



WETENSCHAPPELIJK INSTITUUT
VOLKSGEZONDHEID
INSTITUT SCIENTIFIQUE
DE SANTÉ PUBLIQUE

MODALITEITEN VAN VALIDATIE EN CONTROLE VAN AUTOCLAVEN IN HET KADER VAN INACTIVATIE VAN AFVAL AFKOMSTIG VAN HET INGEPERKTE GEBRUIK VAN GENETISCH GEMODIFICEERDE MICRO-ORGANISMEN EN/OF PATHOGENEN

OD Expertise, Dienstverlening en Klantenrelaties
Dienst Bioveiligheid en Biotechnologie

Juliette Wytsmanstraat 14
1050 Brussel | België

www.wiv-isp.be



Dienst Bioveiligheid en Biotechnologie | September 2011 | Brussel, België
Verantwoordelijke Uitgever: Dr Johan Peeters, Algemeen Directeur
J. Wytsmanstraat 14 | 1050 Brussel
N° van de interne referentie : ISP/41/AL/11-0912
Depotnr: **D/2011/2505/46**

Dr Amaya Leunda
Mevrouw Chuong Dai Do Thi
M Bart Brosius
Dr Nicolas Willemarck
Dr Céline Verheust
Mevrouw Bernadette Van Vaerenbergh

Dienst Bioveiligheid en Biotechnologie
Diensthoofd: Dr Philippe Herman

Dit project werd gefinancierd door

Het Brussels Hoofdstedelijk Gewest- Brussel-Leefmilieu – Brussels Instituut voor Milieubeheer (BIM)

Het Vlaamse Gewest – Vlaamse Overheid - Departement Leefmilieu, Natuur en Energie (LNE)

Het Waalse Gewest - Service Public de Wallonie - Direction Générale Opérationnelle de l'Agriculture, des Ressources Naturelles et de l'Environnement (DGARNE)





Dankbetuiging

De auteurs danken Dr Philippe Herman en Dr Ir Katia Pauwels voor hun belangrijke bijdrage aan de realisatie van dit document

Ce document existe également en Français

© Institut Scientifique de Santé Publique | Wetenschappelijk Instituut Volksgezondheid, Brussel 2010.
Dit rapport mag niet gereproduceerd, gepubliceerd of verdeeld worden zonder akkoord van het WIV-ISP.

Inhoudstafel

1. Doelstellingen	5
2. Inleiding	5
4. Het principe van stoomsterilisatie.....	7
5. Validatie van de autoclaaf	9
5.1. Ingebruikstelling van de autoclaaf (“installation qualification”).....	10
5.2. Validatie van de werking (“operational qualification”)	10
5.3. Validatie van de prestatie (“performance qualification”)	10
5.4. Onderhoud	11
6. De routinecontrole	11
6.1. Permanente controles	11
6.2. Periodieke controles.....	13
7. Inactivatie van besmet afval afkomstig van activiteiten van ingeperkt gebruik van genetisch gemodificeerde organismen en/of pathogenen.	14
8. Conclusie	20
9. Bijlagen.....	21
Bijlage 1: Verwerking van afval en/of biologisch materiaal afkomstig van activiteiten van ingeperkt gebruik van GGO's en/of pathogenen	21
Bijlage 2: Meer over stoomsterilisatie	25
Bijlage 3: Verschillende manieren van verwerking van biologisch besmet afval in het Brussels Hoofdstedelijk Gewest	27
Referenties	30

1. Doelstellingen

Het onderwerp dat in dit document wordt aangesneden kadert binnen het algemeen beheer van afval afkomstig van ingeperkt gebruik van genetisch gemodificeerde organismen (GGO's) en/of pathogenen, zoals voorgeschreven wordt door de Belgische wetgeving. De validatie en controle op de inactivatie van dit type afval met behulp van stoom en het gebruik van een sterilisator, ook autoclaaf genoemd, zonder verbrijzeling of vermaling van het afval, worden hier specifiek beschreven.

Dit document beschrijft eerst het de karakteristieken en het werkingsprincipe van een stoomsterilisator en vervolgens de manieren waarop de inactivatie van biologisch besmet afval kunnen worden gevalideerd en gecontroleerd. Enerzijds kan dit document voor de **bevoegde overheden** dienen als leidraad voor de verschillende procédés die van belang zijn bij stoomsterilisatie. Anderzijds worden ook een aantal aanbevelingen gedaan naar de **gebruikers** toe om gefundeerde validatie- en controleprocedures op te nemen die aangepast zijn aan hun activiteiten.

2. Inleiding

Afval dat afkomstig is van activiteiten van ingeperkt gebruik van GGO's en/of pathogenen behoort tot de categorie gevaarlijk afval zoals gedefinieerd in de Europese Richtlijn 78/319/EEG (1). Deze richtlijn verplicht de deelnemende lidstaten tot het invoeren van een streng en strikt beheer van gevaarlijk afval¹. Onder deze strikte aanpak wordt onder andere verstaan dat afval moet geïdentificeerd en geregistreerd worden, dat verschillende types afval gescheiden moeten worden. De wijze waarop het afval wordt verwijderd, bewaard, verpakt, opgeslagen en getransporteerd valt ook onder dit afvalbeheer.

In België is afvalbeheer een bevoegdheid van de gewesten. De regionale besluiten met betrekking tot het ingeperkte gebruik van GGO's en/of pathogenen voorzien in een wettelijk kader op het vlak van de verwerking van biologisch afval (culturen enz.), biologische residu's (dierkrenge- en uitwerpselen en beddingmateriaal van geïnfecteerde dieren, geïnfecteerde planten, besmet substraat enz.). Ook daarbij inbegrepen zijn laboratoriumuitrusting en biologisch besmet herbruikbaar materiaal (glaswerk, kooien enz.) afkomstig van labo's, proefdierverspreiden, serres, groeikamers, ziekenhuiskamers en installaties die opereren op grote schaal. Voldoende voorbeelden waarbij **geschikte en gevalideerde inactivatieprocedures verplicht zijn vooraleer afval verwijderd of verder verwerkt wordt** (2, bijlage 1). Inactivatie, gedefinieerd als de opheffing van de biologische activiteit van (micro-) organismen, wordt verplicht, **onafhankelijk van de risicoklasse van het organisme of van het**

¹ De Richtlijn 78/319/EEG met betrekking tot gevaarlijke afvalstoffen is vervangen door Richtlijn 91/689/EEG en onderging een finale aanpassing met Richtlijn 94/31/EG

risiconiveau van het ingeperkte gebruik (2). De keuze voor een geschikte inactiveringsmethode hangt af van verschillende factoren. Zo spelen het type en de aard van het afval een rol, maar ook het risico van de (micro-) organismen die aanwezig zijn in het afval en de doeltreffendheid van de gekozen methode. Stoomsterilisatie, chemische inactivatie en verbranding zijn de meest gebruikte. In dit laatste geval worden de hermetisch afgesloten afvalvaten die bestemd zijn voor verbranding gewoonlijk opgehaald door een gespecialiseerde firma.

Dit document is gewijd aan de inactivatie van afval dat afkomstig is van activiteiten van ingeperkt gebruik van GGO's en/of pathogenen met behulp van stoomsterilisatie. De reeds bestaande normen voor deze methode zijn gewoonlijk opgesteld voor medische instrumenten en kunnen dienen als referentie voor het opstellen van controle -en validatieprocedures voor biologisch afval. Niettemin is het nodig om deze aan te passen voor deze specifieke toepassing.

3. Steriliseren met stoom

Algemeen bekeken, en vergeleken met andere behandelingen zoals chemische inactivatie, zijn het vooral **thermische** inactivatiemethodes die zich het best laten valideren en controleren (3).

Deze methodes zijn ook minder schadelijk voor het milieu. Stoomsterilisatie wordt aanzien als een betrouwbare methode en wordt daarom vaak verkozen om biologisch afval te behandelen dat besmet is met GGO's en/of pathogenen van risicoklasse 2 en hoger (3, 4).

Sterilisatie houdt in dat de aanwezige types micro-organismen (sporen inbegrepen) vernietigd worden. In de praktijk is het garanderen van een absolute sterilisatie echter onmogelijk. Daarom wordt bij het merendeel van de installaties gebruik gemaakt van de "Sterility Assurance Level" (SAL), waarvan de waarde overeenkomt met de kans op overleven van een micro-organisme na de sterilisatiebehandeling (5). Deze "graad" van sterilisatie is doorgaans vastgelegd op 10^{-3} of 10^{-6} . Dit getal betekent dat er minder dan 1 micro-organisme op 1000 of op één miljoen de behandeling overleven. Decontaminatie met behulp van sterilisatie kan dus gedefinieerd worden als een proces dat een biologische besmetting reduceert tot een niveau dat geen risico meer betekent (2). De term inactivatie wordt gebruikt om aan te duiden dat de biologische activiteit van micro-organismen wordt opgeheven.

Een stoomsterilisator (of autoclaaf) werkt met behulp **van injectie, direct of indirect, van stoom aan een druk die hoger is dan de atmosferische druk**. De autoclaaf bestaat uit een stalen "kamer" die hermetisch afgesloten wordt en erg hoge drukken kan weerstaan. In de kamer wordt het water opgewarmd en stoom die ontstaat bereikt een hogere druk dan de atmosferische. Er bestaan verschillende types autoclaven (6, 7, 8).

Essentieel is de evacuatie van lucht uit de kamer, want overblijvende lucht kan de temperatuur doen dalen en de stoom beletten het hele volume van de kamer te bereiken.

Er bestaan twee manieren om de lucht te evacueren:

- door '**gravity displacement**': de stoom wordt onder druk de kamer binnengebracht. Omdat de lucht zwaarder is dan de stoom, wordt de lucht geduwd naar het lager gelegen deel van de kamer en naar de buiten gedreven;
- door de '**pre-vacuüm**' methode waarbij een vacuümpomp de lucht eerst verwijdert voordat de stoom de kamer binnenkomt. Dit systeem vraagt om lagere contacttijden want de lucht wordt op een efficiëntere manier verwijderd.

Doorgaans worden een aantal (meet-)instrumenten aan de autoclaaf gekoppeld:

- een thermometer die de temperatuur in de kamer weergeeft, en die leesbaar en zichtbaar moet zijn opgesteld;
- een manometer die de druk meet in het toestel;
- een temperatuurregelaar;
- een manovacuumeter: aanwezig op sommige modellen. Dit toestel meet en registreert de verschillende fases van een sterilisatiecyclus.

De autoclaaf moet geplaatst worden in een ruimte die goed geventileerd is en waar een constante temperatuur en vochtigheid heerst. Het te « autoclaveren » product (afval, materiaal, oplossingen enz.) moet op voorhand op een juiste manier geselecteerd worden, en men moet ervoor zorgen dat er geen gevaarlijke dampen of gassen kunnen vrijkomen in de omgevingslucht (formaldehyde, fenolen, kwik, radionucleïden (4)).

4. Het principe van stoomsterilisatie

Bij standaard atmosferische druk kookt water aan 100°C. Bij een druk van 2 atmosfeer (atm) begint water te koken aan 121°C, en als de druk oploopt tot 3 atmosfeer wordt de kooktemperatuur 134°C.

De gecombineerde werking van stoom onder hoge druk en van temperatuur (hoger dan 120°C) veroorzaakt denaturatie van proteïnen zodat micro-organismen worden vernietigd.

De **sterilisatiecyclus** is de tijd die verloopt tussen het begin en het einde van de het proces; vanaf het te steriliseren product (in het kader van dit document: het afval met verpakking) in de autoclaaf wordt geplaatst tot het eruit wordt gehaald na de sterilisatie.

Een stoomsterilisatiecyclus bestaat uit 3 fases en de eigenschappen van elke fase worden bepaald door de volgende parameters: druk, temperatuur, contacttijd en concentratie van de gassen (verzadigde waterdamp).

De eerste fase is de voorbehandeling. Hier wordt de lucht in de kamer en in de lading volledig vervangen door stoom om zo de omstandigheden te creëren van optimale druk en vochtigheid voor de

sterilisatiefase. Indien een autoclaaf werkt met een pre-vacuüm fase, wisselen een aantal ontluchtingen en stoominjecties elkaar af. Op die manier wordt de stoom steeds minder gemengd met de overblijvende lucht en blijft er enkel nog 100% stoom over aan het einde van de voorbehandeling.

De uitgaande lucht wordt over een microbiologische filter geleid (een HEPA-filter, *High Efficiency Particulate Air* of PTFE, *Polytetrafluoroethyleen*)

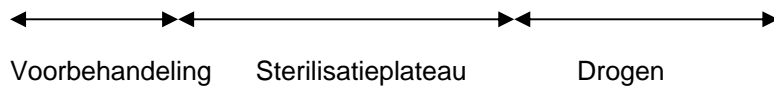
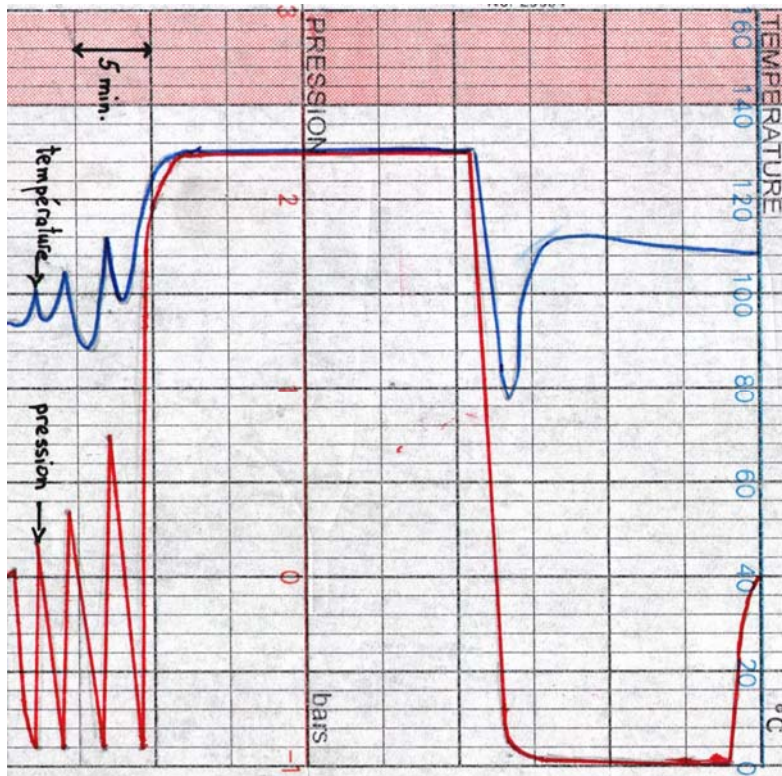
De tweede fase, het sterilisatieplateau beoogt de vernietiging van de aanwezige micro-organismen in een atmosfeer met verzadigde stoom aan een bepaalde temperatuur. De sterilisatietijd is de tijd gedurende dewelke de sterilisatietemperatuur behouden wordt op alle plaatsen van de te verwerken lading. Aan het einde van het plateau, wordt de stoom verwijderd via een geopend ventiel en daalt de druk erg snel. Ook de temperatuur daalt.

De derde fase: drogen. Bij de aanvang van de sterilisatiecyclus condenseert de waterdamp op de koudere lading; de lading wordt dan ook vochtig en nat. Aan het einde van de cyclus is het daarom nodig om het gecondenseerde water opnieuw te laten verdampen, opdat de lading voldoende droog is om steriel te blijven. Gezien de druk in de kamer bijna volledig is weggevallen, wordt opnieuw vacuüm gezogen om de nog overblijvende waterdamp, afkomstig van de lading, te evacueren. De energie die nodig is om de lading te drogen wordt bekomen via de opgeslagen warmte in de lading zélf en deze van de wanden van de autoclaaf.

Uiteindelijk wordt er lucht aangezogen in de kamer die ook over een microbiologische filter (HEPA of PTFE) is gestuurd om mogelijke contaminatie van de lading te voorkomen. Het filteren van de inkomende lucht is vooral een noodzaak bij de sterilisatie van medische apparatuur. Dit is niet noodzakelijk als de autoclaaf gebruikt wordt voor de inactivatie van biologisch afval.

In de praktijk worden de verschillende cycli afgestemd op het te steriliseren product: 20 minuten aan 125°C voor glaswerk of rubber, 10 minuten aan 134 °C voor textiel, 18 min 134 °C wordt aangeraden voor Niet Conventionele Overdraagbare Agentia (NCOA) en 15 minuten aan 121°C voor vloeistoffen en niet-poreuze materialen enz.

Figuur 1: Voorbeeld van een stoomsterilisatiecyclus voor glaswerk (9)



Het steriliseren van éénzelfde product kan gebeuren aan verschillende temperaturen (bijlage 2) en bij lagere temperaturen horen dus langere sterilisatiecycli.

5. Validatie van de autoclaaf

De validatie van de autoclaaf verschilt van de routinecontroles die worden gedaan tijdens het autoclaveringsproces. **Bij de validatie gaat het om een geheel van testen die nodig zijn om aan te tonen dat de gebruikte sterilisatiemethode betrouwbare en exacte resultaten oplevert zoals ze bepaald werden door de fabrikant van het toestel. Validatie dient dus om het sterilisatievermogen van de autoclaaf na te gaan.** Routinecontroles daarentegen worden opgevat als een reeks testen of controles die worden gedaan bij elk gebruik van de autoclaaf, of ten minste op heel regelmatige basis. Validatie- en routinecontroles worden beide uitgevoerd met behulp van mechanische, fysico-chemische en/of biologische indicatoren. Voor een betere traceerbaarheid dienen alle resultaten opgeslagen en bewaard te worden in een "logboek". In het kader van de validatie van autoclaven worden drie etappes aangeraden voordat het apparaat in gebruik genomen

wordt: de ingebruikstelling van de autoclaaf bij ontvangst, de validatie van de werking en de validatie van de prestatie. De validatie van stoomsterilisatoren wordt beschreven in de ISO-norm 17665 – 1 : 2006 (10). Hieronder worden de voornaamste punten vermeld.

5.1. Ingebruikstelling van de autoclaaf (“installation qualification”)

De validatie van de autoclaaf bij de ingebruikstelling biedt zekerheid dat het geleverde toestel geïnstalleerd wordt en functioneert volgens het lastenboek, de specificaties en technische parameters die de fabrikant voorzien heeft. Deze stap wordt uitgevoerd door een technicus van de leverancier.

Het lastenboek detailleert de gebruikte apparatuur en haar beperkingen bij gebruik, de installatieprocedure, de voorop ingestelde programma's, de ijking, het onderhoud enz. Alle meetinstrumenten en registratie apparatuur voor de belangrijke parameters worden gekalibreerd om precieze en reproduceerbare gegevens te produceren. De autoclaaf wordt ook geleverd met specificaties over de ruimte en de omgeving waarin de autoclaaf gebruikt mag/moet worden. Deze voorwaarden moeten ervoor zorgen dat het sterilisatieproces doeltreffend, reproduceerbaar en eenvormig is op alle plaatsten van de kamer.

5.2. Validatie van de werking (“operational qualification”)

Deze handeling wordt uitgevoerd door de technicus van de leverancier en/of door de verantwoordelijke technicus van het labo na de installatie van de autoclaaf, om te verifiëren dat, als het toestel gebruikt wordt conform de voorschriften, het ook de verwachte sterilisatie levert. De validatie van de werking wordt drie maal herhaald (3 cycli) om zeker te zijn van betrouwbare resultaten.

5.3. Validatie van de prestatie (“performance qualification”)

De validatie van de prestatie moet aantonen dat de lading (m.a.w. het te steriliseren product, de verpakking en inhoud) effectief blootgesteld werd aan de condities voor sterilisatie die bepaald werden tijdens de validatie van de werking. Verpakkingen (autoclaafzakken bvb) die routinematig gebruikt worden dienen getest te worden op hun doorlaatbaarheid voor stoom.

De efficiëntie van de stoomsterilisatie wordt mee bepaald door de lading, want die beïnvloedt de temperatuur en de contacttijd. Het is daarom noodzakelijk de sterilisatie te verifiëren en te valideren aan de hand van een representatieve lading voor materiaal dat gewoonlijk en op regelmatige basis in de autoclaaf geplaatst wordt. Het verloop van de temperatuur in de kamer van de autoclaaf kan bepaald worden met meetsondes die verdeeld zijn over de kamer en de lading. De warmtepenetratie moet nagegaan worden door de temperatuur te meten in de ladingen of in “referentiepakketten” die geplaatst worden in de koudste zones van de autoclaafkamer. Die koudste zones werden bepaald door de fabrikant en aan de hand van eerdere etappes in de validatie van het toestel.

De validatie van de prestatie moet minstens drie opeenvolgend cycli beslaan, die telkens moeten aantonen dat de procedure beantwoordt aan de vereisten voor sterilisatie.

Een validatie van de prestatie wordt eveneens aangeraden in het geval:

- tijdens het routinegebruik een afwijking wordt vastgesteld van de vastgelegde waarden;

- na een periode buiten gebruik te zijn geweest;
- na verplaatsen van het toestel;
- minstens 1 à 2 keer per jaar en per type lading ;
- men nieuwe producten, ander type verpakking of ander type lading moet steriliseren.

5.4. Onderhoud

Het onderhoud van de autoclaaf moet duidelijk ingepland, gedocumenteerd en geregistreerd worden. Het toestel dient een periodiek onderhoud te krijgen volgens de voorschriften van de fabrikant (werking van de veiligheidskleppen en de meetsondes voor temperatuur en druk) om op elk moment de betrouwbaarheid ervan te garanderen. De Belgische federale wetgeving voorziet dat de autoclaaf als toestel dat functioneert onder druk, periodiek gecontroleerd moet worden door een Externe Technische Controledienst (ETC) om na te gaan of alle onderdelen van het toestel beschikken over de nodige weerstand en dat de getroffen veiligheidsmaatregelen en de andere aanwezige accessoires een goede werking garanderen (11). Anderzijds zou elke ijking of aanpassing van de meetapparatuur van de autoclaaf enkel mogen uitgevoerd worden door een specialist, ten minste voor er een nieuwe validatie gebeurt (10). Het is dus ook aanbevolen een contract af te sluiten met een gespecialiseerde firma die kan instaan voor het onderhoud van de autoclaaf (12).

6. De routinecontrole

De routinecontrole gebeurt bij elke sterilisatiecyclus en dient als min of meer precieze controle van het functioneren van het toestel en van de sterilisatiecyclus of sterilisatiebehandeling van de lading. Deze controle laat toe te verifiëren of de parameters die werden vastgelegd bij de validatie binnen de vooraf bepaalde grenzen blijven. Dit gebeurt tijdens een routine sterilisatie. De routinecontrole gaat aan de hand van een aantal specifieke tests volgende parameters na:

- de lekdichtheid van de sterilisatiekamer;
- de kwaliteit van de stoom en de ontwikkelde warmte;
- de penetratie van de stoom in de lading;
- het resultaat van sterilisatie.

De routineopvolging gebeurt door middel van fysische monitors en fysico-chemische en biologische indicatoren. Deze testen gebeuren ofwel bij elke cyclus (permanente controles) ofwel op regelmatige basis.

6.1. Permanente controles

Fysische parameters en fysico-chemische indicatoren kunnen gebruikt worden om permanente controles uit te voeren. Ze zijn eenvoudig in gebruik en leveren meestal een resultaat onmiddellijk na de sterilisatiecyclus. Dit type controle toont aan dat bepaalde parameters wel de nodige waarden hebben behaald; maar er wordt geen bewijs geleverd dat de hele lading gesteriliseerd is. Het gebruik van chemische indicatoren kan in het geval van een falende sterilisatiecyclus bepalen welke parameters hun vooropgestelde waarde niet bereikt hebben.

Monitoring van fysische parameters met behulp van thermo-, mano- en chronometers geeft de mogelijkheid na te gaan of de opgelegde temperatuur, het nodige vacuüm en de contacttijd bereikt zijn en dat de temperatuur en de druk constant zijn gebleven gedurende de sterilisatiecyclus. De opname van de procesparameters kan gebeuren op een grafische wijze met een diagram en/of op numerieke wijze. Als de cyclus niet geslaagd is, kan deze opvolging een indicatie geven van welke parameter niet bereikt is.

Fysicochemische indicatoren veranderen van kleur wanneer de nodige waarden voor een sterilisatiecyclus bereikt zijn. Er bestaan verschillende klassen fysicochemische indicatoren, vastgelegd in de ISO-norm 11140 (13, 14) en hieronder opgenomen in tabel 1.

Procesindicatoren op de buitenkant van de verpakking kunnen helpen een onderscheid te maken tussen materiaal dat een sterilisatiecyclus ondergaan heeft en materiaal dat de cyclus nog moet ondergaan. Multi-parameter Indicatoren, integratie- en emulatie indicatoren werden ontworpen voor gebruik in de verpakkingen. Ze veranderen van kleur in functie van de temperatuur, de duur dat ze blootgesteld worden en de verzadiging van de stoom en worden gekozen in functie van hun omslagpunt dat afhankelijk is van de gekozen sterilisatiecyclus.

Tabel 1: Types fysico-chemische indicatoren zoals bepaald in de ISO-norm 11140-1

Type indicator	Klasse	Gebruik
Procesindicator	1	Onderscheid maken tussen geautoclaveerd en niet-geautoclaveerd materiaal Wordt geplaatst op de verpakking van elk product
Specifieke indicatoren Voorbeeld: Bowie & Dick	2	Aantonen van voldoende stoompenetratie in een permeabele lading
Indicatoren voor één enkele parameter	3	Controle van één van de kritische parameters (tijd, temperatuur, vochtigheid)
Multi-parameter indicatoren	4	Controle van tenminste 2 parameters die kritisch zijn voor de sterilisatiecyclus. Worden in de lading geplaatst.
Integratie- en emulatie indicatoren	5 en 6	Controle van alle kritische parameters binnen een gamma van sterilisatiecycli. Worden in de lading geplaatst.

6.2. Periodieke controles

Periodieke controles worden niet uitgevoerd bij elk gebruik van de autoclaaf. De frequentie waarmee deze controles worden uitgevoerd hangt af van de vereisten die gekoppeld zijn aan de sterilisatie van producten afkomstig van een bepaalde installatie.

Over het algemeen worden hoofdzakelijk de volgende tests gebruikt:

- **De vacuümtest** laat toe de lekdichtheid van de autoclaaf te evalueren. Wordt uitgevoerd aan de hand van een voorgeprogrammeerde cyclus. Ook een manuele uitvoering is mogelijk.
- **De test van Bowie-Dick**, (BD van klasse 2, ISO 11140) bestaat uit een papieren kleurenindicator, geplaatst in het midden van een hoop katoenen doekjes die in een lege autoclaaf worden geplaatst en aan een sterilisatiecyclus onderworpen worden. Deze test geeft aanwijzingen over de afwezigheid van lucht (vacuüm) alsook over de mate en de snelheid van de stoompenetratie in een poreuze lading .

Het omschakelen van de inktkleur van de indicator moet homogeen zijn over de hele oppervlakte van de testindicator als men wil aantonen dat de test voldoende conform is. Deze test geeft geen indicatie over de bekomen steriliteit!

- **De Helixtest** (van klasse 6, ISO 11140) bestaat uit een dunne lange holle buis, waarvan één uiteinde een chemische kleurindicator bevat. Indien deze test na een sterilisatiecyclus « conform » is, kan met deze test de autoclaveercapaciteit aangetoond worden voor holle voorwerpen of voorwerpen met smalle en diepe holten.
- **Biologische indicatoren** (ISO 11138-1, 15, 16) zijn nog steeds de beste hulpmiddelen om de steriliteit te controleren van een lading na een behandeling met de autoclaaf. Een bepaalde hoeveelheid erg hitteresistente micro-organismen worden geplaatst in de kamer van de autoclaaf, bij voorkeur op de moeilijkst te steriliseren plaatsen. Aan de hand van de vernietiging van de micro-organismen kan men de sterilisatie beoordelen. De twee voornaamste eigenschappen van een biologische indicator zijn de nominale populatie micro-organismen en de specifieke resistentie van de indicator tegen het sterilisatieproces (uitgedrukt in de DT waarde, zie bijlage 2). Meestal zijn de gebruikte micro-organismen voor de indicator bacteriële sporen die afgeleid zijn van de soorten *Bacillus atrophaeus* en *Geobacillus stearothermophilus*.

De conventionele test bestaat uit een smalle strook papier waarop zich gedroogde sporen van *G. stearothermophilus* (gouden standaard) bevinden, die in een omslag steekt (16,17). Na de sterilisatiecyclus wordt de papierstrook overgebracht op een cultuurmilieu en geïncubeerd. De tweede generatie biologische indicatoren worden ook autonome indicatoren genoemd ("self-contained"). Ze bestaan uit een drager die sporen bevat en zich in een plasticen tube bevindt samen met een glazen ampul die cultuurmilieu bevat. Na de sterilisatiecyclus wordt de ampul gebroken zodat de sporen die eventueel de sterilisatie overleefd hebben in contact komen met het medium en tot ontwikkeling kunnen komen. Het nadeel van deze biologische indicatoren is dat de resultaten een lange wachttijd vragen (48 u tot 7 dagen). Tegenwoordig kan men ook gebruik maken van de derde generatie biologische indicatoren. Deze "Rapid Readout Biological Indicators" onthullen de doeltreffendheid van een sterilisatiecyclus binnen het uur.

Het principe van deze testen berust op de detectie van een fluorescerend product dat resulteert uit de activiteit van een enzyme van de bacterie *G. stearothermophilus*.

7. Inactivatie van besmet afval afkomstig van activiteiten van ingeperkt gebruik van genetisch gemodificeerde organismen en/of pathogenen.

In ziekenhuizen en farmaceutische laboratoria wordt een uitvoerige en strenge sterilisatie verwacht gezien het hier gaat om medische instrumenten, medicijnen of andere bereidingen waarvan de steriliteit van belang is voor het welzijn van patiënten. Hiervoor zijn ook strenge kwaliteitssystemen voorzien en worden de specifieke eisen en normen strikt opgevolgd. Wat de inactivatie betreft van infectieus afval dat voortkomt uit activiteiten van labo's in de microbiologie, voor biomedisch onderzoek, productie van of onderzoek gebruik makend van GGO's en/of pathogenen bestaan er eigenlijk geen standaardnormen voor de validatie. Niettemin werden reeds veel voorstellen gedaan, hoofdzakelijk gebaseerd op de bestaande normen voor de sterilisatie van medisch materiaal en voor een groot deel op « gezond verstand ». Dit laatste leunt vooral op een gedegen kennis van de gangbare principes inzake bioveiligheid (18,19). Voor de aanbevelingen die beschreven worden in dit document, hebben we ons grotendeels laten inspireren door de bestaande normen voor sterilisatie en ook door de voorstellen die de Asia-Pacific Biosafety Association doet inzake procedures voor de validatie, opvolging en het routinegebruik wat betreft autoclaveren van afval van biomedische en microbiologische laboratoria. (18)

De voorstellen die geformuleerd worden in het project « Global Healthcare Waste Project » van de UNDP (United Nations Development Program, Global Environment Facility) die betrekking hebben op het beheer van medisch afval, zijn gebaseerd op een classificatiesysteem waarin specifiek de verschillende niveaus werden opgenomen van microbiële inactivatie van biomedisch afval (STAATT², 19). De prestatie die geëist wordt van de afvalbehandeling (autoclaveren) werd vastgelegd op een niveau dat overeenkomt met een vermindering van ten minste 6 logaritmen van bacteriën in vegetatieve vorm, van schimmels, lipofiele en hydrofiele virussen, van parasieten en mycobacteriën en een reductie van ten minste 4 logaritmen in geval van biologische indicatoren (sporen van *G. stearothermophilus* en van *B. atrophaeus*). De AFNOR-norm betreffende de toestellen die gebruikt worden voor de voorbehandeling en desinfectie van infectieus afval bepaalt een noodzakelijke reductie van microbiële lading van 5 logaritmen voor bacteriële en schimmelculturen en van 4 logaritmen voor type virussen (20).

In sommige faciliteiten worden autoclaven ook gebruikt voor het steriliseren van herbruikbaar materiaal. In dit geval moeten de frequentie en het aantal testen en controles opgetrokken worden gezien het goede verloop van activiteiten hiervan zal afhangen. De aanbevelingen die beschreven worden in dit document zijn niet van toepassing op dit type gebruik van de autoclaaf. Ze hebben enkel

² State and Territorial Association on Alternate Treatment Technologies

betrekking op het gebruik van de autoclaaf voor de inactivatie van afval afkomstig van activiteiten van ingeperkt gebruik van GGO's en/of pathogenen. Ze zijn ook niet van toepassing op de inactivatiesystemen die dikwijls gebruikt worden voor de inactivatie van grote hoeveelheden (large scale) vloeibaar afval (effluent).

Autoclaveren is een stap in de eliminatie van afval die als doel heeft de risico's te verminderen voor werknemers, patiënten, de gemeenschap en het milieu. We stellen hieronder enkele criteria voor die de validatie zouden moeten toelaten van de autoclaaf, aangepast aan specifieke gebruiksdoeleinden. De validatie van de autoclaaf wordt uitgebreid met permanente en periodieke controles van de inactivatieprocedures.

Aanbevelingen voor het opstellen van een plan voor de validatie en de controle van inactivatie van afval door autoclaveren.

Afval dat voortkomt uit activiteiten van ingeperkt gebruik van GGO's en/of pathogenen en dat bestemd is voor de autoclaaf, kan gewoonlijk onderverdeeld worden in:

- vast biologisch besmet afval : vaste cultuurmilieus, beddingmateriaal van dierversprek, enz.;
- vloeibaar biologisch besmet afval : vloeibare cultuurmilieus, celculturen, lichaamsvloeistoffen, enz.;
- biologisch besmet materiaal: glaswerk, kooien, enz.;
- besmet wegwerpmateriaal: wegwerpkledij, dozen, tubes, zakken, enz.

Bijlage 3 geeft bij wijze van voorbeeld weer wat de vereiste procedures zijn voor het verwijderen van afval dat voortkomt uit activiteiten van ingeperkt gebruik van GGO's en/of pathogenen voor installaties in het Brussels Hoofdstedelijk Gewest (21). Deze zijn in grote lijnen dezelfde als die worden toegepast in de andere Belgische gewesten.

In de meeste gevallen wordt van de sterilisatie met de autoclaaf een vermindering van de microbiële lading verwacht van 6 op een logaritmische schaal (SAL bepaald op 10^{-6}). Voor de sterilisatie van medisch materiaal of voedingsbodems waarop nog geënt moet worden is doorgaans de microbiële lading bij aanvang van gebruik niet erg hoog. Dit betekent dat een SAL waarde van 10^{-6} voor decontaminatie via sterilisatie een erg hoge eis is, met de garantie dat het product gesteriliseerd zal zijn en ontdaan van levensvatbare organismen. In het geval van afval, bijvoorbeeld afkomstig van microbiologische culturen, is de initiële microbiële lading (GGO en/of pathogenen) doorgaans veel hoger en levert een SAL waarde van 10^{-6} geen garantie dat het afval steriel is na een autoclaveringscyclus. Deze procedure van behandeling van besmet afval verzekert in dit geval een significante reductie van het aantal levensvatbare organismen en een vermindering van het risico voor de volksgezondheid en voor de leefmilieu.

Na autoclaveren kan het afval via verschillende wegen verder worden verwerkt:

- het afval wordt getransporteerd naar een verbrandingsoven in speciale verzegelde afvalvaten voor infectieus afval

- het afval wordt getransporteerd als niet gevaarlijk afval naar een verbrandingsoven. Vloeibaar afval kan echter, na inactivatie met de autoclaaf, verwijderd worden via de riolering.

In de praktijk wordt in België geïnactiveerd biologisch afval afkomstig van laboratoria met inperkingsniveau 3 verwijderd als infectieus afval. Er bestaat nog steeds een kans, hetzij een erg kleine, dat dit geautoclaveerd afval nog besmet is met micro-organismen en nog een risico betekent voor de volksgezondheid en voor het leefmilieu. Geïnactiveerd afval afkomstig van installaties van inperkingsniveau 1 en 2 kan ook verwijderd worden via deze weg, maar dit is niet verplicht. Het kan dus ook verder verwerkt worden als niet risicohoudend afval.

In afwachting van het transport naar de verbrandingsoven, worden de afvalvaten opgeslagen in een daartoe bestemd lokaal. **Het risico van afval dat geïnactiveerd werd met stoomsterilisatie is sterk gedaald, zowel door het sterilisatieproces zelf als door de opslag in verzegelde afvalvaten** (in een lokaal waartoe enkel bevoegd personeel toegang krijgt).

Validatie van de autoclaaf:

De autoclaaf zou moeten gevalideerd worden bij de installatie (ingebruikstelling en validatie van de werking) en tijdens de verwerking van een lading (validatie van de prestatie) in elke faciliteit waar stoomsterilisatie wordt gebruikt voor het inactiveren van afval, onafhankelijk van het inperkingsniveau ervan. De validatie van de autoclaaf bij de installatie levert het bewijs dat het toestel functioneert volgens de specificaties van de fabrikant en dat de sterilisatiecycli betrouwbaar en reproduceerbaar zijn. Een validatie van de lading (afval van dierversprekingsmiddelen, laboratoria, droge en vochtige materie, beddingmateriaal, enz.) verzekert de validatie van de afvalverwerkingsprogramma's gebruikt voor specifiek afval verbonden aan het type activiteit.

Validaties (testen met lege en gevulde autoclaaf) zouden één tot twee keer per jaar uitgevoerd moeten worden, in het uiterste geval om de twee jaar. Een manier om dit uit te voeren is bijvoorbeeld het verdelen over de lading van geijkte en gecertificeerde temperatuursondes om zo het temperatuurprofiel van de cyclus te controleren (18). Verschillende types standaardladingen kunnen gebruikt worden (2 tot 4 types) waarvan er één een lading moet voorstellen die moeilijk gedecontamineerd kan worden. Bij deze validaties worden er ook biologische indicatoren gebruikt.

De validatie is geslaagd wanneer de verwachte waarden en de inactivatie van de indicator reproduceerbaar zijn gedurende drie opeenvolgende cycli. Enkel gebruik van de biologische indicator (sporen van *G. stearothermophilus*) als gouden standaard is een andere manier om de validatie van inactivatie van medisch afval uit te voeren: de sporen moeten telkens geïnactiveerd zijn gedurende drie opeenvolgende cycli (19).

Routine controle:

Het opstellen van de procedures voor de routinecontroles zou rekening moeten houden met de frequentie van gebruik van de autoclaaf, het inperkingsniveau van de faciliteit en de uiteindelijke

verwerking en bestemming van het afval. Hoe intenser en frequenter het gebruik van de autoclaaf, hoe meer de sterilisatiecyclus gecontroleerd zou moeten worden. Hetzelfde geldt voor het inperkingsniveau van de faciliteiten: de frequentie en het aantal testen zouden hoger moeten zijn voor afval dat afkomstig is van activiteiten van risiconiveau 3.

Het is van belang erover na te denken welke test(en) men wil gebruiken. Bepaalde indicatoren zijn preciezer of strikter (het voorbeeld van de biologische indicatoren), waardoor het gebruik van andere testen overbodig wordt.

Algemeen gezien, **voor elk type installatie en bij elk sterilisatiecyclus**, zou op zijn minst **het temperatuur-tijdsprofiel moeten gecontroleerd worden** voor de routineopvolging van de autoclaaf (indien mogelijk weergegeven op diagram of uitprint). Bepaalde autoclaven beschikken daarom over geïntegreerde thermokoppels. Het gebruik van **kleurindicatoren van klasse 1** (procesindicatoren, zie tabel 1) is bijzonder nuttig gebleken bij erg frequent gebruik van de autoclaaf. Deze registraties en alle andere informatie over de cyclus zouden moeten worden bewaard in een **logboek**.

In het geval dat het afval afkomstig is van een faciliteit van inperkingsniveau 2 en het vervolgens wordt verbrand, volstaat een minimale controleprocedure (nagaan van temperatuur-tijdsprofiel en indien mogelijk het gebruik van een indicator van klasse 1). Hetzelfde geldt voor afval dat afkomstig is van een faciliteit van inperkingsniveau 1. Het is nochtans aangeraden de efficiëntie van het proces te controleren met behulp van supplementaire testen zoals deze die hieronder worden beschreven.

Temperatuursondes, verdeeld over verschillende plaatsen in de lading, of multi-parameter indicatoren, zijn handig om na te gaan of het afval, op de gecontroleerde punten, de vereiste behandeling inzake contacttijd en/of temperatuur en/of stoom ondergaat (18). Ze kunnen ook de **minimumcontrole op de autoclaaf aanvullen** in het geval van afval afkomstig van activiteiten van een **hogere risicoklasse (risiconiveau 2 en 3)**. Men moet er dan wel rekening mee houden dat een goed gebruik van deze systemen eventueel een hoger risico inhoudt omdat deze sondes en indicatoren geplaatst moeten worden binnenin de lading die moet geïnactiveerd worden.

Indien men ervoor kiest het geïnactiveerde afval te laten verwijderen en verbranden als ongevaarlijk afval, moet de autoclaaf regelmatig gecontroleerd worden aan de hand van supplementaire testen zoals hieronder beschreven staan.

Periodieke controle met de **Bowie-Dick testen** (indicatoren van klasse 2) is belangrijk voor poreuze ladingen (instrumenten, doorlaatbaar materiaal dat de stoom of lucht absorbeert). Dit doet men elke dag, eenmaal per dag, in het kader van sterilisatie van medisch materiaal en bij het dagelijks gebruik van de autoclaaf. Deze vorm van controle is gemakkelijk uit te voeren en ze geeft een belangrijke indicatie over de penetratie-efficiëntie van de stoom in een lading. Bepaalde gebruikers oordelen dat de Bowie-Dick test te veeleisend is, wanneer gekeken wordt naar de eigenlijke eisen voor de inactivatie van afval (18). Nochtans kan deze test (of een biologische indicator, zie hieronder) op

regelmatige wijze gebruikt worden in geval van faciliteiten van inperkingsniveau 2 waarbij het afval wordt verwijderd als ongevaarlijk afval, waarbij de regelmaat van gebruik afhangt van de gebruiksfrequentie van de autoclaaf.

Indicatoren van klasse 5 en 6 (integratie en emulatie indicatoren) zijn handig bij controles van het profiel van de gekozen sterilisatiecyclus. Als de eerder beschreven controles en biologische indicatoren regelmatig worden gebruikt, zijn deze types indicatoren minder nuttig.

Biologische indicatoren, en voornamelijk deze die bestaan uit de resistente sporen van *G. stearothermophilus*, vormen de beste controle van de efficiëntie van de inactivatiecyclus. Het gebruik van fysicochemische indicatoren bovenop de biologische, stelt ons in staat veel doelgerichter te zoeken naar de oorzaken van een falende inactivatiecyclus ingeval een biologische indicator een positief resultaat (groei van sporen) geeft: de temperatuur, de contacttijd of de stoomkwaliteit.

Bij faciliteiten van inperkingsniveau 3 of indien de te autoclaveren lading erg verschilt van de gewoonlijke, zouden biologische indicatoren minstens eenmaal per maand gebruikt moeten worden ingeval van frequent gebruik van de autoclaaf, en eventueel bij elke sterilisatiecyclus. Deze indicatoren zouden ook regelmatig gebruikt moeten worden ingeval het afval afkomstig is van faciliteiten van inperkingsniveau 2 en het vervolgens als ongevaarlijk afval wordt verwijderd.

Tot slot kiezen sommige gebruikers voor een erg regulier controleprocédé in het begin wanneer een autoclaaf in gebruik genomen wordt (en na validatie), bijvoorbeeld één keer per week, met behulp van biologische indicatoren. Indien na enkele controles de resultaten zijn zoals verwacht, (geen groei van sporen), kunnen de controles gespreid worden in de tijd en vervolgens bijvoorbeeld nog éénmaal per maand gebeuren.

Tabel 2 hieronder lijst de verschillende indicatoren op die gebruikt kunnen worden bij validatiecontroles, rekening houdend met het risiconiveau van de activiteit (en beperkt tot laboratoriumactiviteiten).

Tabel 2: Voorstellen voor modaliteiten van validatie en routinecontrole van de autoclaaf

Type test	Inperkingsniveau van de installatie			
	L1	L2		L3
	Behandeling als gevaarlijk of ongevaarlijk afval	Behandeling als gevaarlijk afval	Behandeling als ongevaarlijk afval	Behandeling als gevaarlijk afval
Validatie van de autoclaaf+ onderhoud ³	Ja, één keer per jaar of om de twee jaar	Ja, één keer per jaar of om de twee jaar	Ja, één keer per jaar	Ja, één keer per jaar
Routinecontrole				
Logboek (traceerbaarheid)	Ja, bij elk gebruik	Ja, bij elk gebruik	Ja, bij elk gebruik	Ja, bij elk gebruik
Verifiëren uitprint. diagram indien beschikbaar	Ja, bij elke cyclus	Ja, bij elke cyclus	Ja, bij elke cyclus	Ja, bij elke cyclus
Indicator klasse 1	Ja, bij elke cyclus	Ja, bij elke cyclus	Ja, bij elke cyclus	Ja, bij elke cyclus
Indicator klasse 2 (Bowie en Dick)	Neen, maar aanbevolen	Neen, maar aanbevolen	Ja, 1 keer per maand tot elke 6 maand*	Ja, 1 keer per week tot 1 keer per maand*
Indicator klasse 4 (multi-parameter)	Neen	Neen	Neen, maar aanbevolen	Ja, 1 keer per maand tot elke 6 maand*
Indicatoren klasse 5 en 6	Neen	Neen	Neen	Neen **
Biologische indicator	Neen, maar aanbevolen	Neen, maar aanbevolen	Ja, 1 keer per maand tot elke 6 maand	Ja, 1 keer per week tot 1 keer per maand

* rekening houdend met de controlefrequentie met biologische indicatoren

** rekening houdend met de aard van de lading

³ De procedure is kort beschreven in dit document in hoofdstuk 5. De details worden beschreven in de ISO-norm 17665 – 1 : 2006 (10)

8. Conclusie

De validatie van de autoclaaf en de controle op de inactivatie van biologisch afval zijn geen standaardprocedures, en om een juiste validatie en controle uit te voeren moet er rekening gehouden worden met verschillende criteria. Deze procedures worden dus geval er geval bepaald. Dit document baseert zich op normen die gangbaar zijn voor validatie van en controle op de methodes van stoomsterilisatie van medisch afval. De voorgestelde testen zijn dus aan te passen aan de gekozen inactivatiemethode van afval afkomstig van activiteiten van ingeperkt gebruik van GGO's en/of pathogenen. Om een aangepaste procedure uit te werken, stelt dit document voor om rekening te houden met de volgende criteria:

- de wijze waarop het geautoclaveerde afval wordt verwijderd: gevaarlijk afval of niet. Dit betreft gewoonlijk de faciliteiten van inperkingsniveau 2;
- het inperkingsniveau van de betrokken faciliteit;
- de frequentie waarmee de autoclaaf gebruikt wordt.

De criteria die hier in overweging worden genomen zijn niet volledig; andere criteria kunnen een invloed hebben op de keuze van de validatieprocedure voor de inactivatie van afval met de autoclaaf. Bijvoorbeeld, in het kader van een gecentraliseerd afvalbeheer van afval afkomstig van activiteiten van verschillende risiconiveaus is de procedure voor de validatie en controle van de inactivatie via autoclavering doorgaans dezelfde voor alle types afval. In dit geval zullen criteria als rationalisering en budgettaire redenen de overhand halen, en de inactivatie via autoclavering gebruikt voor het biologisch besmet afval in zijn geheel zal deze zijn die geldt voor afval afkomstig van activiteiten van het hoogste risiconiveau.

9. Bijlagen

Bijlage 1: Verwerking van afval en/of biologisch materiaal afkomstig van activiteiten van ingeperkt gebruik van GGO's en/of pathogenen

De verwerking van afval en/of biologische residu's beantwoordt aan de voorwaarden die worden bepaald in de regionale besluiten met betrekking tot het ingeperkt gebruik van GGO's en/of pathogenen. In België bestaat tot op heden geen faciliteit van inperkingsniveau 4, en dus wordt dit niveau niet opgenomen in de onderstaande tabellen.

Deze voorwaarden zijn als volgt:

Laboratoria

L1

- Besmet biologisch afval en/of biologische residu's en besmet wegwerpmateriaal moeten geïnactiveerd worden volgens een geschikte, gevalideerde methode vooraleer het verwijderd wordt, bijv. d.m.v. autoclaving of door verbranding. De verbranding wordt uitgevoerd door een erkend bedrijf.
- Het afval wordt verzameld in stevige en lekvrije recipiënten. Deze moeten gesloten worden voor ze het laboratorium verlaten.
- Biologisch besmet materiaal (glaswerk, draagglasjes enz...) wordt geïnactiveerd volgens een geschikte, gevalideerde methode vóór het schoonmaken, het hergebruiken en/of het vernietigen.
- Autoclaaf is aanwezig op de site

L2

- L1-voorwaarden.
- De zakken of containers voor het verzamelen van infectieus afval zijn voorzien van een biorisicoteken en worden gesloten voor ze het laboratorium verlaten.
- Autoclaaf aanwezig in het gebouw

L3

- L2-voorwaarden.
- De zakken of containers voor het verzamelen van infectieus afval worden gesloten en gedesinfecteerd voor ze de ingeperkte zone verlaten.
- Effluenten van wasbakken en douches worden bij voorkeur geïnactiveerd volgens een geschikte, gevalideerde methode vóór eindafvoer.

- Autoclaaf aanwezig in het laboratorium of aangrenzende lokalen en bestaan van gevalideerde procedures om op een veilige manier het afval naar een autoclaaf buiten het laboratorium te brengen waarbij een equivalent niveau van bescherming geboden wordt

Proefdierverblijven

A1

- Biologisch besmet afval en/of biologische residu's (kadavers, uitwerpselen, besmette bedding, enz...) en besmet wegwerpmateriaal moeten geïnactiveerd worden volgens een geschikte en gevalideerde methode vooraleer te verwijderen, bijv. door autoclaving of verbranding. De verbranding wordt uitgevoerd door een erkend bedrijf. De zakken of containers waarin het biologisch besmet afval wordt verzameld zijn resistent, lekvrij, en gesloten bij het verlaten van de inperkingszone
- Biologisch besmet materiaal (glaswerk, kooien enz...) moet geïnactiveerd worden volgens een geschikte en gevalideerde methode vooraleer het te reinigen, opnieuw te gebruiken of te vernietigen.
- Autoclaaf is aanwezig op de site

A2

- A1-voorwaarden
- Autoclaaf aanwezig in het gebouw

A3

- A2-voorwaarden
- De zakken of containers voor het verzamelen van infectieus afval worden gesloten en gedesinfecteerd voor ze de ingeperkte zone verlaten.
- Effluënten van wasbakken en douches worden bij voorkeur geïnactiveerd volgens een geschikte, gevalideerde methode vóór eindafvoer.
- Autoclaaf aanwezig in het laboratorium of aangrenzende lokalen en bestaan van gevalideerde procedures om op een veilige manier het afval naar een autoclaaf buiten het laboratorium te brengen waarbij een equivalent niveau van bescherming geboden wordt.

Serres (« Greenhouse »)

G1

- Biologisch besmet afval en/of biologische residu's (planten, substraten, enz...) en besmet wegwerpmateriaal moeten geïnactiveerd worden volgens een geschikte en gevalideerde methode vooraleer te verwijderen, bijv. door autoclaving of verbranding. De verbranding wordt uitgevoerd door een erkend bedrijf. De zakken of containers waarin het biologisch

besmet afval wordt verzameld zijn resistent, lekvrij en gesloten bij het verlaten van het laboratorium.

- Biologisch besmet materiaal (glaswerk, draagglasjes enz...) moet geïnactiveerd worden volgens een geschikte en gevalideerde methode vooraleer het te reinigen, opnieuw te gebruiken of te vernietigen.
- Autoclaaf is aanwezig op de site

G2

- G1-voorwaarden
- Autoclaaf aanwezig in het gebouw.

G2Q

- G2-voorwaarden
- Een autoclaaf is beschikbaar in de serre of in de kweekkamer. Indien hier niet aan kan voldaan worden, moet men gevalideerde procedures voorzien voor de overbrenging van materiaal uit de serre of de kweekkamer naar de autoclaaf
- Indien er overdracht kan gebeuren via de grond, moet men vermijden dat besmet water kan doordringen of wegsijpelen. In dit geval moet het afvloeiingswater opgevangen en geïnactiveerd worden.
- De zakken of containers voor het verzamelen van het biologisch besmet afval worden gesloten en gedesinfecteerd voor ze de ingeperkte zone verlaten.

Activiteiten op grote schaal (« Large-scale »)

LS1

- Biologisch besmet afval en/of biologische residu's en besmet wegwerpmateriaal moeten geïnactiveerd worden volgens een geschikte en gevalideerde methode vooraleer te verwijderen, bijv. door autoclavering of verbranding. De verbranding wordt uitgevoerd door een erkend bedrijf. De zakken of containers waarin het biologisch besmet afval wordt verzameld zijn resistent, lekvrij en gesloten bij het verlaten van de installatie
- Besmet materiaal (glaswerk, draagglasjes enz...) moet geïnactiveerd worden volgens een geschikte en gevalideerde methode vooraleer het te reinigen, opnieuw te gebruiken of te vernietigen
- Autoclaaf is aanwezig op de site.

LS2

- LS1-voorwaarden
- De zakken of containers voor het verzamelen van infectieus afval worden gesloten en gedesinfecteerd voor ze de ingeperkte zone verlaten en zijn voorzien van het biorisicoteken.

- De productie-uitrustingen zijn voorzien van of zijn rechtstreeks gekoppeld aan een inactiveringssysteem voor biologisch materiaal (bijv. gekoppeld aan een ontsmettingsinstallatie)
- Autoclaaf aanwezig in het gebouw.

LS3

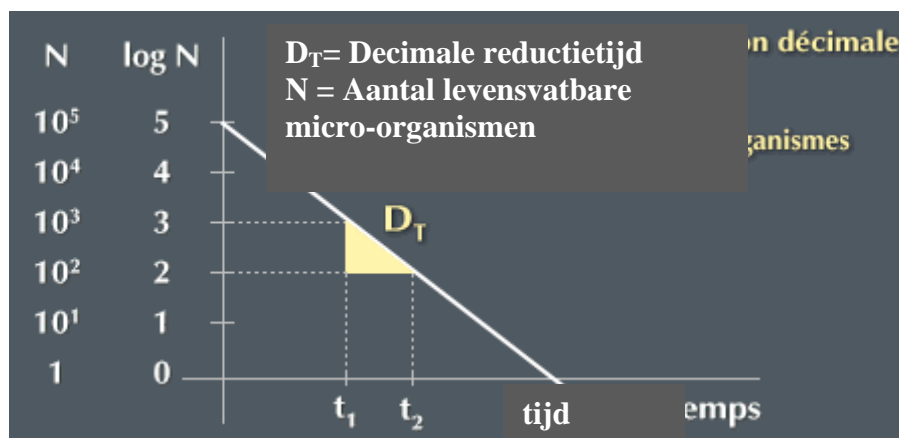
- LS2-voorwaarden
- Effluenten van wasbakken en douches worden bij voorkeur geïnactiveerd volgens een geschikte, gevalideerde methode vóór eindafvoer.
- Een doorgeefautoclaaf is beschikbaar in de faciliteit. De autoclaaf moet zodanig ontworpen zijn dat gelijktijdige opening van de deuren aan beide zijden van de autoclaaf onmogelijk is.

Bijlage 2: Meer over stoomsterilisatie

1. Hieronder enkele belangrijke begrippen in het kader van de inactivatie van micro-organismen door hitte:

- De **D-waarde** of de **decimale reductietijd** (figuur 1, tabel 1) is een kenmerk van thermische resistentie van een micro-organisme. Ze geeft de nodige tijd weer die nodig is om, bij een bepaalde temperatuur, te komen tot een reductie van 90% van de bacteriële populatie of de reductie van 1 logaritme. Voor *G. stearothermophilus* is de D-waarde bij 121 °C (D_{121}) 1,5 minuten.
- De **Z-waarde** of de **thermische inactivatiewaarde** geeft de temperatuursverandering die nodig is om de D-waarde met 1 logaritme te verminderen. Voor *G. stearothermophilus* is de Z-waarde 10°C.
- De **F₀-waarde** of « **sterilisatiewaarde** » is de verhittingstijd (in minuten) die nodig is om een bepaald aantal micro-organismen af te doden waarvan de Z-waarde 10°C is bij een temperatuur van 121,1°C.
- De **F-waarde** is de verhittingstijd (in minuten) nodig om een bepaald aantal micro-organismen af te doden met een bepaalde Z-waarde bij een bepaalde temperatuur.

Figure 1 : Overlevingscurve van een micro-organisme bij een constante temperatuur



Tabel 1 : De decimale reductietijd voor enkele bacteriën

Organisme	Tijd, T /°C	D-waarde, D _T
<i>Campylobacter jejuni</i>	55	1 min
<i>Salmonella spp</i>	60	0.98 min
<i>Listeria monocytogenes</i>	71.7	3.3 sec
<i>Escherichia coli</i>	71.7	1 sec
<i>Staphylococcus aureus</i>	71.7	4.1 sec
<i>Clostridium perfringens</i>	90	145 min
<i>Clostridium botulinum</i>	121.1	12 sec
<i>Bacillus stearothermophilus</i>	121.1	5.0 min

2. Om de ideale sterilisatiecyclus te bepalen worden drie parameters in rekening gebracht:

- het aantal en het type micro-organismen op een besmet voorwerp ("bioburden");
- de D-waarde, karakteristiek voor de thermische resistentie van het micro-organisme;
- de vereiste SAL, meestal = 10^{-6} of 10^{-3} .

Als de microbiële lading die men wilt inactiveren niet gekend is, of wanneer het om een complexe lading gaat, wordt de « Overkill approach » gebruikt. Hierbij wordt een bacteriële stam (sporen) gebruikt die erg hitteresistent is, met een lading van 10^6 en waarvan de D-waarde bij 121.1°C ($D_{121,1}$) gelijk is aan 2 minuten. Voor een grotere zekerheid wordt de D-waarde opgetrokken tot 2,5 minuten

« Bioburden » = 10^6

SAL = 10^{-6}

De vereiste vermindering komt overeen met $(6+6)\log = 12\log$

$$\Rightarrow (12\log) (2.5\text{min}/\log) = 30 \text{ minuten}$$

Bij $121,1^{\circ}\text{C}$, moet een lading van 10^6 micro-organismen dus 30 minuten gesteriliseerd worden om een overlevingskans te hebben van 1 micro-organisme op 1 miljoen na een sterilisatiecyclus.

Bijlage 3: Verschillende manieren van verwerking van biologisch besmet afval in het Brussels Hoofdstedelijk Gewest

Tabel 1: Inperkingsniveau L1

Type afval	Inactivatiemethode aan de bron	Conditionnering	Verwijderingsmethode	Uiteindelijke bestemming of finale inactivatiewijze
Vloeibaar afval	Thermisch (via autoclaaf)	Recipiënt (niet gespecificeerd)	Gootsteen	Riolering
	Geen (of optioneel via autoclaaf)	Gele biohazardvaten	Erkende ophaler van gevaarlijk afval	Verbranding
Vast afval	Thermisch (via autoclaaf)	Afvalvaten voor ongevaarlijk bedrijfsafval, dubbele verpakking met plastic zakken Of gesloten afvalvaten verschillend van huisvuilcontainers, compacteercontainer, geplaatst op een speciaal daarvoor bestemde locatie binnen het bedrijf	Ophaler van huisvuil Ophaler van niet-inert en ongevaarlijk afval	Verbranding
	Geen (of optioneel via autoclaaf)	Gele biohazardvaten	Erkende ophaler van gevaarlijk afval	Verbranding
	Geen (of optioneel via autoclaaf)	Gele biohazardvaten of biohazard kartonnen dozen	Erkende ophaler van gevaarlijk afval	Verbranding

Tabel 2: Inperkingsniveau L2

Type afval	Inactivatiemethode aan de bron	Conditionnering	Verwijderingsmethode	Uiteindelijke bestemming of finale inactivatiewijze
Vloeibaar afval	Thermisch (via autoclaaf)	Recipiënt (niet gespecificeerd)	Gootsteen	Riolering
	Geen (of optioneel via autoclaaf)	Gele biohazardvaten	Erkende ophaler van gevaarlijk afval	Verbranding
Vast afval	Thermisch (via autoclaaf)	Afvalvaten voor niet-gevaarlijk bedrijfsafval, dubbele verpakking met plastic zakken Of gesloten afvalvaten verschillend van huisvuilcontainers, compacteercontainer, geplaatst op een speciaal daarvoor bestemde locatie binnen het bedrijf	Ophaler van huisafval Ophaler van niet-inert en ongevaarlijk afval	Verbranding
	Geen (of optioneel via autoclaaf)	Gele biohazardvaten	Erkende ophaler van gevaarlijk afval	Verbranding
	Geen (of optioneel via autoclaaf)	Gele biohazardvaten of biohazard kartonnen dozen	Erkende ophaler van gevaarlijk afval	Verbranding

Tabel 3: Inperkingsniveau L3

Type afval	Inactivatiemethode aan de bron	Conditionnering	Verwijderingsmethode	Uiteindelijke bestemming of finale inactivatiewijze
Vloeibaar afval	Thermisch (via autoclaaf)	Gele biohazardvaten	Erkende ophaler van gevaarlijk afval	Verbranding
Vast afval	Thermisch (via autoclaaf)	Gele biohazardvaten	Erkende ophaler van gevaarlijk afval	Verbranding

Tabel 4: Inperkingsniveau A1

Type afval	Inactivatiemethode aan de bron	Conditionnering	Verwijderingsmethode	Uiteindelijke bestemming of finale inactivatiewijze
Bedding en uitwerpselen	Thermisch autoclaaf) (via	Afvalvaten voor niet-gevaarlijk bedrijfsafval, dubbele verpakking met plastic zakken Of gesloten afvalvaten verschillend van huisvuilcontainers, compacteercontainer, geplaatst op een speciaal daarvoor bestemde locatie binnen het bedrijf	Erkende ophaler, geregistreerd als ophaler van dierlijke bijproducten van categorie 2) (Ophaler van huisvuil Ophaler van niet-inert en ongevaarlijk afval)	Verbranding

Tabel 5: Inperkingsniveau A2

Type afval	Inactivatiemethode aan de bron	Conditionnering	Verwijderingsmethode	Uiteindelijke bestemming of finale inactivatiewijze
Bedding en uitwerpselen	Thermisch autoclaaf) (via	Vuilbakken voor niet-gevaarlijk bedrijfsafval, dubbele verpakking met plastic zakken Of gesloten afvalvaten verschillend van huisvuilcontainers, compacteercontainer, geplaatst op een speciaal daarvoor bestemde locatie binnen het bedrijf	Erkende ophaler, geregistreerd als ophaler van dierlijke bijproducten van categorie 2) (Ophaler van huisafval Ophaler van niet-inert en ongevaarlijk afval)	Verbranding

Tabel 6: Inperkingsniveau A3

Type afval	Inactivatiemethode aan de bron	Bewaring	Verwijderingsmethode	Uiteindelijke bestemming of finale inactivatiewijze
Bedding en uitwerpselen	Thermisch autoclaaf) (via	Gele biohazardvaten Containers, vaten,...hermetisch afsluitbaar en voorzien van signalisatietekens	Erkende ophaler van gevaarlijk afval, geregistreerd als ophaler van dierlijke bijproducten van categorie 2)	Verbranding
	Alternatief voor autoclaaf (chemische en thermische inactivatie in speciaal hiervoor bestemde container)	Gele biohazardvaten Containers, vaten,...hermetisch afsluitbaar en voorzien van signalisatietekens	Erkende ophaler van risicohoudend afval, geregistreerd als ophaler van dierlijke bijproducten van categorie 2)	verbranding

Referenties

1 : Richtlijn 91/689/EEG van de Raad van 12 december 1991 betreffende gevaarlijke afvalstoffen, gewijzigd door de Richtlijn 94/31/EG en ter vervanging van Richtlijn 78/319/EEG van de Raad betreffende toxische en gevaarlijke afvalstoffen

2 : Besluiten van de gewestelijke overheden

- Besluit van de Vlaamse Regering van 6 februari 2004 tot wijziging van het besluit van de Vlaamse Regering van 6 februari 1991 houdende vaststelling van het Vlaamse reglement betreffende de milieuvergunning, en van het besluit van de Vlaamse Regering van 1 juni 1995 houdende algemene en sectorale bepalingen inzake milieuhygiëne.
- Besluit van 8 november 2001 van de Brusselse Hoofdstedelijke Regering betreffende het ingeperkt gebruik van genetisch gemodificeerde en/of pathogene organismen en betreffende de indeling van de betrokken installaties.
- Arrêté du Gouvernement wallon du 4 juillet 2002 déterminant les conditions sectorielles relatives aux utilisations confinées d'organismes génétiquement modifiés ou pathogènes, modifié par l'Arrêté du Gouvernement wallon du 5 juin 2008 modifiant l'arrêté du Gouvernement wallon du 4 juillet 2002 *déterminant les conditions sectorielles relatives aux utilisations confinées d'organismes génétiquement modifiés ou pathogènes..*

3 : NF EN 12740 : 1999 : Biotechnologie – Laboratoria voor onderzoek, ontwikkeling en analyse – Leidraad voor de behandeling, de inactivering en de beproeving van afval.

4 : Bioveiligheidsaanbevelingen aangaande behandelings- en inactiveringsmethoden voor biologisch besmet afval. L. Berghmans, K. Pauwels, B. Van Vaerenbergh, C. Do Thi, P. Herman, 2006. Koninklijke bibliotheek van België. Depotnummer D/2006/2505/28.

5 : ISO 11139 : 2006 : Sterilisation of health care products – Vocabulary.

6 : NBN EN 285 : 1996 : Sterilisatie - Stoomsterilisatoren – Grote sterilisatoren

7 : NBN EN 13060 : 2004 : Kleine stoomsterilisatoren.

8 : NBN EN 12347 : 1998 : Biotechnologie – Prestatie-eisen voor stoomsterilisatoren en autoclaven.

9 : " Un service de Stérilisation à l'hôpital" 2002. Fiche d'exercice : interpréter un diagramme de stérilisation, définir les différentes étapes d'un cycle de stérilisation, mettre en relation étapes et comportement des emballages. CRDP du Nord – Pas-de-Calais

10 : NBN EN 554, vervangen door de norm NBN EN ISO 17665 – 1 : 2006 : Sterilisatie van producten voor de gezondheidszorg - Vochtige warmte - Deel 1: Eisen voor de ontwikkeling, validatie en routinecontrole van een sterilisatieproces voor medische hulpmiddelen

11 : Koninklijk besluit van 18 oktober 1991 betreffende de stoomtoestellen die Richtlijn 87/404/EEG van de Raad van 25 juni 1987 omzet betreffende de onderlinge aanpassing van de wetgevingen van de Lid-Staten inzake drukvaten van eenvoudige vorm

12 : Quality assurance in the food control microbiological laboratory, 1992, Volume 12, Food and Agriculture Organization of the United Nations.

13 : EN 867-1, vervangen door de norm NBN EN ISO 11140-1 : 2005 : Sterilisatie van producten voor de gezondheidszorg - Chemische indicatoren - Deel 1: Algemene eisen.

- 14 : EN 867-5, vervangen door de norm NBN EN ISO 11140-5 : 2007 : Sterilisation of health care products – chemical indicators- Part 5: Class 2 indicators for Bowie and Dick type air removal tests.
- 15 : NBN EN ISO 11138-1 : 2006 : Sterilisatie van producten voor de gezondheidszorg – Biologische indicatoren – Deel 1 : Algemene eisen
- 16 : NBN EN ISO 11138-3 : 2006 : Sterilisatie van producten voor de gezondheidszorg – Biologische indicatoren – Deel 3 – Biologische indicatoren voor stoomsterilisatieprocessen.
- 17 : EN 866-3 :1997 : Biologische systemen voor de beproeving van sterilisatoren en sterilisatieprocessen - Deel 3 : Bijzondere systemen voor toepassing in sterilisatoren met vochtige warmte.
- 18 : Autoclave validation for microbiological and biomedical laboratories. F. Gmuender. Asia-Pacific Biosafety Association Newsletter, Jan 2010, Vol3, N°1.
- 19 : Guide de test de provocation microbiologique des autoclaves de traitement de déchets médicaux. J. Emmanuel en E. Krisiunas. United Nations Development Programme, GEF Global Healthcare Waste Project. Novembre 2010.
- 20: NF X 30-503, Juin 2004: Réduction des risques microbiologiques et mécaniques par les appareils de prétraitement par désinfection des déchets d'activités de soins à risques infectieux et assimilés
- 21 : Gestion des Déchets biologiquement contaminés et lignes directrices et filières d'élimination en Région de Bruxelles-Capitale. Tableaux récapitulatifs élaborés à l'IBGE par Mme C. Jasinski en collaboration avec les services Autorisation, Inspection et le SBB.

