

# Mesures génériques de confinement et autres mesures de protection **Laboratoires de niveau L2 dans lesquels s'effectue la primo-identification des bactéries du complexe *Mycobacterium tuberculosis***

---

**Document de référence utilisé par le Service de Biosécurité et Biotechnologie comme annexe aux avis remis aux autorités compétentes ou aux notifiants dans le cadre des arrêtés régionaux en matière d'utilisation confinée d'organismes génétiquement modifiés et/ou pathogènes.**

## **Agencement et caractéristiques techniques des laboratoires**

- 1. La manipulation de mycobactéries doit s'effectuer dans un local séparé\*.**
- 2. Les portes d'accès aux laboratoires sont verrouillables et pourvues d'un système de fermeture automatique (rappel de porte).**
3. Le mobilier est conçu de manière à faciliter le nettoyage et le programme de contrôle des insectes et des rongeurs.
4. Les laboratoires doivent disposer d'un évier pour le lavage et la décontamination des mains.
5. Des vestiaires ou portemanteaux sont mis à disposition du personnel pour les vêtements de protection. Les vêtements de protection et les vêtements de ville ne sont pas mis en contact.
6. Les tables de travail sont faciles à nettoyer, imperméables à l'eau, résistantes aux substances acides ou alcalines, aux solvants organiques, aux désinfectants et aux agents de décontamination utilisés.
- 7. Le laboratoire L2 est ventilé de manière adéquate afin de minimiser les risques de contamination de l'air.**

## **Équipements de sécurité**

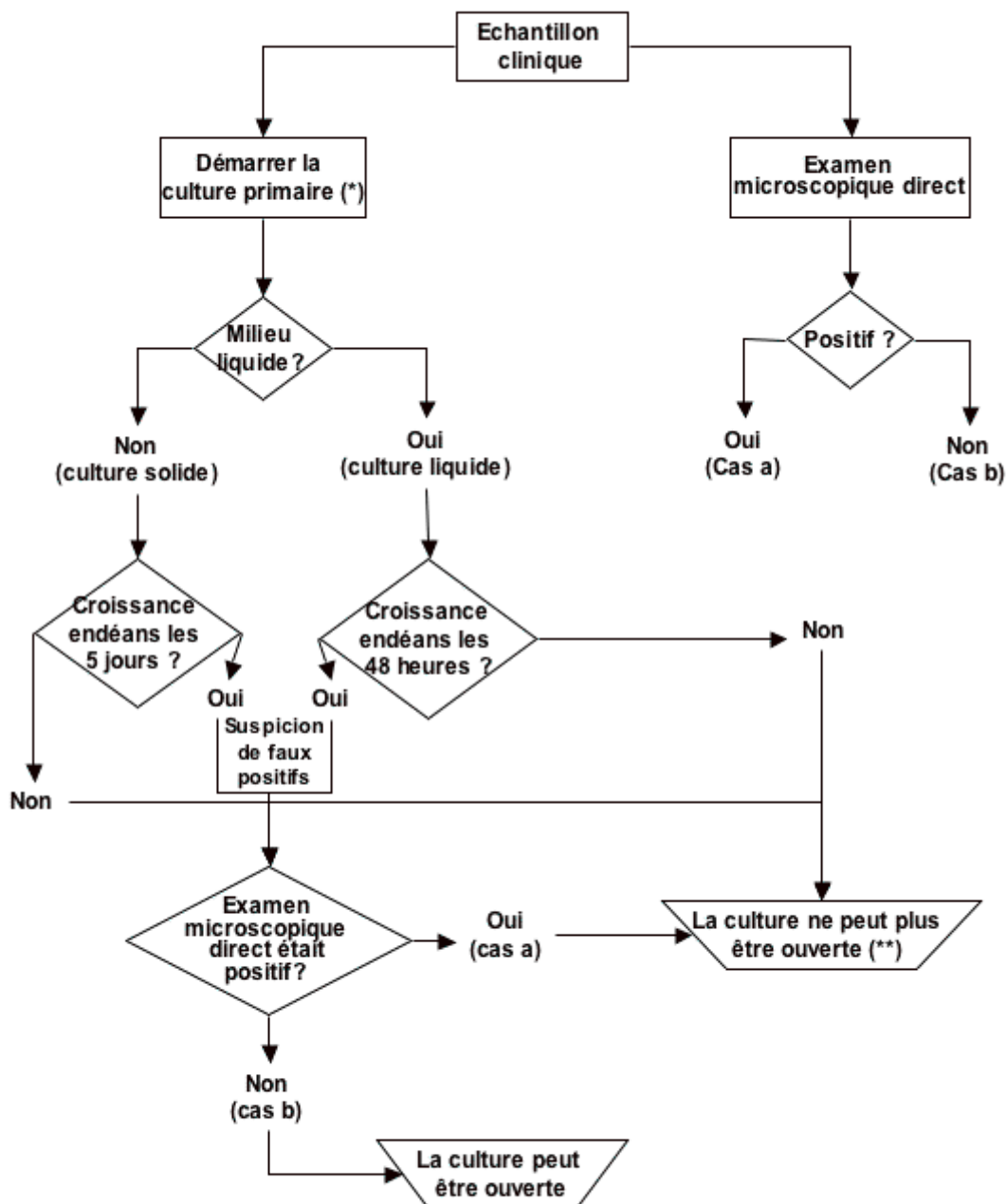
8. **Le laboratoire dispose d'un équipement spécifique réservé à la manipulation des échantillons et primo-cultures susceptibles de contenir ou contenant des mycobactéries du complexe tuberculosis. Il s'agit du matériel et de l'appareillage de laboratoire comme les pipettes, les öses, les flacons de cultures, les rotors ou les nacelles avec système de fermeture hermétique, vortex et aussi une enceinte de biosécurité microbiologique et une centrifugeuse\*.**
9. **Le laboratoire est équipé d'une enceinte de sécurité microbiologique de classe I ou II.** Celle-ci est placée à l'écart des portes, fenêtres, grilles d'arrivée et d'évacuation d'air et des endroits de passage fréquent. Elle est installée de manière à ne pas perturber l'équilibre des courants d'air à l'intérieur de la zone de travail. Elle est conforme à la norme européenne EN 12469. Elle est contrôlée et certifiée au placement, après chaque déplacement et au moins une fois par an.
10. Si l'inactivation des déchets et/ou matières biologiques résiduelles est effectuée par stérilisation à la vapeur, **un autoclave est disponible dans le local ou à proximité des laboratoires.**
11. **Le laboratoire est équipé d'une centrifugeuse dont le rotor ou les nacelles présentent un système de fermeture hermétique ("safety cups"). Les tubes de centrifugation sont à fermeture hermétique et à usage unique.**

---

\* Sauf exception ou si spécifié autrement par l'autorité compétente dans l'autorisation.

## Pratiques de travail

12. L'accès aux laboratoires est réservé aux personnes autorisées par le responsable et informées des risques potentiels.
13. Sur les portes d'accès aux laboratoires figure l'affichage suivant:
  - le pictogramme "Danger biologique",
  - le niveau de confinement,
  - les coordonnées du responsable du laboratoire.
  - **la nature du risque biologique.**
14. L'emploi d'une tenue de protection est requis. Cette tenue de protection ne peut pas être portée en dehors des laboratoires.
15. Le port des gants par le personnel de laboratoire est requis.
16. Les fenêtres éventuelles restent fermées durant l'expérimentation.
17. En dehors des manipulations, les micro-organismes pathogènes viables sont physiquement confinés dans des systèmes (tubes, boîtes, ...) fermés.
18. **Toute manipulation susceptible de générer des aérosols infectieux est réalisée sous l'enceinte de sécurité microbiologique de classe I ou II. Ceci concerne notamment la préparation de lames, le "pipetage", l'ouverture des rotors ou nacelles hermétiques et les tubes après centrifugation ainsi que l'ouverture des tubes "vortexés".**
19. **Les prélèvements cliniques qui sont traités avec un volume égal d'hypochlorite de sodium à 5% pendant 15 minutes avant neutralisation peuvent être manipulés (par exemple pour l'étalement sur lame) hors de l'enceinte de sécurité microbiologique et être centrifugés dans une centrifugeuse classique.**
20. Des dispositifs de pipetage mécanique sont utilisés. Le pipetage à la bouche est proscrit.
21. Il est interdit de manger, boire, fumer, de manipuler des lentilles de contact, d'utiliser des produits cosmétiques ou de stocker de la nourriture destinée à la consommation humaine dans les laboratoires.
22. Un registre consignait tous les micro-organismes pathogènes manipulés et stockés doit être tenu.
23. **Les mesures de contrôle ainsi que l'équipement de protection sont vérifiés de manière appropriée et régulière.**
24. Les expérimentateurs se lavent les mains avant de quitter le laboratoire pour une autre activité et chaque fois que cela s'avère nécessaire.
25. Les surfaces de travail sont décontaminées à l'aide d'un désinfectant approprié une fois le travail terminé et chaque fois que du matériel biologique est répandu.
26. Une notice mise à disposition du personnel spécifie le mode d'emploi des désinfectants et précise en fonction du but recherché, la nature du désinfectant à utiliser, sa concentration et le temps de contact.
27. Une instruction du personnel sur les aspects biosécuritaires est organisée ainsi qu'un suivi et une mise à jour régulière.
28. Des instructions écrites ou un manuel de sécurité biologique est préparé et adopté. Le personnel est prévenu des risques particuliers auxquels il est exposé et est tenu de lire les instructions sur les pratiques de travail. La conduite à tenir en cas d'accident est clairement affichée dans le laboratoire.
29. Le pictogramme "Danger biologique" est apposé sur les incubateurs, frigos, congélateurs et cryopréservateurs à azote liquide contenant du matériel biologique de classe de risque 2 ou supérieure.
30. Un programme de contrôle efficace des insectes et des rongeurs est mis en application.
31. La circulation d'animaux dans le laboratoire est interdite.



(\*) Les primo-cultures (concerne uniquement les cultures réalisées à partir de l'échantillon clinique) doivent être réalisées, dans la mesure du possible, en récipients incassables. (\*\*) La culture ne peut pas être ouverte pendant ou après la croissance, y compris la prise d'échantillon par piqûre au travers d'un septum pour l'analyse des cultures positives au moyen d'un examen microscopique, d'une technique moléculaire (telle que la PCR) ou pour ensemercer des cultures secondaires. L'identification et/ou la manipulation de primo-cultures positives n'est en aucun cas autorisée. L'identification des espèces du complexe *M. tuberculosis* nécessite l'envoi des échantillons (tubes fermés) à un laboratoire de niveau de confinement L3.

## Gestion des déchets

32. Les déchets et/ou matières biologiques résiduelles contaminés et le matériel contaminé à usage unique sont inactivés par un procédé approprié et validé avant évacuation, par exemple par autoclavage ou incinération. L'incinération est effectuée par une installation agréée. Les sacs ou les conteneurs utilisés pour la collecte des déchets infectieux sont résistants, étanches, marqués du pictogramme "Danger biologique" et fermés avant de quitter le laboratoire.
33. Avant lavage, réemploi et/ou destruction, le matériel contaminé (verrerie, lames, etc.) est inactivé par un procédé approprié et validé.

Ce document est établi par le Service de Biosécurité et Biotechnologie dans la cadre de sa mission d'expert technique fixée par l'accord de coopération du 25 avril 1997. Il est rédigé sur base des dispositions des arrêtés régionaux en matière d'utilisation confinée d'organismes génétiquement modifiés et/ou pathogènes. Il présente en langage commun les exigences minimales de confinement auxquelles doivent répondre les installations visées par ces arrêtés. Ces exigences doivent être considérées sans préjudice de mesures spécifiques supplémentaires qui pourraient être imposées au cas par cas dans le cadre des autorisations délivrées par les autorités compétentes en application des arrêtés susmentionnés.