

Pression de l'air négative dans les laboratoires L3



Contained use Team, Section Biosécurité et Biotechnologie
Institut Scientifique de Santé Publique

Bibliothèque Royale de Belgique, numéro de dépôt : **D/2006/2505/15**
16 mars 2006

Auteurs:

- Dr Ir K. Pauwels**
- Mme B Van Vaerenbergh**
- Mme C.D. Do Thi**
- Mme L. Berghmans**
- Dr P. Herman**

Chef de Section ff: Dr. Ir. M. Sneyers

Avertissement: le contenu de ce document repose sur les données disponibles dans la littérature et doit être considéré comme une recommandation et non pas un ensemble de mesures contraignantes ou normatives.

Pression de l'air négative dans les laboratoires L3

Problématique

Les laboratoires de niveau de confinement L3 sont entre autres caractérisés par le fait qu'ils sont soumis à une pression¹ de l'air négative par rapport aux zones avoisinantes pour prévenir la fuite dans l'environnement de micro-organismes pathogènes (1). Malgré le fait que la directive européenne 98/81/CE et la transposition de celle-ci dans les arrêtés régionaux belges, stipulent que la pression de l'air dans les zones confinées L3 et L4 doit être inférieure à celle des zones adjacentes, aucune valeur de pression négative n'a été donnée jusqu'à présent (2,3,4). En contraste avec les descriptions détaillées dans les lignes directrices nationales et internationales concernant la conception, la construction et le fonctionnement de ces installations, aucune donnée chiffrée n'est mentionnée en ce qui concerne la dépression à appliquer dans les zones confinées L3 par rapport aux zones voisines. Il n'y a pas non plus de normes officielles qui déterminent la dépression à assurer dans les laboratoires L3. En outre, les publications qui mettraient en relation la dépression dans un local et l'efficacité du confinement sont particulièrement rares.

En pratique, les pressions négatives de l'air par rapport aux zones voisines mesurées dans les zones de confinement L3 varient selon les cas de -15 Pa à -50 Pa. Dans certains cas, l'accès à la zone de confinement L3 est assuré par un (ou deux) sas suivi de un ou plusieurs locaux en dépression (en cascade), de manière telle qu'un différentiel total de pression de 100 Pa peut être atteint entre l'entrée et le dernier local de la zone confinée. Il faut toutefois noter qu'un différentiel de pression trop élevé peut entraîner des effets indésirables comme un coût énergétique accru (par pertes de chaleur), des dommages structurels causés aux cloisons murales, aux plafonds et aux matériaux assurant l'étanchéité.

Comment une pression de l'air négative est-elle générée et maintenue?

La pression de l'air dans un sas ou dans une zone de confinement L3 est indiquée le plus souvent par rapport à la pression atmosphérique ou par rapport à la pression de l'air qui est mesurée dans le couloir adjacent. A température constante, une pression négative de l'air par rapport aux zones adjacentes est obtenue quand le volume d'air extrait est supérieur au volume d'air entrant. Toutefois, dans un local ventilé où une dépression est déjà présente, la pression négative de l'air pourra être maintenue par un équilibre régulé entre le courant d'air total apporté et l'air total extrait. Il faut préciser que le courant d'air ne se produit pas uniquement via le système de pulsion/extraction mais peut aussi être généré par l'ouverture d'une porte, une étanchéité imparfaite des cloisons et d'autres raisons du même ordre. Par conséquent, pour garantir une dépression "stable" dans la zone L3 il faut assurer une correction de la quantité d'air entrant ou sortant grâce au système pulsion/extraction d'air. Cette correction permet de rétablir rapidement la pression négative de l'air par rapport aux zones voisines à une valeur attendue.

Que préconisent les recommandations et les lignes directrices internationales?

Comme mentionné plus haut il n'existe pas de normes qui déterminent un ordre de grandeur pour la dépression à appliquer dans les laboratoires L3. A l'exception des lignes directrices canadiennes qui

¹ L'unité de pression dans le système international est le Pascal (Pa). Pression uniforme qui, agissant sur une surface plane de 1 mètre carré, exerce perpendiculairement à cette surface une force totale de 1 Newton.

- 1 Pa = 1 Newton/m²
- 1 millibar (mbar) = 1 hecto pascal.
- La pression atmosphérique moyenne au niveau de la mer s'élève à 1013 mbar, 101,3 kPa ou 760 mm de mercure.

recommandent une dépression d'approximativement -25 Pa, les autres lignes directrices internationales ne donnent pas de valeur. Lors de la description des conditions de ventilation pour les installations de niveau de confinement L3 l'attention est portée essentiellement sur la nécessité de maintenir un "courant d'air entrant" (5,6,7,8). Celui-ci est causé du fait même que la zone confinée L3 est en dépression par rapport aux zones adjacentes. Ce "courant d'air entrant" doit empêcher, à tout moment, que des particules ne s'échappent à l'extérieur de la zone L3 et ne se dispersent dans l'environnement. Les lignes directrices de l'Organisation Mondiale de la Santé décrivent un système de ventilation contrôlé pour assurer un courant d'air dirigé vers l'intérieur de la zone confinée. Ce critère peut déjà être obtenu par l'installation d'un système d'extraction contrôlé de l'air. Toutefois les arrêtés régionaux belges relatifs à l'utilisation confinée d'organismes génétiquement modifiés et/ou pathogènes recommandent aussi bien des "systèmes" d'alimentation que d'extraction de l'air (2,3,4). Concrètement cela signifie qu'un système autonome motorisé permet d'assurer un meilleur contrôle du courant d'air entrant ayant pour effet des corrections plus efficaces lors de variations de pression dans la zone confinée.

En ce qui concerne le courant d'air dirigé vers l'intérieur de la zone confinée certaines lignes directrices préconisent l'installation d'un appareil de contrôle visuel, avec ou sans système d'alarme, au niveau de la porte d'entrée de la zone confinée. De cette façon, le personnel peut vérifier à tout moment que le courant d'air entrant est assuré (6,7). Un tel appareil de contrôle peut consister en un appareil de mesure électronique équipé d'un système d'alarme qui collecte en continu (ou de manière périodique) les informations relatives au courant d'air entrant. L'alternative aux tests périodiques est de faire usage d'un "smoke test". Dans certains cas, cette approche semble davantage fiable sachant que les appareils de mesure en continu peuvent être défectueux (9).

Validation du confinement

L'efficacité du confinement ou la "performance" des installations de niveau de confinement L3 sont influencées par les paramètres interdépendants suivants:

- La pression de l'air négative;
- Le volume du local;
- Le débit de l'air pulsé et extrait;
- L'aération du local;
- Le débit de l'air dans l'embrasure au cours de l'ouverture de la porte;
- La présence d'un sas;
- L'étanchéité du local.

L'idéal serait de disposer d'un critère qui dépend des paramètres énumérés ci-dessus et qui permettrait d'évaluer la performance des installations de niveau de confinement L3. Un exemple basé sur la validation des "salles blanches" (clean rooms) peut-être pris: indépendamment de caractéristiques techniques spécifiques (renouvellement de l'air, la pression positive de l'air dans le local par rapport aux zones adjacentes, la filtration de l'air pulsé, etc.), la norme ISO 14644-1 définit la classe de pureté d'une salle blanche sur base de la mesure du nombre de particules présentes dans le local, ce qui permet une mesure de la "performance" (10).

Lors de la validation d'un laboratoire L3, l'évaluation pourrait être réalisée de la même manière, en rapportant le nombre de particules générées dans le laboratoire sur le nombre de particules mesurées en dehors de la zone confinée.

Par analogie avec la validation des Enceintes de Sécurité Microbiologique (ESM) - où le "facteur de protection de l'opérateur" est déterminé comme étant le rapport entre l'exposition à des particules générées sur un plan de travail ouvert sur l'exposition à un même nombre de particules générées au sein de l'ESM. Pour ce faire, la méthode qui fait usage d'un disque de KI (Iodure de Potassium) pour la génération des particules diffusées dans l'air est fréquemment utilisée (11).

Lors d'une étude des critères qui déterminent l'efficacité de confinement des laboratoires L3, il a été fait usage d'une méthode similaire (12). Le "facteur de protection du laboratoire" (laboratory protection factor) a été défini comme le rapport entre le nombre particules générées au sein du laboratoire sur le nombre de particules détectées dans l'entourage immédiat du laboratoire. Sur base d'un nombre limité de données expérimentales, les auteurs donnent quelques recommandations pour atteindre une efficacité optimale de confinement:

- L'accès à la zone confinée via un sas;
- Le débit du courant d'air entrant lors de l'ouverture "standard" d'une porte devrait s'élever à $10 \text{ m}^3 \text{ min}^{-1}$ au moins;
- Les laboratoires devraient avoir une pression négative de l'air stable (avec système d'alarme) d'environ -30 Pa. Les auteurs insistent sur l'importance de disposer d'un débit d'air entrant suffisamment grand par la porte d'entrée de la zone confinée.

Conclusion

Il n'existe pas de normes ni de dispositions légales concernant les obligations relatives à la pression négative de l'air à appliquer dans les laboratoires L3. Cette constatation s'accompagne du fait que des résultats publiés qui montreraient un lien univoque entre la valeur absolue de la pression négative de l'air et l'efficacité de confinement font défaut. Il faut toutefois retenir que la pression négative de l'air a pour but de créer un courant d'air vers l'intérieur de la zone confinée. Cette notion de "courant d'air entrant" est un critère important mentionné dans la plupart des lignes directrices internationales.

Il faut tenir compte de nombreux paramètres pour satisfaire aux conditions de ventilation des laboratoires L3. Il est techniquement possible de suivre chacun de ces paramètres (pression négative de l'air, volume du local, débit de l'air pulsé/extrait, etc.).

Un système de contrôle (pourvu d'une alarme) mesurant la pression négative de l'air en continu montre notamment qu'il y a une aspiration globale de l'air dans la direction de la zone confinée. Pour obtenir la preuve définitive de la performance ou de l'efficacité du confinement, la zone L3 devrait faire l'objet de tests complémentaires comme par exemple la méthode au KI décrite plus haut.

Références

- (1) Mesures génériques de confinement et autres mesures de protection. Cas des laboratoires de niveau L3: <http://www.biosecurite.be/CU/refdocs/SBB0306CU003FR.html>
- (2) 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 Vlaams 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, bz. 18281).
- (3) Arrêté du Gouvernement wallon du 4 juillet 2002 déterminant les conditions sectorielles relatives aux utilisations confinées d'organismes génétiquement modifiés ou pathogènes (MB 21.09.2002, pp. 41711).
- (4) Arrêté du Gouvernement de la Région de Bruxelles-Capitale du 8 novembre 2001 relatif à l'utilisation confinée d'organismes génétiquement modifiés et/ou pathogènes et au classement des installations concernées (MB 26.10.2002, p. 7209).
- (5) The Laboratory Biosafety Guidelines: 3rd Edition, Health Canada, 2004.

- (6) Richmond, J.Y. & Mckinney, R.W. (1999) Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories. 4 th edition . Washington DC, U.S. Department of Health and Human Services/Center for Disease Control and Prevention/National Institutes of Health, 1999.
- (7) Laboratory Biosafety Manual, 3rd edition, WHO, 2004.
- (8) Rayburn, S.R. , The foundations of laboratory safety, *Springer-Verlag New York*, 1990.
- (9) Pavelchak, N., DePersis, R.P., London M., Stricof, R., Oxtoby, M., DiFerdinando, & G. Jr, Marshall, E. (2000) Identification of factors that disrupt negative air pressurization of respiratory isolation rooms. *Infect. Control Hosp. Epidemiol.* 21 (3), pp 191-5.
- (10) ISO 14644-1: Cleanrooms and associated controlled environments - Part 1: Classification of air cleanliness. International Organization for Standardization, 1999.
- (11) Clark, R.P. & Goff, M.R. (1981) The potassium iodide method for determining protection factors in open-fronted microbiological safety cabinets. *Journal of Applied Bacteriology*, 51, 439-460.
- (12) Bennett, A.M, Parks, S. & Benbough, J.E. (2005) Development of particle tracer techniques to measure the effectiveness of high containment laboratories. *Applied Biosafety*, 10 (3), 139-150.

Informations complémentaires

Guidelines for laboratory design : health and safety considerations. Diberardinis, L.J., Baum, J.S., First, M., Gatwood, G.T. & Seth, A.K. 3rd ed., 2001.

CRC handbook of Laboratory safety, Furr A.K., 5th edition., 2000.

Rydock, J.P. & Eian, P.K. (2004) Containment testing of isolation rooms. *Journal of Hospital Infection* 57, 228-232.

Fleming, D.O. & Hunt, D.L., eds, "Biological safety, principles and practices". 3rd edition, Washington: ASM Press; 2000, pp. 221-39.

Guidelines for Preventing the Transmission of Tuberculosis in Canadian Health Care Facilities and Other Institutional Setting, Public Health Agency of Canada (PHAC). http://www.phac-aspc.gc.ca/publicat/ccdr-rmtc/96vol22/22s1/22s1h_e.html