints (c.-à-d. autour des portes, des fenêtres et des autoclaves, entre autres) à la barrière de confinement.</p>
2	●	<p>Vérification de l'intégrité du confinement par test de perte de pression.</p> <p>Critères d'acceptation : deux tests consécutifs avec une perte de pression minimum de 250 Pa (1 pouce colonne d'eau) par rapport à une pression initiale de 500 Pa (2 pouces colonnes d'eau) pendant 20 minutes⁽¹⁾. Test facultatif lors du renouvellement d'accréditation lorsqu'aucun changement n'a modifié l'intégrité du laboratoire, sous réserve d'une inspection visuelle de la membrane de la barrière de confinement. Au cas où l'inspection visuelle mettrait en doute l'intégrité du périmètre, l'exigence de test de perte de pression doit être établie en consultation avec le responsable du laboratoire, le responsable de la biosécurité/comité institutionnel de biosécurité.</p>

5.2.2 Test de perte de pression

Procédures de base de test de perte de pression en cas de pression négative :

- ▶ Isoler la zone en fermant et fixant solidement toutes les portes et valves ainsi que les volets à scellant hermétique à la barrière de confinement (éviter de prendre des mesures de scellement temporaires pour les portes, les fenêtres et les services qui couvriraient les scellants permanents et empêcheraient les tests de fuite). Capuchonner toutes les conduites des manomètres Magnehelic, etc.
- ▶ Installer un manomètre calibré incliné à travers la barrière de confinement de manière à ce que celui-ci ne soit pas influencé par la distribution d'air. Le manomètre doit avoir une précision minimale de 10 Pa (0,05 pouce colonne d'eau) et pouvoir lire une pression allant jusqu'à 750 Pa (3 pouces colonnes d'eau)⁽¹⁾.
- ▶ Installer un robinet à bille dans la tuyauterie entre le ventilateur/pompe à vide et la pièce pour que la zone puisse être scellée une fois la pression nécessaire obtenue.
- ▶ Brancher la pièce à une pompe à vide pour créer un différentiel de pression négative de 500 Pa (2 pouces colonnes d'eau). Laisser stabiliser et fermer le robinet entre le ventilateur/pompe à vide et la pièce pour sceller la zone à 500 Pa (2 pouces colonnes d'eau).
- ▶ Mesurer la perte progressive de pression négative de 500 Pa (2 pouces colonnes d'eau). Enregistrer le différentiel de pression toutes les minutes pendant 20 minutes.
- ▶ Attendre 20 minutes pour effectuer un deuxième test, si nécessaire.
- ▶ Arrêter le ventilateur/pompe à vide et ouvrir lentement le robinet à bille pour faciliter le retour à une pression normale.
- ▶ Si le taux de fuite dépasse la valeur acceptée :
 - ▶ pressuriser la pièce à un niveau adéquat pour localiser les fuites,
 - ▶ tout en conservant une pression positive continue, appliquer une solution bulleuse aux sections devant être évaluées (joints, angles, pénétrations scellées

pouvant entraîner une solution de continuité, etc.) ou localiser les fuites à l'oreille à l'aide d'une méthode sonore (p. ex., équipement de détection électronique des sons),

- ▷ repérer les endroits où se forment les bulles,
- ▷ réparer la ou les fuites avant de refaire un test.

5.3 Systèmes de traitement de l'air

Plusieurs éléments du système de traitement de l'air d'une zone de confinement doivent être vérifiés avant la mise en service. Les flux d'air des enceintes de sécurité biologique doivent être conformes aux exigences des fabricants, et l'intégrité des filtres HEPA doit être vérifiée pour s'assurer que le matériau filtrant, le joint d'étanchéité et le scellant du boîtier du filtre ne fuient pas. La vérification de la qualité du filtre se fait à l'aide d'une concentration connue de particules et d'une méthode de balayage du pourcentage de leur rétention en aval après filtration. Les conduites doivent être testées contre la perte de pression afin de vérifier que le taux de fuite n'est pas dépassé. Les procédures de test d'étanchéité des conduites et des plénums sont énoncés dans la norme N510 de *Testing of Nuclear Air Treatment Systems* publié en 1989 par l'American Society of Mechanical Engineers (ASME, confirmée en 1995⁽²⁾). Les performances des systèmes de contrôle de pression des zones doivent être conformes à leur conception (c.-à-d. maintien des pressions négatives).

Pour obtenir leur accréditation, les laboratoires doivent se conformer aux exigences de test et aux critères d'acceptation suivants.

5.3.1 Matrice 7 Systèmes de traitement de l'air

Matrice 7	Niveau de confinement		Systèmes de traitement de l'air
	3	4	
1	●	●	Tests des enceintes de sécurité biologique de niveaux 1 et 2 effectués sur place, conformément aux normes NSF/ANSI 49-2002 ⁽³⁾ ou CSA-Z316.3-95 ⁽⁴⁾ .
2	●	●	Tests des enceintes de sécurité biologique de niveau 3 effectués sur place, conformément au <i>Laboratory Safety Monograph</i> , normes NIH 1979 ⁽⁵⁾ et BS EN 12469:2000 ⁽⁶⁾ .
3	●	●	Vérification des dispositifs de verrouillage réciproque (ventilateur intérieur de l'arrivée d'air des enceintes de sécurité biologique de classe II B2 et le ventilateur d'évacuation d'air) pour s'assurer de l'arrêt du ventilateur d'arrivée d'air en cas de panne du ventilateur d'évacuation, conformément aux normes NSF/ANSI 49-2002 ⁽³⁾ .
4	●	●	Vérification des avertisseurs des enceintes de sécurité biologique et/ou des avertisseurs de panne des ventilateurs d'évacuation d'air par simulation des conditions d'urgence.
5	●	●	Vérification sur place de l'intégrité des filtres HEPA installés dans l'arrivée d'air (mesure de protection en cas de refoulement d'air) et vérification sur place des conduites d'évacuation d'air (utilisation d'une concentration connue de particules) selon une méthode de balayage conforme à la norme IEST-RP-CC-006.2 (article 6.2) ⁽⁷⁾ . Critères d'acceptation : la pénétration des particules ne doit pas dépasser 0,01 %. La vérification par balayage des petits filtres en ligne ne doit pas nécessairement être faite sur place. Prévoir dans le programme d'entretien une inspection visuelle et le remplacement régulier de ces filtres.

		<i>Niveau de confinement</i>	
Matrice 7	3	4	Systèmes de traitement de l'air
6	● ●		<p>Vérification sur place de l'intégrité des boîtiers des filtres HEPA d'arrivée d'air lorsque ces filtres servent de mesure de protection en cas de refoulement d'air et sont munis de volets à scellants hermétiques d'entrée et de sortie; vérification sur place des conduites d'évacuation d'air par test de perte de pression. Ces deux tests seront faits conformément à la norme N510 de l'ASME⁽²⁾.</p> <p>Critères d'acceptation : taux de fuite d'air inférieur ou égal à 0,1 % du volume de la conduite par minute pour un test de pression minimal à 1000 Pa (4 pouces colonnes d'eau).</p> <p>Test facultatif pour le renouvellement d'accréditation lorsqu'aucune modification n'a eu lieu depuis celle-ci. Dans le cas contraire, le responsable du laboratoire devra, en consultation avec le responsable de la biosécurité/comité institutionnel de biosécurité, évaluer l'ampleur de ces changements et décider de la pertinence du test.</p>
7	●		<p>Vérification sur place des conduites d'arrivée d'air lorsqu'une protection antireflux est requise sur les conduites; vérification sur place des conduites d'évacuation situées entre le périmètre de confinement et les filtres HEPA ou le volet à scellant hermétique antireflux. Ces deux tests seront faits par méthode de perte de pression, conformément à la norme N510 de l'ASME⁽²⁾.</p> <p>Critères d'acceptation : taux de fuite d'air inférieur ou égal à 0,1 % du volume de la conduite par minute pour un test de pression minimal à 1000 Pa (4 pouces colonnes d'eau).</p>

		<i>Niveau de confinement</i>	
Matrice 7	3	4	Systèmes de traitement de l'air
8		●	<p>Vérification des conduites d'arrivée et d'évacuation d'air placées entre le périmètre de confinement et le filtre HEPA ou le volet à scellant hermétique antiretour par test de perte de pression, conformément à la norme N510 de l'ASME⁽²⁾.</p> <p>Critères d'acceptation : taux de fuite d'air inférieur ou égal à 0,1 % du volume de la conduite par minute pour un test de pression minimal à 1000 Pa (4 pouces colonnes d'eau).</p>
9	○	○	<p>Vérification facultative des pertes de pression des conduites d'arrivée et d'évacuation d'air pour le renouvellement d'accréditation lorsqu'aucune modification n'a été faite. Dans le cas contraire, le responsable du laboratoire évaluera, en consultation avec le responsable de la biosécurité/comité institutionnel de biosécurité, l'ampleur des changements et les mesures à prendre.</p>
10	●	●	<p>Vérification des pressions relatives entre les zones adjacentes (vestiaire « propre » et « sale », vestiaire « sale » et laboratoire).</p> <p>Critères d'acceptation : démonstration visuelle du courant d'air directionnel se déplaçant de l'extérieur vers la zone de confinement (en situation normale), par exemple en utilisant une poire à fumée à chaque porte menant vers des aires adjacentes).</p>

		<i>Niveau de confinement</i>	
Matrice 7	3	4	Systèmes de traitement de l'air
11	●	●	<p>Les systèmes de contrôle doivent être soumis à des essais au moyen de l'échec des composantes du système en vue de vérifier leur fonctionnement à sécurité intégrée (c.-à-d., panne du ventilateur d'extraction, panne du ventilateur de soufflage, panne de courant [où c'est possible], défaillance quant à l'extraction des enceintes de sécurité biologique de classe II B2). Cette vérification comprend celle des avertisseurs visuels et sonores.</p> <p>Critères d'acceptation : écoulement de l'air vers l'intérieur. Le changement de direction de l'écoulement de l'air qui traverse la barrière de confinement est à éviter.</p> <p>Test facultatif pour le renouvellement d'accréditation lorsqu'aucune modification n'a été effectuée auprès de l'équipement et de la logique du système de contrôle. Si des modifications ont été effectuées ou si des problèmes fréquents reliés au système de contrôle et des pannes sont survenus, alors le responsable du laboratoire devra, en consultation avec le responsable de la biosécurité/comité institutionnel de biosécurité, évaluer l'ampleur de ces problèmes et décider de la pertinence du test. Veuillez noter que ceci peut vouloir dire qu'on devra décontaminer. Même si ce n'est pas requis annuellement, les systèmes de contrôle doivent être soumis à des essais périodiques. Veuillez consulter les recommandations du fabricant.</p>

5.4 Matrice 8 Services et appareils de laboratoire

Matrice 8	Niveau de confinement	
	3	4 Services et appareils de laboratoire
1	●	● Vérification du dispositif antireflux d'alimentation en eau conformément à la norme CAN/CSA-B64.10-01/B64.10.1-01 ⁽⁸⁾ .
2	●	● Vérification du dispositif antireflux des autres services (gaz, etc.) afin de s'assurer que celui-ci fonctionne tel que spécifié.
3		● Vérification des systèmes et de l'air comprimé respirable conformément à la norme CAN/CSA-Z180.1-00 ⁽⁹⁾ . Vérification du système d'alarme et de la commutation vers les systèmes de secours.
4		● Vérification des équipements protecteurs personnels à pression positive (combinaisons) afin de s'assurer que ceux-ci fonctionnent tel que spécifié.
5	●	● Vérification des douches classiques et des douches chimiques afin de s'assurer que celles-ci fonctionnent tel que spécifié. Vérification du système d'avertissement de bas niveau du réservoir de désinfectant (niveau de confinement 4).
6	●	● Vérification de la génératrice d'urgence et de l'onduleur dans des conditions de charge appropriées afin de s'assurer que ceux-ci fonctionnent tel que spécifié.
7	●	● Vérification des portes à verrouillage réciproque afin de s'assurer qu'elles n'ouvriront pas simultanément.
8	●	● Vérification des systèmes de sécurité (accès contrôlé, télévision en circuit fermé) afin de s'assurer que ceux-ci fonctionnent tel que spécifié.
9	●	● Vérification des systèmes de communication et de transfert de papier électronique (intercom, téléphone, télécopieur, etc.) afin de s'assurer que ceux-ci fonctionnent tel que spécifié.

Matrice 8	Niveau de confinement		Services et appareils de laboratoire
	3	4	
10	●	●	Vérification des systèmes de décontamination (autoclaves, chambres de fumigation, effluents liquides) et vérification microbiologique au moyen de charges représentatives. La résistance de l'organisme choisi pour le test doit correspondre à celle des organismes qui seront vraisemblablement manipulés.
11		●	Pour les laboratoires de niveau 4, vérifier les siphons et la tuyauterie menant à des systèmes de traitement des effluents (y compris des événements associés) conformément à l'article 3.6 du <i>Code national de la plomberie</i> du Canada (1995) ⁽¹⁰⁾ . La pression pour la vérification d'air sur le système de drainage correspondra aux normes du Code, soit 35 kPa (14 pouces colonnes d'eau).

Références

1. *ARS Facilities Design Standards, 242.1M-ARS*. Facilities Division, Facilities Engineering Branch AFM/ARS, United States Department of Agriculture, 2002
2. *Testing of nuclear air treatment systems*. ASME N510. American Society of Mechanical Engineers, New York, NY, 1989 (Reaffirmed 1995).
3. *Class II (laminar flow) biohazard cabinetry*. Standard 49. NSF International. Ann Arbor, Michigan, 2002.
4. *Biological containment cabinets: installation and field testing*. CSA Z316.3-95. Association canadienne de normalisation, Toronto, ON, 1995.
5. National Cancer Institute Office of Research Safety and the Special Committee of Safety and Health Experts. *Laboratory safety monograph: a supplement to the NIH guidelines for recombinant DNA research*. Bethesda, MD: National Institutes of Health, 1979.
6. *Biotechnology – Performance criteria for microbiological safety cabinets*. BS EN 12469:2000, European Committee for Standardization (CEN), 2000.

7. *Testing Cleanrooms*, IEST-RP-CC006.2. Institute of Environmental Sciences and Testing (IEST). Rolling Meadows, IL, 1997.
8. *Guide de sélection et d'installation des dispositifs antirefoulement/ Guide d'entretien et de mise à l'essai à pied d'œuvre des dispositifs antirefoulement*, CAN/CSA-B64.10-F01/B64.10.1-F01. Association canadienne de normalisation, Toronto, ON, 2001.
9. *Air comprimé respirable et systèmes connexes*. CAN/CSA-Z180.1-F00. Association canadienne de normalisation. Toronto, ON, (approuvé en 2001).
10. *Code national de la plomberie–Canada*. Commission canadienne des codes du bâtiment et de prévention des incendies, Conseil national de la recherche, Ottawa, ON, 1995.

Chapitre 6

Production de microorganismes à grande échelle

6.1 Introduction

La base industrielle du Canada dans le domaine de la biotechnologie est en expansion constante. Par conséquent, il est essentiel d'examiner dans ce document les problématiques de la fermentation industrielle et de la manipulation de microorganismes à grande échelle afin de réduire les risques pour les travailleurs et leur environnement de travail. Le travail à grande échelle n'est pas forcément plus dangereux que le travail de recherche ou le travail à l'échelle laboratoire, car un grand nombre de processus et de procédures sont réalisés en système fermé et les travailleurs et l'environnement sont ainsi moins exposés au matériel infectieux^(1, 2). L'expérience de production de vaccins, qui utilise de nombreux agents très infectieux, a démontré le bien-fondé de cette constatation⁽³⁾.

Les procédures de fermentation ont la capacité de produire des aérosols. Or les aérosols représentent vraisemblablement le plus haut risque d'exposition à des organismes pathogènes et à leurs produits⁽⁴⁾. L'échelle des manipulations constitue également en soi un risque de déversement de grands volumes d'organismes pathogènes dans les installations ou dans l'environnement⁽¹⁾. Les installations où sont pratiquées des opérations de fermentation à grande échelle doivent donc absolument s'assurer de disposer des appareils de confinement appropriés (tant sur le plan de la conception et de l'aménagement que sur celui des opérations) et prévoir un plan d'urgence détaillé limitant toute éventuelle exposition en cas d'incident survenant au cours du processus.

6.2 Portée

Difficiles à déplacer et à stériliser en autoclave, les fermenteurs et les appareils utilisés pour les procédures à grande échelle doivent être stérilisés et décontaminés sur place. Toutefois, tel qu'indiqué auparavant (chapitre 2, section 2.3, Évaluation du risque), les volumes qui définissent le travail à grande échelle et qui nécessitent une attention particulière dépendent des organismes manipulés et de l'évaluation locale détaillée des risques liés au travail. Le seuil du 10 litres qui distingue le travail à l'échelle laboratoire du travail à grande échelle n'a qu'une valeur indicative.

Ce chapitre détaille les exigences techniques requises pour les procédures à grande échelle avec des organismes devant être manipulés en niveaux de confinement 1, 2 ou 3, mais il ne précise aucun critère particulier pour la recherche à grande échelle ou pour la production d'organismes viables devant être manipulés en niveau de confinement 4. De telles exigences doivent être déterminées cas par cas. Pour obtenir de l'aide, s'adresser au Bureau de la sécurité des laboratoires, Santé Canada.

6.3 Pratiques opérationnelles et exigences de conception et d'aménagement

Les exigences de confinement ci-dessous sont les critères minimaux des installations de travail à grande échelle. Elles s'ajoutent aux procédures opérationnelles correspondantes des installations de confinement à l'échelle laboratoire (chapitre 3) et aux exigences de conception et d'aménagement (chapitre 4).

6.3.1 Niveau de confinement grande échelle 1

1. Des inspections visuelles de l'intégrité des systèmes de confinement doivent être faites pour détecter les petites fuites.
2. Les déversements et accidents provoquant une exposition à des organismes doivent immédiatement être rapportés au directeur de l'installation et au responsable de la biosécurité. Le cas échéant, assurer un suivi et des soins médicaux et conserver des comptes rendus écrits.
3. Des plans et des procédures d'urgence doivent être rapidement et facilement utilisables. Prévoir également des équipements appropriés et une formation aux situations d'urgence impliquant des déversements ou la libération accidentelle d'organismes (équipements protecteurs personnels, désinfectants, etc.). Documenter cette formation.
4. Les cultures d'organismes viables doivent être contenues à l'intérieur d'un système fermé ou d'autres appareils de confinement primaire conçus pour prévenir la libération d'aérosols (p. ex., enceintes de sécurité biologique).
5. Les cultures de liquide (sauf l'exception présentée ci-dessous) ne peuvent être retirées du système fermé ou de tout autre appareil de confinement primaire sans une inactivation préalable des organismes par une procédure validée (c'est-à-dire ayant fait la preuve de son efficacité contre l'organisme utilisé). Lorsque le produit final est une culture de liquide qui contient des organismes viables, les organismes peuvent être retirés de l'appareil de confinement primaire à l'aide d'un système fermé pour des analyses d'échantillons, pour d'autres procédures ou pour un remplissage final.
6. Les procédures de collecte d'échantillons, d'ajout de matières et de transfert de cultures de liquide d'un système fermé à un autre doivent prévenir la libération d'aérosols ou la contamination de surfaces exposées.

7. Les appareils de procédures, les systèmes fermés et les autres appareils de confinement primaire doivent être munis de dispositifs de prévention de libération d'organismes viables (filtres HEPA ou équivalent, incinération ou décontamination gazeuse des pièces à travers des désinfectants chimiques).
8. Les systèmes fermés ou autres appareils de confinement primaire ayant contenu des organismes viables ne doivent pas être ouverts pour entretien ou pour toute autre raison sans une inactivation préalable des organismes par une procédure validée laquelle a fait preuve d'efficacité contre l'organisme en cause.
9. La conception des installations doit prévoir le déversement d'organismes viables dans un égout sanitaire (capuchonnage ou siphons de sol surélevés).

6.3.2 Niveau de confinement grande échelle 2

Les installations de niveau de confinement grande échelle 2 doivent respecter les exigences de niveau de confinement grande échelle 1 ainsi que les exigences ci-dessous.

1. Les cultures d'organismes viables doivent être contenues à l'intérieur d'un système fermé ou de tout autre appareil de confinement primaire conçu pour prévenir la libération d'aérosols.
2. Les joints d'étanchéité des appareils associés à la production à grande échelle devraient être conçus de façon à prévenir les fuites ou être complètement enfermés dans des boîtiers ventilés dont l'air est évacué par filtration HEPA ou équivalent, ou par d'autres techniques équivalentes de traitement.
3. Les appareils associés à la production à grande échelle doivent, si possible, être munis de dispositifs de détection (ou équivalent) assurant l'intégrité du confinement pendant les opérations ainsi que le bon fonctionnement du système d'alarme en cas de bris de confinement.

4. L'intégrité du confinement des appareils associés à la production à grande échelle doit être vérifiée avant la première utilisation de ces appareils et après toute modification au système susceptible de modifier leurs caractéristiques de confinement. Les procédures de vérification et les critères d'acceptation doivent être adaptés à ces appareils et à la conception du système fermé. Conserver des comptes rendus de toutes ces vérifications.
5. Des panneaux de mise en garde (danger, niveau de confinement, personnes ressources, conditions d'entrée) doivent être placés à l'entrée de la zone de production. D'autres panneaux pourraient également être placés sur les appareils appropriés et sur les appareils de confinement primaire contenant les organismes viables.
6. Des exigences d'équipements de protection personnelle doivent être affichées à l'entrée.
7. Seul le personnel autorisé peut avoir accès à la zone de production en fonction.

6.3.3 Niveau de confinement grande échelle 3

Les installations de niveau de confinement grande échelle 3 doivent respecter les exigences de niveau de confinement grande échelle 1 et 2 ainsi que les exigences ci-dessous.

1. Le personnel peut soit retirer ses vêtements de ville et enfiler des vêtements de protection personnelle (pantalon, chemise, chaussures, chaussettes, bonnet, gants), soit porter par-dessus ses propres vêtements des vêtements adaptés à la zone de confinement strictement et réservés à cet usage (combinaison, protège-chaussures, bonnet, gants). Les vêtements réutilisables doivent être enlevés à la sortie, décontaminés et nettoyés après chaque usage. Les vêtements jetables doivent être enlevés, décontaminés et éliminés après chaque usage. Selon l'organisme manipulé, il peut être approprié d'utiliser une protection respiratoire.

2. Des panneaux d'identification et de mise en garde de danger doivent être intégrés à tous les dossiers relatifs à l'histoire des appareils (p. ex., tests, fonctionnement, entretien).
3. Prévoir un moyen de contenir tout le volume de production en cas de déversement dans la zone de production (p. ex., appareils de production dans une zone contenue par une digue).

Références

1. Grinsted, J. *Risk assessment and contained use of genetically modified organisms*. Dans : Tzotzos, G.T. *Genetically modified organisms: a guide to biosafety*. Wallingford, UK: Centre for Agriculture and Biosciences (CAB) International, 1995; 17-35.
2. Cipriano, M.L. *Biosafety considerations for large-scale production of microorganisms*. Dans : Fleming, D.O., et Hunt, D.L. *Biological safety principles and practices*. Washington, D.C.: ASM Press, 2000; 541-55.
3. Collins, C.H. *Safety in microbiology: an overview*. Dans : Collins, C.H., et Beale, A.J. *Safety in industrial microbiology and biotechnology*. Oxford, UK: Butterworth-Heinemann Ltd, 1992; 1-5.
4. Brunius, N.G.F. Dans : Collins, C.H., et Beale, A.J. *Safety in industrial microbiology and biotechnology*. Oxford, UK: Butterworth-Heinemann Ltd., 1992; 239-42.

Chapitre 7

Lignes directrices propres à certaines activités

7.1 Animaux de laboratoire

7.1.1 Exigences générales

Le travail avec des animaux entraîne toutes sortes de risques particuliers, dont des morsures et des griffures, des blessures résultant de coups et d'écrasements, des allergies et des dangers environnementaux (bruit, température), et une exposition (naturelle ou expérimentale) à des agents infectieux. L'utilisation des appareils (également appelés installations barrière) et les pratiques des animaleries doivent tenir compte non seulement du risque de transmission des agents infectieux au personnel de laboratoire, mais aussi des risques de contamination croisée entre les animaux et des moyens d'éviter que des agents adventices n'infectent par inadvertance des animaux d'expérimentation. Les installations où sont hébergés des animaux, petits ou gros, doivent être aménagées et exploitées conformément aux *Normes sur le confinement des installations vétérinaires*⁽¹⁾ de l'Agence canadienne d'inspection des aliments, au *Manuel sur le soin et l'utilisation des animaux d'expérimentation* du Conseil canadien de protection des animaux (CCPA)⁽²⁾ et à d'autres lignes directrices et politiques du CCPA (telles que modifiées de façon subséquente). Les établissements qui utilisent des animaux à des fins de recherche, d'enseignement et d'expérimentation devraient obtenir un certificat de Bonnes pratiques animales du CCPA. Il existe des recommandations internationales fournissant de l'assistance sur l'évaluation des risques associés lors des soins et l'utilisation des animaux d'expérimentation⁽³⁻⁵⁾.

L'idéal est de concevoir des animaleries indépendantes et séparées du laboratoire. Toutefois, celles qui sont accolées à un laboratoire seront séparées des autres zones du laboratoire afin de pouvoir plus facilement être isolées et décontaminées le cas échéant. Étant donné qu'il est impossible de prévoir dans des protocoles généraux les exigences propres à chaque expérience, il convient de préparer pour chaque projet des protocoles d'entrée et de sortie du personnel scientifique, des animaliers, des animaux, des échantillons biologiques, des appareils, de la nourriture et des déchets.

La conception des installations qui hébergent des petits animaux devrait miser sur la facilité de nettoyage et de désinfection et prévoir un minimum de mobilier intégré. En général, il suffit de prévoir une petite zone de préparation, un espace d'entreposage et un lavabo pour se laver les mains. Il faut également prévoir des systèmes de cages de confinement ainsi que des installations de soutien pour les procédures animalières, le nettoyage des cages, l'élimination des déchets et les réserves de nourriture/litières. Les récents progrès technologiques d'aujourd'hui, intégrés à toute une gamme de systèmes d'habitats domotisables, permettent de contrôler des facteurs micro-environnementaux tels que la température, les échanges d'air ou l'humidité. D'autres manuels décrivent les systèmes de cage et d'élimination des litières couramment utilisés⁽⁶⁾.

Au moins 20 % des personnes qui travaillent avec des rongeurs, des cobayes et des lapins finissent par contracter des allergies⁽⁷⁾ attribuables au contact avec le poil ou la fourrure des animaux, avec leurs litières ou avec leurs déchets. Ces allergies peuvent se manifester dès la première exposition ou à la suite de multiples expositions. Les symptômes vont de simples éruptions cutanées à un asthme sévère. Il est possible de réduire les expositions inutiles grâce à des systèmes mécaniques, à un système d'aération adéquat, à des isolateurs, à des systèmes de cages de confinement, au port de protections respiratoires et à d'autres protections personnelles^(3,4).

La concentration élevée de microorganismes infectieux éventuellement présents dans les unités d'hébergement des gros animaux explique en partie le caractère particulier de ces installations. Contrairement aux laboratoires où les enceintes de sécurité biologique sont la zone de confinement primaire, les unités d'hébergement des gros animaux sont à la fois des barrières primaires et secondaires. Le personnel qui pénètre dans des unités contaminées par des volumes élevés de déchets animaux infectés doit prendre grand soin de porter des vêtements protecteurs et des dispositifs de protection personnelle. Dans les niveaux de confinement 3 et 4, des siphons de sol reliés à un système de stérilisation des effluents seront installés pour enlever et traiter efficacement les déchets d'animaux infectés. En outre, le personnel qui manipule des gros animaux doit veiller à se protéger efficacement contre tout risque de blessure grave (écrasement, etc.). Des barrières matérielles, des sangles et des systèmes d'entrée devraient être conçus et utilisés dans un but préventif. Enfin, les animaliers seront avertis des caractéristiques générales des animaux, notamment de leurs attributs physiques, de leur mentalité et de leurs instincts.

7.1.2 Primates non humains

Les risques du travail avec des primates non humains sont liés à la présence naturelle d'organismes pathogènes et aux animaux eux-mêmes. Les puissantes mâchoires et les longues canines de ces animaux provoquent des lacérations profondes et douloureuses, et leurs ongles peuvent griffer et déchirer la peau. Ce sont généralement des animaux très sales, bruyants et destructeurs. Autant de caractéristiques qui doivent entrer dans la conception des unités d'hébergement.

Les infections auxquelles s'expose le personnel en contact avec des primates non humains sont les infections bactériennes (*Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, la tuberculose), les infections virales (le virus de l'hépatite A, le virus de l'immunodéficiência simienne et notamment l'*herpesvirus simiae* ou herpèsvirus du cercopithèque 1, encore appelé herpèsvirus B), des parasites protozoaires et métazoaires

(*Entamoeba*, *Blastocystis*, *Trichomonas*, *Balantidium*) et autres agents. Pour une liste plus détaillée et précise sur les agents infectieux, consulter la référence 5).

L'herpèsvirus B est un virus enzootique présent chez 70 % des macaques en captivité, y compris le rhésus et le macaque synomolgus⁽⁸⁾, il cause des lésions orales chez le singe, son hôte naturel, mais son excrétion asymptomatique (quoique rare) des muqueuses buccales et de l'appareil uro-génital ainsi que sa présence dans le liquide conjonctival peuvent survenir sans aucun signe clinique. Au moins 50 cas d'infection humaine ayant provoqué une maladie grave ou un décès ont été documentés⁽⁹⁾. Exception faite d'un cas de transmission de personne à personne, toutes ces infections ont été contractées par des personnes exposées à des primates non humains ou à des tissus de primates non humains. La transmission aux humains semble surtout résulter d'une exposition à de la salive contaminée de primates non humains, suite à des morsures ou à des égratignures, bien qu'un cas mortel ait été signalé suite à une exposition muco-cutanée, sans blessure⁽⁸⁾. Il convient de consulter les lignes directrices disponibles sur la sécurité du travail avec des macaques, la prévention de l'herpèsvirus B et le traitement des personnes infectées^(5,8,10-12). Un programme adéquat de surveillance de la santé des animaux, mettant l'accent sur le diagnostic et le traitement des animaux malades, peut aussi réduire le risque d'exposition à ces agents pathogènes. Pour de plus amples informations sur l'identification des agents infectieux et l'évaluation des risques, consulter la référence 5. Les animaliers devraient suivre un programme de surveillance médico-sanitaire (Consulter le chapitre 2.4 et la référence 5).

Toutes les personnes qui manipulent des primates non humains doivent porter des vêtements protégeant contre les risques de morsures, de griffures et d'éclaboussures et savoir appliquer des méthodes appropriées de contention. Ces méthodes sont entre autres l'utilisation de cages à fonds mobile lorsque possible, de cages de transfert, de conduits inclinés, de tunnels et de dispositifs d'immobilisation adaptés aux primates non humains hébergés en groupe. Les cages et les appareils ne devraient avoir ni angles, ni arêtes tranchantes

pouvant blesser ou écorcher. Il peut se révéler nécessaire d'utiliser une contention chimique avant de sortir les animaux de leurs cages, surtout les macaques et autres primates non humains de grande taille. Des techniques de conditionnement du comportement peuvent aussi être utilisées avec profit, en association avec des méthodes de contention. Les animaliers doivent se protéger avec des gants en cuir renforcés couvrant tout le bras et porter des sarraus ou des combinaisons à manches longues. Les animaliers et toutes les personnes qui pénètrent dans des animaleries où sont hébergés des primates non humains doivent être protégés contre une exposition aux aérosols et contre des éclaboussures et les muqueuses (masques chirurgicaux, masques protecteurs, lunettes de travail). Les vêtements protecteurs réutilisables qui ont été en contact avec des primates non humains devraient être décontaminés avant d'être envoyés à la blanchisserie. Les animaliers doivent avoir pour instruction de désinfecter sans délai et à fond toutes les morsures, égratignures et lésions cutanées, et de signaler immédiatement tout incident du genre. Des procédures post-exposition devraient également être instituées^(5,12).

Les animaleries hébergeant des primates non humains devraient se conformer aux recommandations sur les installations de confinement des petits animaux des *Normes sur le confinement des installations vétérinaires*⁽¹⁾. Les primates non humains (exception faite de ceux qui ont été expérimentalement infectés avec des agents pathogènes de groupe de risque plus élevé et de ceux dont on sait qu'ils sont porteurs d'organismes infectieux de groupe de risque plus élevé) peuvent être manipulés dans des installations de niveau de confinement 2 à condition de respecter les pratiques et précautions additionnelles de sécurité décrites ci-dessus. Il faut considérer et traiter toutes les colonies de macaques comme si celles-ci étaient naturellement infectées avec l'herpèsvirus B, y compris celles pour lesquelles il a été impossible de mettre en évidence la présence d'anticorps contre ce virus^(5,9). Le *Manuel sur le soin et l'utilisation des animaux d'expérimentation* précise les exigences d'hébergement et de manipulation des primates non humains⁽²⁾, et d'autres

renseignements sur les installations des primates non humains sont disponibles ailleurs⁽¹³⁾. D'une façon générale, l'hébergement de ces animaux doit tenir compte des préoccupations ci-dessous.

1. La conception des installations d'hébergement des primates non humains doit respecter les besoins sociaux, émotionnels et comportementaux de ces animaux.
2. Des informations sur les animaliers d'expérience et sur la personne responsable doivent être disponibles partout dans ces installations.
3. Les unités d'hébergement doivent avoir un vestibule ou être aménagées de façon à ce que deux portes séparent les cages et le couloir du bâtiment. Il convient de s'assurer de pouvoir voir toutes les cages et de vérifier que les animaux n'y sont pas en liberté avant d'y pénétrer.
4. Tous les dispositifs d'éclairage, tous les appareils électriques et toute la tuyauterie apparente doivent être protégés contre les tentatives de détérioration des animaux.
5. Pour des motifs d'hygiène quotidienne obligatoire, les sols doivent être antidérapants et le personnel doit porter des chaussures adhérentes aux sols mouillés, glissants. La finition des murs et des plafonds doit pouvoir résister à des nettoyages en profondeur et aux procédures de désinfection.
6. Le personnel souvent en contact avec les animaux doit avoir accès à un vestiaire et pouvoir se doucher en fin de journée.
7. Les cages et les animaleries doivent être verrouillées en tout temps et n'être accessibles qu'au personnel autorisé. Les verrous de sûreté et les mécanismes de verrouillage doivent tenir compte de l'intelligence, de la ténacité et des aptitudes créatrices et destructrices des primates non humains.

8. Le matériel (chariots, balances, plats pour la nourriture, pelles, gants, etc.) qui circule entre les animaleries doit être correctement désinfecté chaque fois qu'il quitte une pièce, conformément aux règles appropriées au niveau de confinement.
9. Les cages doivent être bien entretenues et suffisamment solides pour ne pas être endommagées par les primates non humains.
10. Les cages doivent être munies d'un mécanisme d'immobilisation permettant de maîtriser et d'examiner les animaux. Des cages de transfert et d'autres appareils de contention particuliers peuvent être utilisés pour héberger les animaux en toute sécurité lorsque leurs cages sont nettoyées ou que ceux-ci doivent être déplacés.
11. La sélection des primates non humains destinés à vivre dans la même cage doit tenir compte de leur compatibilité, de la dynamique de population des espèces, etc., pour réduire les risques de bagarres.

7.2 ADN recombinant et manipulations génétiques

Des méthodes génétiques telles que la sélection naturelle, les croisements, les conjugaisons et transformations bactériennes servent depuis des années à modifier les organismes et les espèces biologiques. Ces méthodes ont été supplantées par d'autres, plus récentes et plus efficaces, dont la plus célèbre est celle de l'ADN recombinant. Parmi d'autres techniques encore plus récentes, signalons la production d'animaux et de plantes transgéniques, le clonage de toxines microbiennes ou autres gènes de virulence dans un vecteur d'expression ou dans un autre organisme permettant son expression, la production de clones viraux infectieux entiers, y compris la reconstruction de virions infectieux à partir de gènes recombinants (techniques de génie génétique inversé).

Les craintes initiales liées à d'éventuels risques associés aux modifications d'organismes ont incité le Canada, les États-Unis et le Royaume-Uni, pour ne citer que ces pays, à élaborer des principes de biosécurité très stricts. L'expérience a néanmoins rapidement prouvé que ces craintes n'étaient pas justifiées et confirmé que la plupart de la recherche sur l'ADN recombinant ne posait en soi aucun risque précis de biosécurité⁽¹⁴⁾.

Il existe des conseils d'évaluation des risques pouvant être associés à la recherche sur l'ADN recombinant^(15,16), mais ceux-ci demeurent très généraux. Au minimum, le choix du niveau de confinement propre à un organisme recombinant devrait dépendre :

1. du niveau de confinement de l'organisme récepteur,
2. du niveau de confinement de l'organisme donneur,
3. de la faculté de réplication de l'organisme recombinant,
4. de la capacité d'intégration de la protéine donatrice à la particule recombinante,
5. des facteurs pathogènes pouvant être associés à la protéine donneuse.

Chaque cas doit faire l'objet d'une évaluation de risque, car nul ne peut prétendre définir à l'avance tous les organismes génétiquement modifiés qui peuvent être créés ou manipulés en laboratoire. Pour une aide d'évaluation du risque, veuillez communiquer avec le Bureau de la sécurité des laboratoires, au (613) 957-1779.

Les risques liés à la grande majorité de la recherche sur l'ADN recombinant sont infimes car la source de l'ADN transféré, le vecteur et l'hôte sont tous inoffensifs – ce qui ne veut pas dire que certaines manipulations génétiques ne comportent pas une part de risque importante. En général, il est inutile d'imposer des restrictions lorsqu'aucun élément de la manipulation génétique ne présente un risque connu et que le résultat de leur combinaison ne laisse raisonnablement envisager aucun risque. Lorsque l'un des éléments de la recombinaison entraîne un risque, le choix du niveau de

confinement requis devrait, en général, correspondre au moins au niveau approprié au risque connu. Certaines considérations, dont le gène transféré, l'expression du gène dans l'organisme recombinant, le confinement biologique offert par les systèmes hôte-vecteur, les interactions envisagées entre le gène transféré et les systèmes hôte-vecteur et la viabilité des systèmes hôte-vecteur, peuvent amener à relever ou à réduire le niveau de confinement. Tous les travaux de recherche utilisant des gènes codant pour des produits dangereux devraient utiliser des systèmes hôte-vecteur n'ayant qu'une faible capacité de survie en dehors du laboratoire; leur manipulation réduira le niveau de confinement requis.

Quelques exemples :

1. Un virus recombinant, mais défectif, de la stomatite vésiculeuse exprimant une glycoprotéine provenant d'un autre virus devrait être manipulé en niveau de confinement 2 car il ne peut se reproduire.
2. Un virus recombinant de la stomatite vésiculeuse exprimant une glycoprotéine provenant d'un autre virus devrait être manipulé dans un niveau de confinement au moins égal à celui du virus car il pourrait se reproduire et que son tropisme aurait pu être modifié.
3. Un virus recombinant de la vaccine exprimant une glycoprotéine provenant d'un autre virus devrait être manipulé dans un niveau de confinement au moins égal à celui du virus de la vaccine de phénotype sauvage, car la protéine nouvellement synthétisée par ce virus ne serait pas intégrée à la particule virale et risquerait peu d'en modifier les propriétés biologiques.

7.3 Lignées cellulaires

Les lignées (cultures) cellulaires sont couramment utilisées aussi bien dans les laboratoires de diagnostic et de microbiologie que dans l'industrie, pour la production de médicaments. Certains cas d'infections contractées en laboratoire résultant de manipulations de cultures cellulaires primaires ont été signalées^(17,18). Bien que les lignées cellulaires n'entraînent en soi aucun risque pour le personnel qui les manipule en laboratoire⁽¹⁹⁾, les risques qu'elles renferment des organismes pathogènes – soit naturellement, soit par contamination par des agents adventices, par transformation ou par recombinaison – exigent que l'on évalue le niveau de risque associé à chacune d'elles⁽²⁰⁾. Les lignées peuvent être contaminées par des bactéries, des mycètes, des mycoplasmes, des virus et des prions.

7.3.1 Évaluation du risque

Lignées cellulaires ne résultant pas d'une recombinaison génétique

Toutes les nouvelles lignées manipulées en laboratoire doivent faire l'objet d'une évaluation détaillée de risque permettant de déterminer les précautions à prendre. Ces évaluations doivent au minimum tenir compte des facteurs ci-dessous.

- ▶ origine de la lignée cellulaire – plus celle-ci est phylogénétiquement proche des humains, plus le niveau de risque est élevé (du risque le plus élevé au plus faible : source autologue humaine, hétérologue humaine, primate, autre mammifère, aviaire, invertébrée⁽²¹⁾);
- ▶ origine du tissu – donne des indications sur les éventuels contaminants et virus latents (oncogènes);
- ▶ type de lignée cellulaire – du risque le plus élevé au plus faible : cellules en culture primaire, cellules en culture continue, cultures cellulaires bien caractérisées;
- ▶ quantité de cellules par culture;
- ▶ population d'origine du spécimen d'où provient la lignée cellulaire.

Lignées cellulaires résultant d'une recombinaison génétique (les facteurs ci-dessous s'ajoutent aux considérations ci-dessus)

- ▶ propriétés de la lignée cellulaire hôte (dans le cas d'hybridomes, tenir compte des propriétés de toutes les cellules fusionnées);
- ▶ vecteur utilisé pour la transformation (le niveau de confinement peut être accru);
- ▶ transfert des séquences virales (le niveau de confinement peut être accru);
- ▶ transfert des facteurs de virulence (le niveau de confinement peut être accru);
- ▶ activation des virus endogènes (le niveau de confinement peut être accru);
- ▶ produit génique recombinant (le niveau de confinement peut être accru);
- ▶ présence d'un virus assistant (le niveau de confinement peut être accru);

Les dangers liés à la manipulation d'une lignée cellulaire donnée peuvent être évalués dès que tous les renseignements pertinents, y compris ceux sur les dangers associés aux milieux qui seront utilisés au cours de la manipulation de la culture cellulaire, ont été obtenus. La lignée cellulaire sera manipulée au niveau de confinement approprié au niveau de risque.

7.3.2 Contamination par des agents infectieux

Bactéries et mycètes

Les lignées cellulaires contaminées par des bactéries et des mycètes sont facilement identifiées lorsqu'elles poussent dans des milieux sans antibiotiques, car les contaminants supplantent rapidement la croissance des lignées cellulaires⁽²⁰⁾.

Contamination virale

À la différence des bactéries et des mycètes, les virus ne sont pas facilement repérables et peuvent donc représenter un danger important pour les personnes qui manipulent des lignées cellulaires primaires. Un cas documenté d'infection

par hantavirus contractée en laboratoire a été relié à la manipulation de matériel tumoral de rat⁽²²⁾. L'Organisation mondiale de la Santé a proposé une classification des lignées cellulaires basée sur la probabilité de chacune d'être des vecteurs de virus pathogènes pour les humains⁽²³⁾.

- ▶ *Probabilité faible* : lignées provenant de tissus aviaires et de tissus d'invertébrés.
- ▶ *Probabilité moyenne* : cellules non hématogènes de mammifères, par exemple cellules fibroblastiques et épithéliales.
- ▶ *Probabilité forte* : cellules sanguines et médullaires provenant d'humains ou de primates non humains, cellules hypophysaires humaines, cellules ovines et caprines, notamment d'origine neuronale, hybridomes lorsqu'au moins un des partenaires de la fusion est d'origine humaine ou primate non humaine.
- ▶ Des oncogènes viraux et cellulaires ont été dépistés, notamment le virus du lymphome humain à cellules T (HTLV-1), virus oncogène humain qui transforme les cellules normales en des cellules malignes⁽²¹⁾.
- ▶ Les lignées cellulaires infectées par des contaminants connus ou éventuels doivent être manipulées au niveau de confinement correspondant à l'agent contaminant de niveau de risque le plus élevé.

L'un des principaux dangers liés à la manipulation de cultures cellulaires est l'expression de virus latents. Des séquences virales endogènes ont été trouvées dans une variété de lignées cellulaires provenant d'espèces de mammifères, y compris d'humains⁽²⁰⁾. Différents traitements (changement de pH, niveau de sérum, température, supplément au milieu, co-culture, etc.) peuvent modifier la croissance des lignées cellulaires. Ces traitements peuvent influencer l'expression des protéines de surface et l'expression des oncogènes et des virus latents ainsi que les interactions entre les segments génomiques recombinants⁽²¹⁾.

- ▶ Les manipulations qui peuvent modifier le comportement « normal » des lignées et les rendre plus dangereuses doivent être faites dans des installations d'un niveau de confinement approprié au nouveau degré de danger.

Le choix du niveau de confinement doit tenir compte des dangers biologiques associés aux lignées cellulaires des primates non humains. Les lignées primaires provenant du genre *Macaca* peuvent être infectées par l'*herpesvirus simiae* (ou l'herpèsvirus du cercopithèque 1, l'herpèsvirus B). Ainsi les tissus de ces animaux doivent être manipulés comme suit :

- ▶ En laboratoire de niveau 2 pour des manipulations de tissus ou de liquides biologiques de macaques;
- ▶ En laboratoire de niveau 3 en cas de doute, avéré ou non, d'herpèsvirus B;
- ▶ En laboratoire de niveau 3 pour des diagnostics primaires *in vitro*;
- ▶ En laboratoire de niveau 4 en cas de propagation (culture) du virus.

Prions

Le prion, ou particule protéique infectieuse, est l'agent causal des encéphalopathies spongiformes transmissibles, dont l'encéphalopathie bovine spongiforme^(24,25).

- ▶ Les cultures cellulaires d'origine bovine qui sont ou qui seraient infectées par des prions responsables de l'encéphalopathie bovine spongiforme, et les diagnostics primaires *in vitro* des cultures cellulaires d'origine bovine qui sont ou qui seraient infectées par des prions responsables de l'encéphalopathie bovine spongiforme doivent être manipulés selon les lignes directrices EST. L'information et les lignes directrices EST peuvent être obtenues en communiquant avec l'ACIA, Division des biorisques, du confinement et de la sécurité, (613-221-7074) ou en consultant son site Web, à <http://www.inspection.gc.ca/francais/sci/lab/biof.shtml>

Mycoplasmes

Bien qu'il soit couramment admis que les mycoplasmes peuvent contaminer des cultures cellulaires, aucune infection contractée en laboratoire par des cultures contaminées avec des mycoplasmes n'a été signalée. La présence de produits mycoplasmiens biologiquement actifs, la stabilité des

antigènes des mycoplasmes⁽²¹⁾ et le fait qu'un certain nombre de ces mycoplasmes sont des agents pathogènes humains expliquent cependant le danger qu'ils représentent.

- Les lignées cellulaires contaminées par des mycoplasmes doivent être manipulées dans un laboratoire de niveau de confinement approprié à l'agent contaminant associé à la classe de risque la plus élevée.

Parasites

La contamination parasitaire de lignées cellulaires primaires fraîchement préparées est possible si le spécimen provient d'un tissu infecté ou éventuellement infecté par un parasite humain. Le choix du niveau de confinement doit tenir compte du fait que les parasites ne sont infectieux que pendant certaines des nombreuses étapes de leur cycle de vie.

- Lorsque l'on ne connaît pas l'étape du cycle de vie du parasite, et que l'on ignore donc si celui-ci est infectieux, les lignées cellulaires doivent être manipulées dans un laboratoire de niveau de confinement approprié à l'agent contaminant appartenant à la classe de risque la plus élevée.

7.3.3 Expérimentation sur soi

Les procédures ou expériences avec des cellules humaines transformées provenant des personnes mêmes (autologues humains) qui manipulent les cellules sont interdites. En pareil cas, ces personnes sont en danger car toute forme de protection immunitaire normalement disponible pour détruire les cellules étrangères est dès lors contournée^(20,21).

Références

1. *Normes sur le confinement des installations vétérinaires*. Agriculture et Agro-alimentaire Canada, Ministre des Approvisionnements et Services Canada, No. 1921/F, 1996.
2. Conseil canadien de protection des animaux. *Manuel sur le soin et l'utilisation des animaux d'expérimentation*. Ottawa, ON: CCAC., 1984.
3. National Research Council. *Occupational Health and Safety in the Care and Use of Research Animals*. Washington, DC: National Academy Press, 1997.
4. National Research Council. *Occupational Health and Safety in Biomedical Research*. ILAR Journal ISSN 1084-2020, 2003;44(1).
5. National Research Council. *Occupational Health and Safety in the Care and Use of Nonhuman Primates*. Washington, DC: The National Academies Press, 2003.
6. Hessler, J.R., Broderson, J.R., et King, C.S. *Small animal research facilities and equipment*. Dans : Richmond, J.Y., et McKinney, R.W. *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*. Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 1999;191-218.
7. Phipatanakul, W., et Wood, R.A. *Allergens of animal and biological systems*. Dans : Fleming, D.O., et Hunt, D.L. *Biological safety principles and practices*. Washington, DC: ASM Press, 2000;249-59.
8. Centers for Disease Control. *Fatal Cercopithecine herpesvirus 1 (B virus) infection following a mucocutaneous exposure and interim recommendations for worker protection*. MMWR 1998;47:1073-6,1083.
9. Richmond, J.Y., et McKinney, R.W. *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*. Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 1999.
10. Centers for Disease Control. *Guidelines for the prevention of herpesvirus simiae (B virus) infection in monkey handlers*. MMWR 1987;36:680-2, 687-9.

11. Centers for Disease Control. *Update: Ebola-related filovirus infection in nonhuman primates and interim guidelines for handling nonhuman primates during transit and quarantine*. MMWR 1990;39(2):22-24, 29-30.
12. Holmes, G.P., Chapman, L.E., Stewart, J.A., et al. *Guidelines for the prevention and treatment of B-virus infections in exposed persons*. Clin Infect Dis 1995; 20:421-39.
13. Bennet, B.T., Abee, C.R., et Henrickson, R. *Nonhuman primates in biomedical research*. San Diego, CA: Academic Press, 1995.
14. Santé Canada. *Lignes directrices en matière de biosécurité en laboratoire*, 2^e édition, Ministre des Approvisionnements et Services Canada, Ottawa, 1996.
15. National Institutes of Health. *Guidelines for research involving recombinant DNA molecules*. Federal Register (with subsequent amendments) 59 Federal Register 34496, July 5, 1995.
16. National Institutes of Health. *NIH guidelines for research involving recombinant DNA molecules*. 66 Federal Register 1146, January 2001.
17. Davidson, W.L., et Hummeler, K. *B virus infection in man*. Ann NY Acad Sci 1961;85:970-79.
18. Gandsman, E.J., Aaslestad, H.G., Ouimet, T.C., et Rupp, W.D. *Sabia virus incident at Yale University*, American Ind Hyg Assoc J, 1997;58(1):51-3.
19. National Research Council. *Safe handling of infectious agents*. Dans : *Biosafety in the laboratory: prudent practices for the handling and disposal of infectious materials*. Washington, DC: National Academy Press, 1989;13-33.
20. Frommer, W. *Safe biotechnology (5): recommendations for safe work with animal and human cell cultures concerning potential human pathogens*. Appl Microbiol Biotech 1993;39:141-7.
21. Doblhoff-Dier, O., et Stacey, G. *Cell lines: applications and biosafety*. Dans : Fleming, D.O., et Hunt, D.L. *Biological safety principles and practices*. Washington, DC: ASM Press, 2000;221-39.

22. Lloyd, G., et Jones, N. *Infection of laboratory workers with hantavirus acquired from immunocytomas propagated in laboratory rats.* J Infect 1986;12:117-25.
23. Organisation mondiale de la Santé. *Manuel de sécurité biologique en laboratoire.* Genève : OMS, 1993
24. Griffith, J.S. *Self-replication and scrapie.* Nature 1967; 215 (105): 1043-44.
25. Prusiner, S.B. *Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie.* Science 1982;1365-144.

Chapitre 8

Décontamination

8.1 Introduction

L'un des principes fondamentaux de la biosécurité est la décontamination de toutes les matières contaminées avant leur élimination. Cette opération comprend la stérilisation (destruction complète de tous les microorganismes, y compris les spores bactériennes) et la désinfection (destruction et élimination de types précis de microorganismes). D'autres que nous ont fourni une liste des différents désinfectants et résumé leur efficacité contre divers groupes microbiens ainsi que leurs principales caractéristiques et applications les plus appropriées en laboratoire clinique et en recherche⁽¹⁻⁴⁾. Il incombe à tous les membres du personnel de laboratoire d'utiliser de façon efficace les produits de décontamination quel qu'en soit l'usage fait : désinfection des déchets, des matières, des appareils et des échantillons des zones de confinement, nettoyage des surfaces, des zones de confinement ou des déversements de matières infectieuses.

Ces procédures constituent une barrière de confinement cruciale : toute faille dans les méthodes de décontamination peut provoquer une exposition professionnelle à des agents infectieux et/ou la libération accidentelle d'agents à l'extérieur de la zone de confinement. Des cas d'infection par *M. tuberculosis* dus à une exposition à des déchets contaminés ont été documentés⁽⁵⁾. La littérature médicale cite aussi des cas d'infections d'employés de blanchisseries commerciales par *Coxiella burnetii*, sans doute dues à une mauvaise décontamination des sarraus et des blouses au laboratoire^(6,7). Le personnel de laboratoire a le devoir de laisser ses vêtements de laboratoire destinés à la blanchisserie dans un lieu ou endroit réservé.

La plupart des provinces canadiennes ont préparé ou préparent des lignes directrices ou des directives encadrant la gestion des déchets biomédicaux. Les procédures de traitement de ces déchets doivent respecter les normes en vigueur dans la province ou territoire où est situé le laboratoire. Le Conseil canadien des ministres de l'environnement a également établi des lignes directrices nationales minimales prévoyant la définition, la manipulation, le traitement et l'élimination des déchets biomédicaux⁽⁸⁾. Le but de ces lignes directrices est de promouvoir des pratiques uniformes et d'établir des normes minimales de gestion des déchets biomédicaux au Canada. Les autorités administratives municipales, territoriales et provinciales peuvent avoir des exigences plus strictes et doivent être consultées.

Tel que mentionné plus haut dans les exigences opérationnelles, toutes les matières contaminées doivent être désinfectées avant d'être éliminées ou nettoyées pour une utilisation future. Le choix des méthodes est défini par les matières elles-mêmes qui peuvent être des cultures de laboratoire, des souches de référence, des spécimens cliniques, des appareils de laboratoire, des objets coupants, des vêtements protecteurs ou tout autre objet ou article ayant été en contact avec les matières infectieuses. Les surfaces et les paillasses doivent être décontaminées après tout déversement de matières éventuellement infectieuses et à la fin de chaque journée de travail. Les zones de laboratoires et les grands appareils peuvent aussi avoir besoin d'être décontaminés (avant entretien et maintenance, déplacement et nouvelle affectation). Des protocoles écrits et précis doivent être préparés et respectés dans chaque cas. Les employés doivent connaître toutes les procédures de décontamination liées à leurs activités ainsi que les facteurs influençant l'efficacité des procédures de traitement, tel que décrit brièvement ci-dessous.

8.2 Autoclaves

Les déchets infectieux de laboratoire (boîtes de Petri, pipettes, tubes de cultures, verrerie, etc.) peuvent être efficacement décontaminés soit dans un autoclave à vapeur directe, soit dans un autoclave à extraction d'air. Dans ce dernier cas, l'air est extrait de la chambre par une pompe à vide (sauf pour les cycles liquides) avant que la vapeur saturée ne pénètre dans la chambre de l'autoclave. Ce système résout les problèmes de poches d'air propres aux autoclaves à vapeur directe lors du déplacement de l'air par gravité. L'efficacité de la décontamination par autoclave à vapeur dépend de plusieurs facteurs de charge qui influencent la température auquel le matériel est soumis et la durée de contact. L'emballage des déchets, notamment la taille des récipients et leur disposition dans l'autoclave, revêt une importance particulière. Ces récipients doivent faciliter la pénétration de la vapeur et être disposés de manière à ménager sa libre circulation. Les récipients hermétiques ne laissent pas pénétrer la vapeur. Les récipients empilés et en surcharge peuvent entraîner l'échec de la stérilisation.

Les paramètres qui assurent l'efficacité du fonctionnement des autoclaves devraient être établis en fonction de charges normalisées et de la durée du cycle. Les thermocouples et les indicateurs biologiques placés au centre de la charge (c.-à-d. dans les endroits les plus difficiles à décontaminer) permettent d'établir de telles normes. Ces indicateurs permettent aussi d'effectuer des vérifications de routine (hebdomadaires, selon la fréquence, etc.) du processus de stérilisation. Un indicateur biologique est une quantité connue de spores bactériennes servant à prouver que les conditions de stérilisation de la charge sont adéquates. Le choix de l'indicateur est important car sa conception et sa construction varient selon l'utilisation prévue (p. ex., charge liquide ou sèche, système autonome, méthode rapide fondée sur les enzymes). Les indicateurs chimiques doivent être utilisés en association avec les indicateurs biologiques et les moniteurs physiques (c.-à-d. lectures de pression et de température). Les résultats instantanés que fournissent quotidiennement ces dispositifs

assurent que la charge a été effectivement stérilisée. Toutefois, ils ne doivent être les seuls indicateurs de stérilité. Favero présente un aperçu complet des sortes d'indicateurs biologiques et chimiques/physiques et de leur utilisation⁽⁹⁾. Les résultats des vérifications des indicateurs biologiques doivent être conservés.

8.3 Désinfection chimique

Les désinfectants chimiques décontaminent les surfaces et les appareils qui ne peuvent être autoclavés. Ils sont utilisés pour nettoyer les éclaboussures de matières infectieuses, les salles et les unités d'hébergement des animaux ainsi que toutes sortes d'articles ne pouvant être décontaminés par la chaleur, y compris les récipients contenant les échantillons et d'autres articles retirés des zones de confinement. Le choix du désinfectant dépend de la résistance des microorganismes manipulés. Les plus sensibles sont les bactéries végétatives, les mycètes et les virus enveloppés^(2,3). Les mycobactéries et les virus non enveloppés sont moins sensibles; les spores bactériennes et les kystes de protozoaires sont généralement les plus résistants⁽²⁻⁴⁾. Les dangers pour la santé que représentent les produits désinfectants de même que leur aspect pratique, leur stabilité et leur compatibilité avec les matières sont également importants⁽¹⁾.

L'efficacité des désinfectants varie souvent considérablement selon que ceux-ci sont utilisés en laboratoire ou pour obtenir des données en vue de leur homologation. Un compte rendu des protocoles officiels devant faciliter leur évaluation est en cours⁽¹⁰⁾. Plusieurs facteurs modifient leur efficacité : présence de matières organiques (sang, sérum, expectoration) réduisant l'effet des hypochlorites⁽⁴⁾, température, humidité relative, concentration et durée du contact^(2,4). Les laboratoires ont parfois intérêt à mener leurs propres enquêtes à l'interne afin d'évaluer l'efficacité du produit en situation, dans des conditions habituelles de travail. L'une des principales méthodes consiste à contaminer artificiellement la surface, à immerger celle-ci dans une dilution appropriée de désinfectant qui est ensuite neutralisée par dilution, et à vérifier que tous les

microorganismes ont été tués⁽¹⁾. Ce protocole peut aussi évaluer l'efficacité des désinfectants utilisés pour les contenants à déchets : un inoculum est ajouté au désinfectant qui, après une période de contact préalablement définie, est neutralisé par dilution. La croissance microbienne est alors vérifiée sur une partie aliquote⁽¹⁾.

Le choix du désinfectant peut être décourageant tant il existe de produits sur le marché. Le nombre de nouveaux produits ne cesse d'augmenter, de même que les nouvelles options étudiées⁽¹²⁾. Toutefois, les composants actifs appartiennent à un nombre limité de classes de produits chimiques. Pour choisir un désinfectant efficace, il faut comprendre les possibilités et les limites de chacune de ces classes (hypochlorites, composés d'ammonium quaternaire, composés phénolés, iodes, alcools, etc.).

8.4 Décontamination gazeuse des pièces

La décontamination gazeuse des pièces n'est généralement nécessaire que pour les niveaux de confinement 3 et 4 et dans certaines circonstances (déversement, libération accidentelle de matières infectieuses, enlèvement de gros appareils, travail avant entretien des systèmes contaminés, avant renouvellement d'accréditation des systèmes CVC, etc.). En raison du risque d'exposition à des produits chimiques dangereux (formaldéhyde), ce type de décontamination des pièces doit être du seul ressort d'un personnel spécialisé. La règle du binôme devrait toujours s'appliquer. Les deux personnes devraient avoir reçu une formation adéquate et utiliser une protection respiratoire appropriée. Le protocole recommandé comprend la dépolymérisation de paraformaldéhyde dans une pièce étanche afin de fournir une concentration dans l'air de 10,6 g/m³ (0,3 g/pieds cubes)⁽¹⁾. Après une période de contact d'au moins 6 heures, le formaldéhyde est neutralisé avec du carbonate d'ammonium (utilisant 1,1 fois le poids du formaldéhyde) avant que la pièce ne soit ventilée et aérée⁽¹⁾. Les niveaux de formaldéhyde en suspension dans l'air doivent être vérifiés dans la pièce et aux alentours. Ce n'est que lorsque ces niveaux sont inférieurs aux limites d'exposition que le

secteur peut être considéré suffisamment sûr pour y pénétrer sans vêtements protecteurs. Un processus réussi de décontamination gazeuse exige une température ambiante d'au moins 21 °C et une humidité relative de 70 %⁽¹⁾. L'efficacité de la décontamination devrait être vérifiée à l'aide d'indicateurs biologiques⁽¹³⁾.

La vaporisation de peroxyde d'hydrogène pourrait, selon certains, être une solution moins dangereuse que la décontamination gazeuse au formaldéhyde. Dans le processus de stérilisation, du peroxyde d'hydrogène liquide à 30 % est vaporisé pour obtenir environ 1 200 ppm. La vapeur se fractionne en eau et en oxygène non toxique. Cette méthode a été utilisée avec succès comme désinfectant non destructeur à action stérilisante pour décontaminer et enlever des appareils et du matériel des laboratoires de confinement (téléphones, caméras, ordinateurs, pipettes, perceuses électriques, etc.)⁽¹⁴⁾. De nouvelles applications commerciales pourraient aujourd'hui apporter des solutions aux contraintes que sont le format encombrant des générateurs de peroxyde d'hydrogène vaporisé et les limites des espaces qui pourraient être décontaminés (passe-plats, petites pièces, etc.).

8.5 Systèmes de traitement des effluents liquides

Les systèmes de traitement des effluents liquides sont utilisés dans les laboratoires de niveau 4 (et les laboratoires de niveau 3 où sont manipulés des agents pathogènes d'animaux non indigènes) pour décontaminer les déchets liquides renvoyés par les éviers, douches, chambres d'autoclaves et autres drains. Ces systèmes constituent un système de traitement auxiliaire dans la mesure où aucun micro-organisme infectieux n'est envoyé directement dans le drain sans avoir été traité (ajout de désinfectants chimiques). Les paramètres de décontamination (temps et température dans le cas des systèmes utilisant la chaleur) doivent avoir été définis, et leur efficacité contre les microorganismes manipulés doit avoir été prouvée. La température interne et la pression des réservoirs des effluents ainsi que le temps de décontamination doivent être enregistrés pendant le cycle. Les systèmes de

décontamination chimiques peuvent être pratiquées à petite échelle pour traiter des faibles volumes d'effluents liquides. Le renvoi des liquides décontaminés par le système de traitement doit respecter tous les règlements pertinents (règlements municipaux sur la température, huile/graisse, demande d'oxygène biochimique solide en suspension, contenu chimique/métallique, etc.).

8.6 Irradiation

L'irradiation aux rayons gamma (p. ex., ^{60}Co) peut être une méthode de décontamination des matières thermosensibles. Elle constitue un moyen efficace de décontamination des produits chimiques et des solvants retirés des zones de confinement. Son efficacité dépend de la pénétration des rayons dans les matières traitées, donc de la densité de la substance traitée et de la puissance de la source d'irradiation⁽²⁾.

L'irradiation aux micro-ondes n'est pas une méthode courante de décontamination des installations de confinement. Pour cette technique comme pour celle de l'autoclave, la chaleur est le facteur essentiel de l'élimination des microorganismes viables. Les éléments susceptibles d'influencer le traitement sont la fréquence et la longueur d'onde de l'irradiation, la durée de l'exposition et le pourcentage d'humidité des matières à décontaminer^(15,16).

L'irradiation aux ultraviolets ne devrait pas être vue comme le seul procédé de décontamination des matières provenant des installations de confinement. Le pouvoir de pénétration des ultraviolets est limité, et ceux-ci sont surtout efficaces contre les microbes non protégés sur des surfaces exposées ou en suspension dans l'air⁽¹⁾. Cette méthode peut être utilisée avec profit pour réduire la contamination en surface et en suspension dans l'air, pourvu que les lampes soient bien nettoyées et entretenues et que la qualité de leur intensité soit régulièrement vérifiée.

8.7 Incinération

L'incinération est depuis toujours la méthode favorite de traitement des carcasses animales et des déchets pathologiques d'origine biomédicale. La plupart du temps, les déchets qui doivent être incinérés doivent être emballés et transportés à l'extérieur du site conformément aux lois provinciales ou territoriales en vigueur. Les matières qui sortent des laboratoires de confinement pour être incinérées ailleurs devraient tout d'abord être traitées à la barrière de confinement, de préférence par autoclavage. L'efficacité de l'incinération dépend de la qualité de conception des appareils, de la durée, de la température, des turbulences et de l'air nécessaire pour une oxydation complète, de même que du soin apporté à l'alimentation de l'unité. Les incinérateurs modernes ont deux chambres de combustion : la température idéale de la chambre primaire est d'au moins 800 °C et celle de la chambre secondaire, d'au moins 1 000 °C^(2,15). Les charges à forte teneur en eau peuvent réduire la température de traitement. Bien qu'il existe des normes réglementant l'émission de particules et de certains contaminants chimiques des fumées d'incinérateur, il n'existe aucune norme pour les microbes⁽⁸⁾. On devrait consulter les organismes de réglementation provinciaux ou territoriaux pour connaître les autres critères d'incinération et d'émissions à respecter.

8.8 Nouvelles techniques

De plus en plus attentifs à la pollution aérienne, beaucoup d'organismes de réglementation ont renforcé les normes des incinérateurs. Cette démarche a favorisé l'apparition d'une foule de nouveaux systèmes de traitement des déchets dont la plupart utilisent l'une ou plusieurs des méthodes suivantes : chauffage par micro-ondes, ondes radio, huile ou eau chaude, vapeur ou gaz surchauffés; exposition à des produits chimiques tels que l'hypochlorite, le dioxyde de chlore ou l'hydroxyde de sodium; exposition des déchets à des produits chimiques chauffés; exposition des déchets médicaux à des sources d'irradiation^(15,16). Toutes ces techniques ainsi que leurs

avantages et inconvénients ont déjà été décrites^(15,16). Une méthode de combustion modifiée s'est révélée une solution de remplacement efficace et a été utilisée avec succès pour décontaminer les carcasses animales infectées⁽¹⁷⁾. Les nouvelles techniques doivent être approuvées par les organismes de réglementation provinciaux ou territoriaux, et les laboratoires devraient consulter ces autorités avant d'acheter des produits ou de mettre en application de nouvelles approches de décontamination.

Références

1. Vesley, D., Lauer, J.L., et Hawley, R.J. *Decontamination, sterilization, disinfection and antisepsis*. Dans : Fleming, D.O., et Hunt, D.L. *Biological safety principles and practices*. Washington, DC: ASM Press, 2000; 383-402.
2. Dychdala, G.R., Gottardi, W., Block, S.S., Wickramanayake, G.B., Larson, E.L., Morton, H.E., O'Connor, D.O., Rubino, J.R., Merianos, J.J., Lopes, J.A., Denton, G.W., Rossmoore, H.W., May, O.W., Opperman, R.A., Gitlitz, M.H., Beiter, C.B., et Yeager, C.C. *Part III: disinfectants and antiseptics (section A: by chemical type)*. Dans : Block, S.S. *Disinfection, sterilization and preservation*. Malvern, PA: Lea & Febiger, 1991; 131-364.
3. Hugo, W.B., et Russell, A.D. *Types of antimicrobial agents*. Dans : Russell, A.D., Hugo, W.B., et Ayliffe, G.A.J. *Disinfection, preservation and sterilization*. Oxford, UK: Blackwell Science Ltd, 1999; 5-94.
4. Russell, A.D. *Factors influencing the efficacy of antimicrobial agents*. Dans : Russell, A.D., Hugo, W.B., et Ayliffe, G.A. J. *Disinfection, preservation and sterilization*. Oxford, UK: Blackwell Science Ltd., 1999; 95-123.

5. Weber, A.M., Boudreau, U.V., et Mortimer, V.D. *A tuberculosis outbreak among medical waste workers*. J Am Biol Safety Assoc 2000; 2:570-88.
6. Collins, C.H., et Kennedy, D.A. *Laboratory-acquired infections*. Dans : *Laboratory-acquired infections: history, incidence, causes and preventions*. Oxford, UK Butterworth-Heinemann, 1999; 1-37.
7. Richmond, J.Y., et McKinney, R.W. *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*. Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 1999.
8. Conseil canadien des ministres de l'environnement. *Lignes directrices sur la gestion des déchets biomédicaux au Canada*. Toronto, ON : Association canadienne de normalisation. CCME EPC-WM-42E, 1992.
9. Favero, M.S. *Developing indicators for monitoring sterilization*. Dans : Rutala, W.A. *Disinfection, sterilization and antisepsis in health care*. Washington, DC: Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology Inc., 1998; 119-32.
10. Sattar, S.A. *Microbicidal testing of germicides: an update*. Dans : Rutala, W.A. *Disinfection, sterilization and antisepsis in health care*. Washington, D.C.: Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology Inc., 1998; 225-240.
11. Best, M., Sattar, S.A., Springthorpe, V.S., et Kennedy, M.E. *Efficacies of selected disinfectants against Mycobacterium tuberculosis*. J Clin Microbiol 1990;28: 2234-39.
12. Springthorpe, M.S. *New chemical germicides*. Dans : Rutala, W.A. *Disinfection, sterilization and antisepsis in health care*. Washington, DC: Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology Inc., 1998; 273-80.
13. Abraham, G., Smith, P.M., et Nguyen, S. *The effectiveness of gaseous formaldehyde decontamination assessed by biological monitors*. J Am Biol Safety Assoc 1997;2:30-38.

14. Best, M. *Efficacy of vaporized hydrogen peroxide against exotic animal viruses*. Appl Environ Microbiol 1997;63:3916-18.
15. Salkin, I.F., Krisiunas, E., et Thumber, W.L. *Medical and infectious waste management*. Dans : Richmond, J.Y. *Anthology of biosafety II: facility design considerations*. Mundelein, IL: American Biological Safety Association, 2000; 140-160.
16. Turnber, W.L. *Biohazardous waste: risk assessment, policy and management*. New York, NY: John Wiley & Sons Inc., 1996.
17. Thompson, L., Best, M., et Langevin, P. *Biological efficacy testing of liquid effluent and tissue/carcass sterilization systems*. Mundelein, IL: American Biological Safety Association, 1998.

Chapitre 9

Enceintes de sécurité biologique

9.1 Introduction

Les enceintes de sécurité biologique bien entretenues et utilisées en association avec de saines pratiques de laboratoire sont une méthode de confinement primaire efficace, adaptée à la manipulation d'agents pathogènes humains. En niveau 2, elles sont utilisées pour les procédures pouvant produire des aérosols infectieux, des concentrations élevées ou de grands volumes de matières infectieuses. En niveaux 3 et 4, toutes les manipulations de matières infectieuses utilisant des récipients ouverts doivent se faire à l'intérieur des enceintes de sécurité biologique. Tous les employés qui font des manipulations à l'intérieur des enceintes de sécurité biologique doivent avoir reçu une formation appropriée et connaître les différentes sortes d'enceintes ainsi que leur fonctionnement. D'autres documents donnent des renseignements détaillés sur la sélection, la fonction et l'utilisation de ces enceintes⁽¹⁻³⁾.

9.2 Classes et caractéristiques des enceintes de sécurité biologique

Il existe trois classes d'enceintes de sécurité biologique : les classes I, II et III. Le choix de la classe exige une évaluation soigneuse des manipulations qui y seront faites. Les paillasse propres et horizontales qui renvoient l'air vers le manipulateur ne sont pas des enceintes de sécurité biologique et ne doivent pas servir à manipuler des matières infectieuses, toxiques ou allergènes. Seules les enceintes conformes à la norme 49-2002 de la National Sanitation Foundation (NSF), norme indépendante de conception, de fabrication et de vérification des enceintes, et portant le sceau NSF 49 devraient être achetées⁽⁴⁾.

Enceintes de classe I (figures 1a et 1b)

L'air est aspiré vers l'intérieur de l'enceinte sans être recyclé et renvoyé dans l'atmosphère après être passé par un filtre HEPA. Les enceintes de classe I protègent le manipulateur contre une contamination (le produit), mais non la matière manipulée dans l'enceinte.

Enceintes de classe II (figures 2-5)

Les enceintes de classe II protègent le manipulateur, le produit et l'environnement et sont adaptés au travail avec des microorganismes manipulés dans des laboratoires de niveaux 2, 3 et 4. Il existe deux types d'enceintes de classe II (A et B). Celles-ci sont fonction de leur construction, de la vitesse et de la direction des flux d'air ainsi que des systèmes d'évacuation d'air⁽⁴⁾.

Le type A comprend deux variantes : A1 (autrefois appelée type A) et A2 (autrefois appelée type B3). Le type B comprend les variantes B1 et B2. À cause de leurs caractéristiques, les enceintes de classe II sont les enceintes les plus répandues dans les laboratoires de recherche biomédicale.

Enceintes de classe II, type A1 (figure 2)

- ▶ L'air peut être recyclé dans le laboratoire ou évacué à l'extérieur du bâtiment par un raccord « à bague » (petite ouverture autour du boîtier du filtre d'évacuation de l'enceinte) afin d'éviter que les fluctuations du système d'évacuation d'air du bâtiment ne perturbent celui de l'enceinte. La conception de la bague ne doit pas nuire à l'obtention de l'accréditation (et doit donc permettre les vérifications par balayage du filtre HEPA).
- ▶ La vitesse frontale moyenne minimum doit être maintenue à 0,38 m/s (75 pi/min).
- ▶ La pression des conduits et des plénums contaminés peut être positive.
- ▶ Les enceintes de classe II, type A1, ne sont pas adaptées à la manipulation de faibles quantités de substances chimiques, volatiles et toxiques, et de radionucléides volatiles⁽⁴⁾.

Enceintes de classe II, type A2 (figure 3)

- ▶ L'air peut être recyclé dans le laboratoire ou évacué à l'extérieur du bâtiment par un raccord « à bague » (petite ouverture autour du boîtier du filtre d'évacuation de l'enceinte) afin d'éviter que les fluctuations du système d'évacuation d'air du bâtiment ne perturbent celui de l'enceinte. La conception de la bague ne doit pas nuire à l'obtention de l'accréditation (et doit donc permettre les vérifications par balayage du filtre HEPA).
- ▶ La vitesse frontale moyenne minimum doit être maintenue à 0,5 m/s (100 pi/min).
- ▶ La pression des conduits et des plénums doit être négative.
- ▶ Les enceintes de classe II, type A2, sont adaptées à la manipulation de quantités infimes de substances chimiques, volatiles et toxiques, et de traces de radionucléides.

Enceintes de classe II, Type B1 (figure 4)

- ▶ L'air passe à travers un conduit réservé rigide et est relâché dans l'atmosphère après être passé à travers un filtre HEPA. La pression des plénums est négative.
- ▶ La vitesse frontale moyenne minimum doit être maintenue à 0,5 m/s (100 pi/min).
- ▶ Trente pour cent de l'air de l'enceinte est recyclé.
- ▶ Les enceintes de classe II, type B1, sont adaptées à la manipulation de faibles quantités de substances chimiques, volatiles et toxiques, et de traces de radionucléides.

Enceintes de classe II, type B2 (figure 5)

- ▶ L'air n'est pas recyclé à l'intérieur de l'enceinte.
- ▶ La vitesse frontale moyenne minimum doit être maintenue à 0,5 m/s (100 pi/min).
- ▶ Cent pour cent de l'air de l'enceinte passe par un conduit réservé rigide et est relâché dans l'atmosphère après être passé par un filtre HEPA. La pression des plénums est négative.
- ▶ Les enceintes de classe II, type B2, sont adaptées à la manipulation de substances chimiques, volatiles et toxiques, et de radionucléides.

La hotte d'évacuation ne doit pas nuire à l'obtention de l'accréditation. Les pertes de circulation du système d'évacuation d'air du bâtiment devraient être signalées par des avertisseurs audibles dans la zone de l'enceinte. Pour éviter toute pressurisation de l'enceinte, un système de verrouillage devrait être installé pour stopper le ventilateur interne de l'enceinte en cas d'insuffisance de l'évacuation de l'air du bâtiment.

Enceintes de classe III (figure 6)

Les enceintes de classe III sont totalement fermées et étanches aux gaz. L'arrivée et l'évacuation d'air passent par des filtres HEPA. Le travail se fait au moyen de longs gants fermés et fixés au panneau de l'enceinte. L'enceinte est maintenue en dépression à au moins 120 Pa (0,5 pouce colonne d'eau), et la ventilation se fait par un système réservé d'évacuation vers l'extérieur. Ces enceintes qui protègent le manipulateur et le produit sont conçues pour manipuler des agents pathogènes de groupe de risque 4 et sont une solution de remplacement aux combinaisons à pression positive des laboratoires de niveau maximum de confinement. Les enceintes de classe III reliées en série (pour centrifugeuses, cages d'animaux, incubateurs, réfrigérateurs, etc.) et les sas de transfert qui les unissent sont généralement fabriqués sur mesure. D'autres documents fournissent des conseils précis sur les critères particuliers de construction, d'installation, d'accréditation et d'utilisation des enceintes reliées en série de classe III⁽⁵⁻⁷⁾. L'air évacué passe à travers deux filtres HEPA ou est traité par un filtre HEPA et incinéré. Les matières qui doivent sortir de l'enceinte sont tout d'abord décontaminées soit par un réservoir d'immersion, soit par un autoclave à double porte, soit encore par un passe-plats hermétique. Un système de verrouillage réciproque ou des protocoles appropriés doivent prévenir l'ouverture simultanée des deux portes de l'autoclave et du sas.

9.3 Installation et accréditation

Le rideau d'air à l'entrée de l'enceinte est fragile et peut facilement être perturbé par le passage de personnes marchant parallèlement à l'enceinte, par des fenêtres ouvertes, par des registres d'admission d'air ou par des appareils de laboratoire créant un mouvement d'air (pompes à vide, centrifugeuses, etc.). Les enceintes de sécurité biologique devraient être installées conformément aux exigences énoncées dans *Enceintes de confinement biologique (Classes I et II) : Installation et essai en situation* de l'Association canadienne de normalisation (ACNOR)⁽⁸⁾. Elles devraient être situées loin des zones de grande circulation, loin des portes et des bouches d'admission et d'évacuation d'air qui risquent de perturber les directions des flux d'air. Il convient de prévoir une distance libre d'au moins 40 cm entre tout obstacle fixé au-dessus de l'enceinte et la bouche d'évacuation. Le cas échéant, il faudrait prévoir une zone de 30 cm de chaque côté de l'enceinte afin d'en libérer l'accès pour entretien. Les ventilateurs des systèmes d'évacuation ayant des conduites rigides devraient être installés à l'extrémité distale de celles-ci. Les pannes d'évacuation d'air devraient être signalées par des avertisseurs. Pour éviter toute pressurisation de l'enceinte, un système de verrouillage devrait être installé pour arrêter le fonctionnement du ventilateur en cas d'insuffisance de l'évacuation de l'air. Un clapet antireflux peut s'avérer nécessaire pour empêcher le refoulement d'air dans le filtre HEPA.

Les enceintes de sécurité biologiques qui fonctionnent en continu facilitent le contrôle des niveaux de poussière et autres particules en suspension. L'équilibre des pressions et des flux d'air à l'intérieur du laboratoire doit tenir compte des enceintes qui ne fonctionnent qu'au besoin afin de conserver l'énergie. Dans certains cas, l'air évacué du laboratoire est équilibré de façon à intégrer l'air évacué des enceintes, et celles-ci doivent donc fonctionner en permanence.

L'approvisionnement au gaz naturel n'est pas recommandé pour les enceintes. Une flamme nue crée des turbulences dans l'enceinte, perturbe les flux d'air et peut endommager le filtre

HEPA⁽¹⁾. Lorsqu'il n'existe aucune autre solution (p. ex., boucles stériles et jetables, micro-incinérateurs), des micro-brûleurs à plaque munis d'une veilleuse permettant d'allumer une flamme sur demande peuvent être utilisés.

Il convient de vérifier le fonctionnement des enceintes de sécurité biologique avant leur mise en service et tous les ans, après chaque réparation ou déménagement, en respectant les essais en situation prévus par la norme Z316.3-95 de l'ACNOR ou l'annexe F de la norme 49 de la NSF. Le déménagement d'une enceinte peut endommager le filtre HEPA et ses dispositifs d'étanchéité. Ces vérifications s'appliquent aux profils de vitesse verticale, à la vitesse frontale moyenne minimale, aux tests de fuites du filtre HEPA et aux flux directionnels révélés par les tests de fumée. Les appareils de mesure et de vérification doivent être calibrés et entretenus conformément à la norme de l'ACNOR. Le rapport d'accréditation doit être remis à l'utilisateur et conservé. Une étiquette précisant la date de l'accréditation, celle de la prochaine accréditation ainsi que les normes utilisées pour les vérifications et le nom du technicien vérificateur devrait être posée à l'extérieur de l'enceinte. Les vérifications en situation doivent être faites par des personnes expérimentées et qualifiées. Le programme d'accréditation de la NSF offert aux techniciens vérificateurs donne une liste d'experts ayant réussi les examens écrits et pratiques de la NSF⁽⁹⁾. Il est recommandé d'avoir recours aux services de techniciens agréés par la NSF dans la mesure du possible.

9.4 Utilisation de l'enceinte

Procédures avant l'utilisation d'une enceinte de sécurité biologique.

1. Éteindre les lumières UV le cas échéant et s'assurer que le panneau est dans la bonne position.
2. Allumer la lumière fluorescente et mettre en route le ventilateur de l'enceinte si nécessaire.

3. Vérifier que les bouches d'admission et d'évacuation d'air ne sont pas obstruées.
4. Le cas échéant, vérifier le système d'alarme et l'activer.
5. Vérifier que l'air est aspiré vers l'intérieur de l'enceinte en tenant un papier léger au milieu du bord du panneau.
6. Nettoyer les surfaces intérieures à l'aide d'un produit désinfectant adapté et non corrosif.
7. Rassembler et placer le matériel nécessaire dans l'enceinte. Ne pas obstruer les bouches d'aération. La surface de travail peut être recouverte d'un papier absorbant doublé de plastique. Séparer les articles « propres » des articles « contaminés ».
8. Activer le ventilateur 5 minutes avant de commencer à travailler afin d'éliminer les contaminants en suspension.

Procédures de **travail dans l'enceinte**

1. Porter des vêtements protecteurs et des gants si nécessaire.
2. Faire les manipulations le plus possible à l'arrière dans la zone de travail.
3. Ne déplacer aucun appareil et éviter tout mouvement brusque des mains et des bras dans la zone d'accès à l'avant. Glisser les mains perpendiculairement au panneau avant pour entrer ou sortir de l'enceinte. Laisser stabiliser le flux d'air de l'enceinte avant de se remettre au travail.
4. Laisser les matières rejetées, contaminées, à l'arrière de l'enceinte. Ne pas jeter de matières dans des récipients à l'extérieur de l'enceinte.
5. Ne pas travailler avec une flamme nue dans l'enceinte.
6. En cas de déversement, décontaminer la surface de tous les objets dans l'enceinte et désinfecter la surface de travail pendant que l'enceinte fonctionne (ne pas arrêter le fonctionnement de l'enceinte).

Procédures à **suivre une fois le travail terminé**

1. Laisser fonctionner l'enceinte 5 minutes après la fin de son utilisation.
2. Fermer ou couvrir les récipients ouverts avant de les enlever de l'enceinte.
3. Désinfecter la surface des objets ayant été en contact avec les matières contaminées avant de les enlever de l'enceinte.
4. Enlever les gants contaminés et s'en débarrasser de façon appropriée. Se laver les mains.
5. Enfiler des gants propres et s'assurer que toutes les matières sont placées dans des sacs réservés aux déchets biomédicaux dans l'enceinte.
6. Utiliser un désinfectant non corrosif (p. ex., éthanol à 70 %), désinfecter les surfaces intérieures de l'enceinte. Enlever régulièrement la surface de travail et nettoyer la surface sous-jacente (incluant le plateau de déversement). Nettoyer la surface de la lumière UV avec un produit désinfectant.
7. Éteindre la lumière fluorescente et le ventilateur de l'enceinte si nécessaire (certaines enceintes doivent fonctionner en tout temps; en cas de doute, vérifier avec le technicien vérificateur de l'enceinte, le responsable de la sécurité ou le personnel d'entretien du bâtiment).
8. Allumer la lumière UV si approprié (ne pas l'allumer si des employés travaillent à proximité). Cette lumière doit être vérifiée pour s'assurer qu'elle fonctionne à une longueur d'onde germicide (demander au technicien vérificateur de l'enceinte de réaliser ce test).

Références

1. Centers for Disease Control and Prevention. *Primary containment for biohazards: selection, installation and use of biological safety cabinets*. Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 2000.
2. Kruse, R.H., Puckett, W.H., et Richardson, J.H. *Biological safety cabinetry*. Clin Microbiol Rev 1991;4:207-41.
3. Stuart, D.G. *Primary barriers: biological safety cabinets, fume hoods, and glove boxes*. Dans : Fleming, D.O., et Hunt, D.L. *Biological safety principles and practices*. Washington, DC: ASM Press, 2000; 313-30.
4. NSF International. *Class II (laminar flow) biohazard cabinetry. Standard 49*. Ann Arbor, Michigan, 2002.
5. Stuart, D.G., Hilliard, J., Kenkel, R., Kelley, J., et Richmond, J. *Role of the class III cabinet in achieving BSL-4*. Dans : Richmond, J.Y. *Anthology of biosafety I: perspective on laboratory design*. Mundelein, IL: American Biological Safety Association, 1999; 149-160.
6. National Cancer Institute Office of Research Safety and the Special Committee of Safety and Health Experts. *Laboratory safety monograph, a supplement to NIH guidelines for recombinant DNA research*. Bethesda, MD: NIH, 1979.
7. *Biotechnology – Performance criteria for microbiological safety cabinets*. BS EN 12469:2000, European Committee for Standardization (CEN), 2000.
8. *Installation et essai sur place des hottes biologiques (classes I et II)*. Z316.3-95. Association canadienne de normalisation, Toronto, ON, 1995.
9. NSF International. *NSF listings – field certifier accreditation*. NSF International. Ann Arbor, Michigan, 2000.

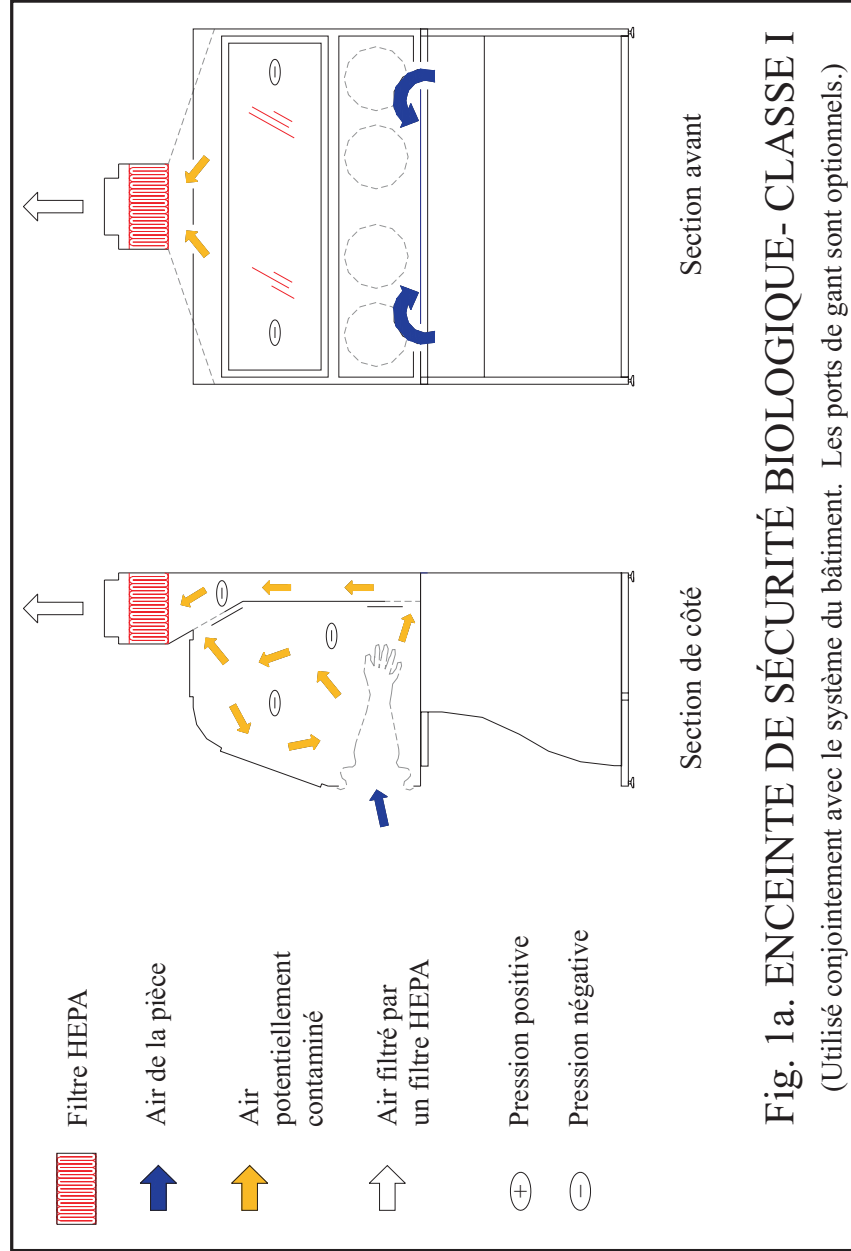


Fig. 1a. ENCEINTE DE SÉCURITÉ BIOLOGIQUE- CLASSE I

(Utilisé conjointement avec le système du bâtiment. Les ports de gant sont optionnels.)

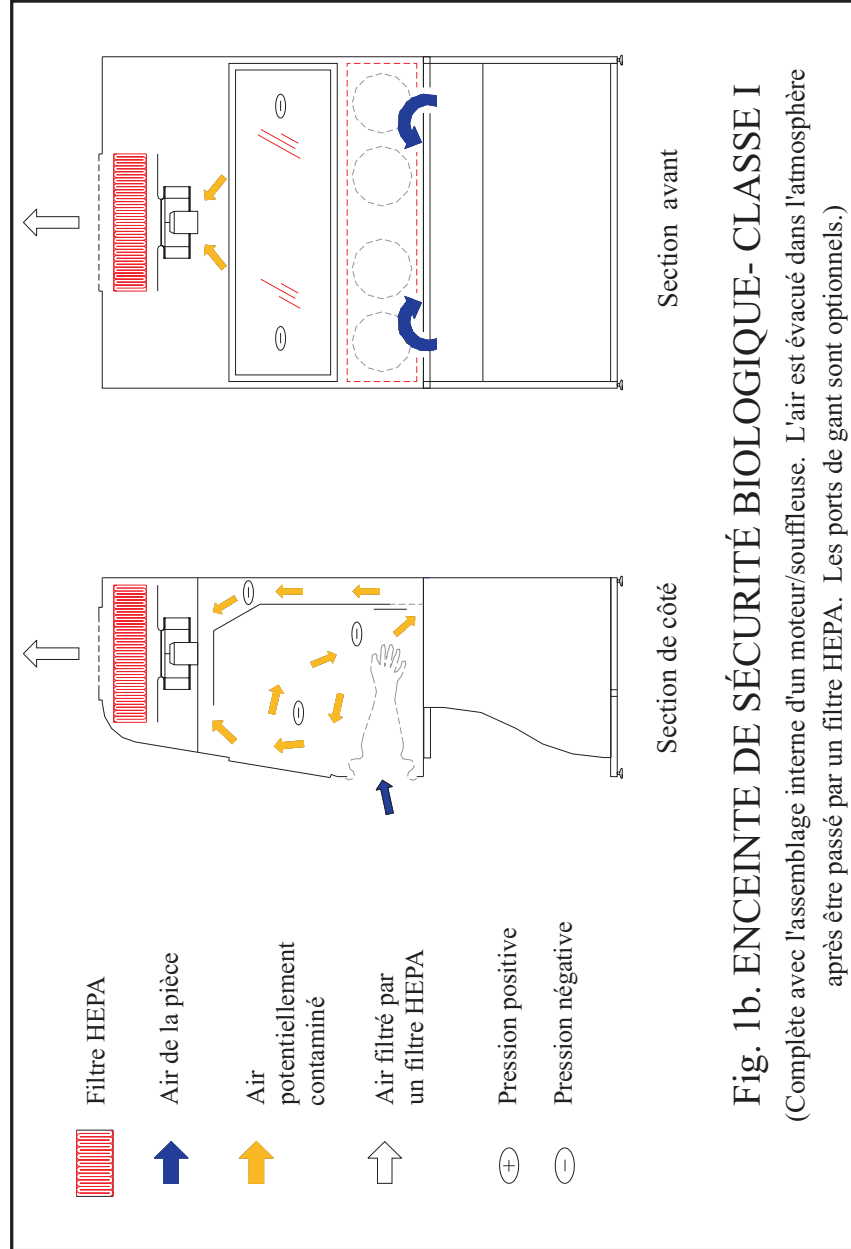


Fig. 1b. ENCEINTE DE SÉCURITÉ BIOLOGIQUE- CLASSE I
 (Complète avec l'assemblage interne d'un moteur/souffleuse. L'air est évacué dans l'atmosphère après être passé par un filtre HEPA. Les ports de gant sont optionnels.)

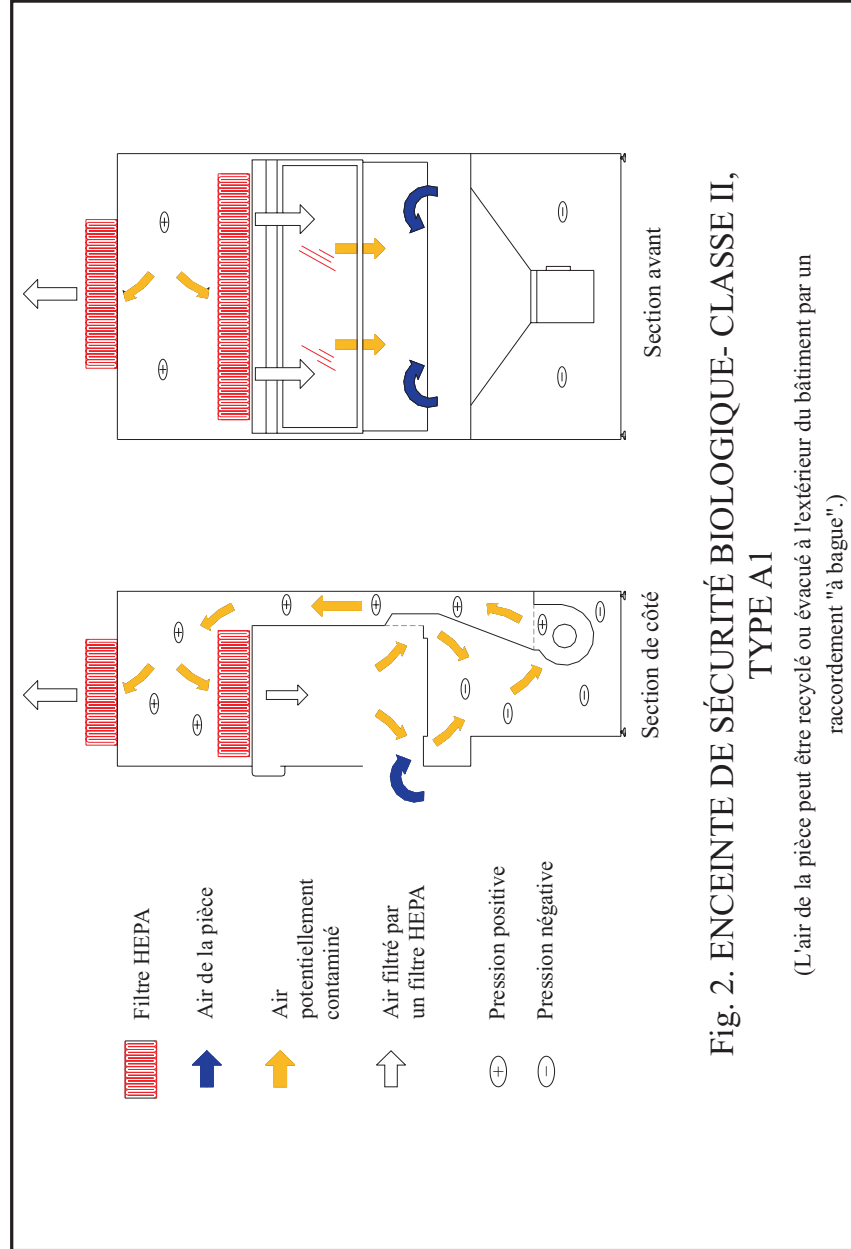


Fig. 2. ENCEINTE DE SÉCURITÉ BIOLOGIQUE- CLASSE II, TYPE A1

(L'air de la pièce peut être recyclé ou évacué à l'extérieur du bâtiment par un raccordement "à bague".)

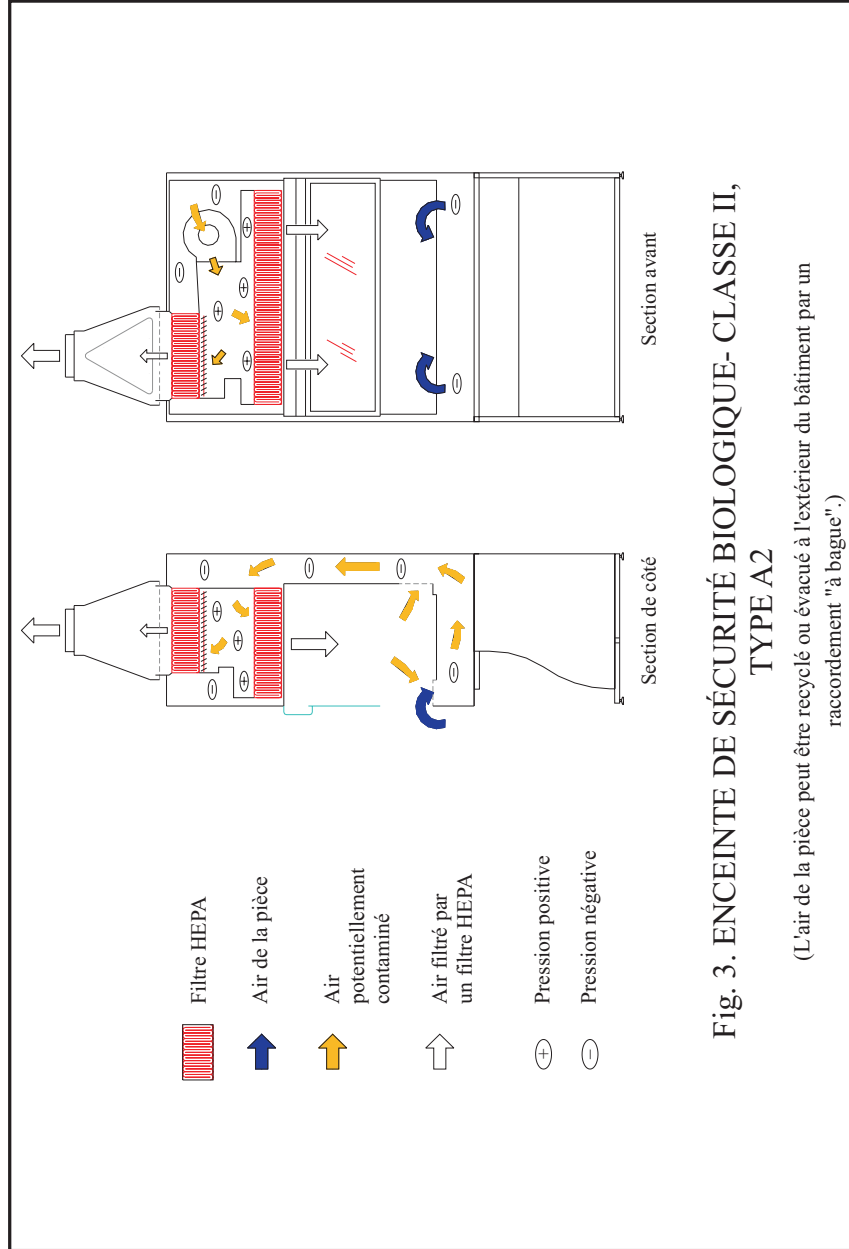


Fig. 3. ENCEINTE DE SÉCURITÉ BIOLOGIQUE- CLASSE II, TYPE A2

(L'air de la pièce peut être recyclé ou évacué à l'extérieur du bâtiment par un raccordement "à bague".)

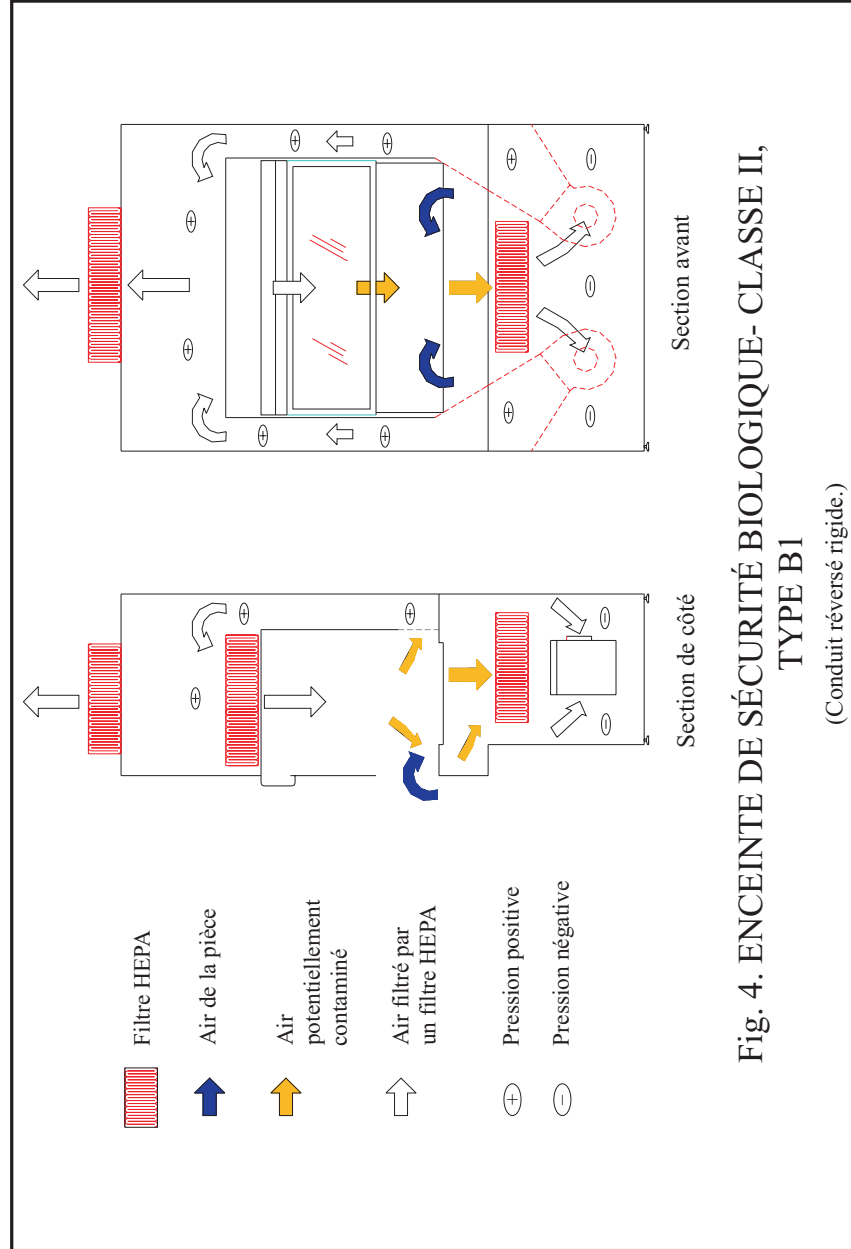
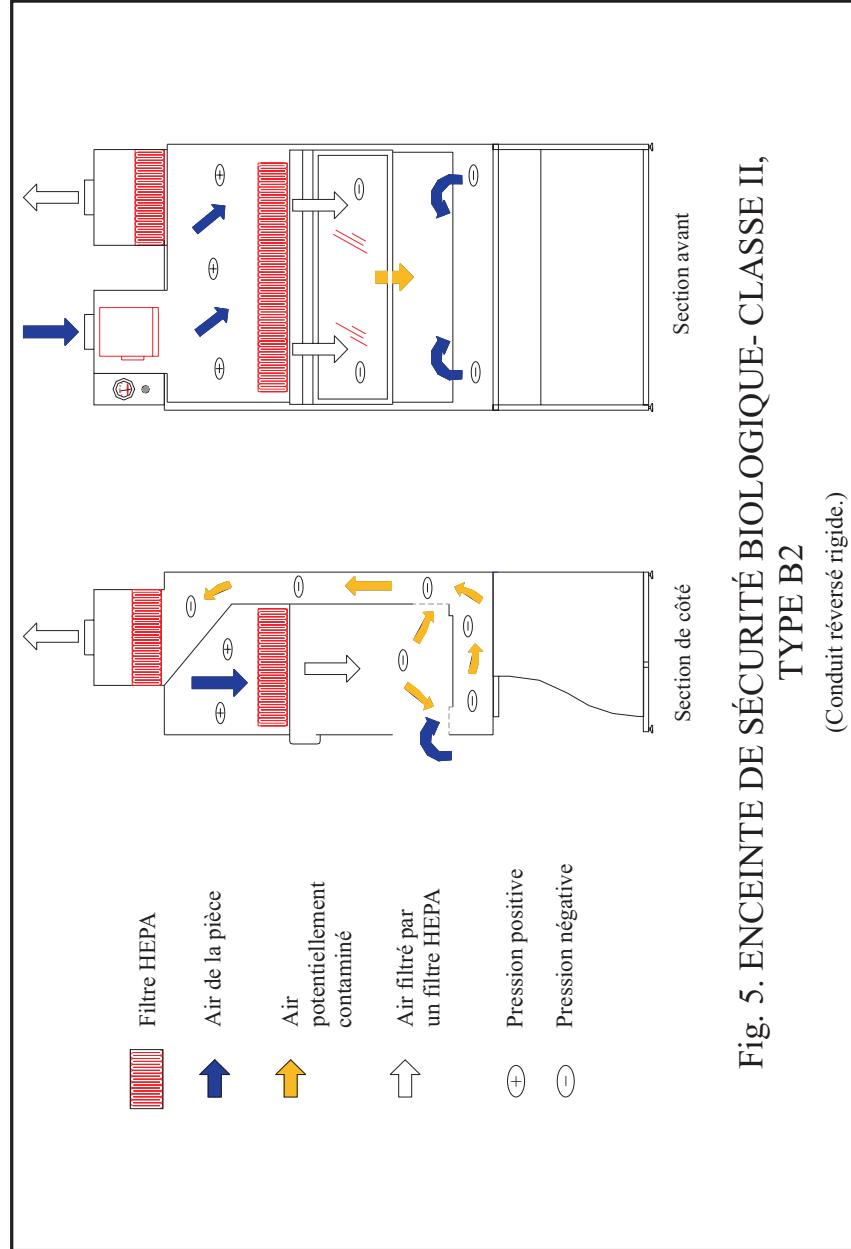


Fig. 4. ENCEINTE DE SÉCURITÉ BIOLOGIQUE- CLASSE II,
TYPE B1
(Conduit réversé rigide.)



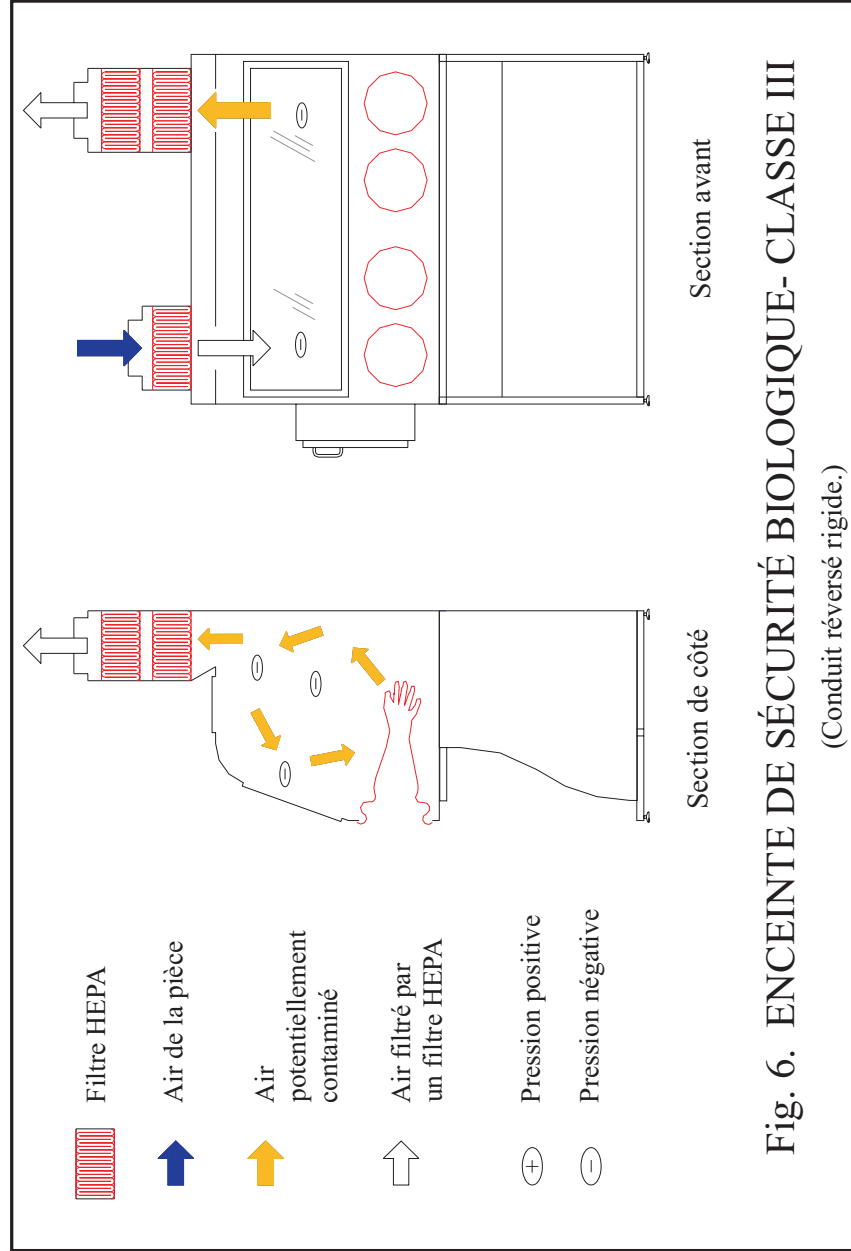


Fig. 6. ENCEINTE DE SÉCURITÉ BIOLOGIQUE- CLASSE III
 (Conduit réversé rigide.)

Chapitre 10

Aspects de la réglementation associée à la manipulation de substances infectieuses

10.1 Importation et transfert d'agents pathogènes humains

Les installations qui souhaitent importer et transférer des agents pathogènes humains au Canada doivent se conformer au *Règlement sur l'importation des agents anthropopathogènes* (DORS/94-558), lequel vise à s'assurer que ces agents sont manipulés dans des niveaux de confinement appropriés. Celles qui désirent importer un agent pathogène humain destiné à être manipulé en niveau 2, 3 ou 4 doivent obtenir un permis valide de Santé Canada. Les agents manipulés en niveau 1 ne sont pas soumis à ce règlement, et leur importation ne nécessite aucun permis. Pour faire une demande de permis d'importation d'agents pathogènes humains, téléphoner directement au Bureau de la sécurité des laboratoires au (613) 957-1779 ou en téléchargeant le formulaire du site Web du Bureau de la sécurité des laboratoires, à

http://www.phac-aspc.gc.ca/ols-bsl/index_f.html

Le site Web du Bureau de la sécurité des laboratoires affiche également le *Règlement sur l'importation des agents anthropopathogènes* et propose des réponses aux questions les plus souvent posées.

Les personnes qui souhaitent importer et transférer des agents pathogènes humains doivent disposer d'installations conformes aux pratiques opérationnelles et aux exigences de conception et d'aménagement des laboratoires de confinement détaillées dans ce document. Les installations qui souhaitent importer des agents pathogènes devant être manipulés en niveaux 3 et 4 doivent obtenir une accréditation

de Santé Canada attestant qu'elles respectent les *Lignes directrices en matière de biosécurité en laboratoire* avant toute émission de permis. Les critères d'accréditation des laboratoires de confinement sont précisés au chapitre 5. Les installations qui souhaitent importer des agents pathogènes devant être manipulés en niveau de confinement 2 doivent elles-mêmes s'assurer de respecter les exigences des *Lignes directrices en matière de biosécurité en laboratoire*, et leur inspection peut être vérifiée en tout temps par Santé Canada. De plus, le site Web du Bureau de la sécurité des laboratoires (dont l'adresse apparaît ci-dessus) affiche une liste des groupes de risque des agents pathogènes humains.

Beaucoup d'agents pathogènes humains sont aussi des agents animaux, soumis à la réglementation de l'Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA) (voir la section 10.4 du présent chapitre, Importation des agents pathogènes animaux). Les installations qui souhaitent importer des agents communs aux animaux et aux humains doivent obtenir un permis d'importation de l'ACIA et de Santé Canada. Il incombe à l'importateur de s'assurer qu'il est en possession de tous les documents appropriés avant d'importer des agents pathogènes au Canada.

10.2 Exportation d'agents pathogènes

Le Canada exige un permis d'exportation pour beaucoup d'agents pathogènes et d'appareils connexes. Le Canada a signé la *Convention sur les armes biologiques et toxines*, convention internationale datant de 1972 et mettant en relief l'objectif de non-prolifération des armes biologiques et toxines en interdisant le développement, la production, l'accumulation de stocks ou l'acquisition d'armes microbiologiques (biologiques) et toxiques, et leur destruction. Au Canada, le Ministère des Affaires étrangères et du Commerce international contrôle actuellement certains agents toxicologiques et biologiques ainsi que les appareils, éléments, matériel et technologies connexes en vertu du point 2007 de la *Liste des marchandises d'exportation contrôlée* de cette convention. Pour obtenir des conseils ou des avis, veuillez téléphoner au

Ministère des Affaires étrangères et du Commerce international du Canada, Direction générale des contrôles, (613) 996-2387 ou consultez son site Web : <http://www.dfait-maeci.gc.ca/eicb/>

10.3 Transport

Le transport de substances infectieuses est une partie essentielle des procédures de routine des laboratoires tant sur le plan de la recherche que sur celui du diagnostic. Les échantillons destinés à aider les chercheurs à collaborer avec d'autres chercheurs travaillant dans des régions éloignées ou à effectuer des diagnostics primaires à partir de prélèvements obtenus de malades, doivent être transportés par route et/ou par avion. Bien qu'aucun cas de maladie associée à un accident de transport impliquant une substance infectieuse n'ait été rapporté⁽¹⁾, de tels accidents sont envisageables⁽²⁾ et il est donc important d'emballer et de transporter ces substances selon des méthodes testées et approuvées.

Au Canada, le transport de substances infectieuses doit se faire conformément au *Règlement sur le transport des marchandises dangereuses* (DORS/85-77) appliqué par Transports Canada. Transports Canada établit les règles d'étiquetage et d'emballage ainsi que les critères de documentation nécessaires à l'expédition de ces substances infectieuses, y compris des spécimens diagnostiques, au Canada. Ces règles prévoient également que toute personne transportant des substances infectieuses doit avoir suivi une formation en transport de marchandises dangereuses (substances infectieuses). En outre, les expéditeurs de matières appartenant au groupe de risque 4 doivent disposer d'un plan d'aide en cas d'urgence pour pouvoir réagir à toute urgence d'expédition n'importe où au Canada. D'autres renseignements sur le transport de substances infectieuses au Canada peuvent être obtenus en communiquant avec Transports Canada, Normes relatives des matières dangereuses, (613) 990-1059, Place de Ville, Tour C, 330 rue Sparks, 4^e étage, Ottawa ON K1A 0N8, ou en consultant leur site Web : <http://www.tc.gc.ca/civilaviation/commerce/dangerousgoods/>

Le transport aérien de substances infectieuses à l'échelle internationale est régi par l'Organisation de l'aviation civile internationale (OACI)⁽³⁾. La majorité des transporteurs (de passagers et de fret [courriers/cargos]) étant membres de l'OACI, l'envoi international de substances infectieuses est presque automatiquement soumis aux règles d'étiquetage et d'emballage de l'OACI. L'OACI établit les règles d'étiquetage et d'emballage ainsi que les critères de documentation nécessaires à l'expédition internationale de ces substances infectieuses par voie aérienne. Les règles de l'OACI stipulent aussi que toute personne transportant des substances infectieuses doit avoir suivi une formation en transport de matières dangereuses (substances infectieuses). Les exigences de l'OACI sont inspirées des recommandations des Nations Unies sur le transport des marchandises dangereuses. Pour de plus amples renseignements sur les conditions d'expédition internationale, veuillez communiquer directement avec la représentante de l'OACI au Canada : Judith Code, chef, Marchandises dangereuses, Aviation, Transports Canada, (613) 990-1060 (même adresse postale que celle de Transports Canada ci-dessus).

L'expédition de matières infectieuses par avion est aussi du ressort de l'Association du transport aérien international (IATA) et doit se faire conformément à sa *Réglementation sur les marchandises dangereuses*⁽⁴⁾. Cette réglementation énonce tous les mandats de l'OACI ainsi que les règles universelles de l'aviation commerciale assurant la sécurité de l'emballage et du transport de substances infectieuses. Pour les obtenir, il suffit de téléphoner à l'IATA au 1-800-716-6326 ou de consulter le site Web de l'organisation, au : <http://www.iata.org/index.htm>

10.4 Importation, transfert et confinement des agents pathogènes animaux

La *Loi sur la santé des animaux*, 1990, et le *Règlement sur la santé des animaux* confèrent à l'Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA) l'autorité législative nécessaire pour contrôler l'utilisation d'agents pathogènes animaux importés et d'agents associés à des maladies animales à déclaration obligatoire, y compris des matières d'origine animale contenant d'éventuels agents pathogènes. Pour des informations plus complètes, veuillez vous référer à ces deux documents.

Toute importation d'agents pathogènes animaux au Canada requiert un permis. L'importation d'agents touchant à la fois les humains et les animaux nécessite un permis de Santé Canada et de l'ACIA. Il convient de demander une approbation de l'ACIA lorsqu'un agent importé au Canada, en vertu d'un permis d'importation en restreignant la diffusion, doit être transféré ailleurs.

L'ACIA détermine également les conditions de travail avec des agents pathogènes animaux et les critères de conservation de ces organismes. Il est important d'évaluer non seulement le risque pour la santé humaine, mais aussi le niveau de confinement requis pour éviter la propagation d'un agent pathogène animal dans l'environnement, où il peut constituer un risque pour toutes sortes d'espèces animales indigènes. La publication de l'ACIA, *Normes sur le confinement des installations vétérinaires*⁽⁵⁾, expose les grandes lignes de la conception et de l'aménagement minimum des laboratoires canadiens et des installations animales où sont importés et manipulés des agents pathogènes animaux ou zoonotiques, ainsi que les exigences opérationnelles. Les laboratoires qui font des demandes d'importation d'agents pathogènes zoonotiques ou animaux doivent prouver qu'elles respectent ces critères avant de pouvoir obtenir leur permis de l'ACIA.

Les agents pathogènes animaux qui relèvent de l'autorité de l'ACIA, notamment ceux qui touchent à la fois les humains et les animaux, sont énumérés dans la base de données mise à jour par la Division des biorisques, du confinement et de la

sécurité de l'ACIA. Cette liste constamment corrigée tient compte des agents pathogènes en émergence pouvant faire l'objet de restrictions. Les agents pathogènes animaux qui sont considérés comme non indigènes au Canada sont répertoriés dans cette base de données et sont soumis à de lourdes restrictions. Il convient de consulter l'ACIA pour toute importation, utilisation et diffusion d'agents pathogènes animaux.

Pour des informations sur le statut des agents pathogènes animaux :

Division des biorisques, du confinement
et de la sécurité
Agence canadienne d'inspection des aliments
159, promenade Cleopatra
Ottawa (Ontario) K1A 0Y9

Tél. : (613) 221-7068
Télec. : (613) 228-6129
<http://www.inspection.gc.ca/francais/sci/lab/biof.shtml>

Pour des renseignements sur les groupes de risque des agents pathogènes végétaux en vertu de la *Loi sur la protection des végétaux* et des Règlements, veuillez communiquer avec le :

Bureau des permis de la Direction de la protection
des végétaux
59, promenade Camelot
Ottawa (Ontario) K1A 0Y9

Tél. : (613) 228-2342 (poste 4334 ou 4333)
Télec. : (613) 228-6605

Références

1. WHO. *Guidelines for the safe transport of infectious substances*. Division of Emerging and Other Communicable Diseases Surveillance and Control WHO/EMC/97.3. Geneva, 1997.
2. Transports Canada. *Statistiques de 1999*. Centre canadien d'urgence transport, 2000.
3. Organisation de l'aviation civile internationale (OACI). *Instructions techniques pour la sécurité du transport aérien des marchandises dangereuses*. Édition de 2001-2002. Doc 9284-AN/905, 2000.
4. International Air Transport Association. *Dangerous Goods Regulations*. 43rd edition. January 2003.
5. *Normes sur le confinement des installations vétérinaires*. Ottawa : Agriculture et Agro-alimentaire Canada, Ministre des Approvisionnements et Services Canada, No. 1921/E, 1996.

Répertoire

- A** Accidents. 19, 21, 23, 65, 115
Accréditation 13, 32, 50-51, 53, 55, 57-59, 90, 98-102, 113-114
ADN recombinant 75-76
Aérosols 6, 8-9, 19, 22-23, 27, 45, 63, 65-66, 73, 97
Agents pathogènes animaux 114, 117-118
Aiguilles - élimination (*voir* Seringues - élimination)
Alimentation en eau 60
Association du transport aérien international (IATA) 116
Autoclave 6, 22-23, 26, 28, 43, 47, 49, 51, 61, 64, 88, 91-92, 100
- C** Centrifugeuse 6, 100-101
Chaussures 21, 26-29, 67, 74
Circulation d'air *voir* Ventilation
Combinaisons à pression positive (*voir* Combinaisons pressurisées)
Combinaisons pressurisées 28-29, 45
Comité de biosécurité. 8, 23
Comité institutionnel de biosécurité 53, 57-59
Conception - laboratoire de confinement 21, 25
Confinement - aménagement des installations. 5
Confinement - équipement 6, 27, 29
Confinement - pratiques. 49-67
Confinement - surveillance médico-sanitaire 10, 72
Confinement primaire 65-67, 71, 97
Contenants 23, 27, 90
Contenants - centrifuge 100-101
Contenants - étanches. 21-23, 26, 100
Contenants - ouverture. 98-100
Contenants - spécimens 20, 87

D	Décontamination - accidents et déversements	19, 65
	Décontamination - enceintes de sécurité biologique	6, 12, 21, 23, 28-29, 45-49, 51-61, 65-66
	Décontamination - espace et surface (<i>voir</i> Décontamination gazeuse des pièces)	
	Décontamination - sang et liquides biologiques	21-22, 88-89
	Décontamination gazeuse des pièces	66, 90
	Désinfectants, chimiques	28-29, 36, 66, 90-91
	Désinfection	12, 28, 70, 74, 86, 89
	Désinfection - déchets	70-71, 86
	Déversements	19, 37, 65, 86
	Documentation, expédition	115-116
	Douches	28, 47, 60, 91
E	Éclairage	48, 74
	Élimination des déchets	43, 70, 87
	Emballage, pour expédition	115-116
	Enceintes de sécurité biologique	6, 12, 23, 29, 34-35, 45, 48, 55-56, 59, 65, 71, 97, 101-102
	Enceintes de sécurité biologique de classe I	98
	Enceintes de sécurité biologique de classe II	59
	Enceintes de sécurité biologique de classe III	29
	Enceintes de sécurité biologique - classes et caractéristiques	97
	Enceintes de sécurité biologique - décontamination	6, 12
	Enceintes de sécurité biologique - laboratoires de confinement	51
	Entreposage	10, 12, 15, 17, 70
	Équipement	6, 27, 29, 45, 48, 53, 55, 59-60, 65, 67
	Équipement - électricité	45-48
	Équipement - laboratoires de base	6
	Équipement - laboratoires de confinement	26-27
	Équipement - sécurité	6, 27, 29, 45, 48, 53, 55, 59, 60, 65, 67
	Équipement - urgence	27-30, 45, 48, 60, 65
	Équipements de protection personnelle	67
	Équipements de sécurité	45
	Équipes d'entretien	13
	Expédition	12, 115-116
	Expédition/transport	12, 115-116
	Exportation	114

F	Filtres HEPA (haute efficacité pour éliminer les particules de l'air)7, 30, 38-40, 42, 47, 51, 55-57, 66, 100
	Formaldéhyde	28, 90-91
	Formaldéhyde - décontamination des pièces	90-91
	Formation12, 14-16, 20, 23-25, 51, 65, 90, 97, 115-116
	Formation - personnel de laboratoire	12, 25
	Fumigation	28, 36, 61
G	Gants6, 21-22, 27, 67, 73, 75, 100, 103-104
	Godets de sécurité, scellé	6, 27
	Groupes de risque	2, 4, 8, 114, 118
	Groupe de risque 1	4, 6
	Groupe de risque 2	4, 6
	Groupe de risque 3	5, 7
	Groupe de risque 4	5, 100, 115
H	Haute efficacité pour éliminer les particules de l'air - HEPA (<i>voir</i> Filtres HEPA)	
	HEPA - enceintes de sécurité biologique	29-30, 47-49, 55-57, 67
	Herpèsvirus du cercopithèque 1	71, 81
	Herpèsvirus B.	71-72, 81
I	Immunisation	10
	Importation.	113-114, 117-118
	Incinérateurs	93, 102
	Incinération	43, 66, 93
	Ingestion - accidentelle	19
	Injection - accidentelle.	22
	Installations pour animaux	12
L	Laboratoire - équipements de sécurité27, 29, 45, 48, 53, 55, 59-60
	Lutte contre les insectes et les rongeurs	23
M	Matériel contaminé	22
	Matériel contaminé - autoclavage	93
	Matériel contaminé - élimination	22

Microorganismes - génétiquement modifiés	76
Microorganismes - groupes de risques (<i>voir</i> groupe de risque)	
Mycobacterium	9
N Niveaux de confinement	5-6, 11, 19, 50-51, 64, 71, 90, 113
Niveau de confinement 1	iv, 61
Niveau de confinement 2	iv, 6
Niveau de confinement 3	iv, 7, 9, 47, 50
Niveau de confinement 4	7, 50, 60
O Objets coupants	87
Organisation de l'aviation civile internationale (OACI)	iv, 116, 119
P Panneaux de mise en garde	24, 32, 67
Personnel - formation (<i>voir</i> Formation)	
Personnel d'entretien (<i>voir</i> Personnel de soutien)	
Personnel d'entretien - formation	12-14
Personnel de laboratoire - formation	2, 12, 25
Personnel de laboratoire - protection personnelle	67
Personnel de laboratoire - surveillance médico-sanitaire	10, 72
Personnel de soutien (<i>voir</i> Personnel d'entretien)	
Pipettage	19-20
Plans - urgence	14, 16, 65
Pratiques de laboratoire	97
Primates non humains	2, 71-75, 80-81
Prion	78, 81
Protection - lunettes	6, 21
Protection du visage	21
R Réfrigérateurs	100
Réserve d'air de secours	48
Respirateurs	31
Renouvellement d'accréditation	13, 32, 50-51, 53, 57-59
Responsable de la biosécurité	8, 11, 30, 53, 57-59, 65

S	Sarraus	6, 27, 45, 73, 86
	Sas.	25-26, 33, 45, 100
	Sécurité en laboratoire - Aide en cas d'urgence	115
	Sérum	10, 80, 89
	Services.	32, 35, 45, 49, 52-54, 60, 61, 102, 119
	Services - électricité.	32, 45-49
	Seringues	22
	Seringues - élimination	22
	Spécimens	20, 87, 115
	Spécimens - collecte	65
	Spécimens - diagnostique	115
	Spécimens - expédition/transport (<i>voir</i> Expédition/transport)	
	Stérilisation (<i>voir</i> Autoclave)	
	Substances infectieuses	vii, 113, 115-116
	Surveillance	10, 12, 24, 26, 38, 42, 49-52, 72, 119
	Surveillance médico-sanitaire	10, 72
T	Traitement des effluents liquides	91
	Transport, échantillons (<i>voir</i> Expédition/transport)	
V	Vaccins	63
	Ventilation	vi, 28, 32, 38, 100
	Ventilation - laboratoire de base	38
	Ventilation - laboratoire de confinement	28-29
	Vestibule/sas	33-34, 74
	Vêtements - personnel de laboratoire	27, 86
	Vêtements - protection.	21, 27, 67, 71
	Vêtements - protection personnelle	67, 71
	Volet à scellant hermétique antiretour	38-39, 41, 58