

Mesures génériques de confinement et autres mesures de protection **Laboratoires qui ont pour activité l'exécution de tests de détection rapide de la BSE**

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 du laboratoire

1. Le laboratoire est physiquement séparé des autres zones d'activités dans le bâtiment ou est situé dans un bâtiment séparé. Le laboratoire est exclusivement réservé aux manipulations BSE.
2. L'entrée au laboratoire s'effectue via un sas*.
3. La porte d'entrée du sas peut être verrouillée et pourvue d'une fermeture automatique (rappel de porte).
4. Les fenêtres sont scellées hermétiquement.
5. Le mobilier est conçu de manière à faciliter le nettoyage et la décontamination du local, ainsi que le programme de contrôle des insectes et des rongeurs.
6. Le laboratoire est pourvu d'une fenêtre d'observation ou d'un système équivalent permettant de voir les occupants depuis l'extérieur.
7. La zone confinée dispose d'un évier pour le lavage et la décontamination des mains. Cet évier est disposé dans le sas.
8. 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.
9. Le sol et les tables de travail sont faciles à nettoyer, imperméables à l'eau, résistants aux substances acides ou alcalines, aux solvants organiques, aux désinfectants et aux agents de décontamination utilisés.
10. Le laboratoire dispose d'un système automatique de détection et d'alarme incendie.
11. La zone confinée dispose d'un interphone, téléphone ou tout autre système permettant de communiquer avec l'extérieur.

Équipements de sécurité

12. Le laboratoire dispose d'au moins une enceinte de sécurité microbiologique de classe I ou II lorsque des manipulations en phase ouverte susceptible de produire des aérosols infectieux ou comportant des risques potentiels sont réalisées. 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 placée à l'écart des portes, fenêtres, grilles d'arrivée et d'évacuation d'air et des endroits de passage fréquent. Elle est contrôlée et certifiée au placement, après chaque déplacement et au moins une fois par an. Elle est conforme à la norme européenne EN 12469.
13. Bien que cela ne soit pas exigé, il est recommandé que l'air sortant de l'enceinte de sécurité microbiologique, s'il est rejeté dans le laboratoire, soit filtré au travers de deux filtres HEPA, ceci en raison de la petite taille et de la nature particulière des particules infectieuses et de l'impossibilité de les inactiver au moyen d'une substance gazeuse telle que le formaldéhyde.
14. Un autoclave est accessible dans la zone confinée.
15. Le matériel biologique est centrifugé dans des centrifugeuses accessibles dans la zone confinée. Celui-ci est placé en tubes étanches dans des rotors ou nacelles présentant un

* Sauf exception spécifié par l'autorité compétente dans l'autorisation.

système de fermeture hermétique (“safety cups”) contenant les aérosols en cas de bris ou de fissure de tubes.

Pratiques de travail et méthodes de gestion des déchets

16. L'accès au laboratoire est strictement réservé aux personnes autorisées par le responsable et informées des risques potentiels. Un système de contrôle d'accès est mis en place.
17. Sur la porte d'accès au laboratoire figure l'affichage suivant :
 - le pictogramme “Danger biologique”,
 - le niveau de confinement,
 - les coordonnées du responsable de la zone,
 - la nature du risque biologique,
 - la liste des personnes autorisées d'accès,
 - les critères d'accès à la zone confinée.
18. Un équipement spécifique est réservé au laboratoire.
19. Une tenue de protection, de préférence jetable, est portée en permanence. Cette tenue de protection est spécifique de la zone confinée et ne peut pas être portée en dehors de celle-ci.
20. Des gants à usage unique sont portés pour toute manipulation.
21. Une protection des yeux et des muqueuses doit être prévue en cas de risque d'éclaboussures, par le port de lunettes de sécurité ou d'un masque facial.
22. Les lésions cutanées (égratignures, coupures, eczéma) doivent être convenablement protégées grâce à un pansement résistant à l'eau.
23. En dehors des manipulations, les micro-organismes viables sont confinés dans des systèmes (tubes, boîtes, ...) fermés.
24. Les éclaboussures de matériel biologique générées par mixage, homogénéisation, centrifugation doivent être évitées, de préférence par l'utilisation de systèmes fermés (utilisation de nacelles ou rotors de centrifugation hermétiquement fermés et d'une hotte à flux laminaire ou équivalent si nécessaire)
25. L'utilisation d'objets tranchants (aiguilles, couteaux, ciseaux, verrerie) doit être autant que possible évitée. Ceux-ci doivent de préférence être remplacés par du matériel en plastique jetable (conteneurs, pipettes, öses, etc.). Si l'utilisation de matériel tranchant ne peut être évitée, il est dès lors conseillé de porter des gants renforcés spéciaux destinés à cet usage.
26. Des dispositifs de pipetage mécanique sont utilisés. Le pipetage à la bouche est proscrit.
27. Les règles d'hygiène de base sont strictement respectées. Il est interdit de manger, boire, fumer, d'utiliser des produits cosmétiques ou de stocker de la nourriture destinée à la consommation humaine dans le laboratoire.
28. Un registre consignait tous les organismes pathogènes manipulés et stockés doit être tenu.
29. Les mesures de contrôle ainsi que l'équipement de protection sont vérifiés de manière appropriée et régulière.
30. Les expérimentateurs se lavent les mains avant de quitter la zone confinée pour une autre activité et chaque fois que cela s'avère nécessaire.
31. 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.
32. Une très bonne formation et un suivi adéquat du personnel sont exigés. Une instruction du personnel sur les aspects biosécuritaires est organisée ainsi qu'un suivi et une mise à jour régulière. Le personnel est spécialement formé pour son travail en zone de confinement 3.
33. 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. Tous les accidents d'exposition par voie parentérale à la BSE ou à des déchets contaminés par la BSE doivent être signalés.
34. Des procédures spécifiques de décontamination et d'inactivation doivent être appliquées. Pour cette raison, il est conseillé autant que possible d'utiliser du matériel à usage unique. En outre, si l'utilisation de gros matériel est prévue, les éléments constitutifs tels que par ex. les rotors devront être spécifiquement réservés pour l'activité BSE.
35. 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.
36. Un programme de contrôle efficace des insectes et des rongeurs est mis en application.

37. Les déchets et/ou matières biologiques résiduelles sont inactivés par un procédé approprié et validé avant évacuation.
38. Avant lavage, réemploi et/ou destruction, le matériel contaminé (verrerie, lames, etc.) est inactivé par un procédé approprié et validé.

En ce qui concerne les procédures de décontamination et de gestion des déchets, des procédures d'inactivation spécifiques sont requises, car la BSE est résistante aux méthodes d'inactivation chimiques et physiques classiques. Les procédures suivantes sont recommandées:

- inactivation chimique par traitement avec de l'hypochlorite de sodium à 6° pendant une heure ou de l'hydroxyde de sodium 1M durant une heure. Cette méthode n'est cependant pas totalement efficace.
- inactivation physique par autoclavage à 134°C minimum, pendant au moins 18 minutes. Cette méthode n'est pas non plus totalement efficace.

En dehors des méthodes d'inactivation proprement dites, les mesures de précaution suivantes doivent être également prises:

- Le matériel et les instruments doivent être bien nettoyés avant d'être inactivés.
- Le matériel contaminé avec de la BSE ne peut être autoclavé en même temps (durant le même cycle d'autoclavage) que du matériel utilisé à d'autres fins.
- L'autoclave doit être régulièrement contrôlé et validé.
- Les surfaces de travail sont de préférence couvertes avec du matériel absorbant qui par la suite est éliminé par incinération; ce matériel absorbant est également utilisé pour éponger les liquides répandus de manière accidentelle.
- Pour l'élimination des déchets, des conteneurs étanches doivent être utilisés; deux sacs/récipients mis l'un dans l'autre peuvent par exemple être utilisés, tout en ayant soin d'éviter toute contamination du récipient extérieur. Les conteneurs sont marqués du pictogramme "Danger biologique" et fermés avant de quitter la zone confinée.
- Les déchets biologiques inactivés ou non ainsi que le matériel non recyclé doivent être dans tous les cas éliminés via une firme agréée pour l'élimination des déchets à incinérer.

Ce document est établi par le Service de Biosécurité et Biotechnologie dans le 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.