

# Bioveiligheidsaanbevelingen aangaande behandelings- en inactiveringsmethoden voor biologisch besmet afval

Federale Overheidsdienst (FOD) Volksgezondheid, Veiligheid van de Voedselketen en Leefmilieu



Contained use Team, Afdeling Bioveiligheid en Biotechnologie  
Wetenschappelijk Instituut Volksgezondheid



Koninklijke bibliotheek van België, depotnummer: D/2006/2505/28  
6 juli 2006

**Auteurs:** Mevr. Laura Berghmans  
Dr. Ir. Katia Pauwels  
Mevr. Bernadette Van Vaerenbergh  
Mevr. Chuong Dai Do Thi  
Dr. Philippe Herman

**Afdelingshoofd d.d.:** Dr. Ir. Myriam Sneyers

**Waarschuwing:** De inhoud van dit document werd gebaseerd op beschikbare literatuurgegevens, ze dienen als aanbevelingen te worden beschouwd en zijn niet bindend of normatief.

<b>1. Inleiding</b> .....	<b>4</b>
<b>2. Inactivatiemethodes</b> .....	<b>5</b>
2.1 Type afval.....	5
2.2 Type organisme.....	6
<b>3. Manieren voor decontaminatie en afvalbehandeling</b> .....	<b>6</b>
3.1 Thermische systemen .....	7
3.1.1 Stoomgebaseerde systemen .....	7
3.1.1.1 Autoclaven .....	7
3.1.1.2 Microgolfsystemen .....	8
3.1.2 Droge hitte systemen.....	9
3.1.3 Depolymerisatie .....	9
3.2 Chemische processen .....	9
3.2.1 Vloeibare desinfectantia .....	10
3.2.1.1 Overzichtstabel (WHO, 1999 (b)) .....	15
3.2.1.2 Recente desinfectantia.....	15
3.2.1.3 Voorbeelden van chemische technieken .....	16
3.2.2 Gasvormige desinfectantia .....	17
3.2.2.1 Formaldehyde .....	17
3.2.2.2 Ethyleenoxide .....	18
3.2.2.3 Chloordioxide .....	18
3.2.2.4 Ozon .....	18
3.2.2.5 Gas plasma sterilisatie techniek.....	18
3.3 Stralingstechnieken.....	19
3.4 Biologische systemen .....	20
3.5 Behandeling van afvalwater .....	20
<b>4. Bijzondere gevallen</b> .....	<b>21</b>
Prion desinfectie .....	21
<b>5. Sorteren</b> .....	<b>22</b>
<b>6. Opslag</b> .....	<b>22</b>
<b>7. Vernietigingmethodes</b> .....	<b>23</b>
Verbranding .....	24
<b>8. Testmethodes</b> .....	<b>24</b>
8.1 Mechanische controle .....	25
8.2 Chemische indicatoren (CI) .....	25
8.3 Biologische indicatoren .....	26
<b>9. Verklarende woordenlijst</b> .....	<b>28</b>
<b>10. Referenties</b> .....	<b>31</b>

## 1. Inleiding

De afvalstoffenproblematiek behoort tot één van de belangrijkste problemen in Europa. De eerste Europese richtlijnen op dit terrein dateren uit de periode 1975-1976. Een belangrijke ontwikkeling was het tot stand komen van een basisrichtlijn (Richtlijn 91/156/EEG) met een duidelijkere Europese definitie van het begrip 'afvalstof'. Deze luidt als volgt: elke stof of elk voorwerp waarvan de houder zich ontdoet, voornemens is zich te ontdoen of zich moet ontdoen. Deze definitie werd aangevuld met een uniforme Europese classificatie van de afvalstoffen (Europese Afvalcatalogus) (Beschikking 93/3/EG). Sinds 1 januari 2002, zijn de bestaande Europese afvalstoffenlijsten, Europese Afvalcatalogus (EAC) en Hazardous waste List (HWL) vervangen door de Europese Afvalstoffen Lijst (EURAL). De EURAL harmoniseert de indeling van afvalstoffen en de aanduiding van gevaarlijke stoffen in de verschillende lidstaten.

In België is het afvalstoffenbeleid een regionale aangelegenheid (Decreet 2/07/1981, Decreet 27/06/1996, Ordonnantie 7/03/1991). De Vlaamse en Waalse Regering hebben de Europese Afvalstoffencatalogus overgenomen.

Voor gevaarlijke afvalstoffen is er een specifieke Europese richtlijn (91/689/EEG) die beoogt dat in vergelijking tot de niet-gevaarlijke afvalstoffen, er een striktere controle wordt doorgevoerd (inzake identificatie en registratie, scheiding, verwijdering, verpakking, opslag en vervoer, optreden in nood- en gevaarsituaties).

In dit document beperkt men zich tot afval afkomstig van ingeperkt gebruik met genetisch gemodificeerde organismen (GGO) en/of pathogenen. Dit afval valt onder de rubriek gevaarlijk afval. Zoals in de Regionale Besluiten (Besluit 8/11/2001, Besluit 6/02/2004, Besluit 4/07/2002) beschreven staat, moet biologisch afval en/of biologische residu's (besmette kadavers, uitwerpselen\*, strooisel\*, besmette planten, besmette substraten e.d.), alsook besmet materiaal (glaswerk, kooien e.d.) afkomstig van laboratoria, animalaria en/of serres en kweekkamers, een gevalideerde inactivering ondergaan volgens een geschikte methode vóór verwijdering. Deze inactivering is vereist, ongeacht de risicoklasse van het GGO of het pathogeen en ongeacht het risiconiveau/risicoklasse van het ingeperkt gebruik. Een ongepaste behandeling en/of uiteindelijke verwijdering kunnen leiden tot negatieve gevolgen voor de volksgezondheid en het leefmilieu.

Dit document geeft een overzicht van de inactivatie- en decontaminatiemethoden, alsook valideringswijzen.

---

\* Met uitsluiting indien afkomstig van of met betrekking tot transgene dieren.

## 2. Inactivatiemethodes

De keuze van een geschikte inactivatiemethode (tabel 1) is afhankelijk van een aantal factoren: type (punt 2.1) en aard van het afval, risico van de (micro-)organismen aanwezig in het afval, de efficiëntie van de gebruikte methoden, e.d. De behandelingsmethode moet hoe dan ook gevalideerd zijn.

Indien afval niet binnen de inrichting geïnactiveerd wordt, moet het in hermetisch afgesloten containers afgevoerd worden naar een externe afvalverwerkingsmaatschappij voor verbranding. Het afvaltransport binnen de inrichting zowel als het afvalbeheer door de externe afvalverwerkingsmaatschappij moet voldoen aan de bepalingen van de Regionale Besluiten (Besluit 8/11/2001, Besluit 6/02/2004, Besluit 4/07/2002) aangaande het ingeperkt gebruik van genetisch gemodificeerde organismen en/of pathogenen en aan elk ander reglement in voege aangaande het beheer van dit soort afval.

Voor men een sterilisatie of desinfectie uitvoert moet men indien mogelijk het materiaal reinigen, anders kan organisch materiaal het desinfectans of sterilant weerhouden op een correcte manier te reageren.

Stoomsterilisatie is de meest geschikte procedure voor behandeling van biologisch gevaarlijk afval afkomstig van inperkingsniveau L2 en L3. Thermische methodes zijn over het algemeen eenvoudiger om te valideren en te controleren en zijn minder schadelijk voor het leefmilieu dan bijvoorbeeld chemische inactivatie. Het is aangeraden methodes verschillend van stoomsterilisatie enkel te gebruiken indien deze laatste niet hanteerbaar is (NBN EN 12740).


### 2.1 Type afval

<b>METHODE</b> <b>TYPE AFVAL</b>	<b>THERMISCHE INACTIVATIE</b>	<b>VERBRANDING</b>	<b>FILTRATIE</b>
Vast biologisch afval	X	X	
Vloeibaar biologisch afval	X		
Vluchtig biologisch afval			X

**Tabel 1.** Aangewezen inactivatiemethodes per type afval (wat niet impliceert dat er geen andere mogelijk zijn, NBN EN 12740)

## 2.2 Type organisme

Verschillende types van (micro-)organismen reageren op een andere wijze op inactivatiemethodes. Zo zijn prionen resistent tegen de normale inactivatiemethodes (punt 4). Bacteriële sporen bezitten eveneens een hoge resistentie, welke ze te danken hebben aan hun complexe structuur. De bacteriële sporen van het genus *Bacillus* en *Clostridium* zijn steevast de meest resistente van alle sporen tegen antiseptica en desinfectantia (Russell, 1990). Hieronder (tabel 2, McDonnell and Russell, 1999) is een schaal weergegeven met de relatieve resistentie van (micro-)organismen t.o.v. desinfectantia.

 MINST GEVOELIG           MEEST GEVOELIG	<b>PRIONS</b> (Bvb. CJD, BSE)
	<b>Coccidia</b> (bvb. <i>Cryptosporidium</i> )
	<b>Sporen</b> (bvb. <i>Bacillus</i> , <i>C. difficile</i> )
	<b>Mycobacteria</b> (bvb. <i>M. tuberculosis</i> , <i>M. avium</i> )
	<b>Cysten</b> (bvb. <i>Giardia</i> )
	<b>Kleine virussen zonder enveloppe</b> (bvb. Polio virus)
	<b>Trofozoïten</b> (bvb. <i>Acanthamoeba</i> )
	<b>Gram-negatieve bacteriën (niet-sporulerend)</b> (bvb. <i>Pseudomonas</i> , <i>Providencia</i> )
	<b>Fungi</b> (bvb. <i>Candida</i> , <i>Aspergillus</i> )
	<b>Grote virussen zonder enveloppe</b> (bvb. Enterovirus, Adenovirus)
	<b>Gram-positieve bacteriën</b> (bvb. <i>S. aureus</i> , <i>Enterococcus</i> )
	<b>Virussen met een lipide enveloppe</b> (bvb. HIV, HBV)

**Tabel 2.** Relatieve resistentie t.o.v. desinfectantia

## 3. Manieren voor decontaminatie en afvalbehandeling

Men kan twee processen onderscheiden, sterilisatie en desinfectie.

Sterilisatie is een gevalideerd proces waardoor alle (micro-)organismen (ook bacteriële sporen) gedood of geïnactiveerd worden, zodanig dat de kans op aanwezigheid van levende (micro-)organismen kleiner is dan 1 op  $10^6$ .

Het begrip desinfectie is moeilijker te definiëren, daar de activiteit van een desinfectans nogal kan verschillen. De volgende indeling wordt aanvaard door de 'Centers for Disease Control' (Garner and Favero, 1985) :

'High-level' desinfectans: vernietigt alle micro-organismen, behalve sommige bacteriële sporen.

'Intermediate' desinfectans: inactiveert *Mycobacterium tuberculosis*, vegetatieve bacteriën, de meeste virussen en fungi; het doodt niet noodzakelijk bacteriële sporen.

'Low-level' desinfectans: doodt de meeste bacteriën, sommige virussen en fungi, maar men kan er echter niet op vertrouwen dat meer resistente bacteriën zoals *M. tuberculosis* of bacteriële sporen gedood worden.

### 3.1 Thermische systemen

#### 3.1.1 Stoomgebaseerde systemen

Wat betreft stoomsterilisatie, kan men twee traditionele types onderscheiden, namelijk de autoclaven en de retorts.

Autoclaven en andere stoomgerelateerde technieken werken in het algemeen met verzadigde condities (verzadigde stoom is stoom op verzadigingstemperatuur). De efficiëntie van decontaminatie a.d.h.v. stoom is afhankelijk van de ladingsfactoren die de temperatuur en de contacttijd beïnvloeden. Indien men gebruik maakt van containers, moet men er zeker van zijn dat deze uit een permeabel materiaal zijn vervaardigd. Eveneens is het zeer belangrijk dat alle lucht verwijderd is, alvorens het sterilisatieproces in werking treedt. Een andere techniek die hier ook zal beschreven worden, is een microgolfsysteem. Het hele proces, inclusief het laden, de lading, geschiktheid van de verpakking of container, luchtverwijdering...moet **gevalideerd** worden.

##### 3.1.1.1 Autoclaven

Een autoclaaf bestaat uit een metalen kamer omgeven door een stoommantel (deze zorgt voor minder condensatie binnenin de ketel). Verwijdering van de lucht (isolator) in de kamer is essentieel voor het goede verloop van het proces. Overgebleven lucht kan de temperatuur doen dalen en er ook voor zorgen dat de stoom niet alle plaatsten kan bereiken. In het algemeen bestaan hier twee manieren voor:

Via 'gravity displacement' wordt de stoom onder druk de kamer binnengebracht. Aangezien stoom lichter is dan lucht, duwt het de lucht naar beneden, naar de uitgang. Veel efficiënter is de pre-vacuümmethode (high-vacuüm), welke gebruik maakt van een vacuümpomp om de lucht te verwijderen alvorens de stoom de kamer binnen komt. Over het algemeen vereist dit systeem een kortere blootstellingsperiode, daar de lucht op een efficiëntere manier verwijderd werd.

De tijd-temperatuur aanbevelingen voor het proces kunnen verschillen. Een veel gebruikte cyclus is 121°C voor 30 minuten (Emmanuel *et al.*, 2004). Het materiaal (containers, zakken) waarin men het afval verpakt moet goed doorlaatbaar zijn voor de stoom.

Vluchtige, halfvluchtige organische componenten, gevaarlijk chemisch afval, radioactief afval mogen niet op deze wijze behandeld worden.

Het is zeer belangrijk dat de autoclaaf zich in een goed geventileerde ruimte bevindt en dat men op voorhand het afval op een correcte wijze sorteert, zodat er geen toxische chemicaliën (formaldehyde, fenolen, kwik) in de atmosfeer terecht komen.

Het is mogelijk dat vluchtige componenten vrijkomen bij het openen van een autoclaaf. Hiervoor is het aangeraden 10 tot 15 minuten te wachten alvorens te ontladen (Hadar *et al.*, 1997).

Om de betrouwbaarheid te kunnen garanderen moet de autoclaaf periodiek gecontroleerd worden (Werkgroep infectiepreventie, 2004):

- De autoclaaf moet volgens voorschrift van de fabrikant periodiek onderhouden worden, waarbij een correcte werking van alle kleppen gecontroleerd wordt en de temperatuur en druksensoren worden gekalibreerd.
- Na de periodieke onderhoudsbeurt, dient de werking van de autoclaaf nagegaan te worden door het opmeten van de temperaturen in de lading, waarbij wordt nagegaan of de stoompenetratie in de producten voldoende is.
- Om vacuümlekkens op te sporen, moet men 1 maal per week de vacuümlekkentest uitvoeren.
- De stoompenetratie in poreuze materialen wordt dagelijks getest door het uitvoeren van de Bowie & Dick test of door een alternatief dat voldoet aan de Europese norm EN 867-4 gelijkwaardig aan de standaard Bowie & Dick test (punt 8).
- De stoompenetratie in holle voorwerpen wordt dagelijks gecontroleerd door de helixtest (punt 8; kan enkel uitgevoerd worden op autoclaven die voorzien zijn van een voorvacuüm om de lucht te verwijderen).

Er bestaan autoclaven die uitgerust zijn met vermalers/vergruizers. Deze apparaten kunnen een alternatief vormen voor verbrandingsovens.

### 3.1.1.2 Microgolfsystemen

Dit is eveneens een stoomgebaseerd systeem. In een kamer worden microgolven gestuurd. Alvorens het afval de kamer binnengaat, wordt het bevochtigd met water. De intense vibraties veroorzaken wrijving, wat op zijn beurt warmte genereert (Reinhardt and Gordon, 1991), waardoor het aanwezige water in stoom kan omgezet worden.

Het type afval dat hiermee kan behandeld worden is vergelijkbaar met dat in de hierboven beschreven methode.

De efficiëntie van de desinfectie wordt geëvalueerd aan de hand van bacteriologische en virologische tests. In de Verenigde Staten wordt een test met *B. subtilis* sporen aangeraden om een 99,99% reductie aan te tonen (WHO, 1999 (b)).

Een microbiologische studie (Emmanuel *et al.*, 2004) heeft aangetoond dat er geen groei ( $7 \log_{10}$  'kill' of beter) voor volgende micro-organismen was waar te nemen op behandeld afval: *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus faecalis*, *Nocardia asteroides*, *Candida albicans*, *Aspergillus fumigatus*, *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium fortuitum* en eend hepatitis.

De volgende systemen zijn succesvol in Europa: Medister, Sanitec, Sintion en Sterifant (Emmanuel *et al.*, 2004). Hieronder bevinden zich systemen die zijn uitgerust met vermalers/vergruizers, welke een 80% reductie van het volume van het afval kunnen bekomen.



### 3.1.2 Droge hitte systemen

Tijdens het droge hitte proces wordt er geen water of stoom toegevoegd. Het afval wordt verwarmd door geleiding, natuurlijke of opgewekte convectie en/of thermische radiatie. In het algemeen maken droge hitte processen gebruik van hogere temperaturen en langere blootstellingstijden. Droge hitte inactivatie is veel minder efficiënt dan stoomsterilisatie, daar het de denaturatie van proteïnen vereist. Deze hoge temperaturen werken corrosief op vele materialen. Temperaturen beneden 160°C hebben een beperkte werkzaamheid.

De 'high velocity heated air' en 'demolizer' zijn voorbeelden van droge hitte systemen. De eerste heeft een ingebouwde vermalder. Het afval dat met deze systemen behandeld kan worden, is vergelijkbaar met dat van autoclaven en microgolfsystemen. Microbiologische testen, gebruikmakend van *B. subtilis var. niger*, toonden een reductie van  $10^6$  (levende (micro-)organismen) na amper drie minuten (Emmanuel *et al.*, 2004). Vluchtige, halfvluchtige organische componenten, gevaarlijk chemisch afval, radioactief afval mogen niet op deze wijze behandeld worden.

### 3.1.3 Depolymerisatie

De 'Environmental Waste International (EWI) MD-1000' is een voorbeeld van thermische depolymerisatie. Deze werd ontwikkeld voor de behandeling van vast biologisch afval. 'Reverse polymerase' of depolymerisatie mag men niet verwarren met desinfectie a.d.h.v. microgolven of autoclaving, daar deze laatste gebruik maken van stoom.

Het systeem bestaat uit drie kamers. In de eerste kamer wordt het afval gewogen opdat de juiste behandelingstijd kan uitgerekend worden. Vervolgens wordt alle zuurstof uit de drie kamers verwijderd door toevoeging van stikstof. In de tweede kamer wordt het afval belaagd met hoog energetische microgolven. Deze techniek werkt bij temperaturen waarbij chemische veranderingen kunnen optreden. Het is het binnenste van het afval wat hoge temperaturen bereikt, de temperatuur van de kamer zelf ligt tussen de 150-350°C. Doordat er geen zuurstof aanwezig is, zal er geen verbranding plaatsvinden. In deze fase wordt het afval omgezet in een steriel, koolstofrijk residu. In de laatste kamer gebeurt de afkoeling en vergruizing, om het volume verder te reduceren. De vrijgekomen gassen worden geneutraliseerd.

Dagelijks kan er gemiddeld 1225kg afval behandeld worden. De volledige cyclus duurt 50-80min per lading. De massa en het volume wordt met zo'n 80% gereduceerd.

Er werd door een fabrikant aangetoond dat de MD-1000 een reductie van de testsporen (*Geobacillus stearothermophilus*) groter dan  $6\log_{10}$  kan bereiken.

## 3.2 Chemische processen

Chemische desinfectantia worden gebruikt voor ontsmetting van oppervlakken en materialen die niet autoclaveerbaar zijn. De keuze van het product is afhankelijk van de resistentie van het (micro-)organisme (tabel 2). De efficiëntie van de procedure kan beïnvloed worden door de aanwezigheid van organisch materiaal (bloed, serum, sputum), de temperatuur, de relatieve vochtigheid, de concentratie van het product en de contactperiode.

Testen voor het aantonen van microbiële inactivatie, zouden een  $10^4$  reductie van *Geobacillus stearothermophilus* moeten aantonen (Emmanuel *et al.*, 2004).

### 3.2.1 Vloeibare desinfectantia

#### Alcoholen

##### *Algemene eigenschappen:*

Verschillende alcoholen hebben een efficiënte antimicrobiële werking. De meest gebruikte zijn ethyl- (ethanol, alcohol), isopropylalcohol (isopropanol, propan-2-ol) en n-propanol. De activiteit neemt snel af bij concentraties onder 50% en is optimaal binnen een gebied van 60 tot 90%. De maximale effectiviteit wordt bereikt na goede reiniging vooraf. Een nadeel is de relatieve inactiviteit bij de aanwezigheid van organisch materiaal.

Het is een van de weinige desinfectantia dat na gebruik geen potentieel toxisch residu achterlaat.

##### *Gevaren voor de gezondheid:*

Ontvlambaar, moet op een koele, goed geventileerde plaats opgeslagen worden. Alcohol kan uit rubber stoffen absorberen die slijmvliesirritaties veroorzaken. Men kan echter besluiten dat de gezondheidsrisico's gering zijn. In België is de grenswaarde<sup>1</sup> voor ethanol op 1000 ppm en voor isopropylalcohol op 400 ppm (korte tijdswaarde<sup>2</sup> 500 ppm) vastgelegd (KB 11/10/2002).

##### *Efficiëntie voor het doden van micro-organismen:*

Alcoholen hebben een brede werking tegen vegetatieve bacteriën (inclusief Mycobacteria), virussen en fungi, maar zijn niet sporicidaal (McDonnell and Russell, 1999). In het algemeen is isopropylalcohol iets efficiënter tegen bacteriën (Coulthard *et al.*, 1936) en is ethanol beter tegen virussen (Klein *et al.*, 1983), toch is dit afhankelijk van de concentratie van het desinfectans en van het (micro-)organisme.

Isopropylalcohol is niet actief tegen hydrofiele virussen (enterovirussen en adenovirussen), maar wel tegen lipofiele virussen. Beide alcoholen inactiveren hepatitis B virus, hepatitis C virus en HIV.

##### *Effecten op materiaal (apparatuur):*

Kunststoffen o.a. polyethyleen, kunnen bij lange inwerktijd verharderen.

#### Chloor en chloorverbindingen

##### *Algemene eigenschappen:*

Chloorpreparaten zijn wijdverspreide desinfectantia. Ze hebben een breed spectrum, zijn goedkoop en werken snel. Hun gebruik wordt echter belemmerd door hun corrosief karakter, door hun instabiliteit en door hun inactivering in de aanwezigheid van organisch materiaal.

De werkzaamheid wordt bepaald door de concentratie hypochlorigzuur (HOCl).

In hoofdzaak worden er drie soorten preparaten gebruikt: op basis van Na-hypochloriet, N-dichloorisocyanuraat en de N-chloorverbindingen monochlooramine en tosylchlooramide (chlooramine-T). Dit laatste heeft een grotere stabiliteit, maar een aanzienlijk tragere werking (Werkgroep Infectiepreventie, 2004).

##### *Gevaren voor de gezondheid:*

Een potentieel gevaar, is de productie van een carcinogeen reactieproduct, wanneer een hypochlorietoplossing in contact komt met formaldehyde (Gamble, 1977). Een mengsel van Na-hypochloriet en zuur zorgt voor de vorming van toxische chloorgassen (Rutala, 1995).

Chloor kan acuut dodelijk zijn bij 1000 ppm. De grenswaarde voor chloor is in België vastgelegd op 0.5 ppm (korte tijdswaarde 1 ppm) (KB 11/10/2002).

<sup>1</sup> Gemeten of berekend voor een referentieperiode van acht uur, tijdgewogen gemiddelde (KB 11/10/2002)

<sup>2</sup> Een grenswaarde voor blootstelling die niet mag worden overschreden en geldt voor een periode van 15 minuten tenzij anders vermeld (KB 11/10/2002)

Op termijn is een dodelijk longoedeem mogelijk. Bij hogere concentraties is chloor sterk corrosief voor de ogen, huid en luchtwegen. Het kan verbrandingsverschijnselen aan de ademhalingswegen en van de huid veroorzaken.

*Efficiëntie voor het doden van micro-organismen:*

Lage concentraties vrij chloor (100 ppm = 0.01%) kunnen in korte tijd vegetatieve bacteriën doden. Voor een betrouwbare mycobactericide werking zijn hogere concentraties nodig (1000 ppm = 0.1%) (Rutala *et al.*, 1991). Virussen, met inbegrip van HBV en HIV, worden door een inwerking gedurende 5 minuten van een 1000 ppm bevattende chlooroplossing geïnactiveerd, mits voorafgaande reiniging (Sattar and Sprinthorpe, 1991). Ook schimmels zijn bij deze condities gevoelig, maar voor voldoende fungicide werking op conidiosporen van *Aspergillus* zijn bij deze relatief korte inwerkingstijd hogere concentraties (> 2000 ppm) nodig (Lensing and Oei, 1985).

*Effecten op materiaal (apparatuur):*

Het is corrosief voor metalen. Chloramine-T is relatief niet-corrosief.

### **Jood en joodverbindingen**

*Algemene eigenschappen:*

Jood is minder reactief dan chloor. Waterige en alcoholische (tincturen) oplossingen worden geassocieerd met irritatie, overdadige kleuring en de oplossingen zijn relatief onstabiel. Jodoforen (jood gebonden aan een drager) vormen een alternatief, waarmee deze nadelige effecten omzeild kunnen worden. Dit complex zorgt ervoor dat vrij jood in kleine dosissen vertraagd wordt afgegeven. Povidon-jood en poloxameer-jood zijn de meest verspreide.

De werkzaamheid van jood en joodverbindingen wordt in negatieve zin beïnvloed door organisch materiaal, echter wel in veel geringere mate dan bij chloorpreparaten het geval is.

*Gevaren voor de gezondheid:*

Waterige en alcoholische oplossingen zijn irriterend en kleurend. Jodoforen zijn relatief niet-toxisch en kleuren niet. In België is de grenswaarde voor jood vastgelegd op 0.1 ppm (KB 11/10/2002).

*Efficiëntie voor het doden van micro-organismen:*

Zoals hierboven vermeld, is Jood minder reactief dan chloor, maar is het toch snel bacteriocidaal, fungicidaal, tuberculocidaal, virucidaal en sporicidaal (trager) (Gottardi, 2001). Niet-lipide virussen en parvovirussen zijn minder gevoelig dan lipide virussen met een enveloppe (Prince *et al.*, 1991). Jodoforen behouden de germicide werking, maar zijn minder actief tegen bepaalde fungi en sporen (Rutala, 1995).

*Effecten op materiaal (apparatuur):*

Jodium is evenals chloor corrosief voor metalen.

### **Formaldehyde**

*Algemene eigenschappen:*

Het is een desinfectans en een sterilant, zowel in vloeibare als gasvormige toestand. De vloeibare vorm (Formaline) is meestal een waterige oplossing, welke ongeveer 34-38% formaldehyde en methanol bevat om de polymerisatie te vertragen.

Formaldehyde is bacteriocidaal en sporicidaal, maar werkt trager dan glutaaraldehyde. Het bindt makkelijk met proteïnen en is minder effectief in de aanwezigheid van organisch materiaal.

#### *Gevaren voor de gezondheid:*

Acute blootstelling is zeer irriterend voor de ogen, neus en keel. Opeenvolgende blootstelling kan ernstige allergische reacties van de huid, ogen en luchtwegen veroorzaken. Ingestie van formaldehyde kan fataal zijn en langdurige blootstelling aan lage waarden in de lucht of op de huid, kunnen astma-achtige ademhalingsproblemen en huidirritaties zoals dermatitis en jeuk veroorzaken. Concentraties van 100 ppm zijn een onmiddellijk gevaar voor de gezondheid.

Uit studies is gebleken dat het mogelijk carcinogeen (Blair *et al.*, 1990; Partanen *et al.*, 1990; Sterling and Weinkam, 1994) is, meer bepaald wordt het in verband gebracht met nasale en longkanker (OSHA Fact Sheet).

De WHO richtlijn voor beroepsblootstelling bedraagt 1 ppm voor 5 min, met niet meer dan acht pieken tijdens een werkperiode (tot acht uur). In België is het als kankerverwekkend product geklasseerd en is de korte tijdswaarde op 0.3 ppm vastgelegd (KB 11/10/2002).

#### *Efficiëntie voor het doden van micro-organismen:*

Formaldehyde (waterige oplossing) is bacteriocidaal, sporicidaal en virucidaal, fungicidaal en tuberculocidaal (Acklund *et al.*, 1980; Power, 1995; Rubbo *et al.*, 1967; Williams, 1980)

#### *Effecten op materiaal (apparatuur):*

Het is licht corrosief voor de meeste metalen, met uitzondering van roestvrij staal en aluminium.

### **Glutaaraldehyde**

#### *Algemene eigenschappen:*

De werking is vergelijkbaar met deze van formaldehyde, maar het is minder vluchtig. Het bezit wel een betere sporicidale werking dan formaldehyde. Het kan zowel als sterilant, als als 'high-level' desinfectans gebruikt worden. De waterige oplossing van glutaaraldehyde is een zuur en is in het algemeen niet sporicidaal. Enkel wanneer de oplossing geactiveerd (alkalisch; een pH van 7.5-8.5) wordt bezit het sporicidale eigenschappen. De houdbaarheidsdatum van het geactiveerde product bedraagt 14-28 dagen. Dit laatste kan vermeden worden door nieuwere producten zoals 'glutaraldehyde-phenate', 'potentiated acid glutaraldehyde' en 'stabilized alkaline glutaraldehyde' te gebruiken. Glutaaraldehyde behoudt zijn werking in de aanwezigheid van organisch materiaal. Er werd aangetoond dat 20% bloedserum (Borick *et al.*, 1964) en 1% bloed geen nadelig effect hebben op de werking van glutaaraldehyde.

#### *Gevaren voor de gezondheid:*

Het is een controversieel product wegens de nadelige gezondheidseffecten (Russell and Hopwood, 1976). Het kan fataal zijn indien het geïnhaleerd wordt, het is zeer schadelijk voor de slijmvliezen, het kan allergische reacties veroorzaken en is schadelijk bij huidcontact. Het gebruik vereist een goede ventilatie.

In de aanpassing van 1999 van 'Practice for safety, health and welfare at work (chemical agents) regulations (1994)', heeft men de beroepsblootstellingslimiet van 0.2 ppm naar 0.1 ppm teruggebracht. In België is de grenswaarde vastgelegd op 0.2 ppm (KB 11/10/2002).

#### *Efficiëntie voor het doden van micro-organismen:*

De *in vitro* inactivatie van micro-organismen is goed bestudeerd (Scott *et al.*, 1991). Twee procent (2%) waterige oplossing van glutaaraldehyde bij een pH van 7,5-8,5 doodt: vegetatieve bacteriën in minder dan 2 min, fungi en virussen in minder dan 10 min, sporen van *Bacillus* en *Clostridium* spp. binnen de drie uren (Borick *et al.*, 1964; Scott and Gorman, 1991) en sporen van *C. difficile* binnen de 20 min (Rutala *et al.*, 1993).

Op basis van verschillende studies heeft men kunnen besluiten dat 20 min bij kamertemperatuur met 2% glutaraaldehyde de minimum condities zijn voor het doden van organismen zoals *M. tuberculosis*, welke resistent zijn voor desinfectantia (Cole *et al.*, 1990; Rutala, 1995).

*Effecten op materiaal (apparatuur):*

Waterige oplossingen van glutaraaldehyde zijn corrosief voor de meeste metalen.

## **Peroxiden**

*Algemene eigenschappen:*

Waterstofperoxide is een wijdverspreid biocide voor desinfectie, sterilisatie en als antiseptis. Het is commercieel beschikbaar in een brede waaier aan concentraties gaande van 3-90%.

De werking wordt door een aantal factoren beïnvloed. Er zijn concentraties van minstens 10-30% nodig om een goede sporicidale werking te bekomen (McDonnell and Russell, 1999). De temperatuur oefent eveneens een opvallend effect uit op de sporicidale activiteit. Bij kamertemperatuur is waterstofperoxide slechts traag sporicidaal, maar zijn werking stijgt enorm bij temperatuursprongen van telkens 10°C. Het heeft de neiging onstabiel te zijn en zijn decompositie wordt bevorderd door de aanwezigheid van metalen, metale zouten, licht en warmte. De werking wordt beïnvloed door de pH, zuurdere oplossingen zijn beter.

Perazijnzuur wordt beschouwd als een beter biocide dan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>. Het valt eveneens uiteen in veilige producten. De werking van perazijnzuur wordt slechts een beetje gereduceerd in de aanwezigheid van organisch materiaal. Het is actiever bij een pH van 5 dan een neutrale pH.

Een combinatie van perazijnzuur en H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> wordt ook als desinfectans toegepast.

*Gevaren voor de gezondheid:*

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> wordt als milieuvriendelijk beschouwd, dankzij zijn snelle degradatie in water en zuurstof.

Perazijnzuur is in hoge concentraties mogelijk co-carcinogeen en veroorzaakt in een concentratie van 1% of hoger huidtumoren bij muizen (Bock *et al.*, 1975). Er zijn geen aanwijzingen voor mutageniciteit (ECETOC, 2001). In België is de grenswaarde op 1 ppm vastgelegd (KB 11/10/2002).

*Efficiëntie voor het doden van micro-organismen:*

Waterstofperoxide bezit een brede werking tegen bacteriën (Wardle and Renninger, 1975), virussen (Kline and Hull, 1960; Mentel and Schmidt, 1973), gisten, fungi en bacteriële sporen (Toledo *et al.*, 1973). In het algemeen bezit het een betere werking tegen gram-positieve dan tegen gram-negatieve bacteriën. Er zijn hogere concentraties en contacttijden nodig om de sporicidale werking te bekomen. Deze werking stijgt significant indien men de gasvormige waterstofperoxide gebruikt (punt 3.2.2.5).

Perazijnzuur wordt beschouwd als een doeltreffender biocide dan H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, daar het sporicidaal, bacteriocidaal, virucidaal en fungicidaal is bij lage concentraties (<0.3%) (Block, 2001).

*Effecten op materiaal (apparatuur):*

H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> en perazijnzuur zijn bij een concentratie van 10% of hoger corrosief voor sommige metalen, m.n. niet geëloxeerd aluminium en messing. Ook rubber en textiel kunnen door de voor desinfectie gebruikelijke concentraties onherstelbaar beschadigd worden.

## Fenolen

### *Algemene eigenschappen:*

Er bestaat een ruim scala aan fenolderivaten. Orthofenylfenol en orthobenzyl-parachlorofenol zijn twee veel gebruikte producten. Fenolen worden slechts in geringe mate geïnactiveerd door organisch materiaal.

### *Gevaren voor de gezondheid:*

Ze zijn toxisch voor huid en slijmvliezen en verspreiden een onaangename geur. In België is de grenswaarde vastgelegd op 2 ppm (KB 11/10/2002).

### *Efficiëntie voor het doden van micro-organismen:*

Fenolderivaten zijn bacteriocidaal, fungicidaal en tuberculocidaal (Rutala *et al.*, 1991, Sattar and Sprinthorpe, 1991). Ze zijn niet werkzaam tegen sporen, hydrofiele virussen en HBV, althans niet bij de gebruikelijke concentraties en inwerktijden.

### *Effecten op materiaal (apparatuur):*

Desinfectansresten moeten na gebruik zorgvuldig weggespoeld worden. Fenolen kunnen aanslag veroorzaken op voorwerpen en zijn waarschijnlijk corrosief voor metalen.

## Quaternaire ammoniumcomponenten (QAC)

### *Algemene eigenschappen:*

De QACs zijn een uitgebreide groep van organisch gesubstitueerde ammoniumverbindingen, die behalve microbiële eigenschappen ook een reinigende werking bezitten. Het zijn sterke oppervlakte desinfectantia. In de loop der tijd zijn er verschillende generatie QACs ontwikkeld. De dag van vandaag zijn de derde generatie QACs veruit de belangrijkste. Er bestaan nog nieuwere generaties, waarvan de toxiciteit nog lager is.

QAC wordt geïnactiveerd door materialen zoals katoen en gazen, omdat deze de actieve componenten absorberen. In combinatie met hard water of anion(zeep) residuen vindt eveneens inactivatie plaats, echter veel minder bij de nieuwere QACs. Ze zijn geurloos, kleurloos, stabiel en goedkoop.

### *Gevaren voor de gezondheid:*

QAC werken in hoge concentratie irriterend op huid en ogen, maar veroorzaken geen irritatie van de luchtwegen.

### *Efficiëntie voor het doden van micro-organismen:*

De commercieel verkochte QACs zijn algistatisch, bacteriostatisch, tuberculostatisch, sporostatisch en fungistatisch bij lage concentraties van 0.5 tot 5 ppm (Hueck *et al.*, 1966). Ze zijn algicidaal, bacteriocidaal, fungicidaal en virucidaal tegen lipofiele virussen bij middelmatige concentraties van 10-50 ppm (Klein and DeForest, 1963; Resnick, 1986). Ze bezitten een grotere werking tegen gram-positieve dan tegen gram-negatieve bacteriën (Adair *et al.*, 1971).

Zelfs bij hoge concentraties zijn ze niet tuberculocidaal, sporicidaal of virulocidaal tegen hydrofiele virussen (Best *et al.*, 1990; Klein and DeForest, 1963; Russell, 1996).

### *Effecten op materiaal (apparatuur):*

Het is niet-corrosief voor metaal.



### 3.2.1.1 Overzichtstabel (WHO, 1999 (b))

WERKING DESINFECTANS	BACTERIO- CIDAAL	TUBERCU- LOCIDAAL	FUNGI- CIDAAL	VIRUCI- DAAL	SPORICI- DAAL	TOXICITEIT
Alcohol	Zeer actief	Zeer actief	Zeer actief	Zeer actief	Niet actief	Gematigd
Chloorcom- ponenten	Zeer actief	Actief	Actief	Zeer actief	minder actief	Gematigd
Formaldehyde	Zeer actief	Zeer actief	Zeer actief	Zeer actief	Minder actief	Hoog
Glutaaraldehyde	Zeer actief	Zeer actief	Zeer actief	Zeer actief	Zeer actief	Hoog
Waterstofperoxide	Minder actief tegen Staphylococci en Enterococci	Actief	Actief	Actief	Minder actief	Laag
Iodoforen	Actief	Actief	Minder actief	Actief	Niet actief	Gematigd
Perazijnzuur	Zeer actief	Actief	Actief	Actief	Actief	Hoog
Fenolderivaten	Zeer actief	Zeer actief	Zeer actief	Minder actief	Niet actief	Hoog
QACs	Minder actief tegen Gram-negatieve bacteriën	Niet actief	Minder actief	Minder actief	Niet actief	Laag

### 3.2.1.2 Recente desinfectantia

*Ortho-phthalaldehyde (OPA)* is een redelijk recent chemisch sterilant. Het heeft meerdere voordelen t.o.v. glutaaraldehyde (Gregory *et al.*, 1999) :

- Een kortere inwerkingtijd (12 minuten vs. 45 min)
- Grotere mycobacteriocidale werking, ook tegen glutaaraldehyde-resistente stammen (mycobacteriën en *Bacillus subtilis* sporen) (Walsh *et al.*, 1999);
- Het vereist geen activatie;
- Het is niet irriterend voor ogen en neus;
- Heeft een goede stabiliteit over een brede pH-schaal (3-9);
- Heeft een bijna onwaarneembare geur.

Een nadeel echter is dat het proteïnen grijs kleurt en meer kost.

*Surfacine* is een nieuw langdurig antimicrobieel agens. Preliminare studies hebben aangetoond dat behandelde oppervlakken uitstekend scoren qua eliminatie van antibiotica-resistente bacteriën (bvb. vancomycine-resistente *Enterococcus* spp.), bij hoeveelheden van 100 CFU/sq inch voor ten minste 13 dagen lang (Rutala *et al.*, 2000). Uit gegevens verschaft door de fabrikant blijkt dat het bacteriën, gisten, fungi en virussen inactieveert wanneer men waarden van 106 CFU/ml hanteert (Rutala and Weber, 2001 (a)). Er bleef een langdurige antimicrobiële werking waarneembaar.

Surfacine veroorzaakt geen zoogdiercel toxiciteit.

*Supergeoxideerd water* wordt ter plaatse geproduceerd, door een apparaat waarin uitgaande van onthard water en natriumchloride langs een electrolytische weg een microbicide oplossing wordt bereid met een pH van 5 - 6,5, met een beperkte houdbaarheid van maximaal 24 uur. De antimicrobiële activiteit is getest voor bacteriën, mycobacteriën, virussen, fungi en sporen (Tanaka *et al.*, 1996; Shetty *et al.*, 1999). Uit data bleek dat supergeoxideerd water snel effectief is in het bekomen van een  $5\log_{10}$  reductie van *Mycobacterium tuberculosis*, *M. chelonae*, poliovirus, HIV, MRSA, *Escherichia coli*, *Candida albicans*, *Enterococcus faecalis*, *Pseudomonas aeruginosa*, in de afwezigheid van organisch materiaal (Rutala and Weber, 2001 (a)). De biocidale werking wordt aanzienlijk verminderd door de aanwezigheid van organisch materiaal.

### 3.2.1.3 Voorbeelden van chemische technieken

#### 'WR<sup>2</sup> Tissue Digestion Process'

Het 'WR<sup>2</sup> Proces' maakt gebruik van alkaline hydrolyse en verhoogde temperaturen om proteïnen, nucleïnezuren (RNA wordt sneller afgebroken dan DNA), carbohydraten (meest resistent), lipiden, alsook infectieuze (micro-)organismen (ook prionen!) in cellen en weefsels af te breken tot een steriele, waterige oplossing, welke via de riolering verwijderd mag worden.

Een 'WR<sup>2</sup> Tissue Digestor', bestaat uit een geïsoleerd, roestvrij stoomvat. Tijdens het proces wordt er een hoeveelheid alkali, alsook een hoeveelheid water, beiden proportioneel met het gewicht van het afval, aan het vat toegevoegd. Beiden worden bepaald na uitvoerige laboratoriumtesten. Een standaarddigestiecyclus duurt zo'n 3 uur bij een temperatuur van 150°C. Het eindproduct is een steriele, paars/bruin gekleurde, licht alkalische, zuivere oplossing met een zeepachtige geur.

Er bestaan automatische en semi-automatische 'Tissue Digestor' systemen, gaande van 5 kilogram capaciteit (voor knaagdieren en kleine hoeveelheden medisch afval) tot 4536 kg capaciteit (voor grote dieren zoals vee en paarden).

Dit systeem omvat de volgende voordelen:

- Het zet dierlijke, menselijke en microbiële weefsels om in een steriele, neutrale, waterige oplossing, klaar voor verwijdering via de gootsteen.
- Het steriliseert en verteert het afval. Tijdens een cyclus wordt het volume en het gewicht van het afval met meer dan 97% gereduceerd.
- Het elimineert radioactief besmette weefsels en neutraliseert toxische fixatiestoffen (formaldehyde en glutaraldehyde), cytotoxische stoffen en andere toxische componenten.
- Het is een milieuvriendelijke methode, er is geen uitstoot van stoffen in de atmosfeer en het eindproduct van dit proces is onschadelijk.



- De kost van dit systeem bedraagt slechts een fractie van de kost voor een verbrandingsoven.

#### *Newster*

Dit is een apparaat speciaal ontworpen voor kleine en middelgrote hospitaalunits. Het combineert thermische en chemische (NaClO) processen om het afval te steriliseren. Het eindresultaat zijn grijsbruine korrels van ongeveer 2-3mm groot. De machine heeft een capaciteit van zo'n 30kg/uur en de duur van het proces bedraagt ongeveer een half uur.

Het gebruik van chloor-gebaseerde desinfectantia kan echter wel een risico vormen, doordat er chloriden in het gedecontamineerd afval aanwezig kunnen zijn of er kunnen eveneens nieuwe toxische chloorcomponenten (trihalomethaan) ontstaan Emmanuel *et al.*, 2004).

### 3.2.2 Gasvormige desinfectantia

#### 3.2.2.1 Formaldehyde

Formaldehyde is het meest aangeraden desinfectans voor decontaminatie van ruimtes. In principe is zo'n procedure enkel nodig voor inperkingsniveaus 3 en 4, onder bepaalde omstandigheden. Deze procedure mag enkel door goed getrainde personen uitgevoerd worden, daar men aan gevaarlijke chemicaliën kan blootgesteld worden. Het meest geschikte protocol omvat de verhitting van paraformaldehyde in een goed verzegelde kamer. Na een contactperiode van minstens 6 uren, moet de formaldehyde geneutraliseerd worden met ammoniumcarbonaat (Luftman, 2005). Voordat het personeel de ruimte mag betreden, moet men zeker zijn dat de concentratie aan formaldehyde en ammoniumcarbonaat zich onder de blootstellinglimiet bevinden.

Formaldehyde kan eveneens gebruikt worden voor 'low-temperature' sterilisatie. Het is een methode die in verschillende Europese landen wordt toegepast en de bruikbaarheid en veiligheid voor de sterilisatie van hittegevoelige materialen is reeds gedocumenteerd (Nystrom, 1991). In 2004 heeft de 'United States Environmental Protection Agency' (USEPA) en het 'International Agency for Research on Cancer' (IARC) formaldehyde geklasseerd als carcinogeen. De moderne Low-temperature steam & formaldehyde (LTSF) sterilisatie systemen maken echter gebruik van oplossingen met een lage formaldehydeconcentratie (2%). Het is belangrijk om te bevestigen dat de formaldehyderesiduen onder een bepaalde waarde blijven. Tot op heden, is er geen gestandaardiseerde veiligheidsnorm inzake de waarde van residuele formaldehyde (Kanemitsu *et al.*, 2003). In de norm EN 14180 is de gemiddelde veiligheidslimiet op 200µg gebracht en er wordt algemeen aanvaard dat de residuele aanwezigheid de 5µg/cm<sup>2</sup> niet overschrijdt (Mariscal *et al.*, 2005). LTSF sterilisatie kan mogelijk een vervangmiddel vormen voor ethyleenoxidegas, indien het onbeschikbaar wordt wegens milieuoverwegingen, daar het een vergelijkbare efficiëntie bezit ( Kanemitsu *et al.*, 2005).

### 3.2.2.2 Ethyleenoxide

Ethyleenoxide is effectief tegen alle (micro-)organismen, zoals bacteriën, virussen en bacteriële sporen (WHO, 1999 (b)). Het is een zogenaamde koude sterilisatie methode. Ethyleenoxide is reeds bij kamertemperatuur werkzaam.

Het kent een aantal belangrijke nadelen:

- Zowel gasvormig als vloeibaar ethyleen is toxisch. Ethyleenoxide is zeer toxisch voor ogen en huid. Bij contact kunnen zich na enkele uren brandzweren en blaren vormen. Ethyleenoxide werkt in op het centraal zenuwstelsel en inademing van hoge concentraties (vanaf 1000 ppm) leidt tot hoofdpijn, duizeligheid, misselijkheid en evenwichtsstoornissen. De IDLH (Immediate Dangerous to Life and Health) waarde bedraagt 800 ppm. In België ligt de grenswaarde op 1 ppm (KB 11/10/2002). Het is geklasseerd als kankerverwekkende stof in België (KB 9/11/2003). Het gebruik van deze stof wordt dan ook niet meer langer aangeraden voor afvalbehandeling (WHO, 1999 (b)).
- De effectiviteit is afhankelijk van de vochtigheidsgraad van de (micro-)organismen, zodat de lading vooraf geconditioneerd moet worden.
- Ethyleenoxide heeft de neiging zich sterk aan kunststoffen te hechten. Na het sterilisatieproces is een goede aëratie noodzakelijk om de concentratie tot een veilig niveau terug te brengen.

### 3.2.2.3 Chloordioxide

Studies op het gebruik van chloordioxide gas, zijn veel minder uitgebreid dan deze op het gebruik van waterige chloordioxide (desinfectans in de waterzuiverings- en voedingsindustrie). Het is een zeer sterke oxidator en het is actief tegen de meeste bacteriën (Sy *et al*, 2005), virussen en sporen (Jeng and Woodworth, 1990). Chloordioxide heeft het voordeel dat het minder schadelijke bijproducten produceert dan chloor (zoals dioxines). De stof is sterk irriterend voor de ogen, de huid en de luchtwegen. Inademing van het gas kan longoedeem veroorzaken. Blootstelling ver boven de toegestane blootstellinggrens kan tot de dood leiden. Langdurige of herhaaldelijke blootstelling kan effect hebben op de longen, met chronische bronchitis als gevolg. De grenswaarde in België is vastgelegd op 0.1 ppm (korte tijdswaarde 0.3 ppm) (KB 11/10/2002).

### 3.2.2.4 Ozon

Ozon is een sterk sterilant, te danken aan zijn uitzonderlijk oxiderend karakter. Het is efficiënt tegen fungi, bacteriën, virussen en bacteriële sporen (Rickloff, 1987). Algemeen is geweten dat ozon een efficiënter bactericide en virucide is dan chloor of chloordioxide.

Overgebleven ozon, valt spontaan uiteen in niet-toxische zuurstof (Broder *et al.*, 2004). Bij hogere concentraties is ozon na inhalatie schadelijk voor de gezondheid. In België is de korte tijdswaarde op 0.1 ppm vastgelegd (KB 11/10/2002).

### 3.2.2.5 Gas plasma sterilisatie techniek

Deze ontstaat door bij een extreem diep vacuüm een gasmassa bloot te stellen aan een krachtig magnetisch veld, waardoor sterk reactieve vrije radicalen ontstaan.

Het gebruik van gas plasma vormt een interessant alternatief voor sterilisatie, dankzij zijn intrinsieke eigenschappen. Het gas of de gassen in deze methode, hebben geen biocidale effecten totdat ze geactiveerd worden door elektrische ontlading.

Deze reactieve deeltjes zijn niet meer aanwezig enkele milliseconden nadat het elektrisch veld wordt uitgezet. Dit betekent dat er geen verluchttingsperiode moet ingelast worden, er is met andere woorden weinig gevaar voor het personeel.

Ratner en anderen (1990), hebben aangetoond dat plasma sterilisatie efficiënt is met meeste ontladen gassen: O<sub>2</sub>, N<sub>2</sub>, lucht, H<sub>2</sub>, halogenen, N<sub>2</sub>O, H<sub>2</sub>O, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, CO<sub>2</sub>, SO<sub>2</sub>, SF<sub>6</sub>, aldehyden, organische zuren e.d.

Ter controle moet men de plasmasteriliseerders testen met *B. subtilis*, *Geobacillus stearothermophilus* en een gram-negatieve bacterie zoals *E. coli* (Moisan *et al.*, 2001).

Twee commerciële plasma sterilisatoren zijn: waterstofperoxide-gebaseerde sterilisatoren (Sterrad; Rutala and Weber, 2001 (a)) en de perazijnzuur-gebaseerde sterilisatoren (Plazlyte system, Abtox, Inc. Mundelein, IL; Wilson, 1994).

Uit een vergelijkende studie tussen ethyleenoxide gas, waterstofperoxide gas plasma en LTSF sterilisatie methoden, is gebleken dat plasma sterilisatie mogelijk niet succesvol is onder bepaalde omstandigheden, in het bijzonder voor items met complexe vormen (Kanemitsu *et al.*, 2005).

*Voorbeeld: vapor phase hydrogen peroxide (VPH, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>)*

Dit is een 'low-temperature' techniek, welke een lage toxiciteit bezit, daar het uiteen valt in water en zuurstof. Het is met andere woorden een alternatief voor formaldehydesterilisatie, gebruikt voor decontaminatie van ruimtes. Het proces duurt ongeveer een uur en vindt plaats bij 45-50°C en een lage vochtigheidsgraad. Het is efficiënt tegen bacteriën, virussen, fungi en bacteriële sporen. Het heeft zijn werking te danken aan de productie van vrije radicalen. Kahnert en anderen (2005), hebben aangetoond dat VPH zorgt voor een efficiënte reductie en eliminatie van besmettingen van *M. tuberculosis* in een ruimte. Voor deze fumigatie werd er gebruik gemaakt van 35% H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> oplossing, om een damp te bekomen van 0.4mg/l. In deze studie werd *Geobacillus stearothermophilus* als biologische indicator gebruikt.

In een andere studie is aangetoond dat VPH effectief is tegen de toxische *Cl. botulinum*, niet-toxische *Clostridium spp.* en *Geobacillus stearothermophilus*, gedroogd op roestvrij staaloppervlakken (Johnston *et al.*, 2005).

### 3.3 Stralingstechnieken

Indien men iets blootstelt aan een hoge dosis ioniserende straling (vb. x-stralen, gammastralen), kan dit ernstige DNA schade teweegbrengen. Deze vorm van straling kan men halen uit bijvoorbeeld Cobalt-60, welke gammastraling uitzendt.

De 'e-beam' techniek is een ander systeem waarbij ioniserende straling wordt geproduceerd, door middel van een elektronengeweer. Vluchtige, halfvluchtige organische componenten, gevaarlijk chemisch afval, radioactief afval mogen niet op deze wijze behandeld worden.

Anders dan Cobalt-60, maakt het dus geen gebruik van een radioactieve bron en is er geen uitstoot van gevaarlijke stoffen, behalve een kleine hoeveelheid ozon. Toch moet men rekening houden dat de drempelwaarde niet overschreden wordt. De werknemers moeten beschermd worden tegen straling. De effectieve-dosislimiet voor beroepshalve blootgestelde personen werd vastgelegd op 20 millisievert per 12 opeenvolgende glijdende maanden (KB 20/07/2001).

Bacteriën vertonen een variërende resistentie tegenover straling, deze is vooral afhankelijk van de capaciteit van DNA repair. *Geobacillus stearothermophilus* en *Bacillus subtilis* zijn aangeraden voor de controle van inactivatie a.d.h.v straling.

Toch worden *B. pumilus* sporen als standaard biologische indicator gebruikt tijdens sterilisatie van medische producten, daar het een hogere resistentie tegen straling bezit.

Andere biologische indicatoren, welke zelfs nog een grotere resistentie bezitten tegen straling zijn o.a. *Deinococcus radiodurans* (Emmanuel *et al.*, 2004).

### 3.4 Biologische systemen

Tot op heden zijn er slechts weinig biologische systemen in de maak. Bio Conversion Technologies Inc. (BCTI) is in samenwerking met het Virginia Center for Innovative Technologies (CIT) bezig met het ontwikkelen van een afvalbehandelingssysteem a.d.h.v. biologische processen (Crumbley, 1995; Emmanuel *et al.*, 2004). Het maakt gebruik van enzymen om het afval te decontamineren. Na decontaminatie wordt het overgebleven slijk door een pers gehaald, om het water te onttrekken. Deze technologie zou geschikt zijn voor grote hoeveelheden (10 ton/dag).

### 3.5 Behandeling van afvalwater

Kill tank systemen worden gebruikt voor de inactivatie van (micro-)organismen in vloeistoffen, met behulp van stoom, hitte, chemicaliën of straling (NBN EN 13311-5).

Aan kill tanks zijn echter een aantal nadelen verbonden (controle, kost e.d.). Bijkomstig wordt deze voor elke faciliteit anders gebouwd en is er dus een gebrek aan consistentie.

Het 'Continuous Effluent Decontamination' systeem van de firma Steris is een nieuw alternatief. Dit systeem is ontworpen ter vervanging van de grotere 'multi-step' kill tank systemen en biedt een aantal voordelen inzake efficiëntie, betrouwbaarheid, veiligheid en kosteffectiviteit. De ruimte die het inneemt, bedraagt zo'n 2/3 à 3/4 van de ruimte ingenomen door een kill tank. Dit systeem bestaat uit een 'heating' zone en twee onafhankelijke afkoelingszones. In een eerste ruimte worden de vloeistoffen opgeslagen. Het is mogelijk, indien nodig deze ruimte automatisch te decontamineren via stoomsterilisatie. Deze ruimte bezit een opslagcapaciteit van 1000 l - 8000 l. Vervolgens worden de vloeistoffen in een tweede ruimte aan de hand van stoom bij 150 °C behandeld. De gedecontamineerde vloeistoffen worden vervolgens afgekoeld. Dit gebeurt in twee onafhankelijke fasen. Indien de gewenste temperatuur in de eerste stap bereikt is, gaat het een volgende afkoelingsfase tegemoet, waar men de vloeistoffen tot minder dan 60°C zal afkoelen, opdat men ze veilig kan verwijderen. Er kan zo'n 100 l/h tot 1000 l/h verwerkt worden.

WR2 heeft eveneens een systeem ontwikkeld, meer bepaald het 'Effluent Decontamination System' (EDS). Dit systeem kan geplaatst worden op maat van 1 laboratorium, alsook voor grote inrichtingen.

Recent heeft EWI de 'FS6000 sterilizer' op de markt gebracht. Dit systeem verenigt twee sterilisatietechnieken, met name het gebruik van hoogenergetische microgolven en blootstelling aan temperaturen boven de atmosferische druk (meer dan 4 atm. of 60 psig). De oververhitting en de directe microgolfbestraling zorgen voor een volledige inactivatie van pathogenen en sporen. Er is een reductie van meer dan  $6 \log_{10}$  aangetoond met ondermeer *Geobacillus stearothermophilus*.

Het proces duurt ongeveer 2 uur. Per negen uur kan er gemiddeld 7600 l afvalwater behandeld worden.

#### 4. Bijzondere gevallen

##### *Prion desinfectie*

TSE agentia (Transmissible Spongiform Encephalopathies) zijn ongewoon resistent voor de gebruikelijke decontaminatiemethodes. Men heeft aangetoond dat de meeste desinfectantia (alcohol, formaline, waterstofperoxide, fenolen e.d.) inefficiënt zijn voor de vernietiging van prionen. Er zijn vier chemicaliën welke de titer met  $> 4\log$  reduceren: chloor, een fenolcomponent, guanidine thiocyanate en natriumhydroxide (NaOH) (Ernst and Race, 1993; Manuelidis, 1997). Van deze 4 componenten, heeft chloor de beste werking. Toch zorgt diens corrosief karakter voor beperkingen. Ook over sterilisatieprocedures heerst er nog veel onenigheid, men is het echter over een aantal zaken eens geworden. Op basis van wetenschappelijke literatuur heeft men besloten dat  $121^{\circ}\text{C}$ - $132^{\circ}\text{C}$  gedurende 60 min (graviteit) en  $134^{\circ}\text{C}$  voor meer dan 18 min (prevacuüm) een redelijke werking hebben (Rutala and Weber, 2001 (b)). Andere stoomcycli, zoals  $132^{\circ}\text{C}$  gedurende 15 min (graviteit) hebben slechts gedeeltelijk hun werking bewezen (Brown *et al.*, 1986). De beste en veiligste methode blijft zonder enige twijfel verbranding.

De infectiviteit wordt goed gestabiliseerd door drogen of fixering met alcohol, formaline of glutaraaldehyde. Besmet materiaal moet dus niet blootgesteld worden aan fixerende stoffen en moet vochtig gehouden worden tot het moment van decontaminatie (WHO, 1999 (a)). Het is ook aangeraden, dat indien dit op een veilige manier kan gebeuren, het materiaal eerst gereinigd moet worden, alvorens het een decontaminatieproces ondergaat (WHO, 1999 (a) ; Rutala and Weber, 2001 (b)). Dit bevordert de decontaminatie.

Wat ontsmettingsprocedures en afvalbeheer betreft zijn specifieke inactivatieprocedures vereist voor BSE volgens de Regionale Besluiten (Besluit 8/11/2001, Besluit 6/02/2004, Besluit 4/07/2002). Volgende procedures worden aanbevolen:

- chemische inactivatie door behandeling met 6% natrium hypochloride gedurende 1 uur, of 1M natrium hydroxide gedurende 1 uur. Deze laatste methode is echter niet helemaal effectief.
- fysische inactivatie door autoclaving bij minimum  $134^{\circ}\text{C}$  voor ten minste 18 min. Deze fysische inactivering is ook niet helemaal effectief.

Buiten de inactivatiemethodes als zodanig moeten bij ontsmetting ook volgende voorzorgsmaatregelen in acht genomen worden:

- materiaal en instrumenten moeten grondig gereinigd worden vooraleer zij geïnactiveerd worden.
- BSE-besmet materiaal mag niet samen met materiaal gebruikt voor andere doeleinden geautoclaveerd worden in dezelfde cyclus.
- de autoclaaf moet regelmatig nagekeken en gevalideerd worden.
- werkoppervlakken worden bij voorkeur bedekt met absorberend materiaal dat nadien kan verwijderd worden door verbranding. Ook incidenteel morsen (spillage) moet verwijderd worden met absorberend materiaal dat nadien verbrand wordt.
- voor verwijdering van afval moeten lekvrije containers gebruikt worden, bvb. twee zakken in elkaar, waarbij besmetting van de buitenzijde van de afvalbevattende recipiënt moet vermeden worden.

- het al dan niet geïnactiveerd biologisch afval en materiaal dat niet gerecycleerd wordt, moet in ieder geval verwijderd worden door een erkende firma voor de verwijdering van de te verbranden afvalstoffen.

## 5. Sorteren

Het biologisch gevaarlijk afval moet gescheiden worden. Indien mogelijk, moet dit aan de bron gebeuren.

Om goed te sorteren moeten duidelijke richtlijnen opgesteld worden, welke bijvoorbeeld d.m.v. posters voor het personeel zichtbaar gemaakt worden. Ook moeten er voldoende handige standers en recipiënten ter plaatse zijn.

Meer in het bijzonder, moet men gebruik maken van vormvaste recipiënten die men na vullen hermetisch kan afsluiten voor het vloeibaar en pasteus afval; kartonnen dozen met een gele plastic binnenzak voor vast afval en speciale recipiënten voor scherpe voorwerpen (naaldcontainers). Indien het scherp gedeelte van voorwerpen te groot is voor dergelijke specifieke containers, worden deze door de gebruiker afgeschermd alvorens te verwijderen. De naaldcontainers worden afzonderlijk opgehaald en verwijderd als risicohoudend medisch afval. Bij voorkeur worden de containers herverpakt in de wettelijke kartonnen dozen of vormvaste recipiënten voor risicohoudend afval, om zo niet te kunnen gerecupereerd worden door geïnteresseerde druggebruikers (Hoge Gezondheidsraad, 2005). Op elk ogenblik moeten de juiste containers voorhanden zijn, zodat sorteren op een later tijdstip kan vermeden worden, daar dit een extra risico met zich meebrengt. Ook mag een personeelslid nooit na fout sorteren het afval eruit halen om ergens anders te deponeren.

De containers moeten voldoen aan de nationale wetgeving qua kleurcode, constructiemateriaal, vorm en grootte. Ze moeten voorzien zijn van een geschikte sluiting en een internationaal 'biohazard' teken (voor L1 is dit niet vereist) (EN 12740).

De labeling van containers (permeabel) die herbruikt zullen worden, moet resistent zijn tegen het decontaminatieproces (stoomsterilisatie).

## 6. Opslag

Afval moet geïnactiveerd worden, alvorens het vernietigd wordt. Als dit niet in de inrichting plaatsvindt, moet het in verzegelde, robuuste containers naar een speciale behandlungszone gebracht worden. Voor het wegtransport moet men de 'European Agreement on the international Carriage of Dangerous Goods by Road' (ADR) -wetgeving naleven.

Afvalcontainers moeten verwijderd worden uit laboratoria, indien ze hun veiligheidsgrens (3/4) bereikt hebben of op regelmatige tijdstippen. Deze dienen getransporteerd te worden naar een opslagplaats door een interne transportdienst die hiertoe werd opgeleid. Het opslaglokaal dient ontoegankelijk te zijn voor onbevoegden en dieren. Het moet koel en verluchtbaar zijn, alle oppervlakken dienen afwasbaar en ontsmetbaar te zijn en dienen tussen elke ophaalbeurt ook daadwerkelijk schoongemaakt en ontsmet te worden. De gebruikte vervoermiddelen moeten reinigbaar en desnoods desinfecteerbaar zijn.

Meer specifiek raadt de geregistreerde Belgische norm 12740 aan dat er enkel opslag van afval afkomstig van L1 en L2 inperkingsniveaus zou mogen plaatshebben, in afwachting van extern vervoer en uiteindelijke vernietiging.



Volgens diezelfde norm mag afval afkomstig van L3, uitzonderlijk opgeslagen worden voor een korte periode, indien een autoclaaf niet direct beschikbaar is. Voor opslag van afval afkomstig van een L2 inperkingsniveau of hoger, moet de opslagplaats gemerkt worden door het internationaal 'biohazard' teken. Deze plaats moet een goed omschreven zone zijn, gescheiden van de werkruimte.

Indien men geen gebruik maakt van een gekoelde opslagplaats raadt het WHO (1999 (b)) aan de volgende opslagtijden niet te overschrijden:

Gematigd klimaat: 72 uur tijdens de winter  
48 uur tijdens de zomer

Warm klimaat: 48 uur tijdens het koele seizoen  
24 uur tijdens het warme seizoen

De COGEM (Commissie Genetische Modificatie) heeft in haar richtlijnen voor de opslag van afval afkomstig van GGO werkzaamheden eveneens opslagtermijnen voor het afval geformuleerd.

Opslag van afval dat kadavermateriaal bevat geschiedt maximaal 1 week, bij een maximale temperatuur van 4°C of bij een maximale temperatuur van -18°C voor een maximale duur van 2 maanden (bijlage 8d van de Regeling GGO). Opslag van afval dat geen kadavermateriaal bevat, afkomstig van L1 en L2 inperkingruimtes, geschiedt ten hoogste twee maanden bij een maximale temperatuur van 4°C, ten hoogste twee weken bij maximaal 20°C, of maximaal 1 week indien de temperatuur in de opslagruimte boven de 20°C kan komen (bijlage 8e van de Regeling GGO).

Volgens de COGEM mogen L3 en L4 'disposables' (pipetten, petrischalen en handschoenen, allen met minimale resten van voedingsmedia) opgeslagen worden. Het overige afval dient echter wel direct geïnactiveerd te worden. L3 'disposables' kunnen maximaal twee weken bij ten hoogste 20°C bewaard worden, L4 'disposables' maximaal 3 dagen bij maximaal 20°C (punt 2.2 Cogem advies).

## 7. Vernietigingmethoden

Er bestaan een aantal mogelijkheden voor de verwijdering van afval en afvalwater, welk niet kan gerecycleerd of herbruikt worden:

- Verbranding
- Stort
- Via de riool

### *Verbranding*

Verbranding kan als behandelingsmethode en als verwijderingsmethode gebruikt worden voor biologisch gevaarlijk afval.

Afval dat niet op voorhand geïnactiveerd is, moet verbrand worden in een bedrijf erkend voor de vernietiging van gevaarlijk en medisch afval. Het transport van dit afval moet in overeenstemming zijn met de ADR-wetgeving.

Afvaltypes welke niet verbrand mogen worden zijn grote hoeveelheden reactief chemisch afval, gehalogeneerde plastic zoals PVC, afval met hoge concentraties aan kwik of cadmium, ampullen welke zware metalen bevatten, gascontainers onder druk, radiografisch en fotografisch materiaal.

Men moet er zich echter bewust van zijn dat dergelijke verbrandingsovens voor een uitstoot van een reeks milieuverontreinigende stoffen, zoals dioxines, furanen, metalen (lood, kwik), stofdeeltjes, zure gassen (waterstofchloride, zwaveldioxide), koolstofmonoxide en stikstofdioxides zorgen. Deze emissie heeft ernstige nadelige gevolgen voor de werkomgeving, volksgezondheid en leefmilieu. Ook de overblijvende as kan zware metalen en soms dioxines bevatten. Bijkomstig is sinds mei 2004 het internationaal verdrag over 'The elimination of persistent organic pollutants (POPs) van kracht. Het is dan ook aangeraden om naar alternatieven te zoeken.

In België mag het stort en de riolering enkel als verwijderingsmethode gebruikt worden, indien het afval reeds gedecontamineerd is.

## 8. Testmethodes

Afval moet op een gevalideerde wijze geïnactiveerd worden. Validatie kan men omschrijven als het verzamelen en beoordelen van gegevens, opdat kan worden vastgesteld of een proces effectief en reproduceerbaar verloopt. Om dit te kunnen bepalen, moeten de procesparameters worden geïdentificeerd en de beoogde waarden worden vastgelegd.

Indien de gekozen behandelingsmethode neergeschreven is in een Europese of nationale norm, is men verplicht om de voorgeschreven procedures na te leven.

Waar afval van verschillende inperkingsniveaus geïnactiveerd wordt, moet de validatie in de 'worst case' gebeuren (NBN EN 12740).

Naast validering moeten er op bepaalde tijdstippen eveneens routinetesten uitgevoerd worden. Indien op een gegeven moment de valideringsgegevens niet meer geëvenaard kunnen worden, moet er een hervalidering plaatsvinden. Eén maal per jaar moet er hoe dan ook nagegaan worden of er nog steeds een correct product wordt afgeleverd. Dit kan ook nodig zijn, indien men van ladingsprofiel, type van verpakking, e.d. verandert.

Er moet een rapport bijgehouden worden van alle controles, onderhoud en prestatietesten samen met een logboek of vergelijkbare rapporten voor alle routinehandelingen, zoals temperatuurgrafieken en details over de lading.

Naast de mechanische controles (indien van toepassing), moeten er eveneens biologische of chemische (indien van toepassing) indicatoren in het afval geplaatst worden voor validatie, opdat er kan aangetoond worden dat er aan de sterilisatie/desinfectiecondities voldaan is.



Chemische indicatoren zijn bedoeld om gebruikt te worden samen met biologische indicatoren. Zij zorgen voor een instant resultaat, dag na dag, toch mogen ze niet alleen gebruikt worden.

De resultaten van de biologische indicatoren moeten bijgehouden worden.

### 8.1 Mechanische controle

Stoomsterilisatoren moeten aan een reeks van testen en controles onderworpen worden. De Europese norm EN 554 schrijft voor dat bij aanvang van iedere werkdag een stoompenetratietest uitgevoerd moet worden. Het Bowie & Dick testpakket conform EN 285 wordt gebruikt om de penetratie binnen het te steriliseren linnen te controleren, dat één van de meest moeilijke te steriliseren producten is.

*Bowie Dick Test:* Dit is een test die gebruikt wordt om de efficiëntie van het vacuümsysteem in een prevacuümsterilisator na te gaan. In de praktijk gaat de test na of dat er tijdens de vacuümfase voldoende lucht wordt weggezogen alvorens de stoom wordt binnengebracht. Het test eveneens of er lekken in de kamer zijn tijdens het sterilisatieproces. De fabrikanten raden zo'n test dagelijks aan.

Om te zien of een autoclaaf ook geschikt is voor het steriliseren van holle buizen, wordt de Helixtest (EN 867-5) voorgeschreven, deze wordt eveneens in de Europese norm voor kleine stoomsterilisatoren voorgeschreven als test.

*Helixtest:* bestaat uit een dunne lange slang waarvan één uiteinde voorzien is van een capsule waarin een chemische of biologische indicator kan geplaatst worden. In de Europese norm EN 867-5 zijn de specificaties voor de helix nauwkeurig vastgelegd.

### 8.2 Chemische indicatoren (CI)

Chemische indicatoren zijn fysische/chemische sterilisatieproces indicatoren. Samen met de biologische indicatoren en de mechanische controlesystemen, zorgen zij voor een efficiënt programma ter opsporing van falen van het sterilisatieproces.

Eén type van CI, zijn diegene die van kleur of van vorm veranderen wanneer ze worden blootgesteld aan bepaalde temperaturen. Een voorbeeld hiervan is de autoclaveertape. Dit type van indicator wordt hoofdzakelijk als externe indicator gebruikt, het wordt langs de buitenkant bevestigd. Deze indicatoren tonen niet aan of het sterilisatieproces heeft plaatsgevonden. Deze soort indicatoren noemt men 'process indicators'.

Een tweede type van CI's zijn de 'integrated indicators', welke trager van kleur of vorm veranderen en reageren op een combinatie van tijd en temperatuur (droge hitte systemen) of tijd, temperatuur en de aanwezigheid van stoom (stoomsterilisatoren). Deze indicatoren worden meestal aan de binnenkant van verpakkingen geplaatst, om er zeker van te zijn dat al het materiaal blootgesteld is aan de sterilisatiecondities.

Nog een ander type zijn de 'air removal indicators', deze worden gebruikt in bijvoorbeeld een Bowie Dick Test Pack. Zij gaan de efficiëntie van de luchtverwijdering na. Indien de lucht op onvoldoende wijze verwijderd wordt, indien er een lek is, zal er een onvolledige kleurverandering van de indicator optreden.

Een voordeel van deze indicatoren t.o.v. BI, is dat de resultaten direct beschikbaar zijn. Toch kunnen CI niet ter vervanging van BI gebruikt worden, daar er uit onderzoek gebleken is dat zij zelfs bij falen van het proces nog een positief resultaat kunnen aangeven.

### 8.3 Biologische indicatoren

Er bestaan verschillende vormen van biologische indicatoren. De 'self-contained' biologische indicatoren hebben het voordeel dat het cultuurmedium reeds aanwezig is en dat er met andere woorden geen overdracht van (micro-)organismen moet plaatsvinden na het sterilisatieproces, wat wel het geval is voor geïncubeerde carriers in een eerste verpakking.

Indien men biologische indicatoren wenst te gebruiken tijdens het validatieproces moet men eveneens nagaan welke biologische indicatoren men gaat gebruiken tijdens routinecontroles. Indien deze van elkaar verschillen moeten beiden tijdens het validatieproces bekeken worden. Het aantal biologische indicatoren dat geplaatst moet worden, moet bepaald en gedocumenteerd zijn. Tijdens een valideringsmethode moeten deze op de moeilijkst bereikbare plaatsen gezet worden, tijdens een routinecontrole is het echter aangewezen om ze op plaatsen aan te brengen die effectief gebruikt worden. Indien men gebruik maakt van containers, moeten de indicatoren binnenin geplaatst worden. De controle met biologische indicatoren moet op geregelde tijdstippen plaatsvinden, de CDC (Centers for Disease Control) raden aan om dit wekelijks uit te voeren.

Na het proces moeten de indicatoren zo snel mogelijk verwijderd en geïncubeerd worden. Het personeel dat verantwoordelijk is voor plaatsing, testen en alle andere handelingen met biologische indicatoren, moet op een correcte manier getraind zijn.

*Voor stoomsterilisatoren: Geobacillus stearothermophilus* (NBN EN 866-3) (zijn geschikt bevonden: NCTC 1003, ATCC 7953, DSM 22 en CIP 5281) of elke andere stam of (micro-)organisme die aan dezelfde eisen (EN 866-3) voldoet. Derde generatie indicatoren zijn het volledigst, daar ze zorgen voor een snelle detectie (1-3 uur) van het  $\alpha$ -glucosidase enzym enerzijds, en het detecteren van zure metabolieten via een pH indicator, wat voor bevestiging zorgt binnen de 24-168 uren (Vesley *et al.*, 1995).

*Voor droge-hitteste-sterilisatoren: Bacillus subtilis* of elke andere stam of (micro-)organisme dat voldoet aan de eisen van de norm. *Bacillus subtilis* CIP 77.18, NCIMB 8054, DSM 675 en ATCC 9372 zijn geschikt bevonden (NBN EN 866-6).

*Voor formaldehydeste-sterilisatoren met gebruik van lage temperatuurstoom: Geobacillus stearothermophilus* of andere stammen of (micro-)organismen welke voldoen aan de norm. Zijn geschikt bevonden: *Geobacillus stearothermophilus* NCIB 8224, DSM 6790 en ATCC 10149 (NBN EN 866-5).

*Voor ethyleenoxideste-sterilisatoren: Bacillus subtilis var. niger* of andere stammen of (micro-)organismen die eveneens aan de norm voldoen. Zijn geschikt bevonden: *Bacillus subtilis* NCTC 10073, DSM 2277, ATCC 9372 of CIP 7718 (NBN EN 866-2). Er is een nieuwe readout EO biologische indicator uit, welke de aanwezigheid van *B. subtilis* detecteert via de activiteit van een enzym (fluorescentie, binnen de 4 uur): beta-glucosidase. Het detecteert eveneens de zure metabolieten (pH-meting), geproduceerd tijdens de groei van de sporen (Rutala *et al.*, 2001). Dit snelle readout systeem kan gebruikt worden voor 100% EO, EO-'chlorofluorocarbons' en EO-'hydrochlorofluorocarbon' mengsels. Het is niet getest voor EO-CO<sub>2</sub> mengsels.

*Voor stralingsste-sterilisatoren: Bacillus pumilus* of elke andere stam of (micro-)organisme dat aan de norm voldoet. Zijn geschikt bevonden: CIP 3.83, DSM 361, CIP 77.25, DSM 492, ATCC 14884 en ATCC 27142 (NBN EN 866-4).

Voor het nagaan van de *bactericide werking* van chemische desinfectantia en antiseptica wordt er gebruikt gemaakt van *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 15442 en *Staphylococcus aureus* ATCC 6538. Het geteste product moet ten minste een  $10^5$  log reductie veroorzaken bij de hierboven vermelde organismen (NBN EN 1040).

Voor het nagaan van de *fungicide werking* van chemische desinfectantia en antiseptica worden vegetatieve cellen van *Candida albicans* ATCC 10231 en sporen van *Aspergillus niger* ATCC 16404 gebruikt. Het geteste product moet ten minste een  $10^4$  log reductie veroorzaken bij het testorganisme (NBN EN 1275).

## 9. Verklarende woordenlijst

**Achtervoegsel '-cide':** de aanduiding van het vermogen van een chemisch product of een proces om (micro-) organismen te doden.

**Achtervoegsel '-statisch':** de aanduiding van het vermogen van een chemisch product of een proces om de groei van (micro-) organismen te inhiberen, maar niet noodzakelijk te doden.

**Afvalstof:** elke stof of elk voorwerp waarvan de houder zich ontdoet, voornemens is zich te ontdoen of zich moet ontdoen (91/156/EEG).

**Algicide:** een substantie die algen doodt.

**Antimicrobieel agens:** elk agens dat (micro-) organismen doodt, of hun groei tegengaat.

**Antisepsis:** de reductie van het aantal levende (micro-) organismen op levend weefsel, door middel van een chemisch product, met als doel het voorkomen van infectie van dat weefsel en/of onderliggende weefsels.

**Bacteriocide:** een agens dat bacteriën doodt.

**Bacteriostatisch:** een agens, meestal chemisch, dat de groei van bacteriën inhibeert, maar niet noodzakelijk doodt.

**Biocide:** een substantie welke alle levende organismen doodt, pathogeen en niet-pathogeen.

**Decontaminatie:** reductie van biologische besmetting door middel van desinfectie of sterilisatie tot niveau waarop geen risico meer bestaat (Besluit 8/11/2001, Besluit 6/02/2004, Besluit 4/07/2002).

**Desinfectie:** de irreversibele inactivering van (micro-) organismen (vegetatieve bacteriën en/of schimmels en/of virussen en/of bacteriesporen) op levenloze oppervlakken, alsmede op intacte huid en slijmvliezen. Niet alle (micro-) organismen worden noodzakelijkerwijs geïnactiveerd; met name bacteriesporen overleven veelal een desinfectieproces.

**Desinfectans (=ontsmettingsmiddel):** een agens waarmee kan worden gedesinfecteerd, meestal is dit chemisch maar in sommige gevallen kan het ook fysisch zijn, en dat tenminste in staat is vegetatieve bacteriën irreversibel te inactiveren binnen de daarvoor gestelde randvoorwaarden.

**Fungicide:** een substantie die fungi doodt.

**Fungistatisch:** een agens dat fungi inhibeert, maar niet noodzakelijk doodt.

**Genetisch gemodificeerd micro-organisme (GGM):** een micro-organisme waarvan het genetisch materiaal gewijzigd is op een wijze die van nature of door voortplanting of natuurlijke recombinatie niet mogelijk is (Besluit 8/11/2001, Besluit 6/02/2004, Besluit 4/07/2002).

**Germicide:** een agens dat (micro-) organismen doodt, in het bijzonder pathogene (micro-) organismen.

**Grenswaarde voor beroepsmatige blootstelling:** tenzij anders omschreven, de grenswaarde van de tijdsgewogen gemiddelde concentratie van een chemisch agens in de lucht in de individuele ademzone van een werknemer in verhouding tot een bepaalde referentieperiode (KB 11/10/2002)

**Inactivering:** opheffing van de biologische activiteit van (micro-) organismen.

**Ingeperkt gebruik:** elke activiteit waarbij micro-organismen genetisch gemodificeerd worden of waarbij GGMs worden gekweekt, opgeslagen, getransporteerd, vernietigd, verwijderd of anderszins gebruikt en waarbij speciale inperkingsmaatregelen worden gebruikt om het contact van die micro-organismen met de bevolking en het milieu te beperken en om de bevolking en het milieu een hoog veiligheidsniveau te garanderen (Besluit 8/11/2001, Besluit 6/02/2004, Besluit 4/07/2002).

**Organisme:** elke biologische entiteit, met inbegrip van micro-organismen, met het vermogen tot replicatie of tot overbrenging van genetisch materiaal (Besluit 8/11/2001, Besluit 6/02/2004, Besluit 4/07/2002).

**ppm:** deel per miljoen in luchtvolume ( $\text{ml/m}^3$ ) (KB 11/10/2002).

**Prion:** dit is een klein virusachtig iets, wat ernstige ziekten in mens en dier veroorzaakt. Prionen verschillen echter wel van virussen, daar ze geen DNA of RNA dragen, maar enkel uit proteïnen bestaan en zeer resistent zijn tegen traditionele decontaminatieprocessen.

**Micro-organisme:** elke cellulaire of niet-cellulaire microbiologische entiteit met het vermogen tot replicatie of tot overbrenging van genetisch materiaal (Besluit 8/11/2001, Besluit 6/02/2004, Besluit 4/07/2002).

**Sporicide:** een agens dat alle microbiële sporen doodt, in het bijzonder een chemische substantie welke bacteriële sporen doodt. Aangezien sporen resistenter zijn dan vegetatieve bacteriën, kan een sporicide als een steriliserend agens omschreven worden.

**Sterilisatie:** een proces dat alle microbiële leven op of in een voorwerp doodt of inactieveert, zodanig dat de kans op aanwezigheid van levende organismen per gesteriliseerde eenheid kleiner is dan 1 op  $10^6$  (= 99,9999% reductie).

**Validatie:** geheel van handelingen die nodig zijn om te bewijzen dat de gebruikte methode betrouwbare en juiste resultaten oplevert die beantwoorden aan het voorgestelde gebruik (Besluit 8/11/2001, Besluit 6/02/2004, Besluit 4/07/2002).

**Verwijdering:** de vernietiging en/of definitieve opslag op of in de bodem en de hierop gerichte handelingen die als dusdanig worden bepaald door de Vlaamse regering overeenkomstig de geldende Europese voorschriften (Besluit 6/02/2004).

**Virucide:** een agens dat virussen inactieveert.

## 10. Referenties

- Aanbevelingen inzake het beheer van medisch verzorgingsafval.** Hoge Gezondheidsraad, FOD Volksgezondheid, Veiligheid van de Voedselketen en Leefmilieu, maart 2005. HGR n° 5109.
- Ackland NR, Hinton MR, Denmaede KR. **Controlled formaldehyde fumigation system.** Appl Environ Microbiol, 1980; 39(3): 480-487.
- Adair FW, Geflic SG, Gelzer J. **Resistance of *Pseudomonas* to quaternary ammonium compounds.** Appl Microbiol, 1971; 21(6): 1058-1063.
- Best M, Sattar SA, Springthorpe VS, Kennedy ME. **Efficacies of selected disinfectants against *Mycobacterium tuberculosis*.** J Clin Microbiol, 1990; 28(10): 2234-2239.
- Blair A, Saracci R, Stewart PA, Hayes RB, Shy C. **Epidemiological evidence on the relationship between formaldehyde exposure and cancer.** Scand J Work Environ Health, 1990; 16(6): 381-93.
- Block SS. **Peroxygen compounds.** In Block SS (ed.), Disinfection, sterilization and preservation, 5th ed. Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, 2001: 185-204.
- Bock FG, Myers HK, Fox HW. **Cocarcinogenic activity of peroxy compounds.** J Natl Cancer Inst, 1975; 55(6): 1359-61.
- Borick PM, Dondershine FH, Chandler VL. **Alkalinized glutaraldehyde, a new antimicrobial agent.** J Pharm Sci, 1964; 53: 1273-5.
- Broder BC, Simon J. **Understanding ozone.** Mater Manag Health Care, 2004; 13(9): 38-40.
- Brown P, Rohwer RG, Gadjusek DC. **Newer data on the inactivation of scrapie virus or creutzfeldt-jacob disease virus in brain tissue.** J Infect Dis, 1986; 153(6): 1145-8.
- COGEM advies CGM/050831-01. Richtlijnen voor de opslag van afval afkomstig van GGO werkzaamheden, 31 augustus 2005.
- Cole EC, Rutala WA, Nessen L, Wannamaker NS, Weber DJ. **Effect of methodology, dilution, and exposure time on the tuberculocidal activity of glutaraldehyde-based disinfectants.** Appl Environ Microbiol, 1990; 56(6): 1813-7.
- Coulthard CE, Skyes G. **Germicidal effect of alcohol.** Pharm J, 1936; 137: 79-81.
- Crumbley L. **BioConverter System Safely treats infectious medical waste.** Virginia Tech Spectrum, 1995.

ECETOC, **Peracetic acid (GAS. NO. 79.21.0) and its equilibrium solutions**. JACC 40. European Centre for Ecotoxicology and Toxicology of Chemicals (ECOTOC), 2001. Brussels, Belgium.

Emmanuel J, Hrdinka C, Gluszynski P, Ryder R, McKeon M, Berkemaier R, Gauthier A. **Non-incineration medical waste treatment technologies in Europe**. Health Care Without Harm Europe, June 2004.

Ernst DR, Race RE. **Comparative analysis of scrapie agent inactivation methods**. J Virol Methods, 1993; 41(2): 193-201.

Gamble MR. **Hazard: formaldehyde and hypochlorites**. Lab Anim, 1977; 11(1):61.

Garner JS, Favero MS. **CDC Guidelines for handwashing and hospital environmental control**. Infect Control 1986; 7(4): 231-43.

Gottardi W. **Iodine and iodine compounds**. In S. S. Block (ed.), Desinfection, sterilization, and preservation, 5th ed. Williams & Wilkins, Philadelphia, PA, 2001: 159-84.

Gregory AW, Schaaltje B, Smart JD, Robinson RA. **The mycobactericidal efficacy of ortho-phthalaldehyde and the comparative resistances of *Mycobacterium bovis*, *Mycobacterium terrae*, and *Mycobacterium chelonae***. Infect Control Hosp Epidemiol, 1999; 20(5): 324-30.

Hadar J, Tirosh T, Grafstein O, Korabelnikov E. **Autoclave emissions-Hazardous or not**. Am Biol Ass, 1997; 2(3): 44-51.

Hueck HJ, Adema DM, Wiegmann JR. **Bacteriostatic, fungistatic and algistatic activity of fatty nitrogen compounds**. Appl Microbiol, 1966; 14(3): 308-319.

Jeng DK, Woodworth AG. **Chlorine dioxide gas sterilization under square-wave conditions**. Appl Environ Microbiol, 1990; 56(2): 514-519.

Johnston MD, Lawson S, Otter JA. **Evaluation of hydrogen peroxide vapour as a method for the decontamination of surfaces contaminated with *Clostridium botulinum* spores**. Microbiol Methods, 2005; 60(3): 403-411.

Kahnert A, Seiler P, Stein M, Aze B, McDonnell G, Kaufmann SH. **Decontamination with vaporized hydrogen peroxide is effective against *Mycobacterium tuberculosis***. Lett Appl Microbiol, 2005; 40(6): 448-452.

Kanemitsu K, Kunishima H, Imasaka T, Ishikawa S, Harigae H, Yamato S, Hirayama Y, Kaku M. **Evaluation of a low-temperature steam and formaldehyde sterilizer**. J Hosp Infect, 2003; 55(1): 47-52.

Kanemitsu K, Kunishima H, Saga T, Harigae H, Imasaka T, Hirayama Y, Kaku M. **Residual formaldehyde on plastic materials and medical equipment following low-temperature steam and formaldehyde sterilization**. J Hosp Infect, 2005; 59(4): 361-364.



Klein M, DeForest A. **Antiviral action of germicides.** Soap. Sanit, 1963; 39: 70.

Klein M, DeForest A. **Principles of viral inactivation.** In Block SS (ed.), Disinfection, sterilization and preservation, 3rd ed. Lea & Febiger, Philadelphia, London, 1983:422-434.

Kline LB, Hull RN. **The virucidal properties of peracetic acid.** Am J Clin Path, 1960; 33: 30-33.

Lensing HH, Oei HL. **Investigations on the sporocidal and fungicidal activity of disinfectants.** Zentrabl Bakteriolog Mikrobiol Hyg, 1985; B181: 487-95.

Luftman HS. **Neutralization of formaldehyde gas by ammonium bicarbonate and ammonium carbonate.** Appl Biosafety, 2005; 10(2): 101-106.

Manuelidis L. **Decontamination of Creutzfeldt-Jacob disease and other transmissible agents.** J Neurovirol, 1997; 3(1): 62-5.

Mariscal A, Carnero-Varo M, Gomez E, Fernandez-Crehuet J. **A fluorescence bioassay to detect residual formaldehyde from clinical materials sterilized with low-temperature steam and formaldehyde.** Biologicals, 2005; 33(3): 191-196.

McDonnell G, Russell AD. **Antiseptics and disinfectants: Activity, action and resistance.** Clin Microbiol Rev, 1999; 12(1): 147-179.

Mentel R, Schmidt J. **Investigations on rhinovirus inactivation by hydrogen peroxide.** Acta Virol, 1973; 17(4): 351-354.

Moisan M, Barbeau J, Moreau S, Pelletier J, Tabrizian M, Yahia LH. **Low-temperature sterilization using gas plasmas: a review of the experiments and an analysis of the inactivation mechanisms,** Int Pharm, 2001; 226(1-2): 1-21.

NBN EN 285. **Sterilisatie-Stoomsterilisatoren-Grote Sterilisatoren.** 27 december 1996

NBN EN 554. **Sterilisatie van medische hulpmiddelen-Validatie en routinecontrole van sterilisatie met stoom.** 20 januari 1995

NBN EN 866-2. **Biologische systemen voor de beproeving van sterilisatoren en sterilisatieprocessen-Deel 2: Bijzondere systemen voor toepassing in ethyleenoxide-sterilisatoren.** 4 april 1997.

NBN EN 866-3. **Biologische indicatoren voor de beproeving van sterilisatoren en sterilisatieprocessen-Deel 3: Bijzondere systemen voor toepassing in sterilisatoren met vochtige warmte.** 4 april 1997.

NBN EN 866-4. **Biologische indicatoren voor de beproeving van sterilisatoren en sterilisatie-processen-Deel 4: Specifieke systemen voor toepassing in stralingssterilisatoren.** 29 februari 2000.

NBN EN 866-5. **Biologische indicatoren voor de beproeving van sterilisatoren en sterilisatieprocessen-Deel 5: Specifieke systemen voor toepassing in formaldehydesterilisatoren met gebruik van lage-temperatuurstoom.** 29 februari 2000.

NBN EN 866-6. **Biologische indicatoren voor de beproeving van sterilisatoren en sterilisatieprocessen-Deel-6: Specifieke systemen voor toepassing in droge-hittesterilisatoren.** 29 februari 2000.

NBN EN 867-5. **Niet-biologische systemen voor toepassing in sterilisatoren-Deel 5: Specificaties voor indicatorsystemen en proefstukken voor de prestatiebepaling van kleine sterilisatoren van type B en type S.** 2001

NBN EN 1040. **Chemische desinfectantia en antiseptica-Basale bactericide werking-Beproevingmethode en eisen (Fase 1).** 4 april 1997.

NBN EN 1275. **Chemische desinfectantia en antiseptica-Basale fungicidewerking-Beproevingmethode en eisen (Fase 1).** 9 mei 1997.

NBN EN 12740. **Biotechnologie- Laboratoria voor onderzoek, ontwikkeling en analyse-Leidraad voor de behandeling, de inactivering en de beproeving van afval.** 29 september 1999

NBN EN 13311-5. **Biotechnologie-Prestatie-eisen voor vaten-Deel5: kill tanks.** 20 mei 2001

NBN EN 14180. **Sterilisatoren voor medische doeleinden-Lage-temperatuur stoom-en formaldehydesterilisatoren-Eisen en beproeving.** 22 juli 2003

Nystrom B. **New technology for sterilization and disinfection.** Am J Med, 1991; 91(3B): 264S-266S.

Partanen T, Kauppinen T, Hernberg S, Nickels J, Luukkonen R, Hakulinen T, Pukkala E. **Formaldehyde exposure and respiratory cancer among woodworkers-an update.** Scand J Work Environ Health, 1990; 16(6): 394-400.

Power EG, **Aldehydes as biocides.** Prog Med Chem, 1995; 34: 149-201.

Prince HN, Prince DL, Prince RN. **Principles of viral control and transmission.** In Block SS (ed.), Desinfection, sterilization and preservation, 4th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, Pa, 1991: 411-44.

Ratner BD, Chilkoti A, Lopez GP. **Plasma deposition and treatment for biomedical applications.** In d'Agostino (ed.), Plasma deposition, treatment and etching of polymers. Academic Press, San Diego, CA, 1990: 463-516.

Reinhardt PA, Gordon JG. **Infectious and medical waste management.** Lewis Publishers Inc., Chelsea, MI, 1991.

Resnick L, Veren K, Salahuddin SZ, Tondreau S, Markham PD. **Stability and inactivation of HTLV-III/LAV under clinical and laboratory environments.** JAMA, 1986; 255 (14): 390-401.

Rickloff JR. **An evaluation of the sporicidal activity of ozone.** Appl Environ Microbiol, 1987; 53(4): 683-686.

Rubbo SD, Gardner JF, Webb RL. **Biocidal activities of glutaraldehyde and related compounds.** J Appl Bacteriol, 1967; 30(1): 78-87.

Russell AD, Hopwood D. **The biological uses and importance of glutaraldehyde.** Prog Med Chem, 1976; 13:271-301.

Russell AD. **Bacterial spores and chemical sporicidal agents.** Clin Microbiol Rev, 1990; 3(2): 99-119.

Russell AD. **Activity of biocides against mycobacteria.** Soc Appl Bacteriol Symp Ser, 1996; 25: 87S-101S.

Rutala WA, Cole EC, Wannamaker NS, Weber DJ. **Inactivation of Mycobacterium tuberculosis and Mycobacterium bovis by 14 hospital disinfectants.** Am J Med, 1991; 91(3B): 267S-71S.

Rutala WA. **APIC guidelines for selection and use of disinfectants.** Am J Infect Control, 1996; 24: 313-342.

Rutala WA, Gergen MF, Weber DJ. **Inactivation of Clostridium difficile spores by disinfectants.** Infect Control Hosp Epidemiol, 1993; 14: 713-8.

Rutala WA, Gergen MF, Weber DJ. **Evaluation of a new surface germicide (Surfacine™) with antimicrobial persistence.** Infect Control Hosp Epidemiol, 2000; 21: 103.

Rutala WA., Weber DJ. **New disinfection and sterilization methods.** Emerg Infect Dis, 2001; 7(2): 348-353. (a)

Rutala WA, Weber DJ. **Creutzfeldt-jacob disease: recommendations for disinfection and sterilization.** Clin Infect Dis, 2001; 32(9): 1348-1356. (b)

Sattar SA, Sprinthorpe VS. **Survival and disinfectant inactivation of the human immunodeficient virus: a critical review.** Rev Infect Dis, 1991; 13(3): 430-447.

Scott EM, Gorman SP. **Glutaraldehyde.** In: Block SS (ed.), Desinfection, sterilization and preservation. 4th ed. Lea & Febiger, Philadelphia, 1991 :257-62.

Shetty N, Srinivasan S, Holton J, Ridgway GL. **Evaluation of microbicidal activity of a new disinfectant: Sterilox 2500 against Clostridium difficile spores, Heliobacter pylori,**

**vancomycin resistant *Enterococcus* species, *Candida albicans* and several *Mycobacterium* species.** J Hosp Infect, 1999; 41(2): 101-105.

Sterling TD, Weinkam JJ. **Mortality from respiratory cancers (including lung cancer) among workers employed in formaldehyde industries.** Am J Ind Med, 1994; 25(4): 593-602.

Sy KY, Murray MB, Harrison MD, Beuchat LR. **Evaluation of gaseous chlorine dioxide as a sanitizer for killing *Salmonella*, *Escherichia coli* O157:H7, *Listeria monocytogenes*, and yeast and molds on fresh and fresh-cut procedure.** J Food Prot, 2005; 68(6):1176-87.

Tanaka H, Hirakata Y, Kaku M, Yoshida R, Takemura H, Mizukane R, et al. **Antimicrobial activity of superoxidized water.** J Hosp Infect, 1996; 34(1): 43-9.

Toledo RT, Escher FE, Ayers JC. **Sporicidal properties of hydrogen peroxide against food spoilage organisms.** Appl Microbiol, 1973; 26(4): 592-597.

Vesley D, Nellis MA, Allwood PB. **Evaluation of a rapid readout biological indicator for 121 degrees C gravity and 132 degrees C vacuum-assisted steam sterilization cycles.** Infect Control Hosp Epidemiol. 1995 May;16(5):281-6.

Walsh SE, Maillard JY, Russel AD. **Ortho-phtalaldehyde: a possible alternative to glutaraldehyde for high level disinfection.** J Appl Microbiol, 1999; 86(6): 1039-46.

Wardle MD, Renninger GM. **Biocidal effect of hydrogen peroxide in spacecraft bacterial isolates.** Appl Microbiol, 1975; 30(4): 710-711.

Werkgroep infectiepreventie. **Beleid reiniging, desinfectie en sterilisatie.** Nederland, juli 2004.

**WHO infection control guidelines for transmissible spongiform encephalopathies.** World Health Organization, Geneva, Switzerland, 23 –26 March 1999. WHO/CDS/CSR/APH/2000.3 (a)

**WHO Safe management of wastes from health-care activities.** WHO Geneva 1999 (b)

Williams JE. **Formalin destruction of salmonellae in poultry litter.** Poult Sci, 1980; 59(12): 2717-2724.

Wilson R. **Evaluation of the Plazlyte sterilisation system at the richmond hospital, Richmond, B.C.** J Healthc Mater Manage, 1994; 12(4): 37-40.

**Beschikking 93/3/EG** van de Commissie van 20 december 1993 houdende vaststelling van een lijst van afvalstoffen overeenkomstig artikel 1, onder a), van Richtlijn 75/442/EEG van de Raad betreffende afvalstoffen, *PB. L.* 1994, nr. 5. Sinds 1 januari 2002 vervangen door Beschikking 2000/532/EEG van de Commissie van 3 mei 2000 tot vervanging van Beschikking 94/3/EG houdende vaststelling van een lijst van afvalstoffen overeenkomstig artikel 1, onder a), van Richtlijn 75/442/EG van de Raad betreffende afvalstoffen en

Beschikking 94/904/EG van de Raad tot vaststelling van een lijst van gevaarlijke afvalstoffen overeenkomstig artikel 1, lid 4, van Richtlijn 91/698/EEG van de Raad betreffende gevaarlijke afvalstoffen, *PB. L.* 2000, nr. 226, gewijzigd bij Beschikking 2001/573/EG, *PB. L.* 2001, nr. 203.

**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. BS 26.10.2002, p. 7209

**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. BS 01.04.2004, p. 18281

**Besluit van de Waalse Regering van 4 juli 2002** tot bepaling van de sectorale voorwaarden inzake het ingeperkt gebruik van genetisch gemodificeerde of pathogene organismen. BS 21.09.2002, p. 41925

**Decreet van 2 juli 1981** betreffende de voorkoming en het beheer van afvalstoffen, het decreet werd het laatst gewijzigd door het decreet van 2 april 2004, BS 18 mei 2004, p. 39289

**Decreet van 27 juni 1996** betreffende de afvalstoffen, het decreet werd het laatst gewijzigd door het decreet van 16 oktober 2003, BS 23 oktober 2003, p. 51646

**Koninklijk Besluit van 20 juli 2001** houdende algemeen reglement op de bescherming van de bevolking, van de werknemers en het leefmilieu tegen het gevaar van de ioniserende stralingen, BS 30 augustus 2001, p. 28906

**Koninklijk Besluit van 11 oktober 2002** ter wijziging van het koninklijk Besluit van 11 maart 2002 betreffende de bescherming van de gezondheid en de veiligheid van de werknemers tegen de risico's van chemische agentia op het werk, BS 25 oktober 2002, p. 49062

**Koninklijk Besluit 9 november 2003** tot wijziging van het Koninklijk Besluit van 2 december 1993 betreffende de bescherming van de werknemers tegen de risico's van blootstelling aan kankerverwekkende en mutagene agentia op het werk en tot wijziging van artikel 148decies, 1, §1, van het Algemeen Reglement voor de arbeidsbescherming, BS 8 augustus 2001, P. 589

**Ordonnantie van 7 maart 1991**, werd laatst gewijzigd door de Ordonnantie van 19 februari 2004, BS 13 mei 2005, p. 22905

**Richtlijn van de Raad 91/156/EEG** van 18 maart 1991 tot wijziging van Richtlijn 75/442/EEG betreffende afvalstoffen, *PB L.* 1991, nr. 78, opnieuw gewijzigd bij Richtlijn 91/692/EEG en Beschikking 96/350/EG

**Richtlijn 91/689/EEG** van de Raad van 12 december 1991 betreffende gevaarlijke afvalstoffen, *PB L.* 1991, nr. 377, gewijzigd bij Richtlijn 34/31/EG van de Raad van 27 juni

1994, PB L. 1994, nr. 394; Beschikking 94/904/EG van de Raad, PB L. 1994, nr. 356. Vanaf 1 januari 2002 wordt die lijst vervangen door de lijst opgenomen in Beschikking 2000/573/EG, PB L. 2001, nr. 203

**Vervoer van gevaarlijke goederen** over de weg-ADR, BS 13 december 2004, p. 81776