

**LA BIOSECURITE DES ACTIVITES
D'ENSEIGNEMENT OU SONT MANIPULES DES
AGENTS BIOLOGIQUES:**

“CE QUI EST APPRIS JEUNE EST ACQUIS POUR TOUJOURS”

Addendum

**BIOVEILIGHEID IN ONDERWIJSACTIVITEITEN MET BIOLOGISCHE
AGENTIA: “JONG GELEERD IS OUD GEDAAN”**

D/2017/3241/111



**Wetenschappelijk Instituut Volksgezondheid | Institut Scientifique de Santé Publique
Agentschap Zorg en Gezondheid**

Septembre 2017 | Bruxelles, Belgique
Numéro de dépôt légal: D/2017/2505/05

Auteurs:

Dr. Emilie Descamps*¹

Dr. Nicolas Willemarck*¹

Mevr. Tanya Moens*²

* contribution égale au contenu

¹ Service Biosécurité et Biotechnologie, Institut Scientifique de Santé Publique (WIV-ISP)

² Afdeling Preventie van het Vlaams Agentschap Zorg en Gezondheid (AZG)

Ce projet a été soutenu financièrement par le service Preventie de l'Agentschap Zorg en Gezondheid.



Remerciements

Nous remercions Liesbet Van Rooy, Karine Meersman et Bart Bautmans, du groupe de travail Biosécurité AZG, pour la réalisations des visites et des discussions sur le sujet.

Nous remercions Mme Chuong Dai Do Thi, Dr. Amaya Leunda, Dr. Aline Baldo, Dr. Didier Breyer et Dr. Fanny Coppens du Service Biosécurité et Biotechnologie du WIV-ISP pour la traduction du rapport et les discussions sur le sujet.

Contenu

1	Introduction	5
1.1	Objectif	5
1.2	Méthodologie	6
2	Evaluation thématique	8
2.1	Introduction	8
2.2	Résultats	8
2.3	Discussion	9
2.4	Conclusion	14
3	Ligne directrice en biosécurité pour les activités d'enseignement	16
4	Annexes	20
4.1	ANNEXE 1: checklist Inspection 'Enseignement'	20
4.2	ANNexe 2: micro-organismes Utilisés	20
4.3	ANNexe 3: infections acquises au Laboratoire en Belgique (2007-2012)	23
4.4	Annexe 4: Spectre Antimicrobien des désinfectants	24
4.5	ANNexe 5: Analyse de Risque, méthode de Kinney	25
5	Références	26
6	Définitions	27

1 Introduction

1.1 OBJECTIF

En 2014, dans le cadre de sa politique de prévention en matière de santé, le service Preventie de l'Agentschap Zorg en Gezondheid (AZG) a débuté le projet « **La biosécurité des activités d'enseignement où sont manipulés des agents biologiques** ». Le but de ce projet est d'identifier et d'évaluer le programme de biosécurité en vigueur dans l'enseignement flamand lors des travaux pratiques au cours desquels des agents biologiques* sont manipulés et pour lesquels une autorisation a été délivrée conformément à la législation sur les utilisations confinées* d'organismes génétiquement modifiés (OGM) et/ou pathogènes¹. Le projet a pour devise: « Ce qui est appris jeune est acquis pour toujours ».

Auparavant, en 2012, le service Preventie de AZG (précédemment dénommé ToVo) avait demandé au Service Biosécurité et Biotechnologie (SBB) de prêter une attention particulière aux dossiers de biosécurité relatifs à l'enseignement de travaux pratiques visés par la législation sur les utilisations confinées d'OGM et/ou pathogènes. La raison de cette demande réside dans le fait que les travaux pratiques sont souvent des activités similaires aux propres travaux de recherche scientifiques des enseignants responsables qui les dispensent, or ce type d'activité nécessite une évaluation et une gestion des risques distinctes. Les locaux où se déroulent les travaux pratiques ont souvent leurs propres caractéristiques techniques et équipement de biosécurité. Les activités nécessitent la mise en place de pratiques de travail (y compris la gestion des déchets) et d'équipements de protection individuelle* spécifiques. De plus, le fait qu'ils se déroulent souvent dans des installations distinctes des laboratoires de recherche (laboratoires dédiés aux travaux pratiques) constitue un élément important dans l'évaluation des risques. Notons en outre qu'une activité de travaux pratiques avec des étudiants peut augmenter le risque pour la santé humaine et l'environnement. En effet, les étudiants sont souvent inexpérimentés aux bonnes pratiques de laboratoire et pas toujours encadrés de façon optimale, ce qui accroît le risque de survenue d'incidents biologiques et d'irrégularité par rapport aux règlements en vigueur (non-conformités). De même, l'évaluation et la gestion des risques doit tenir compte du risque d'effet cumulatif d'un grand groupe d'étudiants.

Afin d'attirer l'attention sur ces préoccupations, il a été initialement demandé aux utilisateurs* de notifier séparément les travaux pratiques où sont manipulés des agents biologiques des activités de recherche du personnel enseignant, de façon à définir clairement ce qui est requis et ce qui est permis par la législation sur les utilisations confinées d'OGM et/ou pathogènes. La notification séparée s'avère également utile pour les autorités compétentes. Ainsi, depuis 2013, le SBB traite séparément les notifications de travaux pratiques (activités d'enseignement) et les notifications des activités de recherche régulière (activités de recherche et

* Voir Définitions

¹ En Belgique, les utilisations confinées d'OGM ou pathogènes sont légiférées au niveau régional par les arrêtés régionaux qui découlent des directives européennes 90/219/CEE et 98/81/CE qui ont été finalement abrogées et remplacées par la directive européenne 2009/41/CE, voir www.biosafety.be.

développement). Les travaux de recherche effectués par des étudiants dans le cadre d'un mémoire de fin d'étude ou d'une thèse de doctorat ne sont pas considérés comme des travaux pratiques.

D'après notre devise "Ce qui est appris jeune est acquis pour toujours", il est aussi essentiel que la gestion des risques soit correctement enseignée dès le début d'une formation afin de transmettre aux étudiants une bonne connaissance de la biosécurité pour leur éventuelle future carrière dans le domaine de la microbiologie ou de la biotechnologie.

Ce projet vise aussi à épauler les responsables de la biosécurité* et les utilisateurs des établissements d'enseignement dans l'élaboration d'un programme de biosécurité pour travaux pratiques lors desquels des agents biologiques sont manipulés.

1.2 MÉTHODOLOGIE

Le projet « **La biosécurité des activités d'enseignement où sont manipulés des agents biologiques** » a été initié en collaboration avec le Service Biosécurité et Biotechnologie (SBB) de l'Institut Scientifique de Santé Publique (WIV-ISP) dans le cadre de l'accord de coopération entre l'AZG et le WIV-ISP.

Le projet a débuté par une étude préliminaire sur les établissements d'enseignement qui dispensent des formations avec des agents biologiques. Cette étude préliminaire a été menée sous la forme d'une enquête contenant des questions générales sur la biosécurité et des questions plus spécifiques à l'enseignement. Au total, 15 établissements en Flandre (hautes écoles, universités et autres instituts scientifiques) ont été contactés et invités à répondre au questionnaire dans le cadre de leurs activités d'enseignement couvertes par une autorisation en cours de validité (20 activités au total). Les établissements ont été sélectionnés sur la base des informations dont le SBB dispose dans les dossiers de biosécurité et les autorisations depuis 1994. Le questionnaire était adressé au responsable de la biosécurité, et également au responsable des travaux pratiques (= utilisateur), au médecin du travail, au conseiller en prévention et à l'exploitant*.

L'étude préliminaire a permis d'évaluer quatre thèmes spécifiques des programmes de biosécurité (évaluation thématique): (1) la réalisation de l'évaluation des risques*, (2) l'inactivation* du matériel et des déchets biologiquement contaminés, (3) l'utilisation d'équipements de protection individuelle* et (4) la formation (voir annexe 1). De plus, les résultats de l'étude préliminaire ont permis de mieux cibler les établissements à visiter et à évaluer et aussi à augmenter les interactions entre les différentes parties concernées. Ce rapport est basé sur les résultats de l'étude préliminaire (= les informations recueillies dans le programme de biosécurité de l'institution sur base d'une check-list) ainsi que sur les visites sur place. Ce rapport contient une discussion et une conclusion ainsi qu'une proposition de mesures à appliquer pendant les travaux pratiques impliquant la

* Voir Définitions

manipulation d'agents biologiques afin de protéger la santé publique et l'environnement. Les mesures proposées permettront de soutenir les responsables de la biosécurité et les utilisateurs* dans la mise en place de la biosécurité des activités d'enseignement. L'objectif de ce rapport et de la proposition de mesures est de servir de base à des discussions avec le secteur concerné et parvenir ensemble à établir des lignes directrices qui soient à la fois utiles et pratiques. Ces lignes directrices ont comme objectif de contribuer à :

- (1) augmenter la prise de conscience des risques biologiques potentiels des travaux pratiques où sont manipulés des agents biologiques;
- (2) une implémentation optimisée et accélérée d'un programme de biosécurité solide spécifique aux «Travaux pratiques qui impliquent la manipulation d'agents biologiques » lors d'une activité d'enseignement afin de protéger la santé publique et l'environnement.

* Voir Définitions

2 Evaluation thématique

2.1 INTRODUCTION

L'évaluation thématique « Activités d'enseignement où sont manipulés des agents biologiques » a été réalisée sur base d'une collaboration entre le service Preventie de AZG comme autorité compétente, le service Biosécurité et Biotechnologie (SBB) de l'Institut scientifique de santé publique (ISP-WIV) en qualité d'expert technique des autorités compétentes, les utilisateurs et les responsables de la biosécurité. Cela a été effectué au moyen de visites sur le terrain afin d'obtenir une vision globale des activités d'enseignement impliquant la manipulation de matériel biologique. En 2014, le service Preventie de AZG a effectué avec les experts techniques du SBB des visites d'établissements en Flandre où sont réalisées des activités d'enseignement (11 hautes écoles, 3 universités et 1 institut scientifique, avec un total de 20 activités d'enseignement (N=20) sur base d'autorisations notifiées. Le niveau de confinement le plus élevé autorisé dans le cadre des travaux pratiques avec manipulation d'agents biologiques est le niveau de confinement L2. Une check-list a été utilisée pendant l'évaluation thématique pour faire le point sur la situation existante. Toutes les constatations, y compris les non-conformités, ont été reprises dans un rapport qui après la visite a été transmis au responsable de la biosécurité. L'objectif de ce rapport était de mettre en garde le responsable de la biosécurité par rapport aux manquements spécifiques de son programme de biosécurité afin d'améliorer cette situation (avec ou sans l'aide des explications et lignes directrices décrites dans ce projet).

Étant donné qu'un nombre suffisamment représentatif d'activités d'enseignement a été atteint et qu'en terme logistique il n'était pas possible d'évaluer plus d'installations, les activités d'enseignement qui ne disposent pas d'une autorisation n'ont pas été évaluées. Néanmoins, vu le programme des hautes écoles et des universités en Flandre, on peut penser qu'il y a en pratique beaucoup plus d'activités d'enseignement avec des agents biologiques que celles qui sont notifiées et autorisées.

2.2 RÉSULTATS

Les résultats de l'évaluation thématique sont repris dans le rapport en Néerlandais.

2.3 DISCUSSION

Dans l'ensemble, nous pouvons conclure que l'implémentation de la biosécurité au sein des installations visitées est satisfaisante à bonne. Les points à améliorer se situent au niveau de l'évaluation des risques et des mesures à mettre en place pour gérer ces risques.

La plupart du temps, il existe une (bonne) collaboration entre le service de biosécurité, le service de prévention, les enseignants et les responsables des laboratoires concernés. Par contre, la collaboration avec le médecin du travail et/ou le service médical est faible et pas toujours implémentée de manière optimale. Il est cependant important que le médecin du travail soit également impliqué dans le suivi des étudiants. Le médecin du travail doit être informé (1) des manipulations qui sont effectuées pendant les travaux pratiques et (2) des micro-organismes qui sont manipulés. Il doit également être informé des incidents biologiques afin de pouvoir intervenir si nécessaire et réaliser leur suivi.

En règle générale, dans les établissements où il y a une réorganisation ou une fusion, la période d'implémentation d'un programme de biosécurité est généralement trop longue. Les règles sont nombreuses et pas toujours respectées, les responsabilités ne sont pas claires et il y a des manquements. Cela souligne également le fait que le degré d'implémentation est fortement lié à la culture de l'établissement et que lors d'une fusion, cela n'est pas toujours accepté par toutes les parties concernées. Une extension rend la situation encore plus complexe alors que pendant ce processus, la communication et l'évaluation sont essentielles.

Plus particulièrement sur le thème de la biosécurité lors des activités d'enseignement avec des agents biologiques, on peut affirmer que la biosécurité des activités d'enseignement doit être implémentée dans le programme général de prévention et de biosécurité de l'institution. Par conséquent le niveau de biosécurité pendant les travaux pratiques dépend directement du niveau d'implémentation de la biosécurité de l'institution.

De plus, l'implémentation des dispositions légales relatives à la biosécurité (et à la protection des travailleurs) est souvent plus difficile à mettre en œuvre que prévu pour des raisons logistiques (liées aux caractéristiques propres aux travaux pratiques). Donc, il arrive qu'un laboratoire ne soit pas conforme à 100% avec les exigences techniques du niveau de confinement requis ou que le stockage de matériel infectieux ne soit pas réalisé de manière optimale. Il est frappant de constater que de nombreux établissements ont des difficultés à choisir des vêtements de protection, à les ranger et à les mettre à disposition, et que la validation des procédés d'inactivation des déchets biologiquement contaminés n'est pas organisée de manière optimale. En outre, pour éviter une dissémination involontaire d'agents biologiques, il est important que les affaires personnelles comme les cartables, les calculatrices, le matériel d'écriture et les cahiers de laboratoires soient bien séparés des agents biologiques. Cela semble en pratique difficile à réaliser et diffère fortement d'un établissement à un autre.

Les agents biologiques et leur risque

Les agents biologiques les plus couramment utilisés sont principalement des micro-organismes appartenant à la classe de risque 2 pour l'homme (= micro-organisme pouvant causer une maladie chez l'homme et constituer un danger pour les personnes directement exposées). Certains sont même inclus dans le top 10 des micro-organismes les plus souvent impliqués dans les infections acquises en laboratoire (LAI)* en Belgique (Willemarck et al., 2015), d'autres sont allergènes, toxiques ou responsables de maladies infectieuses à déclaration obligatoire à l'AZG (voir annexes 2 et 3). Ceci est surprenant sachant que les étudiants sont pour la plupart inexpérimentés et qu'ils ne maîtrisent pas toujours de manière optimale les bonnes pratiques de laboratoire, ce qui entraîne un risque accru d'exposition.

Il est donc recommandé que les étudiants inexpérimentés et sans formation apprennent les techniques de base de microbiologie de manière progressive, en manipulant d'abord des micro-organismes non pathogènes et cela jusqu'à la maîtrise des techniques. C'est alors que les activités d'enseignement avec des organismes pathogènes peuvent commencer, dans le cas où aucun micro-organisme non-pathogène alternatif ne peut être utilisé dans le même but. Cette pratique de substitution progressive n'a pas été observée partout et il est rare que les enseignants optent pour l'utilisation d'alternatives non-pathogènes. Par ailleurs, cette alternative n'est pertinente que dans le cas où une évaluation des étudiants est effectuée à différentes étapes de leur formation.

Les agents biologiques pathogènes sont souvent renseignés comme étant des « teaching strains », ce qui signifie qu'ils sont moins ou faiblement pathogènes. Toutefois, le caractère atténué de la souche n'est pas toujours étayée ou documentée et même, dans de nombreux cas, n'est pas d'application. De plus, lors des visites d'installations, nous avons constaté que dans certains cas, des souches d'origine clinique sont utilisées sur lesquelles aucun contrôle de qualité n'a été effectué. Par conséquent, il n'est pas exclu que ces cultures puissent être surinfectées ou ne correspondent pas au standard (= aux caractéristiques attendues) requis. L'utilisation de souches non caractérisées est fortement déconseillée.

Dans la plupart des cas, les étudiants sont bien informés sur les risques biologiques potentiels associés à la manipulation des micro-organismes au cours des travaux pratiques, et ce à travers différents moyens. Les leçons théoriques et les instructions sont généralement communiquées avant les travaux pratiques. Les étudiants doivent connaître ces informations, y compris celles sur les risques associés aux travaux pratiques, pour pouvoir effectuer un exercice ou une expérience.

Les entretiens menés auprès d'étudiants choisis au hasard au cours d'une visite d'installation, montrent que la plupart d'entre eux sont conscients des risques potentiels associés à la manipulation des agents biologiques, mais sont rarement conscients des risques associés à un micro-organisme spécifique. Les étudiants savent comment et où chercher les informations nécessaires (par ex. sur l'intranet). Dès lors que l'établissement met

* Voir Définitions

en place un programme, il doit également faire en sorte que les étudiants assimilent les informations et l'expérience liées à ce programme. En pratique, la sécurité de l'étudiant va dépendre de la manière dont l'établissement gère les risques ainsi que de la façon dont il enseigne la gestion des risques. Nous avons constaté que l'évaluation des risques n'est pas toujours complète et est limitée, dans la plupart des cas, à la détermination de la classe de risque de l'organisme. De plus, dans le passé, certains établissements avaient l'habitude de ne pas faire de notification spécifique de leur activité d'enseignement mais de l'intégrer dans la notification de leur activité régulière de recherche, ce qui fait que les mesures spécifiques à l'activité d'enseignement ou les infrastructures scolaires utilisées (laboratoires) ont été insuffisamment évaluées. Aujourd'hui, il est nécessaire d'évaluer séparément une activité d'enseignement, sauf s'il s'agit d'un stage en rapport avec l'activité de recherche générale du laboratoire. Sans surprises, dans certains cas, les mesures supplémentaires de confinement imposées dans l'autorisation ne sont pas appliquées dans la pratique et cela sans que les autorités compétentes n'aient été consultées (en utilisant la clause de révision de la législation ou pas) avec pour conséquence, un confinement insuffisant des risques biologiques.

L'utilisateur considère souvent que le risque (la probabilité, la gravité et l'exposition) est insuffisant pour appliquer les mesures supplémentaires imposées dans l'autorisation ou pour appliquer une alternative adéquate. Ces mesures supplémentaires consistent, par exemple, au port de gants pour la manipulation d'agents pathogènes transmissibles par contact direct avec la peau lésée (comme les staphylocoques et les streptocoques), ou à l'utilisation d'une enceinte de sécurité microbiologique (ESM) pour les manipulations en phase ouverte d'agents pathogènes transmissibles par l'air ou pour les manipulations pouvant créer des aérosols infectieux.

Le point de discussion reste, par conséquent, souvent axé sur le caractère optionnel de certaines mesures de confinement au niveau de la demande d'autorisation. Il est important de souligner que la législation définit une mesure "optionnelle" comme une mesure devant être appliquée au cas-par-cas sur base de l'évaluation des risques spécifiée par le notifiant dans le dossier de biosécurité et par l'autorité compétente dans l'autorisation.

Le risque acceptable est également difficile à définir, et l'est de manière subjective et arbitraire. Le risque est souvent évalué sur base individuelle, sans tenir compte de l'effet cumulatif sur le facteur de probabilité lorsqu'il s'agit d'un grand groupe d'étudiants, ce qui a toute son importance dans le cadre de la protection de la population et de l'environnement. Afin de clarifier ce point, la méthode d'analyse des risques de Kinney² permet de hiérarchiser et de quantifier les risques. Bien que cette méthode ne fasse pas toujours l'unanimité, elle permet de fixer les priorités pour la mise au point d'une stratégie de gestion des risques. Un score de risque est attribué sur base de trois paramètres: (1) le facteur d'exposition (E) qui tient compte de la durée et de la fréquence d'exposition au risque; (2) le facteur de probabilité (P) qu'un dommage survienne d'un danger et (3) la gravité (G) qui représente l'importance des conséquences lors d'une exposition au danger. Chaque paramètre reçoit une valeur numérique sur base de tableaux (voir annexe 5), et le score de risque final indique

² Kinney and Wiruth, 1976; voir annexe 5

jusqu'à quel niveau le risque est réel, et permet de prendre les mesures nécessaires afin de le ramener à un niveau acceptable.

Exemple: une leçon de travaux pratiques en laboratoire, où 50 étudiants ouvrent des tubes de cultures liquides d'un micro-organisme pathogène de classe de risque 2, pipètent et inoculent des milieux. Ce sont des manipulations propices à la formation d'aérosols (<http://www.biosafety.be/CU/Bioaerosols/bioaerosols.html>). Le score de risque (R) déterminé par la méthode de Kinney pour le présent exemple, est le suivant:

- (1) Le degré de gravité (G) est de 2: en cas d'infection il se produira une lésion, mais sans incapacité.
- (2) Le facteur de probabilité (P) est de 3 à 6 (inhabituel à possible), respectivement durant l'inoculation au moyen d'oses stérilisées à la flamme ou le pipetage de cultures liquides.
- (3) Le facteur d'exposition (E) est, sur base individuelle, de 1 (annuellement, c'est-à-dire rarement) mais sur base d'un grand groupe de 50 étudiants le facteur d'exposition doit être révisé à 6 (régulièrement).

SCORE DE RISQUE = G x P x E

Le score de risque ici est de $(2 \times 3 \times 6)$ à $(2 \times 6 \times 6) = 36$ à 72 , ce qui dépasse largement la limite acceptable qui est de 20 . Cette méthode d'analyse des risques confirme donc qu'un certain risque non négligeable existe, et pour lequel des mesures de protection doivent être prises. L'utilisation d'une ESM type II est une mesure adéquate, car elle peut ramener le score de risque en-dessous de 20 . Dans ce cas-là, le facteur de probabilité (P) est ramené à $0,5 - 1$, réduisant le score de risque à $(2 \times 0,5 \times 6)$ à $(2 \times 1 \times 6) = 6$ à 12 . Un score de $0,5$ à 1 pour le facteur de probabilité indique qu'il est encore concevable qu'un étudiant soit exposé à un aérosol infectieux, car l'efficacité d'une ESM dépend de son usage correct, ce qui est potentiellement problématique dans le cas d'étudiants.

Mesures de confinement et pratiques de travail

La probabilité que survienne un incident durant une leçon de travaux pratiques est souvent (intuitivement) minimisée (raisonnement par induction), ou bien d'autres risques sont considérés comme plus importants, par exemple le danger de brûlures dues à l'utilisation d'une flamme ouverte avec des mains gantées (raisonnement par abduction). Bien que le risque de brûlures soit réel dans le cas de l'utilisation d'une flamme avec des gants, nous n'avons pas observé de tendances ou de propositions de la part des personnes interrogées pour chercher une alternative valable dans le cas de manipulation de *Staphylococcus aureus*, où le port de gants est obligatoire si le contact de cultures avec la peau ne peut être évité. Un premier point est le choix de la taille adaptée de gants, afin d'en permettre une utilisation correcte et de sensiblement diminuer le risque de brûlure. Alternativement, d'autres solutions sont également possibles, comme l'utilisation d'un bec de sécurité (fireboy) ou d'oses jetables. Au lieu de faire le choix de ces alternatives, beaucoup d'établissements prennent la décision d'interdire le port des gants et de maintenir l'utilisation de la flamme ouverte. La plupart des établissements considèrent en effet que l'utilisation du bec bunsen est une mesure de précaution suffisante

pour la prévention de contaminations, ainsi qu'une protection contre les aérosols infectieux. Le degré de protection effective qu'offre une flamme ouverte contre les aérosols infectieux n'est malheureusement pas prouvé. De plus, l'utilisation du bec bunsen pour la stérilisation d'oses peut à son tour causer l'aérosolisation de l'agent biologique.

Le contre-argument souvent entendu, selon lequel les "bonnes pratiques de laboratoire" sont appliquées par les étudiants, est difficilement acceptable. Ces bonnes pratiques doivent être une condition de départ, mais en elles-mêmes ne permettent pas d'écarter le risque de formation d'aérosols durant certaines manipulations. Comme exemples : le pipetage fréquent, l'ouverture de récipients, l'homogénéisation, la centrifugation,

Si pour des raisons techniques ou pratiques l'utilisation d'une ESM n'est pas possible, il est conseillé de chercher des alternatives aux agents biologiques en les remplaçant par des souches non ou moins dangereuses ou en utilisant des mesures de protection individuelles supplémentaires comme le port de lunettes de protection en combinaison avec une protection respiratoire³ comme un masque filtrant FFP2 (EN 149:2001) ou équipé de filtres de classe P2 (EN 143:2000). De telles mesures alternatives doivent être prises par toutes les personnes présentes lors des manipulations en phase ouverte. Dans ce cas, il est également important d'utiliser le masque respiratoire de manière correcte et d'accomplir les tests d'ajustement ainsi que les tests d'étanchéité (voir http://www.biosafety.be/CU/PDF/Protec_Resp_ISP_08_2505_01.pdf).

Les raisons des manquements observés sont souvent dues à l'ignorance des personnes concernés (personnel et étudiants) et ceci due au manque respectif de formations adéquates et d'information. Alors que la formation du personnel fait partie des tâches légalement obligatoires du responsable de la biosécurité, on ne peut pas nier que la coordination de la biosécurité soit difficilement implémentée dans la culture de l'institut à cause d'un manque de temps, de moyens et de reconnaissance, et ceci malgré que la coordination de la biosécurité soit une fonction légalement obligatoire dans les établissements avec des activités d'utilisation confinée. La nécessité d'implémenter et de coordonner la biosécurité au sein d'un établissement est souvent négligée, probablement à cause du manque de formation officielle en la matière.

³ Le choix, l'utilisation et l'entretien de l'appareil de protection respiratoire doivent se faire selon la norme NBN EN 529.

2.4 CONCLUSION

Dix ans après le rapport *“Toezicht Bioveiligheid en Biotechnologie 2003-2005”* (Bautmans et al., 2005), nous remarquons que certains points critiques identifiés à l'époque sont toujours observés, à savoir (1) le non-respect des mesures de biosécurité obligatoires pour des raisons logistiques ; (2) l'absence de blouse de laboratoire réservée pour les travaux pratiques en microbiologie ; (3) l'absence de local adéquat et conforme aux exigences légales. Une nouvelle observation apparaît dans cette étude : l'évaluation des risques n'est pas toujours correctement effectuée ne permettant pas une gestion optimale des risques et par conséquent le risque de dissémination et d'infections pendant les travaux pratiques n'est pas réduit jusqu'à un niveau minimal acceptable.

Ce projet ainsi que celui concernant les LAI en Belgique (Willemarck et al., 2015) ont montré que l'ignorance des personnes concernées est un facteur crucial à considérer. Cette ignorance peut être en partie expliquée par le fait que dans le passé, les activités de travaux pratiques étaient souvent intégrées dans les activités de recherche scientifique régulières. De ce fait aucune évaluation des risques propre aux travaux pratiques n'était effectuée et les points critiques n'étaient ni identifiés, ni développés en détail. De plus, il est indéniable qu'un grand nombre de responsables de la biosécurité ne peuvent pas exécuter correctement leurs tâches légales⁴ par manque de temps et de moyens. Pour cette raison, l'implémentation de la biosécurité dans la culture générale de l'entreprise n'est pas toujours effective à 100% et elle n'est pas toujours bien relayée sur le terrain (travaux pratiques : coordinateur de la biosécurité > responsables des travaux pratiques > assistants > étudiants). Force est de constater que les établissements de plus grande taille (avec souvent plus de moyens) obtiennent les meilleurs scores en matière de biosécurité. En outre, nous avons remarqué qu'il y a une demande en formations et/ou en recyclages, pas seulement pour les employés mais également pour les responsables de la biosécurité. De plus, une formation officielle de 'responsable de la biosécurité' pourrait contribuer à plus de reconnaissance pour cette fonction légalement obligatoire.

Puisque la biosécurité des activités d'enseignement fait partie intégrante du programme général de biosécurité et de prévention d'un établissement, il est impératif d'y attacher une grande attention sachant qu'un mauvais apprentissage peut engendrer des lacunes et des manquements dans le futur et que par conséquent nous devons faire attention à ne pas se retrouver dans un cercle vicieux. Un étudiant est en somme un futur "utilisateur" potentiel. Par conséquent, il est primordial qu'il ait appris correctement l'évaluation et la gestion des risques et ceci aussi bien en théorie que pendant les travaux pratiques. En inculquant dès le début de l'apprentissage une prise de conscience sur la prévention du risque biologique, une culture de la biosécurité solide pourra être assurée. Ainsi, le slogan « Ce qui est appris jeune est acquis pour toujours » pourra s'appliquer.

⁴ Voir Définition de Responsable de la biosécurité

Étant donné qu'à l'heure actuelle, en Belgique, il n'existe pas de recommandations spécifiques pour les activités d'enseignement, ce rapport conclura sur une proposition de recommandations qui contribueront, primo, à accroître la prise de conscience des risques biologiques potentiels chez les enseignants et les étudiants et secundo, à une simplification et une optimisation de l'implémentation d'un programme de biosécurité « enseignement » solide afin de protéger la santé et le bien-être de l'étudiant.

3 Ligne directrice en biosécurité pour les activités d'enseignement

La ligne directrice de biosécurité pour les activités d'enseignement utilisant des agents biologiques ou des OGM a été établie sur base des lignes directrices en matière de biosécurité décrites par Emmert et al. 2013. Cette ligne directrice contient à la fois des obligations légales (marquées O) (en conformité avec la législation sur les utilisations confinées d'OGM et/ou pathogènes) ou des recommandations (marquées R), alors que les conseils/avis (dans le cadre de ce projet d'enseignement sont marqués par un « C ». Elle a été rédigée afin de capter l'attention sur les préoccupations spécifiques aux travaux pratiques

#	Ligne directrice	O/R/C
1	Tous les travaux pratiques qui utilisent délibérément des agents biologiques* et/ou des OGM doivent être notifiés aux autorités compétentes en matière d'utilisation confinée d'OGM et/ou pathogènes et en matière de bien-être au travail (pour des activités avec des OGM et/ou pathogènes de classe de risque 2 minimum).	O
2	La personne responsable des travaux pratiques doit avoir suivi une formation en biosécurité, donnée par le responsable de la biosécurité. La personne responsable des travaux pratiques doit suivre un cours de recyclage au moins une fois par an, de préférence avant le début des travaux pratiques (à l'initiative du responsable de la biosécurité ou au moyen de cours/workshops pertinents).	O R
3	La personne responsable des travaux pratiques doit s'informer au préalable sur les risques biologiques et sur les exigences imposées dans l'autorisation (exigences standards et/ou mesures de confinement supplémentaires). La personne responsable des travaux pratiques s'assure que les exigences imposées soient appliquées. En pratique, l'application des mesures imposées se fait en concertation avec l'utilisateur et/ou le responsable de biosécurité.	O
4	Avant chaque séance de travaux pratiques, les étudiants sont initiés aux principes de biosécurité d'une utilisation confinée et sont informés sur les risques potentiels et les précautions à prendre dans le cadre d'une séance de travaux pratiques. La personne responsable des travaux pratiques doit répéter les risques potentiels et les mesures de précautions à prendre, de préférence avant chaque exercice. Un manuel de biosécurité ou des procédures écrites (incluant les mesures de précautions) doivent être mises à disposition des étudiants.	O C C

* Voir Définitions

5	<p>Chaque séance de travaux pratiques doit faire l'objet d'une évaluation approfondie des risques en tenant compte de tous les dangers et des risques inhérents à la manipulation d'agents biologiques pathogènes. Pour cela, la méthodologie à suivre est décrite sur la page Web suivante: http://www.biosafety.be/CU/RA Fiches/Intro and menu.html</p> <p>Face aux risques biologiques identifiés, une gestion de risques adéquate est établie avec la mise en place de mesures de confinement et de prévention afin de prévenir des conséquences potentiellement néfastes sur la santé humaine et de l'environnement, en tenant compte d'une certaine hiérarchie dans les mesures :</p> <ol style="list-style-type: none"> (1) éviter le risque (c.à.d. remplacer les pathogènes par des souches non ou moins pathogènes) (2) travailler dans des systèmes fermés (3) utiliser des équipements de protection collective (4) utiliser des équipements de protection individuelle (5) informer sur le risque résiduel et limiter les dégâts : ceci implique aussi que le moins possible de personnes peuvent être exposées et qu'en cas d'incident ou d'exposition les dégâts doivent être limités le plus possible (procédures avec les différentes étapes à suivre, premier secours, ...). 	O
6	<p>Étant donné que les bonnes pratiques de travail (principes de bonne pratique microbiologique) constituent une première ligne de prévention, les étudiants doivent s'yfamiliariser avant la manipulation de pathogènes.</p>	O
7	<p>Les étudiants doivent, de préférence, développer préalablement leurs compétences avec des micro-organismes non pathogènes avant de manipuler des organismes pathogènes.</p>	C
8	<p>L'utilisation d'effets personnels difficiles à décontaminer tels que des stylos, syllabus, calculatrice, bagues, téléphones mobiles ou ordinateur, doit être organisée de telle manière à ce que le risque de contamination soit réduit au minimum.</p>	C
9	<p>EPI et équipement de sécurité: <i>(d'application dans les conditions requises)</i></p> <ul style="list-style-type: none"> - Le port de vêtements de protection est obligatoire pendant la manipulation d'agents biologiques. Vous trouverez plus d'explications sur les mesures minimales requises pour les vêtements de protection par niveau de confinement et par type de local (laboratoire, animalerie, serre ou locaux de culture, unité de production) sur le lien suivant : http://www.biosafety.be/CU/PDF/werkpraktijken_beschermkledij.pdf 	O
	<ul style="list-style-type: none"> - Le port de gants est optionnel pour les activités de niveau de confinement L2. En 	

	<p>d'autres mots, les gants sont mis à disposition à partir d'un niveau de risque 2 et l'analyse de risques déterminera s'ils doivent être obligatoirement portés ou non.</p> <ul style="list-style-type: none"> - Le port de gants est recommandé pendant la manipulation en phase 'ouverte' de cultures de micro-organismes pathogènes pour lequel il y a un risque d'infection par contact direct avec la peau (intacte ou lésée). Cela devient une obligation quand le risque de contact direct dû à la manipulation est réel. <p>Les gants sont conformes aux normes EN374, EN420 et EN455 et ISO 16604 dans le cas d'un virus.</p>	<p>R</p> <p>O</p>
	<ul style="list-style-type: none"> - Le port de lunettes de laboratoire est optionnel et devient obligatoire lorsqu'il y a un risque réel d'infection par contact avec les yeux dû à la manipulation. 	<p>O</p>
	<ul style="list-style-type: none"> - Le port d'un masque de protection respiratoire n'est pas requis pour un niveau de confinement 2, sauf comme alternative à la non-utilisation d'une ESM pour des raisons techniques ou pratiques. 	<p>-</p>
	<ul style="list-style-type: none"> - L'utilisation d'une ESM répondant à la norme EN12469:2000 est optionnelle pour un niveau de confinement L2 et doit être appliquée au cas par cas en fonction de l'analyse de risques. <p>L'utilisation d'une ESM répondant à la norme EN12469:2000 :</p> <ul style="list-style-type: none"> - est recommandée pour toute manipulation en phase ouverte de cellules de primates à condition qu'elles soient dépourvues de pathogènes indésirables. Dans les autres cas (présence éventuelle de pathogènes indésirables) l'utilisation d'une ESM répondant à la norme EN12469:2000 est obligatoire par précaution. - est obligatoire pour toute manipulation en phase ouverte de culture de micro-organismes pathogènes génétiquement modifiés ou non (de classe de risque 2 ou plus), lorsqu'il y a un risque d'infection direct ou indirect par l'air dû à la manipulation (p.ex. formation d'aérosols infectieux, gouttelettes, ...). - est obligatoire pour toute manipulation en phase ouverte de pathogènes transmissibles par l'air ("<i>airborne pathogens</i>"). - est obligatoire pour toute manipulation en phase ouverte de cultures de micro-organismes phytopathogènes transmissibles par l'air ou sporulants, lorsqu'il y a un risque de transmission par l'air dû à la manipulation. <p><i>Si pour des raisons techniques ou pratiques, l'utilisation d'une ESM répondant à la norme EN12469:2000 n'est pas réalisable, des mesures de confinement complémentaires et pertinentes doivent être prises sur base de l'analyse de risque (au cas par cas) pour les manipulations en phase ouverte afin que le risque de transmission et/ou infection soit minimalisé. Les mesures de confinement complémentaires suivantes peuvent être adoptées : (a) le port de lunettes de laboratoire ; (b) le port d'un masque conformément à la</i></p>	<p>R</p> <p>O</p> <p>O</p> <p>V</p> <p>V</p>

	<i>norme NBN EN 529 de type FFP2 (EN149:2001) au minimum, pourvu d'un filtre de type P2 (EN143:2000) au minimum ; s'assurer qu'aucune autre personne ne puisse être exposée à l'agent biologique pathogène à cause de la manipulation sur la surface de travail (open bench) et (4) une décontamination adéquate de l'environnement potentiellement contaminé à la fin de l'activité.</i>	
10	<p>Un registre dans lequel sont indiquées les OGM et organismes pathogènes manipulés dans le cadre des travaux pratiques doivent être à disposition des fonctionnaires de surveillance et de l'autorité compétente.</p> <p>Les cultures sont gardées dans des contenants étanches dans un endroit sûr et/ou sont inactivées efficacement à la fin de l'activité.</p> <p>Toutes les cultures, sous-cultures et les inoculations sont clairement étiquetées pendant l'utilisation et le stockage.</p> <p>Les agents biologiques doivent être bien caractérisés et provenir d'une source reconnue, commerciale et/ou fiable. Si le risque de présence d'agents biologiques ou de caractéristiques dangereuses ne peut pas être exclu, comme p.ex. l'utilisation d'échantillons (sang et faeces), le principe de précaution est d'application.</p>	<p>O</p> <p>O</p> <p>C</p> <p>C</p>
11	Dans le cadre du Bien-être de l'étudiant , il est obligatoire d'effectuer un inventaire et une évaluation des risques (IER) concernant la vaccination nécessaire et la protection maternelle et d'implémenter les mesures de précaution nécessaires (tâche de l'employeur et du médecin du travail).	O
12	<p>À chaque incident avec un agent biologique avec un risque de transmission dans l'environnement et/ou infection après exposition, aussi bien le responsable de la biosécurité que le médecin du travail doivent être avertis pour le suivi.</p> <p>Tous les incidents avec des agents biologiques doivent être enregistrés et documentés.</p> <p>Il faut vérifier si des notifications doivent être faites aux autorités compétentes, voir http://www.biosafety.be/CU/LAI/Intro_LAI.html. Tous les incidents avec des agents biologiques qui doivent être déclarés obligatoirement doivent être notifiés aux autorités compétentes dans les délais légalement impartis.</p>	O
13	L'importance de la notification d'incidents/irrégularités avec des agents biologiques doit être clairement communiqué dans le cadre de prévention d'incidents similaires (dans le futur) ; une sorte de 'lessons learnt'/'Plan-Do-check-act' (PCDA).	C
<p>D'autre part, les législations 'Utilisation Confinée des OGM et/ou pathogènes' et 'Bien-Etre au Travail' restent d'application (http://www.biosafety.be/PDF/ArrRW02_FR.pdf et http://www.emploi.belgique.be/defaultTab.aspx?id=619).</p>		

4 Annexes

4.1 ANNEXE 1: CHECKLIST INSPECTION 'ENSEIGNEMENT'

Bioveiligheid "Ingeperkt Gebruik" Audit Form ^{Gebouwer}
<small>Versie 16-12-2013</small>
Activiteit(en): <small>(Ref. isolating of dossiernummer(s), activiteitsnummer(s), titel(s) en gebruiker(s))</small>
Inrichting: <small>(naam en adres)</small>
Gebouw/blok/campus van toepassing voor deze activiteit(en):
Bioveiligheidscoördinator¹: <small>(naam en opleiding²)</small>
<small>(Gelieve aan te vullen of eventuele fouten zichtbaar te wijzigen)</small>

Faciliteiten van toepassing voor deze activiteit(en): (Gelieve het correct aantal op te geven)

LABORATORIA van inperkingsniveau						ANIMALARIA van inperkingsniveau			SERRE van inperkingsniveau				ZIEKENHUISKAMER van inperkingsniveau			"LARGE SCALE" FACILITEIT van inperkingsniveau		
L1	L2	L2-BK	L2-Q	L3	L3-BSE	A1	A2	A3	G1	G2	G2-Q	G3	HR1	HR2	HR3	LS1	LS2	LS3

De faciliteiten zijn conform de minimale inperkingsvereisten waaraan inrichtingen moeten voldoen die onder de toepassing van dit besluit vallen?

- Ja
- Nee, er werd een afwijking toegelaten, specificeer:
- Nee

Meer info: Bijlage 5.51.4 van het regionaal besluit van de Vlaamse Regering van 6 februari 2004 (http://www.bioveilig.be/PDF/Besl1CGM_NL.pdf) en <http://www.bioveilig.be/CIUq/fooa/InperkNL.html>

¹ Indien een externe bioveiligheidscoördinator is aangesteld, kan een plaatselijk verantwoordelijk voor deze materie het invullen van deze lijst op zich nemen of assisteren, gelieve dan eveneens naam, opleiding en functie(s) mee te geven.
² Specificiteer hoogst behaalde diploma

- Vous pouvez voir le document complet sur le site web sous 'données complémentaires' -

4.2 ANNEXE 2: MICRO-ORGANISMES UTILISÉS

Le tableau ci-dessous reprend les micro-organismes qui sont le plus fréquemment utilisés dans le cadre des 20 activités d'enseignement qui font l'objet de ce rapport. Cette liste est basée sur les listes des micro-organismes jointes aux descriptions du matériel biologique, présents dans les dossiers de biosécurité. Il convient de préciser que les listes de micro-organismes dans les dossiers sont souvent plus exhaustives que réellement utilisées durant les travaux pratiques, et ce pour plusieurs raisons: (1) les micro-organismes employés peuvent varier d'année en année, (2) le choix des micro-organismes dépend du responsable des travaux pratiques, (3) en fonction de la partie théorique des cours, l'accent est plutôt mis sur certains micro-organismes que d'autres durant les travaux pratiques.

Le tableau indique non seulement la classe de risque (selon les listes de classification belges : <http://www.biosafety.be/RA/Class/ClassBEL.html>), le type d'organisme et la fréquence d'utilisation mais également le mode de transmission possible des micro-organismes infectieux vers les utilisateurs/étudiants: ingestion (Ing), inoculation parentérale (P), contact direct (C) spécifiquement par la peau (intact ou lésée) (Cp) ou muqueuses (Cm) et inhalation (Inh) comme risque d'infection primaire et aérosols (A), gouttelettes et éclaboussures (GE), spores (S) et toxines (T) comme risques d'infection secondaires. L'opportunisme (OP) est également repris comme un risque d'infection, par lequel on entend un risque d'infection d'un certain micro-organisme qui est à peine pathogène pour un individu en bonne santé, mais qui en cas d'immunité affaiblie peut provoquer une maladie (à risque vital). De plus, dans le cadre de la gestion des risques il faut tenir compte des risques d'infections indirect dû à la manipulation et ceci en appliquant les bonnes pratiques de travail et en particulier lorsqu'il s'agit de manipulations de cultures concentrées à grandes échelles.

Micro-organisme	Classe de risque (H = homme ; A = animal ; P = plante)	Type	Fréquence d'utilisation dans des activités d'enseignement (N=20)	Risques d'infections dus aux manipulations Primaire Secondaire
<i>Staphylococcus aureus</i> *	2H	Bacterie	85% (17)	C, P et Ing A
<i>Escherichia coli</i> #	2H/2A	Bacterie	80% (16)	Ing
<i>Labostam Escherichia coli</i>	1	Bacterie	80% (16)	-
<i>Proteus vulgaris</i>	2H	Bacterie	70% (14)	P et Ing
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> *	2H	Bacterie	60% (12)	C, P et Inh GE
<i>Serratia marcescens</i> *	2H	Bacterie	55% (11)	Cm, P, I GE et A
<i>Staphylococcus epidermidis</i> *	2A	Bacterie	45% (9)	OP
<i>Salmonella typhimurium</i> ^{S,#}	2H/2A	Bacterie	45% (9)	Ing et P
<i>Streptococcus pyogenes</i> *	2H	Bacterie	45% (9)	Inh et Cm A
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2H	Bacterie	45% (9)	C, P et Inh A
<i>Proteus mirabilis</i>	2H	Bacterie	45% (9)	P et Ing
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2H/2A	Bacterie	45% (9)	Cm, P, Ing et Inh A

<i>Klebsiella pneumoniae</i> *	2H/2A	Bacterie	45% (9)	Cm, P, Ing et Inh A
<i>Shigella sonnei</i> ^{§,#}	2H	Bacterie	40% (8)	P et Ing
<i>Bacillus cereus</i>	2H/2A	Bacterie	40% (8)	Ing T
<i>Candida albicans</i>	2H/2A	Schimmel	40% (8)	Cm et P
<i>Aspergillus niger</i> *	2H/2P	Schimmel	40% (8)	Inh S
<i>Morganella morganii</i>	2H/2A	Bacterie	35% (7)	OP
<i>Citrobacter freundii</i>	2H	Bacterie	35% (7)	P et Ing
<i>Bacillus spp.</i>	2H	Bacterie	30% (6)	***
<i>Clostridium perfringens</i>	2H/2A	Bacterie	30% (6)	C, P et Ing T
<i>Bacillus subtilis</i>	1	Bacterie	30% (6)	-
<i>Enterobacter cloacae</i> *	2H	Bacterie	30% (6)	C, P et Inh A
<i>Saccharomyces cerevisiae</i>	1	Schimmel	30% (6)	-
<i>Streptococcus spp.</i>	2	Bacterie	30% (6)	***
<i>Enterococcus faecalis</i> *	2H	Bacterie	25% (5)	P et Ing A
<i>Yersinia enterocolitica</i>	2H/2A	Bacterie	25% (5)	P et Ing
<i>Geotrichum candidum</i>	2H/2P	Schimmel	25% (5)	OP
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	2H	Bacterie	20% (4)	Cm, P et Inh A
<i>Salmonella spp.</i> [§]	2	Bacterie	20% (4)	***
<i>Clostridium spp.</i>	2	Bacterie	20% (4)	***
<i>Providencia rettgeri</i>	2H	Bacterie	20% (4)	Ing, C et P OP
<i>Streptococcus agalactiae</i>	2H/2A	Bacterie	20% (4)	C, P et Ing A
<i>Acinetobacter spp.</i>	2H	Bacterie	20% (4)	***
<i>Enterococcus spp.</i>	2H/(2A)	Bacterie	20% (4)	***
<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1	Bacterie	20% (4)	-
<i>Listeria monocytogenes</i>	2H/2A	Bacterie	20% (4)	Ing, P et C A
<i>Streptococcus viridans</i>	2H	Bacterie	20% (4)	P
<i>Providencia stuartii</i>	2H/2A	Bacterie	20% (4)	P et C OP
<i>Penicillium sp.</i>	2H/2A/2P	Schimmel	20% (4)	***

[§] Micro-organisme repris dans la liste des infections acquises au laboratoire en Belgique (2007-2012); voir annexe 4.

[#] Micro-organisme repris dans la liste des maladies infectieuses à déclaration obligatoire, conformément à l'accord ministériel du 19 juin 2009.

* Micro-organisme pathogène qui peut être considéré comme transmissible par l'air ('airborne') et qui peuvent causer une maladie respiratoire, une maladie non-respiratoire ou une infection opportuniste après exposition à l'air contaminée.

***Les risques d'infection pendant les manipulations peuvent différer selon l'espèce et doivent être jugés au cas par cas.

References:

Belgian Biosafety Server (<http://www.biosafety.be/RA/Class/ClassBEL.html>)

Public Health Agency of Canada (<http://www.phac-aspc.gc.ca/>)

www.atzlabs.com/pdf/Airborne-microbe-list.pdf

<https://www.msdonline.com>

4.3 ANNEXE 3: INFECTIONS ACQUISES AU LABORATOIRE EN BELGIQUE (2007-2012)

SOURCE: [HTTP://WWW.BIOSAFETY.BE/CU/PDF/2015_WILLEMARCK_LAI%20REPORT%20BELGIUM_2007_2012_FINAL.PDF](http://www.biosafety.be/cu/pdf/2015_willemarck_lai%20report%20belgium_2007_2012_final.pdf)

Organisme	Classe de risque	Min.-Max.
<i>Salmonella</i> (*)	2-3	17- 21 (23-22%)
<i>Mycobacterium tuberculosis complex</i> (*)	3	12-15 (16%)
<i>Brucella</i> (*)	3	6-10 (8-11%)
<i>Trypanosoma brucei gambiense</i>	2	5-6 (7-6%)
Dermatophyte (<i>Trichophyton verrucosum</i> , <i>Microsporum canis</i>)	2	4-5 (5-5%)
<i>Shigella</i> (§)	2-3	4 (5-4%)
<i>Coxiella burnetii</i> (*)	2	3 (4-3%)
<i>Mycoplasma</i>	2	2 (3-2%)
<i>Herpes virus</i>	2	2 (3-2%)
<i>Campylobacter</i>	2	1-2 (1-2%)
<i>Hepatitis B virus</i>	3	1-2 (1-2%)
<i>Parvovirus B19</i>	2	1 (1%)
<i>Human immunodeficiency virus (HIV)</i>	3	1 (1%)
<i>Rubellavirus</i>	2	1 (1%)
<i>Avian Influenza virus</i> (*)	2	1 (1%)
<i>BCG bacteria (Bacillus Calmette Guérin)</i>	2	1 (1%)
<i>Toxoplasma gondii</i>	2	1 (1%)
<i>Bartonella</i>	2-3	1 (1%)
<i>Rabiësvirus</i> (*)	3	1 (1%)
<i>Recombinant viral vector</i>	?	1 (1%)
<i>Listeria</i>	2	1 (1%)
<i>Inconnu</i>	?	8-12 (11-13%)
Total		75-94

*Les agents pathogènes responsables de maladies infectieuses à déclaration obligatoire, conformément à l'accord ministériel du 19 Juin, 2009.

§Déclaration obligatoire uniquement en cas d'épidémie (ne concerne pas les cas isolés).

4.4 ANNEXE 4: SPECTRE ANTIMICROBIEN DES DÉSINFECTANTS

SOURCE: [HTTP://WWW.CFSPH.IASTATE.EDU/PDF/ANTIMICROBIAL-SPECTRUM-OF-DISINFECTANTS](http://www.cfsph.iastate.edu/pdf/Antimicrobial-Spectrum-of-Disinfectants)

The Antimicrobial Spectrum of Disinfectants

Chemical Disinfectants
Note: Removal of organic material must always precede the use of any disinfectant.

	Acids (hydrochloric acid, acetic acid, citric acid)	Alcohols (ethyl alcohol, isopropyl alcohol)	Aldehydes (formaldehyde, paraformaldehyde, glutaraldehyde)	Alkalis (sodium or ammonium hydroxide, sodium carbonate)	Biguanides (chlorhexidine, Nolvasan, Chlorax, Virosan, Hibistat [®])	Halogens hypochlorite iodine	Oxidizing Agents (hydrogen peroxide, peroxyacetic acid, Trifectant [®] , Virkon-S [®] , Oxy-Sept 333 [®])	Phenolic Compounds (Lysol [®] , Dyl [®] , Amphyl [®] , TekTrol [®] , Pheno-Tek II [®])	Quaternary Ammonium Compounds (Roccal [®] , Zepharin [®] , DiQuat [®] , Parvosol [®] , D-256 [®])
most susceptible									
mycoplasmas	+	++	++	++	++	++	++	++	+
gram-positive bacteria	+	++	++	+	++	+	+	++	++
gram-negative bacteria	+	++	++	+	++	+	+	++	+
pseudomonads	+	++	++	+	±	+	+	++	-
rickettsiae	±	+	+	+	±	+	+	+	±
enveloped viruses	+	+	++	+	±	+	+	+	± ^a
chlamydiae	±	±	+	+	±	+	+	±	-
non-enveloped viruses	-	-	+	±	-	+	±	-	-
fungal spores	±	±	+	+	±	+	±	+	±
picornaviruses (I.e. FMD)	+	N	+	+	N	N	+	N	N
parvoviruses	N	N	+	N	N	+	N	N	-
acid-fast bacteria	-	+	+	+	-	+	±	±	-
bacterial spores	±	-	+	±	-	+	+	b	-
coccidia	-	-	-	c	-	-	-	d	-
prions	-	-	-	-	-	-	-	-	-
most resistant									

LEGEND

- ++ highly effective
- + effective
- ± limited activity
- no activity
- N information not available

a-varies with composition
 b-peracetic acid is sporicidal
 c-ammonium hydroxide
 d-some have activity against coccidia

Center for Food Security & Public Health
 Iowa State University
 www.cfsph.iastate.edu
 ASOD_2010

DISCLAIMER: The use of trade names does not in any way signify endorsement of a particular product. For additional product names, please consult the most recent Compendium of Veterinary Products. ADAPTED FROM: Linton AH, Hugo WB, Russel AD. Disinfection in Veterinary and Farm Practice. 1987. Blackwell Scientific Publications; Oxford, England; Quinn PJ, Markey BK. Disinfection and Disease Prevention in Veterinary Medicine, in: Block SS, ed., Disinfection, Sterilization and Preservation. 5th edition. 2001. Lippincott, Williams and Wilkins; Philadelphia.

4.5 ANNEXE 5: ANALYSE DE RISQUE, METHODE DE KINNEY

SOURCE: <http://www.lara-a.be/nl/TMB/Preventie/risico-analyse/risicoanalysetechnieken/Taakanalyse/Kinney/>

(Risque = Probabilité x Gravité x Exposition)

Gravité:

Minime, lésion sans incapacité	1
Important, lésion avec incapacité	2
Grave, lésion irréversible avec incapacité chronique/invalidité	7
Très grave, 1 mort	15
Désastre, plusieurs morts	40

Probabilité :

Pratiquement inconcevable	0,1
Pratiquement impossible	0,2
Concevable mais improbable	0,5
Improbable, mais possible dans les cas limites	1
Inhabituel	3
Peut se produire	6
Pouvant être attendu	10

Exposition :

Très rarement (moins d'1 fois par an)	0,5
Rarement (tous les ans)	1
Parfois (tous les mois)	2
De temps en temps (toutes les semaines)	3
Régulièrement (tous les jours)	6
En permanence	10

Score de risque et actions:

<20	Aucune
> 20	Attention exigée
> 70	Mesures exigées, peuvent être prévues
> 200	Amélioration immédiate exigée
> 400	Arrêter les activités

5 Références

Bautmans, B., Van Vaerenbergh, B., Noorts, F., en Josson, W. Statusrapport “Toezicht Bioveiligheid en Biotechnologie 2003-2005”

<http://www.biosafety.be/CU/PDF/statusrapport%20GGO%20d3.0.pdf>

Elizabeth A. B. Emmert and the ASM Task Committee on Laboratory Biosafety; Biosafety Guidelines for Handling Microorganisms in the Teaching Laboratory: Development and Rationale †

JOURNAL OF MICROBIOLOGY & BIOLOGY EDUCATION, May 2013, p. 78-83

Kinney, G.F. en Wiruth, A.D. Practical Risk Analysis for Safety Management (1976)

Willemarck, N., Van Vaerenbergh, B., Descamps E., Brosius, B., Do Thi, C. D., Leunda, A., en Baldo, A. Laboratory-acquired infections in Belgium (2007-2012)_ An online survey (2015)

http://www.biosafety.be/CU/PDF/2015_Willemarck_LAI%20report%20Belgium_2007_2012_Final.pdf

Willemarck, N., Brosius, B., Van Vaerenbergh, , Do Thi, C. D., Leunda, A., en Baldo, A. Laboratory-acquired infections in Flanders (2007-2012)_ An online survey (2013)

http://www.biosafety.be/CU/PDF/2012_LAI_reportFlanders2007_2012_SBB_2505_59.pdf

6 Définitions

(à utiliser dans le cadre de ce rapport)

Autoclave

Appareil assurant l'inactivation de matières et/ou d'équipement par injection directe ou indirecte de vapeur d'eau à une pression supérieure à la pression atmosphérique. Un autoclave peut aussi bien servir à inactiver des déchets contaminés avant leur évacuation, qu'à stériliser de la verrerie de laboratoire, des ustensiles et tout petit matériel réutilisable. En général l'inactivation s'opère par une exposition du matériel biologique contaminé à la vapeur d'eau à 121°C pendant 20 à 30 minutes.

(Pour plus d'informations, voir le document « Recommandations de biosécurité relatives au traitement et aux méthodes d'inactivation des déchets biologiques contaminés »:

http://www.biosafety.be/CU/PDF/DechetsBiol_SBB_2006_2505_33.pdf

Agents biologiques

Micro-organismes, y compris les micro-organismes génétiquement modifiés, les cultures cellulaires et les endoparasites humains qui sont susceptibles de provoquer une infection, une allergie ou une intoxication.

Les agents biologiques (pathogènes humains) sont répartis en trois classes de risque biologique maximal croissant, en fonction des critères de classification précédemment cités.

- Classe de risque 2 : (micro-)organismes qui peuvent provoquer une maladie chez l'homme et constituer un danger pour les personnes directement exposées à ceux-ci; leur propagation dans la collectivité est improbable. Il existe généralement une prophylaxie ou un traitement efficace.
- Classe de risque 3 : (micro-)organismes qui peuvent provoquer une maladie grave chez l'homme et constituer un danger pour les personnes directement exposées à ceux-ci. Ils peuvent présenter un risque de propagation dans la collectivité. Il existe généralement une prophylaxie ou un traitement efficace.
- Classe de risque 4 : (micro-)organismes qui provoquent des maladies graves chez l'homme et constituent un danger sérieux pour les personnes directement exposées à ceux-ci. Ils peuvent présenter un risque élevé de propagation dans la collectivité. Il n'existe généralement pas de prophylaxie ni de traitement efficace.

Analyse des risques

Méthodologie pour organiser et analyser l'information scientifique afin d'estimer la probabilité d'un effet indésirable sur la santé humaine et l'environnement. Pendant l'analyse des risques il faut d'une part tenir compte du matériel biologique qui sera manipulé et d'autre part du type de manipulation effectué avec ce matériel biologique. La combinaison des deux mènera à la détermination du niveau de risque de l'activité. Chaque analyse des risques doit se faire au cas par cas.

(Bio)-aérosols

Un aérosol est une suspension (colloïdale) de particules liquides (micro-gouttelettes) ou solides dispersées dans un environnement gazeux (p.ex. l'air). Des exemples connus d'aérosols sont le brouillard et les nuages. Leur grandeur est de l'ordre de 0.2 à 200 micromètre. Les bio-aérosols contiennent des micro-organismes et peuvent se former de plusieurs manières dans le contexte d'un laboratoire, par exemple suite au déversement accidentel d'un liquide contenant des micro-organismes, suite au bris d'un tube dans une centrifugeuse, ou encore lors de l'ouverture sans précautions d'un tube dont le bouchon est contaminé. Ils sont une cause importante de contaminations quand ils ne sont pas confinés.

<http://www.biosafety.be/CU/Bioaerosols/bioaerosols.html>

Biosécurité

Sécurité pour la santé humaine et pour l'environnement, en ce comprise la protection de la biodiversité, lors de l'utilisation d'organismes ou micro-organismes génétiquement modifiés et lors de l'utilisation confinée d'organismes pathogènes pour l'homme.

Bonnes pratiques de travail:

Par bonnes pratiques de travail on entend (en chevauchement avec les critères de confinements et autres mesures de protection dans le cadres des législations de l'utilisation confiné de OGM et/ou pathogènes, et bien-être au travail):

- Une bonne hygiène des mains, au début, pendant et à la fin des travaux pratiques.
- Le port adéquat de vêtements de protection.
- Les cheveux longs sont attachés et le contact avec le visage, les yeux et la bouche est évité.
- La surface de travail est désinfectée avant et après les travaux pratiques.
- De la nourriture et des boissons ne peuvent pas être stockées dans le laboratoire.
- Des dispositifs de pipetage mécanique sont utilisés. Le pipetage à la bouche est proscrit.
- Tous les récipients contenant des agents biologiques sont clairement identifiables par un étiquetage adéquat.
- La porte reste fermée pendant les travaux pratiques. La personne responsable des travaux pratiques supervise l'entrée et la sortie du local de travaux pratiques.
- L'utilisation d'objets tranchants doit être minimisée. Le verre cassé et le matériel tranchant qui est potentiellement contaminé ne peuvent pas être manipulés sans gants appropriés ou une brosse et une ramassette.
- La formation et la dissémination d'éclaboussures et aérosols doit être minimisée à l'aide de bonnes pratiques de travail appropriées et de l'utilisation de l'équipement de sécurité adéquat.
- Un récipient étanche et hermétique doit être utilisé pour le stockage et le transport de matériel infectieux.

- Les déchets doivent être traités conformément à la législation sur les utilisations confinées des OGM et/ou pathogènes, de la législation sur le bien-être au travail et de la législation régionale sur l'élimination des déchets infectieux.
- Tout incident impliquant des agents biologiques doit être rapporté à l'enseignant.
- Les équipements de protection individuels et les équipements de sécurité doivent être utilisés correctement.

Conseillé (voir conseils)

Conseils

Les conseils ne sont pas obligatoires et pas liés à une législation. Ce sont des conseils qui sont donnés comme codes de bonnes pratiques de travail afin d'améliorer la 'biosécurité' dans le labo.

Décontamination

Procédure ayant pour résultat une diminution du nombre de micro-organismes jusqu'à un niveau acceptable et sûr.

Enceinte de sécurité microbiologique (ESM)

Enceinte dans laquelle sont manipulés des (micro-)organismes et qui protège aussi bien l'utilisateur que l'environnement de tout contact avec le (micro-)organisme. L'ESM est toujours munie d'au moins un filtre HEPA, contrairement à la hotte chimique

Exploitant

Personne au nom de laquelle le permis d'environnement pour l'exploitation est établi.

Équipement de protection individuelle (EPI)

Tout équipement personnel destiné à être porté ou tenu par le travailleur en vue de le protéger contre un ou plusieurs risques susceptibles de menacer sa sécurité ou sa santé au travail, ainsi que tout complément ou accessoire destiné à cet objectif.

Inactiver

Supprimer l'activité biologique des (micro-)organismes.

Incident biologique

Les incidents biologiques sont des irrégularités qui se produisent lors de la manipulation d'agents biologiques. Ils peuvent être dus à une erreur humaine ou une défaillance technique.

LAI

L'appellation LAI provient du terme anglais 'laboratory-acquired infections' pour Infections acquises au laboratoire. Une LAI se réfère à toute infection directe ou indirecte, avec ou sans symptômes, acquise dans le laboratoire après une exposition à des agents biologiques.

Manquements

Quand une institution ne satisfait pas à toutes les obligations, recommandations, ...

Masque de protection respiratoire

Masque protégeant l'utilisateur contre l'inhalation de particules biologiques/dangereuses/infectieuses (exposition à des aérosols infectieux, gouttelettes, projections ou de poussière), à condition qu'il soit correctement utilisé et entretenu. Les masques chirurgicaux n'en font pas partie.

Mesures de confinement

Ensemble des caractéristiques techniques et équipements de sécurité d'un laboratoire, ainsi que les pratiques de travail et la gestion des déchets, ayant pour but d'éviter que les (micro-)organismes employés n'entrent en contact avec l'environnement extérieur au laboratoire ou n'infectent les personnes présentes dans le laboratoire.

Micro-organismes transmissibles par l'air

Les micro-organismes pathogènes pouvant être aéroportés (= airborne pathogens) sont transmissibles par l'air. Exemples d'agents pathogènes aéroportés : *Mycobacterium tuberculosis*, *Klebsiella pneumoniae* et *Legionella pneumophila*. Les particules ou les noyaux de gouttelettes (droplet nuclei) de moins de 5 microns contenant ces micro-organismes peuvent persister pendant de longues périodes dans l'air. Ces micro-organismes peuvent ainsi se propager sur une grande distance et être inhalé. Des mesures de protection et des pratiques de travail adéquates doivent être appliquées pour la manipulation d'organismes transmissibles par l'air.

En outre, certains micro-organismes qui ne sont pas naturellement transmissibles par l'air peuvent être aéroportés par des manipulations aérosolisantes, et dans ce cas présenter un risque biologique.

Non-conformité

Fait ou élément qui n'est pas conforme vis-à-vis d'une loi, d'une norme. Une non-conformité doit toujours faire l'objet d'un suivi.

Optionnel

Si appliqué en fonction des conditions dans le cadre de la législation utilisation confinée des OGM et/ou pathogènes, « optionnel » doit être interprété comme une mesure devant être appliquée au cas-par-cas sur

base de l'évaluation des risques spécifiée par le notifiant dans le dossier de biosécurité et par l'autorité compétente dans l'autorisation.

Stockage d'agents biologiques

Les conditions suivantes sont suffisantes et autorisées pour le stockage:

1. un local de niveau de confinement 1 (quelle que soit la classe de risque du micro-organisme); voir <http://www.biosecurite.be/CU/refdocs/SBB0306CU001FR.html>
2. un local sans niveau de confinement mais avec un accès réservé et un signallement « biosécurité » apposé sur la porte d'entrée du local.
3. un local (et non une zone d'accès public) contenant des équipements de stockage (frigo, congélateurs...) dont l'accès est contrôlé (par exemple par un cadenas, un code d'ouverture...) et un signallement « biosécurité » apposé sur la porte d'entrée du local.

Recommandé

Dans le cadre de la législation utilisation confinée des OGM et/ou pathogènes "recommandé" doit être interprété comme "à appliquer en règle générale sauf si la sécurité pour la santé humaine et l'environnement n'est pas compromise; à spécifier par le notifiant dans le dossier de biosécurité et par l'autorité compétente dans l'autorisation".

Responsable de la biosécurité

Personne responsable de la biosécurité nommée par le titulaire du permis d'environnement relatif à une utilisation confinée d'OGM et/ou pathogènes. Le responsable de la biosécurité contrôle le respect des règles de biosécurité et est en contact avec les autorités compétentes pour les permis d'environnement.

Le responsable de la biosécurité doit avoir les compétences nécessaires en vue d'assurer sa mission, notamment une expérience dans le domaine de l'utilisation confinée d'OGM et/ou de pathogènes.

Le responsable de la biosécurité doit disposer du temps et des moyens nécessaires pour réaliser son travail.

La mission du responsable de la biosécurité est de superviser l'évaluation des risques des utilisations confinées réalisée par les utilisateurs et de coordonner les notifications ou demandes d'autorisation requises par la législation sur les utilisations confinées.

Il doit en outre :

- s'assurer de la formation des membres du personnel concernés par les utilisations confinées;
- s'occuper de la gestion de déchets;
- s'assurer que des mesures adéquates sont prises en cas d'accident;
- assurer la traçabilité des données;
- vérifier les conditions de stockage des OGM et/ou pathogènes, de leur transport interne et de la décontamination des locaux, ainsi que d'organiser et de participer à des inspections internes y relatives;
- veiller à la maintenance et au contrôle de l'appareillage;

- d'une manière générale, assurer la Biosécurité de l'installation.

Responsable(s) (de la séance de travaux pratiques)

Dans le cadre de ce rapport, ce terme est utilisé pour les personnes qui se chargent de l'encadrement des étudiants pendant les travaux pratiques avec des agents biologiques, indépendamment de la responsabilité juridique dans le cadre des législations « Utilisation confiné d'OGM et/ou pathogènes » et « Bien-être au travail (agents biologique) ».

Séance de travaux pratiques

Une série de travaux pratiques (qui peut être répartie sur une période ininterrompue de jours ou de semaines) pendant laquelle les étudiants d'une orientation spécifique apprennent les compétences pratiques et théoriques.

Transport interne des agents biologiques

Transport entre laboratoires d'un même établissement, y compris entre ceux situés sur différents étages ou dans différents bâtiments d'un même site, lorsqu'il y a passage par des zones de niveau de confinement inférieur à celui requis pour l'organisme ou le matériel infectieux transporté. Les contenants utilisés pour le transport interne doit être étanche de manière à éviter tout épanchement d'agents biologiques ou de matériel infectieux pendant le transport. Il est recommandé d'utiliser un double emballage avec un récipient extérieur étanche et résistant aux chocs, et sur lequel est apposé le sigle « danger biologique ». Le récipient contient également du matériau absorbant en quantité suffisante pour pouvoir absorber la totalité du contenu.

Utilisateur

Toute personne physique ou morale responsable d'une ou plusieurs utilisations confinées de micro-organismes ou organismes génétiquement modifiés et/ou pathogènes. L'utilisateur est une personne qui assure la conduite et la responsabilité d'une activité et le cas échéant, est la personne de contact adéquate à qui s'adresser pour les informations scientifiques complémentaires concernant l'activité. Celui-ci est en général le responsable du laboratoire ou un directeur de projets scientifiques.

Utilisation confinée

Toute activité durant laquelle des (micro-)organismes sont génétiquement modifiés ou dans laquelle des OGM et/ou pathogènes sont cultivés, stockés, transportés, détruits, éliminés ou utilisés de toute autre manière et pour laquelle des mesures de confinement spécifiques sont prises pour limiter le contact de ces (micro-)organismes avec l'ensemble de la population et l'environnement ainsi que pour assurer à ces derniers un niveau élevé de sécurité. Une activité d'utilisation confinée peut se dérouler dans un laboratoire (recherche, diagnostic), une animalerie (petits ou grands animaux), une serre, une chambre hospitalière (thérapie génique) ou une installation de production à grande échelle.

Validation

Ensemble d'opérations destinées à prouver qu'une procédure ou méthode utilisée est fiable et conduit effectivement aux résultats escomptés.