

**Lignes directrices en matière de  
biosécurité en laboratoire**

**Ébauche de la 3<sup>e</sup> édition**

**20 septembre 2001**

## **Rédaction**

MAUREEN BEST

Directrice, Bureau de sécurité des laboratoires  
Santé Canada  
0700A1 Pré Tunney  
Ottawa (Ontario) K1A 0L2

MARIANNE HEISZ

Chef par intérim, Bioconfinement et homologation  
Bureau de sécurité des laboratoires  
Santé Canada  
0700A1 Pré Tunney  
Ottawa (Ontario) K1A 0L2

## **Collaborateurs**

La rédaction de la 3<sup>e</sup> édition des *Lignes directrices sur la biosécurité en laboratoire* a été rendue possible grâce à la collaboration des personnes suivantes :

HARVEY ARTSOB

Chef, Laboratoire des zoonoses et programme de niveau 4  
Centre scientifique canadien de santé humaine et animale  
Winnipeg (Manitoba)

WAYNE CONLAN

Agent de recherche  
Conseil national de la recherche  
Ottawa (Ontario)

PAMELA DUNN

Chercheuse scientifique  
Aventis Pasteur Ltd.  
North York (Ontario)

SANDRA FRY

Directrice, Confinement des biorisques et sécurité  
Agence canadienne d'inspection des aliments  
Nepean (Ontario)

DAVID GROVES

Service de microbiologie médicale

St. Joseph's Hospital

Professeur au département de pathologie et de médecine moléculaire

Faculté des sciences de la santé, McMaster University

Hamilton (Ontario)

PAUL LANGEVIN

Biocontainment Services

Kanata (Ontario)

ROLAND LEITNER

Agent, sécurité de l'environnement

University of Calgary

Calgary (Alberta)

LOUISE LINAREZ

Superviseure technique

Laboratoire provincial de santé publique

Edmonton (Alberta)

JIM ORZECOWSKI

Président et chef de la direction

Smith Carter Architects & Engineers Inc.

Winnipeg (Manitoba)

BRUCE PEAT

Directeur général

H.E.P.A. Filter Services Inc.

Concord (Ontario)

MARK SANDER

Spécialiste en biosécurité

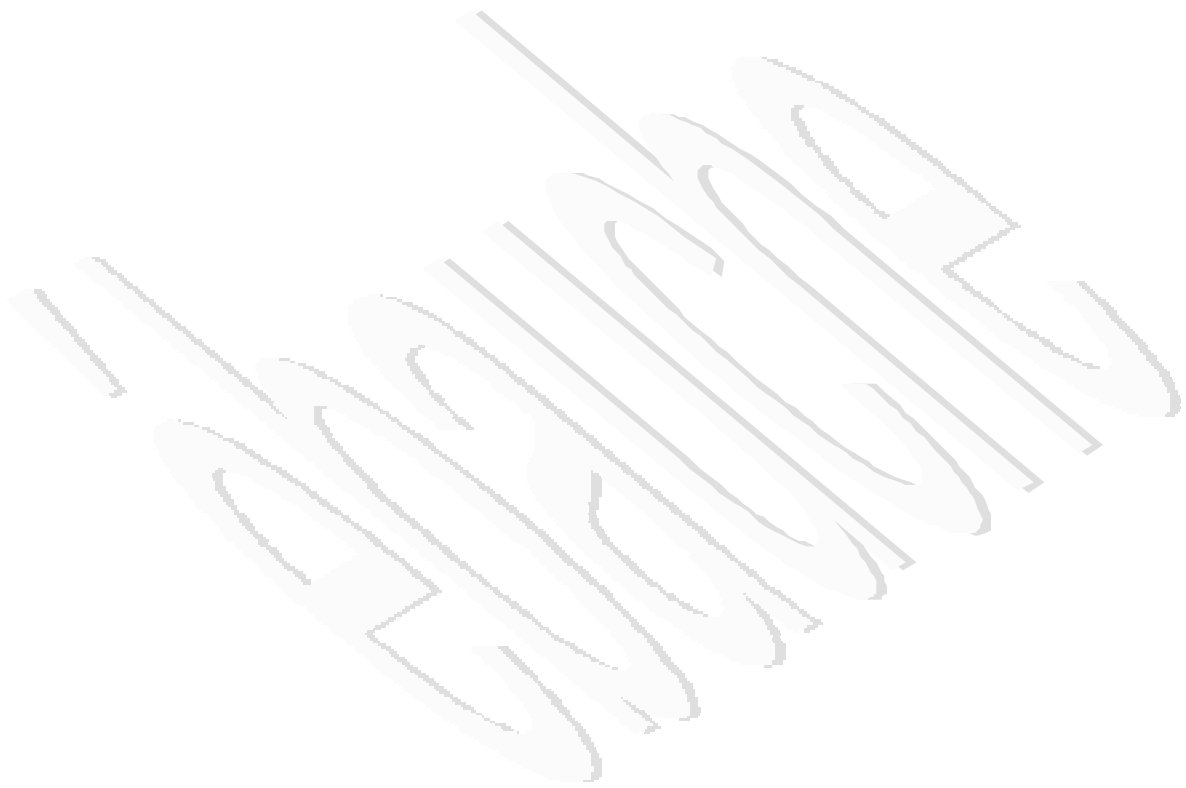
Bureau de sécurité des laboratoires

Santé Canada

Ottawa (Ontario)

LEE THOMPSON

Chef, Services de la sécurité et de l'environnement  
Centre scientifique canadien de santé humaine et animale  
Winnipeg (Manitoba)



**Sous-comité « grande échelle »**

FRED GEORGE

Alberta Research Council  
Edmonton (Alberta)

ANDREW GRAHAM

Aventis Pasteur Limited  
Toronto (Ontario)

TONI HAYS

Apotex Fermentation Inc.  
Winnipeg (Manitoba)

GEORGE KHACHATOURIANS

Département de microbiologie appliquée et des sciences des aliments  
University of Saskatchewan  
Saskatoon (Saskatchewan)

ANTHONY RIDGWAY

Programme des produits thérapeutiques  
Santé Canada  
Ottawa (Ontario)

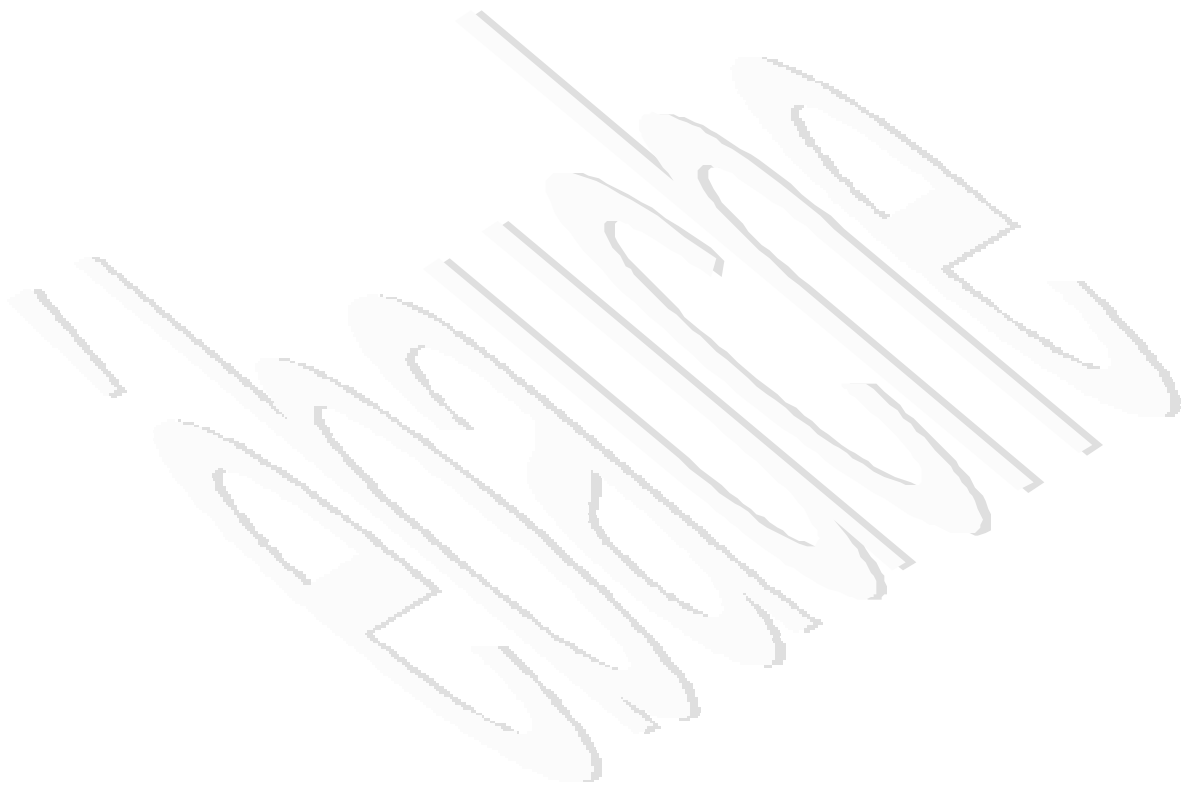
## Table des matières

Chapitre 1	Introduction .....	8
Chapitre 2	Sécurité biologique .....	10
	Groupes de risque .....	10
	Niveaux de confinement .....	11
	Évaluation des risques .....	12
	L'agent de sécurité biologique .....	13
	Le comité de biosécurité de l'établissement .....	15
Chapitre 3	Manipulation des substances infectieuses .....	17
	Réduire au minimum la formation d'aérosols infectieux .....	17
	Pratiques opérationnelles de laboratoire .....	19
	Pratiques générales .....	19
	Niveau de confinement 2 .....	22
	Niveau de confinement 3 .....	23
	Niveau de confinement 4 .....	26
	La sécurité en laboratoire .....	27
Chapitre 4	Conception du laboratoire et exigences physiques .....	29
	Matrice 1 Emplacement du laboratoire et accès .....	29
	Matrice 2 Revêtements de finition des surfaces (c.-à-d. revêtements de sols, de murs, de plafonds, scellants) et mobilier de rangement .....	33
	Matrice 3 Traitement de l'air : chauffage, ventilation et conditionnement d'air (CVCA) .....	36
	Matrice 4 Périmètre de confinement .....	41
	Matrice 5 Services (c.-à-d. eau, gaz, électricité et sécurité) .....	43
Chapitre 5	Mise en service, homologation et rehomologation .....	50
	Introduction .....	50
	Intégrité de la pièce .....	51
	Système de traitement de l'air .....	52
	Enceintes de sécurité biologique .....	52
	Filtres HEPA et boîtiers .....	52
	Conduits de soufflage et d'extraction .....	53
	Équilibrage du débit et de la pression d'air .....	54

Systèmes de commande/régulation de l'installation de CVCA .....	54
Équipement de laboratoire et utilités .....	54
Chapitre 6    Production de micro-organismes à grande échelle .....	57
Introduction .....	57
Portée .....	57
Pratiques opérationnelles et exigences physiques .....	58
NC 1 à grande échelle .....	58
NC 2 à grande échelle .....	59
NC 3 à grande échelle .....	60
Chapitre 7    Animaux de laboratoire .....	62
Exigences générales .....	62
Primates non humains .....	63
Installations biomédicales utilisant des moutons .....	65
Pratiques opérationnelles .....	66
Exigences physiques .....	68
Chapitre 8    Lignes directrices relatives aux risques particuliers .....	72
ADN recombinant et manipulations génétiques .....	72
Manipulation des lignées cellulaires en laboratoire .....	73
Évaluation des risques .....	73
Lignées de cellules non recombinantes .....	73
Lignées de cellules recombinantes .....	73
Dangers .....	74
Contamination par des agents infectieux .....	74
Bactéries et champignons .....	74
Virus .....	74
Prions .....	75
Mycoplasmes .....	75
Parasites .....	76
Expression de virus latents .....	76
Expériences sur ses propres cellules .....	76
Toxines microbiennes .....	76
Introduction .....	76
Pratiques de sécurité .....	77
Décontamination .....	79
Mycobactéries .....	79

Introduction .....	79
Niveaux de confinement stratifiés .....	81
Mesures de sécurité .....	81
Vêtements de protection .....	82
Protection respiratoire .....	82
Douche .....	82
Désinfection .....	82
Lignes directrices de confinement pour les travaux avec des arthropodes .....	83
Introduction .....	83
Niveaux de confinement des arthropodes .....	84
Installations de confinement des arthropodes .....	84
Manipulations des arthropodes .....	85
Plan d'action en cas de fuite d'arthropodes .....	86
Vérification de l'intégrité du système .....	86
Chapitre 9    Décontamination .....	90
Introduction .....	90
Autoclaves .....	91
Désinfection chimique .....	91
Décontamination gazeuse des locaux .....	92
Systèmes de traitement des effluents liquides .....	93
Irradiation .....	93
Incinération .....	94
Nouvelles technologies .....	94
Chapitre 10    Enceintes de sécurité biologique .....	96
Introduction .....	96
Catégories d'enceintes de sécurité biologique .....	96
Installation et homologation .....	97
Utilisation de l'enceinte .....	98
Chapitre 11    Réglementation relative à la manipulation de substances infectieuses .....	105
Importation et transfert de pathogènes pour l'humain .....	105
Exportation de pathogènes .....	105
Transport .....	106
Importation, transfert et confinement de zoopathogènes .....	107





## Chapitre 1 Introduction

Malgré une meilleure connaissance des pratiques de biosécurité et de bioconfinement, la manipulation de micro-organismes infectieux demeure une source d'infection, voire de mortalité, chez les employés de laboratoire<sup>(1-4)</sup>. On signale également des incidents où il y a eu transmission secondaire de maladie au grand public, apparemment causée par la contamination du milieu ou du personnel<sup>(1,5)</sup>. Ce phénomène s'est aggravé avec la recrudescence récente de pathogènes bactériens et viraux plus dangereux et plus infectieux. De plus en plus de laboratoires manipulent ces pathogènes et un nombre croissant de chercheurs veulent importer de nouvelles souches non indigènes pour les étudier. Les employés de laboratoire peuvent réduire au minimum les risques associés à la manipulation de ces pathogènes en appliquant les principes et les pratiques appropriés de biosécurité et de confinement. Les organismes de réglementation sont de plus en plus sollicités pour veiller à ce que de tels pathogènes soient manipulés en toute sécurité.

Les *Lignes directrices en matière de biosécurité en laboratoire* ont d'abord été rédigées pour aider les laboratoires du gouvernement, de l'industrie, des universités, des hôpitaux et des autres secteurs de la santé publique, en microbiologie notamment, à élaborer leurs politiques et programmes de biosécurité. Elles ont également servi de document technique contenant de l'information et des recommandations sur la conception, la construction et la mise en exploitation d'installations de confinement. Depuis la publication de la 2<sup>e</sup> édition des *Lignes directrices* en 1996, bon nombre de laboratoires du Canada où sont manipulés des pathogènes humains sont tenus de les respecter. Conscients des répercussions des *Lignes directrices* sur les principaux intervenants, nous avons largement diffusé la version préliminaire de la troisième édition, par la poste et par notre site Web, pour que les intervenants puissent exprimer leurs opinions et commentaires sur les recommandations proposées.

Cette troisième édition décrit les principes et pratiques actuels de biosécurité et de bioconfinement. Le document s'inspire d'une approche concrète, qui non seulement tient compte des technologies de pointe et du renouvellement constant des méthodes de confinement, mais qui apporte également des solutions simples et pratiques. La rédaction de ce document a été faite en même temps que la production et la publication de la 2<sup>e</sup> édition des *Normes sur le confinement des installations vétérinaires*<sup>(6)</sup> de l'Agence canadienne d'inspection des aliments, pour que les exigences de confinement figurant dans les deux documents soient similaires autant que possible (voir la section 11.4 traitant du confinement des pathogènes animaux). Parmi les ajouts figurent les sections sur les primates non humains, les installations biomédicales qui utilisent des moutons à des fins de recherche, les arthropodes, les prions et les toxines. Une section distincte porte spécifiquement sur les mycobactéries, car il s'agit d'un domaine qui préoccupe les professionnels

de la biosécurité. Elle décrit également une méthode de confinement stratifiée, selon le type de procédés utilisés.

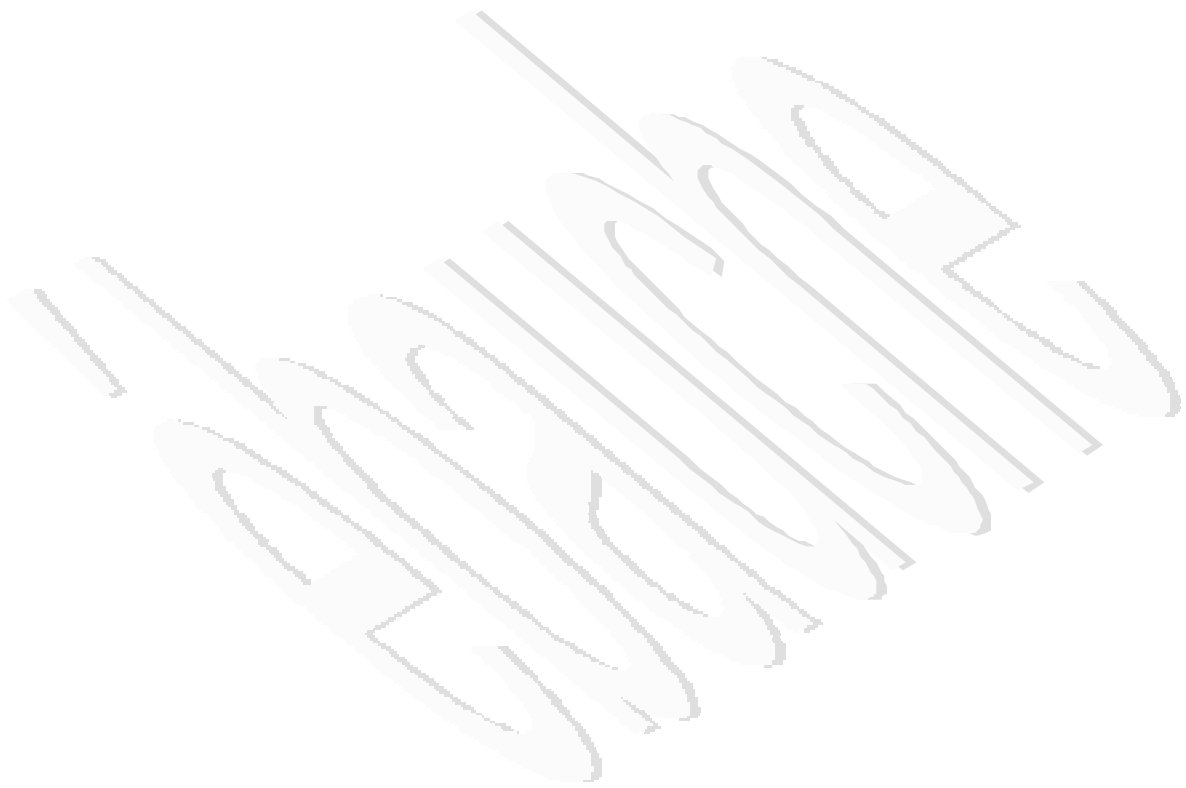
Un changement notable apporté à la 3<sup>e</sup> édition est l'élimination des listes des groupes de risque concernant les pathogènes pour l'humain. La publication d'une liste établie ne laisse aucune latitude pour l'évaluation continue et dynamique des risques. À mesure que de nouveaux facteurs de risque sont décelés et étudiés, et que les données s'accumulent à leur sujet, le niveau de confinement correspondant aux matières potentiellement infectieuses est appelé à changer. Le site Web du Bureau de sécurité des laboratoires [[www.hc-sc.gc.ca/hpb/lcdc/biosaftey](http://www.hc-sc.gc.ca/hpb/lcdc/biosaftey)] peut être consulté à titre indicatif au sujet de la sélection du niveau de confinement. Ce niveau est établi pour une population immunocompétente et pour des activités habituellement associées à la croissance et à la manipulation de cultures. Les travaux sur le matériel clinique peuvent poser un risque moindre, alors que des activités spécifiques comportant la génération d'aérosols à titre expérimental peuvent imposer des précautions supplémentaires.

Enfin, il faut souligner les pratiques et méthodes utilisées par le personnel de laboratoire expérimenté. Selon le *Manuel de sécurité biologique en laboratoire* de l'Organisation mondiale de la santé, aucune enceinte de sécurité, installation ou méthode ne peut garantir seule la sécurité, si l'opérateur n'utilise pas des techniques sûres, dont le fondement est une solide information<sup>(7)</sup>. Il incombe donc à tous les employés de laboratoire de mettre à profit l'information contenue dans les présentes *Lignes directrices* pour travailler d'une manière sécuritaire.

## Références

1. Collins CH, Kennedy DA. *Laboratory-acquired infections*. In: *Laboratory-acquired infections: history, incidence, causes and preventions*. Oxford, UK: Butterworth-Heinemann, 1999; 1-37.
2. Harding AL, Brandt Byers K. *Epidemiology of laboratory-associated infections*. In: Fleming DO, Hunt DL. *Biological safety: principles and practices*. Washington, DC: ASM Press, 2000.
3. Sewell D. *Laboratory-associated infections and biosafety*. Clin Microbiol Rev 2001;8:389-405.
4. Gaidamonvich SY, Butenko AM, Leschinskaya HV. *Human laboratory acquired arbo-, arena-, and hantavirus infections*. J Am Biol Safety Assoc 2000;5:5-11.
5. Richmond JY, McKinney RW. *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*. Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 1999.

6. Fry S. *Normes sur le confinement des installations vétérinaires*. Agence canadienne d'inspection des aliments. Ottawa : Approvisionnements et Services. Publication d'Agriculture et Agroalimentaire n° 1921/F, 2001.
7. Organisation mondiale de la santé. *Manuel de sécurité biologique en laboratoire*. Genève, OMS, 1993.



## Chapitre 2 Sécurité biologique

### 1. Groupes de risque

C'est la classification des micro-organismes en fonction du groupe de risque qui sert habituellement à établir les catégories de risques relatifs posés par les micro-organismes infectieux. Les facteurs servant à déterminer l'appartenance à un groupe de risque reposent sur les caractéristiques spécifiques du micro-organisme :

- sa pathogénicité
- sa dose infectieuse
- son mode de transmission
- ses hôtes
- l'existence de mesures préventives efficaces
- l'existence d'un traitement efficace.

Ces classifications présupposent l'existence de circonstances normales dans le laboratoire de recherche ou la culture du micro-organisme en volumes restreints à des fins diagnostiques ou expérimentales. C'est ainsi que quatre niveaux de risque ont été définis<sup>(1)</sup>.

#### ***Groupe de risque 1 (risque faible pour l'individu et la collectivité)***

Agent biologique non susceptible de causer des maladies chez les travailleurs et les animaux en bonne santé.

#### ***Groupe de risque 2 (risque modéré pour l'individu, limité pour la collectivité)***

Agent pathogène qui peut provoquer une maladie humaine ou animale, mais qui, dans des circonstances normales, n'est pas susceptible de constituer un danger important pour le personnel du laboratoire, la collectivité, les animaux d'élevage ou l'environnement. L'exposition en laboratoire provoque rarement une infection qui entraîne une maladie grave; il existe des traitements efficaces et des mesures préventives qui limitent le risque de propagation.

#### ***Groupe de risque 3 (risque élevé pour l'individu, faible pour la collectivité)***

Agent pathogène qui provoque généralement une maladie humaine ou animale grave, ou qui peut avoir des répercussions économiques graves mais qui, habituellement, ne se transmet pas par simple contact entre deux personnes ou peut être traité par des agents antimicrobiens ou antiparasitaires.

#### ***Groupe de risque 4 (risque élevé pour l'individu et pour la collectivité)***

Agent pathogène qui provoque généralement une maladie humaine ou animale très grave, pour laquelle il n'existe souvent pas de traitement et qui se transmet facilement d'un individu à l'autre, d'un animal à un humain ou inversement, directement ou indirectement, ou par simple contact.

## **2. Niveaux de confinement**

Dans un laboratoire, la classification des micro-organismes d'après le groupe de risque n'est pas toujours appropriée pour la manipulation de matières dangereuses sur le plan biologique. Par exemple, les groupes de risque ne tiennent pas compte des techniques utilisées dans la manipulation d'un micro-organisme donné. Les niveaux de confinement sont plus appropriés et donnent à l'utilisateur final une indication du confinement requis pour la manipulation sécuritaire d'un micro-organisme donné en laboratoire. Santé Canada délaisse la classification des micro-organismes par groupes de risque pour adopter plutôt un système de classification reposant sur les niveaux de confinement. En plus des caractéristiques inhérentes à chaque micro-organisme, décrites plus haut, le système précise les exigences en matière d'ingénierie ainsi que les exigences opérationnelles, techniques et physiques liées à la manipulation d'un pathogène donné<sup>(2)</sup>. Quatre niveaux de confinement ont été définis :

### **2.1 Niveau de confinement 1 (NC 1)**

Ce niveau de confinement s'applique aux laboratoires de base pour la manipulation d'agents nécessitant un niveau de confinement 1. Du point de vue conception, le NC 1 ne requiert aucune caractéristique spéciale autre que celles qui conviennent à un laboratoire fonctionnel et bien conçu. Il n'est pas nécessaire d'utiliser des enceintes de sécurité biologique. Le travail peut être exécuté sur une paillasse à découvert et le confinement est réalisé grâce aux méthodes normalement utilisées dans un laboratoire de microbiologie de base.

### **2.2 Niveau de confinement 2 (NC 2)**

Ce niveau de confinement s'applique aux laboratoires où on manipule des agents qui nécessitent un niveau de confinement 2. Les principaux risques d'exposition associés à ces agents sont l'ingestion, l'inoculation et l'absorption par les muqueuses. Ces agents ne sont habituellement pas transmis par voie aérienne, mais il faut éviter la formation d'aérosols (qui peuvent se déposer sur les surfaces de travail et présenter un risque d'ingestion par contamination des mains<sup>(3)</sup>) ou les éclaboussures. Il faut recourir aux dispositifs de confinement primaires comme les enceintes de sécurité biologique et les centrifugeuses à rotor scellé ou à godets de sécurité et porter l'équipement de protection individuel approprié (gants, sarrau, lunettes de sécurité). De plus, il faut réduire au minimum la contamination environnementale par le lavage des mains dans des lavabos réservés à cette fin et l'emploi d'appareils de décontamination (autoclaves).

### **2.3 Niveau de confinement 3 (NC 3)**

Ce niveau de confinement s'applique aux laboratoires de diagnostic ou de recherche, aux laboratoires cliniques, aux lieux de production ou aux laboratoires d'enseignement où on manipule des agents nécessitant un niveau de confinement 3. Ces agents peuvent être transmis par voie aérienne, leur dose infectieuse est souvent assez faible et ils peuvent provoquer des maladies graves ou fatales. Le NC 3 impose des barrières primaires et secondaires supplémentaires pour réduire au minimum la libération de micro-organismes infectieux dans le laboratoire et son environnement immédiat. Les mesures supplémentaires servant à prévenir la transmission de micro-organismes NC 3 sont le port d'un appareil de protection respiratoire adéquat, la filtration par filtre HEPA de l'air sortant du laboratoire et la restriction de l'accès au laboratoire.

#### **2.4 Niveau de confinement 4 (NC 4)**

C'est le niveau de confinement maximal. Il s'applique aux laboratoires où on manipule des agents qui nécessitent un niveau de confinement 4. Ces agents peuvent être transmis par aérosol, leur dose infectieuse est souvent faible, et ils entraînent des maladies très graves, souvent fatales et pour lesquelles il n'existe habituellement aucun traitement ni vaccin. Ce niveau de confinement correspond à une unité isolée des autres sur le plan fonctionnel et parfois aussi sur le plan structurel. Le NC 4 vise le confinement maximal de l'agent infectieux par les moyens suivants : sceller complètement le laboratoire et détecter toute perte de pression; isoler le chercheur du pathogène, généralement par le port d'une combinaison pressurisée ou, plus rarement, par le confinement du pathogène dans une enceinte de sécurité biologique de catégorie III; et décontaminer l'air et les autres effluents du laboratoire et des salles connexes.

### **3. Évaluation des risques**

Pour sélectionner le niveau de confinement approprié pour les travaux sur un pathogène donné, il faut effectuer une évaluation détaillée des risques. En plus des facteurs de risque inhérents au micro-organisme visé, il faut tenir compte des facteurs suivants :

- potentiel de génération d'aérosols
- quantité
- concentration
- stabilité de l'agent dans l'environnement (taux inhérent de dénaturation biologique)
- type de travail proposé (*in vitro*, *in vivo*, études de provocation par des aérosols)
- dans le cas des micro-organismes recombinants — propriétés des gènes (p. ex. codant un facteur de virulence ou une toxine); ampleur des modifications apportées à l'hôte; intégration génomique; capacité de répllication; potentiel de rétro-mutation au type sauvage.

Les recommandations relatives aux niveaux de confinement sont établies pour une population d'individus immunocompétents. Les personnes immunodéficientes peuvent être plus exposées aux risques associés à la manipulation de pathogènes ou de combinaisons de pathogènes en laboratoire. L'agent de sécurité biologique de l'établissement doit tenir compte de l'immunocompétence de chaque employé dans la détermination des niveaux de confinement. Les personnes immunodéprimées doivent faire part de leur état à leur superviseur ou à l'agent de sécurité biologique.

Le niveau de confinement requis pour les travaux sur un micro-organisme donné est établi pour des manipulations habituellement associées à la recherche en laboratoire et aux analyses cliniques. Si une technique particulière, comme l'identification préliminaire, pose un risque moins grand que la manipulation d'une culture vivante, un niveau de confinement inférieur pourra alors s'appliquer. Par exemple, le diagnostic primaire du VIH peut être réalisé dans un laboratoire NC 2 dont les protocoles opérationnels sont de NC 3, mais la culture du VIH et la manipulation de cultures de VIH exigent un niveau de confinement 3 à tous points de vue (opérationnel et physique).

Par ailleurs, il faudra hausser le niveau de confinement si l'analyse des risques révèle que la technique en cause pose un risque plus grand que les manipulations ordinaires de laboratoire, que ce soit pour la recherche ou le diagnostic. Par exemple, *Corynebacterium diphtheriae*, qui est transmissible par aérosol, peut être manipulée en niveau de confinement 2 pour le diagnostic et la recherche à l'échelle du laboratoire; toutefois, des épreuves de provocation par inhalation d'aérosols effectuées sur des animaux exigeront des niveaux de confinement accrus, tant sur les plans physique qu'opérationnel.

Le terme « grande échelle » s'applique habituellement aux volumes totaux de plus de 10 litres. En raison de l'importance de la quantité des matières infectieuses en cause, des précautions particulières doivent être prises; elles sont décrites au chapitre 6. Il convient de rappeler que le seuil de 10 litres n'est pas une valeur absolue. Si l'analyse des risques indique une pathogénicité élevée, une voie de transmission préoccupante et une dose infectieuse relativement faible, la manipulation de volumes inférieurs à 10 litres, mais tout de même supérieurs à ce qui est normalement utilisé en recherche, peut poser un risque plus grand et, par conséquent, imposer des exigences physiques et opérationnelles correspondant à un niveau de confinement supérieur. Par exemple, une analyse des risques indique qu'il serait préférable que la production de 5 litres de *Mycobacterium tuberculosis* multirésistant soit réalisée en niveau de confinement grande échelle 3 plutôt qu'en NC 3 pour le diagnostic et la recherche. La valeur de 10 litres utilisée pour distinguer l'échelle laboratoire de la grande échelle sert donc uniquement de guide. En conséquence, il faut effectuer une analyse complète des risques pour chaque cas.



On a vu plus haut qu'un changement notable apporté à la 3<sup>e</sup> édition est l'élimination des listes des groupes de risque concernant les pathogènes humains, car la publication d'une liste établie ne laisse aucune latitude pour l'évaluation continue et dynamique des risques. En plus des critères fournis pour l'établissement des exigences spécifiques de confinement pour un laboratoire donné, le site Web du Bureau de sécurité des laboratoires ([www.hc-sc.gc.ca/hpb/lcdc/biosafety](http://www.hc-sc.gc.ca/hpb/lcdc/biosafety)) décrit d'autres éléments à prendre en compte dans la sélection du niveau de confinement approprié. Il est important de souligner le fait que les niveaux de confinement sont définis en fonction de personnes immunocompétentes et pour des activités normalement associées à la culture de cellules et à leur manipulation.

#### **4. L'agent de sécurité biologique**

Bien que la sécurité du personnel relève des superviseurs et du directeur du laboratoire de microbiologie, il est souhaitable qu'une autre personne soit nommée pour s'occuper plus particulièrement des questions de sécurité biologique. La détermination du degré de coordination et des ressources à prévoir dépend de plusieurs facteurs :

- la taille du laboratoire (effectifs et surface occupée)
- le nombre de laboratoires dans l'établissement
- le niveau de confinement de ces laboratoires (p. ex. un NC 2, plusieurs NC 3)
- la complexité des procédés (diagnostic ordinaire, recherche, grande échelle, recombinaison)
- l'existence de zones de laboratoire communes (plusieurs chercheurs, divers groupes)
- la réalisation d'activités exigeant des animaux à des fins expérimentales ou diagnostiques (souris en cages, installations pour gros animaux).

Dans les laboratoires de plus petite envergure, l'agent de sécurité biologique pourra être un microbiologiste principal qui s'acquitte de ces tâches à temps partiel. Par contre, dans les plus grands établissements, il faut envisager de nommer une personne à temps plein à ce poste (c.-à-d. un agent de sécurité biologique pour l'ensemble des laboratoires de l'établissement; chaque laboratoire pourra également avoir son propre agent de sécurité biologique).

L'agent de sécurité biologique devra très bien connaître les pratiques et procédés de laboratoire ayant cours dans l'établissement et entretenir de bonnes relations avec les directeurs et les chefs de laboratoire. Il pourra également agir à titre de conseiller technique et d'agent de liaison auprès du comité de biosécurité et du comité de santé et sécurité de l'établissement.

Les tâches de l'agent de sécurité biologique seront notamment les suivantes :

1. Cerner les besoins en matière de formation et participer à l'élaboration et à la prestation de programmes de formation en biosécurité (p. ex. biosécurité générale, emploi d'une enceinte de sécurité biologique, biosécurité animale, orientation du personnel et formation sur le confinement).
2. Aider le personnel de santé et sécurité à élaborer, à mettre en œuvre et à suivre le programme de surveillance de la santé.
3. Effectuer les évaluations des risques au besoin et recommander la modification de certaines procédures ou de certains aspects physiques du laboratoire.
4. Vérifier à intervalles réguliers l'efficacité du programme de biosécurité et le système de gestion connexe.
5. Participer aux enquêtes sur les accidents et encourager le signalement de tout incident survenu dans l'établissement ou le laboratoire.
6. Distribuer de l'information inédite et pertinente en matière de biosécurité au personnel du laboratoire.
7. Coordonner et surveiller les procédés de décontamination, de désinfection et d'élimination des matières infectieuses dans l'établissement ou le laboratoire.
8. Coordonner la réception, l'expédition et le transport des matières infectieuses à l'intérieur de l'établissement, conformément au Système d'information sur les matières dangereuses utilisées au travail (SIMDUT) et au *Règlement sur le transport des marchandises dangereuses* (TMD).
9. Tenir des registres et établir un système d'entreposage sécuritaire de toutes les matières infectieuses qui entrent dans l'établissement.
10. Coordonner les interventions d'urgence.
11. Garder le contact avec le personnel de soutien et d'entretien et les sous-traitants sur tout ce qui concerne la biosécurité dans l'établissement.

Lorsque l'établissement compte des laboratoires de niveaux 3 ou 4, l'agent de sécurité biologique a les responsabilités supplémentaires suivantes :

12. Coordonner les activités d'homologation et de ré-homologation (voir chapitre 5).
13. Coordonner les recherches et les mesures correctives à la suite de problèmes de confinement sur le plan physique ou opérationnel.
14. Coordonner le contrôle de l'accès aux lieux où s'applique le confinement.
15. Coordonner les contacts avec les organismes de réglementation appropriés, comme la Commission de contrôle et de sûreté nucléaire, Transports Canada, Santé Canada et l'Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA).

## **5. Le comité de biosécurité de l'établissement**

Les établissements de plus grande envergure doivent envisager la création d'un comité de biosécurité. Ce comité veille à l'application du programme de sécurité biologique dans tout l'établissement en élaborant des politiques et des programmes spécifiques destinés à tous ses laboratoires. L'agent de sécurité biologique garde le contact avec le comité par des réunions prévues à intervalles réguliers, où il expose les problèmes de sécurité, les préoccupations et questions à ce titre ou les améliorations à envisager aux politiques ou aux protocoles. Le comité peut également être utile à l'agent de sécurité biologique pour l'évaluation des risques, le règlement de litiges concernant la sécurité biologique ou d'autres activités connexes. Il faudra établir avec soin la composition du comité, dont feront partie l'agent de sécurité biologique, au moins un chercheur et un technicien, et un représentant de la direction. Il faudrait également songer à nommer un conseiller médical.

## **Références**

1. Organisation mondiale de la santé. *Manuel de sécurité biologique en laboratoire*. Genève : OMS, 1997.
2. Collins CH, Kennedy DA. *Equipment- and technique-related hazards*. In: *Laboratory-acquired infections: history, incidence, causes and preventions*. Oxford, U.K: Butterworth-Heinemann, 1999; 65-109.
3. Collins CH, Kennedy DA. *Exposure, sources and routes of infection*. In: *Laboratory-acquired infections: history, incidence, causes and preventions*. Oxford, U.K: Butterworth-Heinemann, 1999; 38-53.

## Chapitre 3 Manipulation des substances infectieuses

### 1. Réduire au minimum la formation d'aérosols infectieux

Les personnes qui travaillent dans un laboratoire où sont manipulées des substances infectieuses sont particulièrement exposées. Les infections contractées en laboratoire ne sont pas rares : jusqu'en 1999, plus de 5 000 cas et 190 décès ont été signalés<sup>(1)</sup>. Ces chiffres seraient toutefois bien en deçà de la réalité, car bon nombre de cas ne sont pas signalés<sup>(2,3)</sup>. De plus, seulement à peu près 20 % des infections peuvent être attribuées à une seule exposition connue<sup>(4)</sup>.

Les substances infectieuses peuvent pénétrer dans l'organisme et causer une infection de plusieurs manières :

- ingestion
- inhalation
- contact avec les muqueuses ou la peau lésée
- contact avec les conjonctives (par les mains contaminées).

De multiples incidents peuvent entraîner une infection, notamment :

- renversements et éclaboussures
- piqûres d'aiguille
- coupures par des objets pointus ou tranchants ou du verre brisé
- morsures et égratignures d'animaux ou d'ectoparasites
- aspiration de liquide contaminé par suite de pipetage à la bouche (bien que cette pratique soit interdite)
- accidents de centrifugation
- exposition à des aérosols infectieux
- propagation secondaire de matières infectieuses à l'extérieur du laboratoire.

L'exposition aux aérosols serait le plus grand risque biologique pour les employés de laboratoire<sup>(5)</sup>. Les conseils énumérés ci-dessous permettent de réduire au minimum la formation d'aérosols associée aux techniques habituellement utilisées en laboratoire.

**utilisation d'une anse :** pour ensemercer une culture, utilisez une anse refroidie<sup>(6)</sup>; assurez-vous que l'anse est complètement fermée<sup>(7)</sup>; la longueur maximale du manche doit être de 6 cm (pour éviter les vibrations)<sup>(8,9)</sup>; ne passez jamais l'anse dans une flamme vive (utilisez plutôt un micro-incinérateur d'anse ou une anse en plastique stérile)<sup>(7)</sup>.

**mise en culture sur milieu solide :** appliquez le micro-organisme sur une surface lisse (évités les bulles)<sup>(10,11)</sup>.

**REMARQUE :** à cause des risques d'incendie, ne passez pas à la flamme les râtaux en verre qui ont été traités à l'alcool (utilisez plutôt des râtaux stériles ou des râtaux en plastique jetables).

**pipetage :** utilisez des pipettes de type TD (*to deliver*) pour éviter d'avoir à souffler la dernière goutte; laissez écouler le contenu de la pipette en plaçant sa pointe contre la paroi interne du contenant qui reçoit le liquide; utilisez des pipettes comportant un bouchon pour éviter de contaminer le pipeteur; travaillez sur une surface absorbante (nappe en papier doublée de plastique) pour éviter que les gouttes tombent sur une surface dure, ce qui génère un aérosol; ne mélangez pas les substances avec une pipette, par aspiration et expulsion alternées (utilisez plutôt un agitateur vortex)<sup>(7)</sup>.

**centrifugation :** utilisez des godets de sécurité et des rotors scellés<sup>(7)</sup>; après la centrifugation, ouvrez les godets dans une enceinte de sécurité biologique; comme les enceintes de sécurité biologique ne retiennent pas les particules éjectées par les centrifugeuses, elles ne doivent pas être utilisées comme enceintes pour les centrifugeuses<sup>(8,7)</sup>.

**mélange et homogénéisation :** utilisez un mélangeur de laboratoire dont le couvercle est muni d'un joint d'étanchéité ajusté et des roulements étanches<sup>(12)</sup> (les mélangeurs de cuisine ont souvent des fuites et génèrent des aérosols); après utilisation de l'appareil, attendez le plus longtemps possible avant d'ouvrir le couvercle<sup>(7)</sup>.

**manipulation d'aiguilles et de seringues :** après avoir retiré l'aiguille du bouchon d'une bouteille, enveloppez l'aiguille et le bouchon dans un tissu absorbant imbibé de désinfectant; utilisez des seringues Luer-Lok; jetez les aiguilles directement dans un contenant imperforable pour objets pointus et tranchants sans autre manipulation (les dispositifs coupe-aiguilles génèrent des aérosols)<sup>(7)</sup>.

**ouverture des tubes :** évitez d'utiliser des tubes munis de bouchons à pression ou dévissables (à l'ouverture de ces tubes, le film de liquide piégé entre le tube et le bouchon se rompt en générant un aérosol)<sup>(7)</sup>; pour agiter le contenu d'un tube, ne l'inversez pas, mais utilisez plutôt un agitateur mélangeur de type vortex; attendez 30 secondes après avoir agité un tube avant de l'ouvrir; ouvrez les tubes contenant des matières dangereuses dans une enceinte de sécurité biologique.

**versement de matières infectieuses :** si possible, évitez de verser le surnageant après centrifugation, lavage de cellules ou autre intervention similaire (cette pratique génère des aérosols)

et contamine le pourtour du tube); utilisez plutôt une pipette pour retirer le surnageant; utilisez un absorbant imbibé de désinfectant pour essuyer le bord du tube; utilisez un entonnoir pour verser les matières infectieuses d'un contenant à un autre, et assurez-vous que la pointe de l'entonnoir se trouve sous la surface de la solution de désinfectant dans le réceptacle (la taille de l'entonnoir doit être choisie de manière qu'il repose en sécurité dans le réceptacle; en dernier lieu, versez du désinfectant dans l'entonnoir)<sup>(7)</sup>.

**bris :** utilisez des tubes à culture, flacons, bouteilles et tubes de dilution en plastique plutôt qu'en verre (non seulement parce qu'ils génèrent moins d'aérosols, mais ils réduisent également au minimum le risque de coupure et d'inoculation).

**ouverture d'ampoules de cultures lyophilisées :** évitez d'ouvrir les ampoules à la hâte en rompant le col, car cette technique provoque l'entrée soudaine d'air dans l'ampoule et la dispersion de son contenu<sup>(11,13,14)</sup> (procédez plutôt comme suit : faites une marque à la lime à peu près à mi-hauteur du bouchon d'ouate et appliquez une tige de verre chauffée au rouge pour casser le verre; laissez l'air pénétrer dans l'ampoule, puis retirez doucement le haut et le bouchon; ajoutez lentement la solution de resuspension, pour éviter la formation de mousse).

## **2. Pratiques opérationnelles de laboratoire**

### **2.1 Pratiques générales**

**Voici les pratiques générales exigées pour tous les laboratoires où sont manipulées des substances infectieuses.**

1. Un manuel décrivant les procédures de sécurité doit être mis à la disposition de tout le personnel, pour qu'il se conforme aux exigences décrites; le manuel doit être revu et mis à jour à intervalles réguliers.
2. Le personnel doit recevoir la formation appropriée sur les dangers que comportent les travaux à faire et sur les précautions à prendre pour éviter d'être exposé aux agents infectieux et de disperser les substances en confinement; les employés doivent montrer qu'ils ont assimilé la formation reçue; les séances de formation doivent être consignées et les documents doivent être signés par l'employé et son superviseur; des programmes de recyclage doivent également être instaurés.

3. Manger, boire, fumer, entreposer des aliments, des effets personnels ou des ustensiles, se maquiller et mettre ou retirer des lentilles cornéennes sont des activités interdites dans tout laboratoire; le port de lentilles cornéennes est permis uniquement lorsque les autres types de correction de la vue ne conviennent pas; le port de bijoux n'est pas recommandé dans les laboratoires.
4. Dans tout laboratoire, le pipetage à la bouche est interdit, peu importe le liquide en cause.
5. Les personnes qui portent les cheveux longs doivent les attacher à l'arrière ou les coiffer de manière qu'ils n'entrent jamais en contact avec les mains, les spécimens, les contenants ou les appareils.
6. Il faut interdire aux enfants de moins de 16 ans d'entrer dans le laboratoire ou les zones de soutien.
7. Les portes donnant accès au laboratoire doivent demeurer fermées (sauf s'il y a une aire ouverte dans le laboratoire).
8. Les plaies ouvertes, coupures, égratignures et abrasions doivent être recouvertes d'un pansement imperméable.
9. Les laboratoires doivent être tenus propres et à l'ordre. Le matériel qui n'est pas directement lié au travail et qui ne peut pas être décontaminé facilement (p. ex. revues, livres, courrier) doit être réduit au minimum; les écritures et la rédaction doivent être effectuées et les documents doivent être conservés dans une zone distincte des aires de manipulation de matières infectieuses.
10. Le personnel et tout visiteur, tout employé en formation et toute personne entrant ou travaillant dans le laboratoire doivent porter les vêtements de protection appropriés et bien attachés; toutes ces personnes doivent porter des chaussures adéquates, fermées au talon et au bout.
11. Les dispositifs de protection des yeux et du visage doivent être portés au besoin, pour éviter tout contact en cas d'éclaboussure de matières dangereuses, de projection de particules et de rayonnement dangereux. Comme les éclaboussures et les projections de particules sont associées à des accidents, il n'est pas toujours évident de les prévoir et d'agir rapidement devant le fait accompli. Par conséquent, il faut bien définir les opérations qui exigent une protection oculaire et faciale.

12. Le personnel doit porter des gants pour toute activité comportant un risque de contact direct entre la peau et les matières dangereuses ou un animal infecté; avant de quitter le laboratoire, les employés doivent retirer leurs gants et les décontaminer avec les autres rebuts de laboratoire avant de les jeter; pour se prémunir contre les coupures et les piqûres d'aiguilles, les employés peuvent porter des gants à mailles métalliques sous les gants de latex ou de vinyle.
13. Les vêtements de protection pour le laboratoire ne doivent pas être portés à l'extérieur du laboratoire; ils ne doivent pas être gardés dans le même casier que les vêtements de ville.
14. Les vêtements contaminés doivent être décontaminés avant d'être lavés (sauf si la lessiveuse se trouve dans le laboratoire de confinement et s'il a été prouvé qu'elle décontamine efficacement les vêtements).
15. L'utilisation d'aiguilles, de seringues et d'autres objets pointus doit être strictement limitée; aiguilles et seringues doivent être utilisées exclusivement pour les injections parentérales ou l'aspiration de liquides d'animaux de laboratoire et de flacons à membrane; avec les aiguilles et les seringues, il faut user de prudence pour éviter l'auto-inoculation et la formation d'aérosols, pendant l'emploi et la mise aux rebuts de ces objets; ces manipulations devraient être effectuées dans une enceinte de sécurité biologique; les aiguilles ne doivent pas être pliées, coupées ou recapuchonnées, mais plutôt jetées immédiatement dans un contenant imperforable et décontaminées avant leur mise aux rebuts.
16. Il faut se laver les mains après avoir retiré ses gants, avant de quitter le laboratoire et après toute manipulation de matières contaminées ou susceptibles de l'être.
17. À la fin du quart de travail et après tout déversement de matière potentiellement infectieuse, les surfaces de travail doivent être nettoyées et décontaminées à l'aide d'un désinfectant approprié; toute surface de travail devenue perméable (p. ex. fissurée, ébréchée ou mal fixée) aux matières infectieuses doit être remplacée ou réparée.
18. L'équipement contaminé qui sort du laboratoire pour réparation, entretien ou mise aux rebuts doit être adéquatement décontaminé et étiqueté à ce titre.
19. L'efficacité des autoclaves doit être vérifiée au moyen d'indicateurs biologiques au moins une fois par semaine, selon la fréquence à laquelle l'autoclave est utilisé, et les résultats



doivent être conservés; les registres des cycles (c.-à-d. durée, température et pression) doivent également être conservés.

20. Toute matière contaminée, qu'elle soit solide ou liquide, doit être décontaminée avant d'être mise aux rebuts ou réutilisée; si la décontamination est réalisée à l'extérieur du laboratoire, l'extérieur du contenant prévu à cet effet doit être décontaminé ou le contenant doit être placé dans un sac double avant sa sortie du laboratoire; les matières contaminées doivent être confinées de manière à éviter tout déversement pendant le transport; les centres de stérilisation par autoclave doivent répondre aux exigences NC 2.
21. Les matières infectieuses ne doivent jamais être déversées dans les éviers ou les drains de plancher.
22. Dans tous les lieux où sont manipulées, entreposées ou transportées des matières infectieuses, il doit y avoir des désinfectants efficaces contre les matières en cause.
23. Pour le transport de matières infectieuses à l'intérieur d'un centre (p. ex. entre laboratoires d'un même centre), il faut utiliser des contenants étanches.
24. Tout déversement, accident ou exposition mettant en jeu des matières infectieuses ou une perte de confinement doit être signalé immédiatement au superviseur du laboratoire; des rapports écrits sur ces incidents ainsi que les résultats des investigations subséquentes doivent être conservés à titre informatif.
25. Il faut appliquer un programme efficace de dératisation et d'extermination des insectes.

## **2.2 Niveau de confinement 2**

**En plus des pratiques générales exigées de tout laboratoire où sont manipulées des substances infectieuses, le niveau de confinement 2 impose l'application des pratiques opérationnelles minimales suivantes.**

1. Il faut toujours adopter les bonnes pratiques de laboratoire microbiologique pour éviter la dispersion de substances contaminées.
2. Toute opération susceptible de générer des aérosols infectieux ou faisant appel à des concentrations élevées ou à des volumes importants de matières infectieuses doit être effectuée dans une enceinte de sécurité biologique. En consultation avec l'agent de sécurité

biologique, les superviseurs de laboratoire doivent évaluer les risques afin de déterminer les types d'opérations et les concentrations et volumes qui nécessitent l'utilisation d'une enceinte de sécurité biologique.

3. Des panneaux de mise en garde indiquant la nature du danger (p. ex. nom de l'agent ou niveau de confinement requis) doivent être apposés à l'extérieur de chaque laboratoire. Dans le cas des matières infectieuses imposant des exigences spéciales pour l'accès au laboratoire, il faut que ces exigences figurent sur le panneau; le nom et les coordonnées du superviseur du laboratoire ou de la personne-ressource responsable doivent également y figurer.
4. L'accès au laboratoire est limité au personnel du laboratoire, aux soigneurs d'animaux, aux employés d'entretien et aux personnes formellement invitées.
5. Toute personne travaillant dans la zone de confinement doit avoir reçu la formation sur les protocoles du projet en cours; elle doit les avoir assimilés et les respecter; le personnel en formation doit être accompagné d'un employé dûment formé; les visiteurs, le personnel d'entretien, les préposés du service de nettoyage, et autres, doivent également avoir reçu la formation ou avoir la supervision appropriée aux tâches qu'ils auront à accomplir dans la zone de confinement.
6. Un programme adéquat de surveillance sanitaire et médicale doit être mis en place (p. ex. examen médical, vaccination, dépistage par prélèvements sanguins); seules les personnes répondant aux critères médicaux d'admission (p. ex. vaccination, dépistage sérologique) peuvent être admises dans les laboratoires de confinement, sauf si les lieux ont été adéquatement décontaminés; des protocoles particuliers peuvent être élaborés et mis en œuvre pour offrir le même niveau de protection aux personnes qui entrent dans ces lieux.
7. Les mesures d'urgence s'appliquant à divers incidents - déversements, panne de l'enceinte de sécurité biologique, incendie, fuite d'un animal et tout autre situation similaire - doivent être décrites dans un document accessible à tous, et suivies. Un registre doit être tenu au sujet des autres personnes qui pénètrent sur les lieux pendant une situation d'urgence.

### **2.3 Niveau de confinement 3**

**En plus des pratiques générales exigées de tout laboratoire où sont manipulées des substances infectieuses et de celles qui sont requises pour le niveau de confinement 2, le**

**niveau de confinement 3 impose l'application des pratiques opérationnelles minimales suivantes.**

1. Il faut désigner un agent de sécurité biologique (ASB) ayant l'autorité nécessaire pour surveiller les pratiques de sécurité et de confinement; un comité de sécurité biologique peut être formé pour contribuer au programme de sécurité (voir le chapitre 2 pour la description de son mandat).
2. Toute personne entrant dans le laboratoire de confinement doit avoir suivi une formation sur les modalités propres à ce type de laboratoire et montrer qu'elle l'a bien assimilée; la formation doit être consignée sur un document portant la signature de l'employé et du superviseur.
3. Les employés qui travaillent dans la zone de confinement doivent avoir des connaissances générales sur le fonctionnement physique et l'aménagement des lieux (p. ex. gradients de pression de l'air entre les zones, schéma directionnel de la circulation de l'air, signaux d'alarme en cas de panne des systèmes d'aération, périmètre de confinement).
4. Le personnel doit prendre connaissance du protocole portant spécifiquement sur l'aspect opérationnel du laboratoire; les employés doivent attester par écrit qu'ils ont compris le protocole.
5. Le personnel doit avoir des compétences confirmées dans les pratiques et techniques de microbiologie.
6. Le personnel du laboratoire doit effectuer périodiquement des essais de fumée (en tenant un dispositif fumigène devant chaque porte de chaque niveau) pour vérifier l'écoulement de l'air; avant d'entrer dans le laboratoire, il faut s'assurer que le confinement est bien établi (c.-à-d. s'assurer que les données sur le dispositif de surveillance de la pression sont conformes).
7. Les protocoles d'accès et de sortie des personnes, des animaux, de l'équipement, des déchets, etc. doivent être consignés dans un document accessible à tous, et être suivis; les protocoles généraux doivent être complétés par des protocoles spécifiques pour chaque projet en cours.
8. Les personnes qui pénètrent dans une zone de confinement doivent être bien préparées et apporter avec elles tout le matériel dont elles prévoient avoir besoin; en cas d'oubli, elles

doivent respecter les règles de circulation (c.-à-d. ne pas retourner directement à l'extérieur pour chercher ce qui manque, mais téléphoner à quelqu'un pour se le faire apporter ou sortir de la zone en observant le protocole).

9. Le nettoyage courant du laboratoire doit être fait par le personnel qui travaille dans la zone de confinement ou par le personnel spécifiquement désigné et formé pour cette tâche.
10. Les portes donnant accès au laboratoire de confinement doivent être verrouillées.
11. Les agents infectieux doivent être conservés dans le laboratoire de confinement; les agents entreposés à l'extérieur de cette zone doivent être conservés dans des contenants étanches dans un endroit verrouillé; les procédures d'urgence doivent décrire les mesures à prendre dans le cas des agents entreposés à l'extérieur du laboratoire NC 3.
12. Les effets personnels tels que les sacs à main et les vêtements de ville ne doivent pas être apportés dans le laboratoire de confinement.
13. Les siphons de drainage doivent être remplis d'un désinfectant approuvé (c.-à-d. par une utilisation régulière des éviers ou par le remplissage des siphons peu utilisés).
14. Les échantillons et fournitures de laboratoire peuvent être transportés dans le laboratoire de confinement ou passés par un sas approprié; lorsque l'autoclave de barrière sert pour le passage de matériel dans le laboratoire, il doit avoir accompli un cycle de décontamination avant que soit ouverte la porte donnant sur le côté « non contaminé ».
15. Le personnel qui entre dans le laboratoire de confinement doit retirer ses vêtements de ville et ses bijoux, et enfiler les vêtements et les chaussures appropriés<sup>a,b</sup>; ces vêtements et chaussures doivent être retirés avant la sortie du laboratoire, d'une façon qui réduit au minimum la contamination de la peau par les vêtements et les chaussures potentiellement contaminés.

---

<sup>a</sup>Les laboratoires où sont manipulés des micro-organismes qui ne sont pas transmis par la voie aérienne (sauf les pathogènes non indigènes pour animaux) n'ont pas à se conformer à cette exigence.

<sup>b</sup>Le port de vêtements de protection couvrant complètement les vêtements de ville est acceptable; s'il y a exposition soupçonnée ou avérée, tous les vêtements, y compris les vêtements de ville, devront être décontaminés de la manière appropriée.

16. Les lunettes personnelles doivent être désinfectées à la barrière de confinement.
17. Les matières infectieuses doivent être centrifugées en godets de sécurité ou en rotors scellés qui sont chargés et déchargés dans un enceinte de sécurité biologique.
18. Tout animal ou insecte infecté à des fins expérimentales doit demeurer dans le laboratoire ou dans l'installation de confinement appropriée.
19. En cas d'exposition soupçonnée ou connue à un aérosol infectieux (ou lorsque la personne ne porte pas de vêtements de protection recouvrant tout son corps), la personne exposée doit se doucher au complet avant de sortir du laboratoire<sup>a</sup>.
20. Après avoir manipulé des agents zoonotiques qui sont également des pathogènes non indigènes pour animaux, la personne doit se doucher au complet (incluant le lavage des cheveux et de la barbe) avant de sortir du laboratoire de confinement<sup>(15)</sup>.
21. Le personnel qui manipule directement des matières infectieuses doit porter une deuxième couche de vêtements protecteurs (c.-à-d. une blouse d'hôpital unie à l'avant, avec poignets serrés et gants) par-dessus les vêtements de laboratoire, et l'enlever une fois ces travaux terminés (p. ex. uniquement pour les travaux dans l'enceinte de sécurité biologique).
22. Tous les travaux avec des matières infectieuses doivent être effectués dans une enceinte de sécurité biologique; si cela n'est pas possible, il faut recourir à un autre dispositif physique de confinement en plus de porter l'équipement et les vêtements de protection individuelle; il est interdit d'effectuer des travaux comportant des contenants ouverts renfermant des matières infectieuses sur une table non protégée.
23. Les matières thermosensibles qui ne peuvent pas être sorties de la zone de laboratoire en passant par l'autoclave doivent être décontaminées à la barrière de confinement (p. ex. fumigation à la formaldéhyde, vaporisation de peroxyde d'hydrogène, désinfection à l'aide d'autres produits chimiques liquides ou utilisation d'une autre technique dont l'efficacité est démontrée).
24. Les procédures d'urgence à suivre en cas de panne des systèmes de traitement de l'air et de toute autre situation d'urgence doivent être décrites dans un document accessible à tous, et suivies.

25. Dans une situation d'urgence constituant un danger de mort, on doit accorder la priorité à la santé et à la sécurité des personnes; des protocoles d'évacuation doivent être établis avec court-circuitage des procédures habituelles; il faut désigner un point de rencontre où d'autres mesures seront prises (p. ex. désinfection des chaussures, changement de vêtements, douches) avant de quitter la zone de confinement.

#### **2.4 Niveau de confinement 4**

**En plus des pratiques générales exigées de tout laboratoire où sont manipulées des substances infectieuses et de celles qui sont requises pour les niveaux de confinement 2 et 3, le niveau de confinement 4 impose l'application des pratiques opérationnelles minimales suivantes.**

1. Il faut élaborer des protocoles pour les situations d'urgence, par exemple fuite dans une combinaison pressurisée, défaut d'alimentation en air respirable et défaillance de douche chimique.
2. Les employés doivent porter une carte de suivi médical (p. ex. indiquant leur nom, le nom et le numéro de téléphone du superviseur et de son substitut et le numéro de téléphone de l'établissement où il travaille); s'ils ont de la fièvre, les employés doivent en avvertir immédiatement leur superviseur; le superviseur doit communiquer avec tout employé qui s'absente du travail sans avoir signalé son absence.
3. L'employeur doit conclure une entente avec l'hôpital ou le centre de santé de la localité pour s'assurer que tout cas d'exposition à un agent NC 4 pourra être traité en toute connaissance de cause et avec les précautions qui s'imposent.
4. Il faut tenir un registre de toutes les entrées et sorties du laboratoire (avec la date et l'heure).
5. Les agents infectieux doivent être conservés à l'intérieur du laboratoire de confinement et la liste des stocks de pathogènes doit être tenue à jour.
6. Tous les jours, avant l'entrée dans le laboratoire, il faut vérifier les systèmes de confinement (p. ex. écoulement de l'air, niveau de désinfectant dans la douche d'urgence, points critiques de confinement pour une enceinte de sécurité biologique de catégorie III), ainsi que les équipements de survie (p. ex. réserves d'air respirable).

7. Le personnel ne peut pas entrer dans le laboratoire sans avoir préalablement ôté ses vêtements de ville, y compris les sous-vêtements, et ses bijoux et enfilé les vêtements et chaussures appropriés.
8. Le port de combinaisons pressurisées pour NC 4 est obligatoire; il faut régulièrement vérifier l'étanchéité de la combinaison.
9. Le personnel en combinaison qui quitte le laboratoire de confinement doit passer sous la douche chimique pendant un intervalle de temps déterminé; le désinfectant utilisé doit être efficace contre les agents en cause, dilué de la façon prescrite et préparé immédiatement avant son utilisation; cette consigne ne s'applique pas aux enceintes de sécurité biologique de catégorie III dans des locaux de confinement de niveau 4.
10. Une douche doit être installée à la sortie du laboratoire de confinement.
11. Le matériel peut être sorti du laboratoire de confinement uniquement s'il a été décontaminé de la manière appropriée ou si son déplacement a été expressément autorisé par l'ASB ou une autre autorité compétente.
12. Dans le cas des agents zoonotiques qui sont des zoopathogènes non indigènes, il faut adopter une période d'exclusion suffisante pendant laquelle le personnel qui utilise le laboratoire de confinement ne pourra pas être en contact avec les animaux réceptifs.
13. Une personne compétente doit se trouver à l'extérieur du laboratoire de NC 4 lorsque quelqu'un y travaille, pour pouvoir lui prêter assistance en cas d'urgence.
14. Les petits animaux de laboratoire, les primates ou les insectes infectés par un agent de niveau 4 doivent être installés dans des installations munies d'un système de confinement partiel (p. ex. cages placées dans des enceintes de confinement munies de filtres HEPA).
15. Le personnel doit faire toutes les manipulations dans une enceinte de sécurité biologique et porter une combinaison pressurisée, ou dans une enceinte de sécurité biologique de catégorie III.
16. Les gros animaux exigent des soins spécialisés non décrits dans les présentes *Lignes directrices*. Pour plus de détails à ce sujet, veuillez consulter l'édition la plus récente des

*Normes sur le confinement des installations vétérinaires*, de l'Agence canadienne d'inspection des aliments<sup>(15)</sup>.

### **3. La sécurité en laboratoire**

Tous les laboratoires doivent adopter des pratiques de sécurité afin de réduire au minimum les possibilités qu'une personne non autorisée entre dans les laboratoires ou les zones d'entreposage, ou que des matières infectieuses sortent du laboratoire sans autorisation. Les exigences en matière de sécurité pour les laboratoires où sont manipulés des agents infectieux correspondant aux NC 3 et 4 sont habituellement plus strictes que pour les laboratoires de clinique ou de recherche de niveau NC 2. Les recommandations relatives aux pratiques de sécurité (p. ex. entreposage de pathogènes, tenue des stocks, registres des entrées et sorties) et les caractéristiques physiques de sécurité (serrures, accès restreint) sont présentées dans les exigences de chaque niveau de confinement (voir les chapitres 3 et 4). Il faut également prévoir un protocole pour la déclaration des incidents mettant en jeu la sécurité et pour les enquêtes subséquentes (p. ex. disparition de substances infectieuses, entrée sans autorisation).

Avant d'évaluer les dangers et d'élaborer les protocoles de sécurité propres à chaque laboratoire, il est préférable de consulter des experts en la matière. L'évaluation des dangers et les protocoles de sécurité doivent être revus et mis à jour à intervalles réguliers, à la lumière des nouvelles menaces. Le responsable du laboratoire doit également vérifier les antécédents et les autorisations de sécurité de chaque employé avant de lui accorder l'accès aux installations de confinement. Les insignes d'identité avec photos pour les employés et les insignes temporaires pour les visiteurs peuvent également servir à surveiller et à restreindre l'accès des lieux aux seules personnes autorisées.

### **Références**

1. Harding AL, Brandt Byers K. *Epidemiology of laboratory-associated infections*. In: Fleming DO, Hunt DL. *Biological safety: principles and practices*. Washington, DC: ASM Press, 2000.
2. Pike RM, Sulkin SE. *Occupational hazards in microbiology*. *Sci Monthly* 1952;222-28.
3. Collins CH, Kennedy DA. *Preface*. In: *Laboratory-acquired infections: history, incidence, causes and preventions*. Oxford, U.K: Butterworth-Heinemann, 1999.
4. Pike RM. *Laboratory-associated infections. Summary and analysis of 3921 cases*. *Health Lab Sci* 1976;105-114.



5. Collins CH, Kennedy DA. *Exposure, sources and routes of infection*. In: *Laboratory-acquired infections: history, incidence, causes and preventions*. Oxford, U.K: Butterworth-Heinemann, 1999; 38-53.
6. Anderson RE, Stein L, Moss ML et al. *Potential infection hazards of common bacteriological techniques*. J Bacteriol 1952;473-81.
7. Collins CH, Kennedy DA. *Equipment- and technique-related hazards*. In: *Laboratory-acquired infections: history, incidence, causes and preventions*. Oxford, U.K: Butterworth-Heinemann, 1999; 65-109.
8. Collins CH. *Laboratory-acquired infections*. In: *The prevention of laboratory-acquired infection*. London: The Stationery Office, 1974.
9. HSE. *Safe working and the prevention of infection in clinical laboratories*. London: Health Services Advisory Committee, The Stationery Office, 1991.
10. Wedum AG. *Bacteriological safety*. Am J Public Health 1953;1428-37.
11. Reitman M, Wedum AG. *Microbiological safety*. Public Health Rep 1956;71:659-65.
12. Reitman M, Phillip GB. *Biological hazards of some common laboratory techniques. I. The pipette*. Am J Med Technol 1955;21:338-42.
13. Collins CH, Lyne PM, Grange JM. *Collins and Lyne's Microbiological Methods*. Oxford, UK: Butterworth-Heinemann, 1995.
14. Darlow HM. *Safety in the microbiology laboratory: an introduction*. In: Shapton DA, Board RG. *Safety in microbiology*. London: Academic Press, 1972; 1-19.
15. Fry S. *Normes sur le confinement des installations vétérinaires*. Agence canadienne d'inspection des aliments. Ottawa : Approvisionnement et Services. Publication d'Agriculture et Agroalimentaire n° 1921/F, 2001.

## Chapitre 4 Conception du laboratoire et exigences physiques

Le présent chapitre se veut un guide sur la conception et l'aménagement de laboratoires correspondant à chacun des quatre niveaux de confinement décrits au chapitre 2.

Le chapitre comprend cinq matrices : Emplacement du laboratoire et accès, Revêtements de finition des surfaces (c.-à-d. revêtements de sols, de murs et de plafonds et scellants) et mobilier de rangement, Traitement de l'air, Périmètre de confinement et Services (c.-à-d. eau, gaz, électricité et sécurité). L'information sur la mise en service, la homologation et la rehomologation des dispositifs de confinement décrits dans les matrices se trouve au chapitre 5.

Légende : ! - obligatoire " - recommandé

### Matrice 1 Emplacement du laboratoire et accès

Matrice 1	Niveau de confinement				Emplacement du laboratoire et accès
	1	2	3	4	
Élémen t					
1	!	!	!	!	Le laboratoire doit être séparé des endroits publics (autres que les laboratoires) par une porte.
2		!	!	!	Des panneaux de mise en garde appropriés doivent être apposés sur les portes du laboratoire (p. ex. nom de l'agent ou niveau de confinement, nom et numéro de téléphone de la personne-ressource, conditions d'accès)
3	!	!	!	!	Les baies de porte doivent être de dimensions suffisantes pour permettre le passage de tout le matériel prévu.

Matrice 1

Niveau de confinement

Élémen t	1	2	3	4	Emplacement du laboratoire et accès
4		!	!	!	Les portes d'accès au laboratoire de confinement doivent être verrouillables (ceci ne s'applique pas aux zones comprises dans le laboratoire de confinement).
5			"	"	Tout système de verrouillage électronique doit être doublé d'un système de verrouillage à clé et à serrure.
6			!	!	Les portes doivent être munies d'un dispositif automatisé de contrôle d'accès (p. ex. carte d'accès) ou l'équivalent.
7		!	!	!	L'accès au laboratoire doit être réservé au personnel autorisé.
8		"	!	!	Les bureaux doivent être situés à l'extérieur du laboratoire de confinement. Les postes de travail servant à la collecte des données sur papier peuvent être situés dans le laboratoire de confinement à condition d'être éloignés des zones de manipulations.
9			!	!	L'entrée du laboratoire doit se faire par un vestibule, une antichambre ou un corridor.

**Matrice 1****Niveau de  
confinement**

<b>Élémen t</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>Emplacement du laboratoire et accès</b>
---------------------	----------	----------	----------	----------	--

---

---

10			!		Il est préférable que l'entrée du laboratoire consiste en deux portes interverrouillées (qui ne peuvent pas être ouvertes en même temps) ou munies d'un témoin lumineux ou d'un avertisseur sonore afin d'empêcher l'ouverture simultanée des deux portes.
11				!	L'entrée du laboratoire doit consister en deux portes interverrouillées (qui ne peuvent pas être ouvertes en même temps).
12			!	!	Les portes interverrouillées doivent être munies de commandes de reprise manuelles permettant au personnel de sortir en cas d'urgence.
13			!	!	L'entrée dans la zone « laboratoire » doit comporter un vestiaire prévu pour que les vêtements de ville soient rangés séparément des vêtements de laboratoire prévus pour cette zone (c.-à-d. vestiaire « non contaminé » séparé du vestiaire « contaminé »).

**Matrice 1****Niveau de confinement**

<b>Élémen t</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>Emplacement du laboratoire et accès</b>
14			! <sup>1</sup>	!	À l'entrée du laboratoire, il doit y avoir une douche à la barrière de confinement (c.-à-d. entre les vestiaires « contaminé » et « non contaminé »).
15				!	L'entrée dans le laboratoire doit se faire par un vestibule, une antichambre ou un corridor avec portes interverrouillées étanches (p. ex. joint d'étanchéité gonflable ou à compression); pour les laboratoires utilisant seulement une enceinte de sécurité biologique de catégorie III, les portes interverrouillées étanches ne sont pas exigées.
16				!	L'entrée dans la zone de laboratoire doit comporter un vestiaire, une douche chimique à la barrière de confinement (c.-à-d. entre le laboratoire et le vestiaire) et une douche à eau à la sortie du laboratoire (c.-à-d. entre les vestiaires « contaminé » et « non contaminé »); pour les laboratoires utilisant seulement une enceinte de sécurité biologique de catégorie III, le vestiaire et la douche chimique ne sont pas exigés.
17			"	"	Les laboratoires de confinement doivent être situés à côté ou à proximité des salles des machines.

---

<sup>1</sup>Les laboratoires où sont manipulés des micro-organismes qui ne sont pas transmis par voie aérienne (à l'exception des zoopathogènes non indigènes) n'ont pas à respecter ce critère.

**Matrice 1****Niveau de  
confinement**

<b>Élémen t</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>Emplacement du laboratoire et accès</b>
---------------------	----------	----------	----------	----------	--

---

---

18			"	"	Les laboratoires de confinement doivent être éloignés des murs extérieurs du bâtiment.
----	--	--	---	---	--

19			"	"	Un laboratoire de soutien doit être prévu à côté du laboratoire de confinement pour permettre la réalisation de toutes les manipulations de soutien.
----	--	--	---	---	--

**Matrice 2 Revêtements de finition des surfaces (c.-à-d. revêtements de sols, de murs, de plafonds, scellants) et mobilier de rangement**

Matrice 2	Niveau de confinement				Revêtements de finition des surfaces (c.-à-d. revêtements de sols, de murs, de plafonds, scellants) et mobilier de rangement
	1	2	3	4	
1	"	!	!		Les portes, les bâtis, le mobilier de rangement et les surfaces de travail doivent être faits de matériaux non absorbants (c.-à-d. pas de matériaux organiques).
2	!	!	!	!	Les surfaces doivent être revêtues de matériaux résistant aux égratignures, aux taches, à l'humidité, aux produits chimiques et à la chaleur, selon leur fonction.
3	"	"	!	!	Les surfaces intérieures doivent résister aux impacts, selon leur fonction.
4		"	!	!	Les surfaces intérieures doivent être continues et revêtues de matériaux compatibles avec les matériaux qui les touchent ou les chevauchent (pour garantir l'adhérence aux autres surfaces et la continuité du périmètre); pour les revêtements de sols, les joints soudés sont acceptables dans les laboratoires de niveau 3.

Matrice 2

Niveau de confinement

Élément	1	2	3	4	Revêtements de finition des surfaces (c.-à-d. revêtements de sols, de murs, de plafonds, scellants) et mobilier de rangement
5			!	!	Les surfaces intérieures doivent être revêtues de manière à réduire au minimum le passage des gaz et des liquides au travers de la membrane périmètre.
6				!	La structure doit pouvoir supporter au minimum une pression de 1000 Pa (4 pouces de colonne d'eau) ou la pression maximale prévue en cas de panne du ventilateur (c.-à-d. sans déformation ni bris des parois).
7	"	!	!	!	Les revêtements intérieurs doivent être lavables.
8			!	!	Le joint doit être continu entre le plancher et les murs (le revêtement de sol doit remonter pour former une plinthe à gorge).
9			!	!	Les revêtements intérieurs doivent résister aux gaz et aux produits chimiques, selon leur fonction dans le laboratoire (c.-à-d. résister à la désinfection chimique et à la fumigation).
10	"	"	!	!	Les surfaces de travail doivent être continues (c.-à-d. aucun joint ouvert).



## Matrice 2

Niveau de  
confinement

Élémen t	1	2	3	4	Revêtements de finition des surfaces (c.-à-d. revêtements de sols, de murs, de plafonds, scellants) et mobilier de rangement
11	"	"	"	"	Les surfaces de travail doivent pouvoir contenir tout déversement (munies de rebords et d'arrêts d'écoulement).
12	"	"	"	!	Les surfaces de travail, portes, tiroirs, poignées de portes et autres objets ne doivent pas comporter d'angles droits. Les angles doivent être arrondis.
13	"	"	"	"	Les dossierers doivent être installés sans jeu contre le mur, ils doivent assurer l'étanchéité au point de rencontre entre la surface de travail et le mur.
14	"	"	"	"	Les tablettes des rayonnages utilisés pour les réactifs doivent être munies de rebords à lèvre.
15	"	"	"	"	Les tiroirs doivent être munis de butées qui les empêchent d'être retirés complètement de leur caisson.
16				"	Les tiroirs doivent être faits d'une seule pièce.
17	"	"	"	"	Les portes d'armoire ne doivent pas être à fermeture automatique.

### Matrice 3 Traitement de l'air : chauffage, ventilation et conditionnement d'air (CVCA)

Matrice 3	Niveau de confinement				Traitement de l'air/CVCA
	1	2	3	4	
Élémen t					
1		"	!	!	L'air doit circuler de l'extérieur vers l'intérieur, sans recirculation (remarque : cette exigence ne s'applique pas à la recirculation de l'air dans les enceintes de sécurité biologique).
2			!	!	Des dispositifs de surveillance de pression doivent être installés à l'entrée du laboratoire de confinement.
3			! <sup>1</sup>	!	Les canalisations du système de surveillance de la pression qui pénètrent dans le périmètre de confinement doivent être munies de filtres dont l'efficacité est équivalente à celle des filtres HEPA.
4			!	!	Il faut prévoir une différence de pression de 25 Pa ou une marge de 10 % entre l'arrivée et l'extraction d'air entre zones adjacentes (c.-à-d. vestiaire non contaminé et vestiaire contaminé, vestiaire contaminé et laboratoire, laboratoire et animalerie).

<sup>1</sup>Les laboratoires où sont manipulés des micro-organismes qui ne sont pas transmis par voie aérienne (sauf dans le cas des zoopathogènes non indigènes) n'ont pas à respecter ce critère.

## Matrice 3

Niveau de  
confinement

Élémen t	1	2	3	4	Traitement de l'air/CVCA
-------------	---	---	---	---	--------------------------

5			!	!	Des alarmes (sonores ou lumineuses) doivent être installées dans la zone de travail du laboratoire et à l'extérieur de cette zone (pour avertir les collègues et le personnel d'entretien) pour signaler toute panne du système de traitement de l'air.
6			!	!	Le circuit de soufflage d'air du périmètre de confinement doit être indépendant de celui des autres zones de laboratoire (pour le niveau 3, le circuit peut être combiné à celui des zones de confinement moins exigeantes à condition de comporter un registre hermétique ou un filtre HEPA monté en aval du raccordement, c.-à-d. après ce dernier).
7			!	!	La régulation des paramètres tels le débit, la pression dans le circuit de soufflage doit être asservie à celle du circuit d'extraction, et vice versa, afin de prévenir une mise en pression soutenue du laboratoire.

Matrice 3

Niveau de confinement

Élémen t	Niveau de confinement				Traitement de l'air/CVCA
	1	2	3	4	
8			" <sup>1</sup>		Les conduits d'air qui pénètrent à l'intérieur du périmètre de confinement doivent être équipés de dispositifs empêchant le refoulement d'air contaminé.
9				!	L'air soufflé doit être traité par un filtre HEPA.
10			! <sup>1</sup>	!	L'air extrait doit être traité par un filtre HEPA.
11				!	L'air extrait doit subir deux passages dans des filtres HEPA.
12			! <sup>1</sup>	!	Les filtres HEPA doivent être conformes aux exigences du IEST-RP-CC001.3 <sup>(1)</sup> .

<sup>1</sup> Les laboratoires où sont manipulés des micro-organismes qui ne sont pas transmis par voie aérienne (sauf dans le cas des zoonoses non indigènes) n'ont pas à respecter ce critère.

Matrice 3

Niveau de confinement

Élémen t	1	2	3	4	Traitement de l'air/CVCA
-------------	---	---	---	---	--------------------------

13			" <sup>1</sup>	!	Les boîtiers des filtres HEPA montés dans le circuit de soufflage d'air doivent être conçus pour que leur structure demeure stable (aucun changement structurel à une pression appliquée de 1000 Pa [4 pouces de colonne d'eau]).
----	--	--	----------------	---	---

14			!" <sup>1</sup>	!	Les boîtiers des filtres HEPA montés dans le circuit d'extraction d'air doivent être conçus pour que leur structure demeure stable (aucun changement structurel à une pression appliquée de 1000 Pa [4 pouces de colonne d'eau]).
----	--	--	-----------------	---	---

15			!"	!"	Le circuit d'extraction d'air du périmètre de confinement doit être indépendant de celui des zones de laboratoire adjacentes (pour le niveau 3, le circuit d'extraction peut être combiné à celui de zones de niveau inférieur si un filtre HEPA est monté en amont du raccordement).
----	--	--	----	----	---

---

<sup>1</sup>Les laboratoires où sont manipulés des micro-organismes qui ne sont pas transmis par voie aérienne (sauf dans le cas des zoopathogènes non indigènes) n'ont pas à respecter ce critère.

Matrice 3

Niveau de confinement

Élémen t	1	2	3	4	Traitement de l'air/CVCA
16			!	!	Les conduits de soufflage et d'extraction d'air situés hors du périmètre de confinement doivent être accessibles.
17			" <sup>1</sup>	!	Les conduits de soufflage d'air potentiellement contaminé qui se trouvent à l'extérieur du périmètre de confinement (p. ex. entre le périmètre de confinement et le filtre HEPA ou un registre hermétique) doivent être étanches à l'air, c.-à-d. ne permettre qu'une perte de charge de 10 % à une pression de 1000 Pa (4 pouces de colonne d'eau) en 30 minutes.
18			!" <sup>1</sup>	!	Les conduits d'extraction d'air potentiellement contaminé qui se trouvent à l'extérieur du périmètre de confinement (p. ex. entre le périmètre de confinement et le filtre HEPA ou un registre hermétique) doivent être étanches à l'air, c.-à-d. ne permettre qu'une perte de charge de 10 % à une pression de 1000 Pa (4 pouces de colonne d'eau) en 30 minutes.

<sup>1</sup> Les laboratoires où sont manipulés des micro-organismes qui ne sont pas transmis par voie aérienne (sauf dans le cas des zoonoses non indigènes) n'ont pas à respecter ce critère.

<sup>1</sup> Les laboratoires où sont manipulés des micro-organismes qui ne sont pas transmis par voie aérienne (sauf dans le cas des zoonoses non indigènes) n'ont pas à respecter ce critère.

**Matrice 3****Niveau de  
confinement**

<b>Élémen t</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>Traitement de l'air/CVCA</b>
---------------------	----------	----------	----------	----------	---------------------------------

---

---

19			!	!	Les dispositifs de régulation du débit d'air et les capteurs en conduits doivent être installés en aval du filtre HEPA du circuit d'extraction et en amont du registre hermétique ou du filtre HEPA du circuit de soufflage d'air, ou être scellés dans le conduit, conformément aux exigences de vérification relatives aux conduits contaminés.
20			!	!	Les registres hermétiques et les filtres HEPA doivent être installés aussi près que possible du périmètre de confinement.

## Matrice 4 Périimètre de confinement

Matrice 4

### Niveau de confinement

Élémen  
t

	1	2	3	4	Périimètre de confinement
1	"	!			Il faut installer un autoclave (ou autre moyen de traitement ou d'élimination des déchets qui soit acceptable).
2			! <sup>1</sup>	! <sup>2</sup>	L'autoclave barrière réservé et à double porte doit être installé et scellé au niveau de la barrière de confinement; le corps de l'autoclave devrait être installé à l'extérieur du périmètre de confinement pour que l'entretien en soit facilité.
3			!		L'autoclave barrière devrait être muni de portes interverrouillées ou d'un témoin lumineux ou sonore pour éviter que les deux portes soient ouvertes en même temps.
4				!	L'autoclave barrière doit être muni de portes interverrouillées.

<sup>1</sup>Les laboratoires où sont manipulés des micro-organismes non transmis par voie aérienne (sauf dans le cas des zoopathogènes non indigènes) n'ont pas à satisfaire à cette exigence.

<sup>2</sup>Il s'agit d'une exigence obligatoire lorsque des substances sortant d'une enceinte de sécurité biologique de catégorie III sont décontaminées.



## Matrice 4

Niveau de  
confinement

Élémen t	1	2	3	4	Périmètre de confinement
5			!	! <sup>2</sup>	Pour le matériel ne pouvant pas être stérilisé à l'autoclave (p. ex. équipement thermosensible, échantillons, pellicules photographiques), il faut prévoir d'autres techniques de stérilisation éprouvées (p. ex. incinération, stérilisation par des produits chimiques ou des gaz, inertage) à la barrière de confinement.
6			!	!	Toutes les ouvertures doivent être scellées à la barrière de confinement au moyen d'un produit d'étanchéité sans retrait.
7			!	!	Les conduits et les câbles d'alimentation doivent être scellés à la traversée de la barrière de confinement au moyen d'un produit d'étanchéité sans retrait.
8	!	!			Les fenêtres qui s'ouvrent doivent être munies de moustiquaires.
9			!	!	Les fenêtres installées à la barrière de confinement doivent être scellées de manière qu'elles ne puissent pas être ouvertes; les vitrages doivent présenter le niveau de sécurité requis.

Matrice 4

**Niveau de  
confinement**

**Élémen  
t**      **1**    **2**    **3**    **4**      **Périmètre de confinement**

---

---

10			"	"	Des fenêtres d'observation doivent être installées à la barrière de confinement.
----	--	--	---	---	--

## Matrice 5 Services (c.-à-d. eau, gaz, électricité et sécurité)

Matrice 5	Niveau de confinement				Services (c.-à-d. eau, gaz, électricité et sécurité)
	1	2	3	4	
Élémen t	1	2	3	4	
1	!	!			Installer des crochets pour les sarraus à la sortie du laboratoire; le vestiaire pour les vêtements de ville doit être séparé de celui des vêtements de laboratoire.
2	!	!	!	!	Prévoir des éviers pour le lavage des mains dans le laboratoire, de préférence près de la sortie.
3		"	!	!	Les éviers prévus pour le lavage de mains doivent être munis de robinets actionnés par le genou ou le pied, ou de robinets à fonctionnement automatique.
4		" <sup>3</sup>	!	!	Prévoir des enceintes de sécurité biologique et autres dispositifs de confinement primaire (p. ex. pour les cages d'animaux).

<sup>3</sup>Le recours aux enceintes de sécurité biologique dépendra des agents et des techniques utilisées au laboratoire.

## Matrice 5

Niveau de  
confinement

Élémen t	1	2	3	4	Services (c.-à-d. eau, gaz, électricité et sécurité)
5		!	!		Des douches oculaires doivent être installées dans la zone de laboratoire, en fonction des activités spécifiques du laboratoire et conformément à la réglementation pertinente (c.-à-d. <i>American National Standards Institute [ANSI] Z358.1 Emergency Eyewash and Shower Equipment [1990]</i> ).
6		!			Des douches d'urgence doivent être installées dans la zone de laboratoire en fonction des activités spécifiques du laboratoire et conformément à la réglementation pertinente (c.-à-d. <i>ANSI Z358.1 Emergency Eyewash and Shower Equipment [1990]</i> ).
7			!		Lorsqu'il est impossible de restreindre les quantités de produits chimiques dangereux dans le laboratoire, il faut installer des douches d'urgence en fonction des activités spécifiques du laboratoire et conformément à la réglementation pertinente (c.-à-d. <i>ANSI Z358.1 Emergency Eyewash and Shower Equipment</i> ).
8	!	!	!	!	Les canalisations apparentes doivent être faciles d'accès pour l'entretien et le nettoyage.

## Matrice 5

Niveau de  
confinement

Élémen t	Niveau de confinement				Services (c.-à-d. eau, gaz, électricité et sécurité)
	1	2	3	4	

9			!	!	Les canalisations d'alimentation en eau de la zone de laboratoire doivent être munies de dispositifs antirefoulement (c.-à-d. en plus de l'isolement prévu); les dispositifs antirefoulement choisis doivent être conformes à la norme CAN/CSA-B64.10-94 <i>Guide de sélection, d'installation, d'entretien et d'essais à pied d'œuvre des dispositifs antirefoulement</i> (1994), publiée par l'Association canadienne de normalisation.
10			!	!	La canalisation d'eau principale doit comporter un robinet d'arrêt monté à l'extérieur du périmètre de confinement pour qu'il soit possible d'interrompre l'alimentation en eau du laboratoire.
11			"	"	Un robinet d'arrêt doit être installé à l'intérieur du périmètre de confinement.

Matrice 5

**Niveau de  
confinement**

<b>Élémen t</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>Services (c.-à-d. eau, gaz, électricité et sécurité)</b>
12			! <sup>4</sup>	!	Les avaloirs et raccords d'évacuation (y compris les raccords d'évacuation des condensats de l'autoclave) et les canalisations connexes doivent être séparés de ceux des autres zones de laboratoire et être reliés à un système de stérilisation des effluents.
13				!	Les canalisations d'évacuation reliées à un système de stérilisation des effluents devraient être installées en pente vers ce dernier pour permettre un écoulement par gravité des effluents; envisager l'installation de robinets de sectionnement pour permettre la décontamination sur place; les composants du système de stérilisation des effluents (p. ex. tuyauterie, robinets, réservoirs) doivent pouvoir résister à la chaleur et aux produits chimiques utilisés.
14			!		Les égouts et avaloirs, raccords d'évacuation et canalisations connexes (y compris les raccords d'évacuation des condensats de l'autoclave) doivent être séparés de ceux des autres zones de laboratoire (c.-à-d. doivent être directement reliés au collecteur principal de l'égout sanitaire).

---

<sup>4</sup> Exigé uniquement pour les zoopathogènes non indigènes. (Voir *Normes sur le confinement des installations vétérinaires*, ACIA.)

## Matrice 5

Niveau de  
confinement

Élémen t	1	2	3	4	Services (c.-à-d. eau, gaz, électricité et sécurité)
15			!	!	Prévoir des siphons à hauteur de garde d'eau convenant à la pression différentielle d'air (recommandation : siphons en P 15 cm).
16			"	!	Éviter les avaloirs au sol, sauf aux endroits où ils sont essentiels (p. ex. douches du personnel et animaleries).
17			! <sup>5</sup>	!	Les canalisations de ventilation (y compris celles reliées au système de stérilisation des effluents) doivent être munies d'un filtre dont l'efficacité est équivalente à celle des filtres HEPA.
18			!		Les canalisations de ventilation du périmètre de confinement doivent être indépendantes de celles de la zone hors-confinement; si elles sont combinées à celles de zones de niveau de confinement inférieur, elles doivent être munies d'un filtre monté en aval du raccordement, dont l'efficacité est équivalente à celle d'un filtre HEPA.
19			"	!	Les bouteilles de gaz comprimé doivent être conservées à l'extérieur du laboratoire.

---

<sup>5</sup>Exigé uniquement s'il y a un système de traitement des effluents.

## Matrice 5

**Niveau de  
confinement**

Élémen t	1	2	3	4	Services (c.-à-d. eau, gaz, électricité et sécurité)
-------------	---	---	---	---	---

20			!	!	Les canalisations d'alimentation en gaz (p. ex. dioxyde de carbone, air comprimé) doivent être munies de dispositifs antirefoulement.
----	--	--	---	---	---

21			!	!	Les pompes à vide doivent être installées dans le périmètre du laboratoire; la contamination interne des pompes à vide doit être réduite au minimum (p. ex. filtres HEPA dans les canalisations de vide, pièges à désinfectants).
----	--	--	---	---	---

22				!	Pour l'équipement de protection personnelle à pression positive, il faut prévoir l'approvisionnement en air comprimé (c.-à-d. moyens de raccordement au tuyau d'air de la combinaison), des compresseurs d'air respirable et des bouteilles de secours (approvisionnement de 30 minutes par personne); il faut prévoir des raccords d'alimentation dans toutes les zones où le personnel doit porter une combinaison, y compris dans la douche chimique et le vestiaire; ceci ne s'applique pas aux laboratoires utilisant seulement une enceinte de sécurité biologique de catégorie III.
----	--	--	--	---	--

23			!	!	Il faut prévoir un système d'éclairage de secours.
----	--	--	---	---	--



Matrice 5

**Niveau de  
confinement**

Élémen t	1	2	3	4	Services (c.-à-d. eau, gaz, électricité et sécurité)
24			!	!	Pour les systèmes de survie, d'éclairage, de CVCA, ainsi que pour les enceintes de sécurité biologique, les systèmes de sécurité et le reste du matériel essentiel, il faut prévoir une source d'alimentation de secours.
25			!	!	Les coupe-circuits doivent être installés à l'extérieur de la zone de bioconfinement.
26			"	"	Les régulateurs et les démarreurs des tubes fluorescents doivent être installés à l'extérieur de la zone de confinement.
27			!	!	Le laboratoire doit disposer d'un système de communication reliant la zone de confinement à la zone de soutien, à l'extérieur.
28			!	!	Prévoir des systèmes pour la transmission de données et d'information par voie électronique (p. ex. télécopieur, ordinateur) entre le laboratoire de confinement et l'extérieur (remarque : les documents sur papier devant sortir du laboratoire de confinement doivent subir la décontamination appropriée, c.-à-d. stérilisation à l'autoclave, irradiation ou passage aux micro-ondes; en général, de telles techniques ne sont pas recommandées pour usage systématique).

Matrice 5

**Niveau de  
confinement**

<b>Élémen t</b>	<b>1</b>	<b>2</b>	<b>3</b>	<b>4</b>	<b>Services (c.-à-d. eau, gaz, électricité et sécurité)</b>
---------------------	----------	----------	----------	----------	---

---

---

29

!

La zone de travail doit être surveillée (p. ex. caméras de vidéo-surveillance) de l'extérieur du périmètre du laboratoire (p. ex. service de sécurité ou bureau de la sécurité biologique).

**Référence**

1. Institute of Environmental Sciences and Testing. *IEST-RP-CC001.3: HEPA and ULPA filters*. Mount Prospect, IL: IEST, 1997.

## Chapitre 5 Mise en service, homologation et ré-homologation

### 1. Introduction

La mise en service d'une installation permet de vérifier que les caractéristiques de conception et de construction de celle-ci sont conformes aux exigences des codes et des normes applicables à l'intention des plans et devis.

Aux fins du présent document, le terme « mise en service » correspond à la vérification de la construction physique et de la performance des éléments critiques du confinement, dans le cadre du processus global de mise en service. L'homologation vise à s'assurer que l'installation respecte les exigences décrites dans l'édition la plus récente des *Lignes directrices sur la biosécurité en laboratoire*. La ré-homologation (renouvellement de l'homologation) vise à s'assurer que l'installation est toujours conforme à l'édition la plus récente des *Lignes directrices sur la biosécurité en laboratoire* et qu'elle a été soumise à une nouvelle mise en service, selon le processus décrit ci-dessous.

Pour s'assurer qu'il répond aux exigences physiques associées au niveau spécifié de confinement et à l'usage prévu des installations, chaque laboratoire doit être soumis à un processus détaillé de mise en service qui comprend la vérification et la documentation des éléments critiques du confinement. Il faut notamment présenter l'ensemble complet des dessins des ouvrages, décrire l'usage du centre et du travail qui y sera réalisé, fournir une liste des besoins en matière d'équipement, transmettre les résultats de tous les tests et montrer que l'on connaît la raison d'être de tous les systèmes.

Vous trouverez ci-dessous une liste des éléments critiques du confinement qui doivent être vérifiés au cours de la mise en service initiale. Certains éléments peuvent faire l'objet de mises en service subséquentes, dont la nature et la fréquence dépendent de divers facteurs. Par exemple, la vérification de l'écoulement de l'air, la détection visuelle de toute fuite au périmètre de la pièce et la surveillance de l'efficacité des systèmes de stérilisation tels que les autoclaves, peuvent être effectuées systématiquement sans que cela nuise aux activités qui ont lieu à l'intérieur du périmètre de confinement. Le contrôle de la perte de charge dans un filtre HEPA installé dans le système de traitement de l'air fournira de l'information sur la nécessité et la fréquence de remplacement des filtres HEPA. Il faudra vérifier de nouveau l'intégrité du périmètre de confinement et des conduits d'air après toute modification apportée à la structure. Les systèmes de commande/régulation à sécurité intégrée des installations de CVCA n'auront pas à être vérifiés de nouveau sauf s'il y a eu des modifications à la logique de commande ou des mises à niveau. Les données détaillées relatives à la mise en service ainsi que les résultats des tests doivent être conservés et mis à jour.

Il faudra élaborer les protocoles opérationnels avant d'entreprendre tout travail avec les pathogènes au niveau spécifié de confinement. La formation du personnel est un élément primordial du processus. Le personnel pourrait avoir à travailler initialement avec des pathogènes exigeant un niveau de confinement inférieur au niveau spécifié. Les utilisateurs doivent comprendre non seulement les méthodes scientifiques, mais également le fonctionnement des systèmes de confinement.

## 2. Intégrité de la pièce

On peut utiliser la fumée pour détecter les fuites dans le périmètre de confinement. Tous les joints, angles et traversées scellées doivent être vérifiés. La mesure de la perte de charge donne une indication de l'étanchéité du périmètre de confinement (c.-à-d. la capacité de la membrane du périmètre et des ouvertures de traversée des canalisations d'utilités [air, gaz, eau, électricité, etc.] à empêcher les gaz et les liquides de passer).

L'homologation sera accordée si les exigences et les critères suivants sont respectés :

1. L'intégrité des laboratoires de niveau de confinement 3 doit être vérifiée par inspection visuelle (p. ex. poire à fumée), notamment des ouvertures de traversée et des joints d'étanchéité.
2. L'intégrité des laboratoires de niveau de confinement 4 doit être vérifiée par mesure de la perte de charge; la fuite d'air doit correspondre à plus de 50 % de perte de charge à une pression de 500 Pa (2 pouces de colonne d'eau) par 30 minutes<sup>1</sup>.

**Remarque :** les fuites d'air peuvent être mises en évidence par l'application d'une solution savonneuse ou autre solution du commerce sur les joints, les angles, les ouvertures de traversée scellées, etc.

Voici comment détecter une perte de charge dans une pièce sous vide :

- Isoler la zone en fermant soigneusement les portes, les robinets et les registres hermétiques au niveau de la barrière de confinement (éviter d'appliquer des dispositifs d'étanchéité temporaires sur les portes, les fenêtres et les conduits qui

---

<sup>1</sup>Si aucune modification touchant l'intégrité du laboratoire n'a été apportée et si l'inspection visuelle de la membrane à la barrière de confinement confirme que l'intégrité n'a pas été compromise, ce test n'est pas exigé tous les ans pour le renouvellement de l'homologation; si l'inspection visuelle suscite des doutes sur l'intégrité du périmètre, il faudra consulter l'agent de sécurité biologique pour déterminer s'il faut reprendre le test de perte de charge.

pourraient recouvrir les dispositifs permanents et empêcher de vérifier leur étanchéité); raccorder les canalisations des capteurs de pression, p. ex. jauges Magnehelic.

- Raccorder une source de vide à la pièce et créer une dépression supérieure à 600 Pa; laisser stabiliser la pression dans la pièce et couper la source de vide.
- Observer la perte de charge à partir de 600 Pa jusqu'à ce que la pression négative dans la pièce atteigne 200 Pa; noter les résultats toutes les 10 secondes pendant au moins 20 minutes.
- Au début et à la fin du test, noter la température ambiante et la pression barométrique à l'extérieur.

### **3. Système de traitement de l'air**

Diverses composantes du système de traitement de l'air dans une pièce en confinement nécessite une mise en service. Pour les enceintes de sécurité biologique, il faut respecter les exigences des fabricants concernant l'écoulement de l'air. Il faut vérifier l'intégrité des filtres HEPA pour s'assurer que le milieu filtrant ne fuit pas, que l'étanchéité est maintenue entre le milieu filtrant et son cadre ainsi qu'autour du joint du cadre et du boîtier. Ce test s'effectue par l'introduction d'une concentration connue de particules et la mesure du pourcentage de pénétration en aval du filtre. Il faut vérifier si les pertes de charge dans les conduits ne dépassent pas le taux défini. La norme N510 de l'American Society of Mechanical Engineers (ASME) intitulée *Testing of Nuclear Air Treatment Systems*, 1989, décrit la marche à suivre pour vérifier l'intégrité des conduits et des pléniums<sup>(1)</sup>. Les systèmes de commande/régulation de la pression dans la pièce doivent fonctionner selon les spécifications (c.-à-d. qu'une pression négative doit être maintenue en tout temps).

#### **3.1 Enceintes de sécurité biologique**

1. Toutes les enceintes de sécurité biologique doivent être testées sur place conformément à la norme NSF 49 ou CSA Z316.3-95, *Biological Containment Cabinets: Installation and Field Testing* (1995)<sup>(2)</sup>.
2. Les dispositifs d'interverrouillage (c.-à-d. entre le ventilateur de soufflage et le ventilateur d'extraction des enceintes de sécurité biologique) doivent être testés : le ventilateur de soufflage doit s'arrêter dès que le ventilateur d'extraction tombe en panne<sup>(3,4)</sup>.

3. Simuler des conditions de panne pour vérifier si l'alarme indiquant une panne de l'enceinte de sécurité biologique et/ou du ventilateur d'extraction se déclenche effectivement.

### **3.2 *Filtres HEPA et boîtiers***

1. Les filtres HEPA doivent être fabriqués selon la norme IES-RP-CC001.3 (ASME AG-1, 1997, *Code on Nuclear Air and Gas Treatment*, Section FC, *HEPA filters*) .
2. Déceler sur place toute fuite des filtres HEPA installés dans les conduits de soufflage et d'extraction d'air par introduction de particules et balayage, conformément à la norme IES-RP-CC-006.2 (section 6.2.1)<sup>(5)</sup>; le taux de pénétration des particules ne doit pas dépasser 0,01 %.
3. L'intégrité des boîtiers des filtres HEPA avec registres hermétiques à l'entrée et à la sortie qui sont installés dans les conduits de soufflage et d'extraction doit être vérifiée sur place par mesure de la perte de charge, conformément à la norme ASME N510 *Testing of Nuclear Air Treatment Systems* (1989)<sup>(1)</sup>; le taux de fuite d'air doit correspondre à au plus 10 % de perte de charge à une pression de 1000 Pa (4 pouces de colonne d'eau) pour une période de 30 minutes<sup>2,3,4</sup>.

### **3.3 *Conduits de soufflage et d'extraction***

La méthode élémentaire permettant de vérifier la pression dans les conduits d'air est décrite dans la norme ASME N510, *Testing of Nuclear Air Treatment Systems*<sup>(1)</sup> :

1. Isoler et sceller les conduits à vérifier.
2. Fixer un capteur de température et de pression à l'intérieur du réseau à vérifier.
3. Appliquer une pression d'air dans les conduits d'au moins 1000 Pa et laisser stabiliser.
4. Noter la température dans les conduits au début et à la fin du test.

---

<sup>2</sup>Ce test sera exigé annuellement pour le renouvellement de l'homologation seulement s'il y a eu des changements susceptibles de modifier la capacité de confinement de l'installation.

<sup>3</sup> En NC 3, les conduits de soufflage d'air seront vérifiés conformément aux critères de conception (chapitre 4, matrice 3).

<sup>4</sup>Ce critère ne s'applique pas aux laboratoires où sont manipulés des micro-organismes qui ne sont pas transmis par la voie aérienne (sauf les zoonoses non indigènes).

5. Noter la pression toutes les 10 secondes pendant au moins 30 minutes.

Voici les critères d'acceptation :

Conduits de soufflage et d'extraction situés entre le périmètre de confinement et le registre hermétique à vérifier sur place par mesure de la perte de charge; le taux de fuite d'air doit correspondre à au plus 10 % de perte de charge à une pression de 1000 Pa (4 pouces de colonne d'eau) pendant une période de 30 minutes<sup>2,3,4</sup>.

**Remarque :** les fuites d'air peuvent être mises en évidence par l'application d'une solution savonneuse ou autre solution du commerce sur les joints, les angles, les ouvertures de traversée scellées, etc.

### ***3.4 Équilibrage du débit et de la pression d'air***

1. L'écoulement de l'air vers l'intérieur (dans les conditions normales d'exploitation) doit être vérifié par un moyen visuel (p. ex. en tenant une poire à fumée à chacune des portes entre zones adjacentes).
2. La différence de pression entre zones adjacentes doit être vérifiée; on recommande une différence de pression d'au moins 25 Pa ou un écart d'au moins 10 % entre le débit de soufflage et le débit d'extraction de part et d'autre de zones adjacentes (c.-à-d. entre le vestiaire décontaminé et le vestiaire contaminé, entre le vestiaire contaminé et le laboratoire et entre le laboratoire et la salle des animaux).

### ***3.5 Systèmes de commande/régulation de l'installation de CVCA***

1. Vérifier les systèmes de commande/régulation en simulant une situation anormale (p. ex. porte ouverte, panne de ventilateur, de courant ou de l'enceinte de sécurité biologique);

---

l'écoulement de l'air de part et d'autre de la barrière de confinement ne doit pas être inversé pendant une longue période<sup>5</sup>.

2. La vérification des systèmes de contrôle doit porter sur la séquence logique et sur la vitesse et l'exactitude des réponses.
3. Les alarmes lumineuses et sonores indiquant une panne des systèmes de traitement de l'air doivent être vérifiées par simulation de conditions anormales<sup>6</sup>.

#### **4. Équipement de laboratoire et utilités**

1. Vérifier le fonctionnement des dispositifs antirefoulement du réseau d'alimentation en eau conformément à la norme CAN/CSA-B64.10-94, *Guide de sélection, d'installation, d'entretien et d'essais à pied d'œuvre des dispositifs antirefoulement* (1994)<sup>(6)</sup>.
2. Vérifier le fonctionnement des dispositifs antirefoulement des autres réseaux d'utilités (p. ex. gaz).
3. Vérifier le débit et la température de l'eau d'alimentation des douches oculaires et des douches d'urgence conformément à la norme ANSI Z3858.1, *Emergency Eyewash and Shower Equipment*<sup>(7)</sup>.
4. Vérifier le réseau d'air comprimé conformément à la norme CAN3-Z180.1-M85, *Air comprimé respirable et systèmes connexes* (1994)<sup>(8)</sup>.
5. Vérifier sur place le fonctionnement de l'équipement de protection personnelle à pression positive (la combinaison).

---

<sup>5</sup>Il n'est pas nécessaire de revérifier les systèmes de commande/régulation tous les ans s'il n'y a eu aucune modification de la logique de commande ou mise à niveau. Par contre, s'il y a eu des changements ou si le système de commande/régulation présente souvent des problèmes ou des pannes, il faudra consulter l'agent de sécurité biologique pour déterminer le moment de la revérification (remarque : il faudra peut-être alors décontaminer). Les systèmes de commande/régulation devraient être vérifiés à intervalles réguliers (p. ex. tous les 3 ans).

<sup>6</sup>Il n'est pas nécessaire de revérifier les systèmes d'alarme tous les ans s'il n'y a eu aucune modification de la logique de commande ou mise à niveau. Par contre, s'il y a eu des changements ou si le système d'alarme présente souvent des problèmes ou des pannes, il faudra consulter l'agent de sécurité biologique pour déterminer le moment de la revérification (remarque : il faudra peut-être alors décontaminer). Les systèmes d'alarme devraient être vérifiés à intervalles réguliers (p. ex. tous les 3 ans).



6. Vérifier les douches sous eau et sans eau (chimiques) et la réponse à l'alarme indiquant un faible niveau dans le réservoir de désinfectant.
7. Vérifier le fonctionnement du groupe électrogène de secours dans des conditions de charge appropriées.
8. Vérifier le fonctionnement des portes interverrouillées pour s'assurer que les deux portes ne peuvent être ouvertes en même temps.
9. Vérifier le fonctionnement des systèmes de sécurité (p. ex. contrôle de l'accès, caméras de vidéo-surveillance).
10. Vérifier le fonctionnement des systèmes de communication et de transfert électronique de données (p. ex. interphone, téléphone, télécopieur).
11. Vérifier les systèmes de décontamination (p. ex. autoclaves, systèmes de traitement des effluents liquides, enceintes de fumigation) au moyen de charges représentatives au point de vue microbiologique.
12. Pour les laboratoires de niveau de confinement 4, vérifier les dispositifs d'évacuation et la tuyauterie connexe menant vers le système de traitement des effluents liquides (y compris les canalisations de ventilation) conformément à la Section 3.6 du *Code canadien de la plomberie, Essais des réseaux d'évacuation et de ventilation* (1990); les réseaux d'évacuation doivent être éprouvés sous une pression d'air de 35 kPa, selon les exigences du code.

## Références

1. *Testing of nuclear air treatment systems. ASME N510*. New York, NY: American Society of Mechanical Engineers, 1989.
2. *Biological containment cabinets: installation and field testing. CSA Z316.3-95*. Toronto, (Ontario) Association canadienne de normalisation, 1995.
3. Stuart DG, Hilliard J, Kenkel R, Kelley J, Richmond J. *Role of the class III cabinet in achieving BSL-4*. In: Richmond JY. *Anthology of biosafety I: Perspective on laboratory design*. Mundelein, IL: American Biological Safety Association, 1999; 149-60.

4. National Cancer Institute Office of Research Safety and the Special Committee of Safety and Health Experts. *Laboratory safety monograph: a supplement to the NIH guidelines for recombinant DNA research*. Bethesda, MD: National Institutes of Health, 1979.
5. Institute of Environmental Sciences and Testing. *IEST-RP-CC006.2: testing cloakrooms*. Mount Prospect, IL: IEST, 1999.
6. *Guide de sélection, d'installation, d'entretien et d'essais à pied d'œuvre des dispositifs antirefoulement*. CAN/CSA-B64.10-94. Toronto, ON: Canadian Standards Association, 1994.
7. *Emergency eyewash and shower equipment*. ANSI Z358.1. New York: American National Standards Institute, 1990.
8. *Air comprimé respirable et systèmes connexes*. CAN3.Z180.1-M85. Toronto (Ontario) : Association canadienne de normalisation, 1994.

## Chapitre 6 Production de micro-organismes à grande échelle

### 1. Introduction

Comme le Canada étend rapidement sa base industrielle dans le domaine de la biotechnologie, il faut absolument aborder la fermentation industrielle et la manipulation à grande échelle des micro-organismes de sorte que toutes les manipulations soient effectuées dans des conditions de confinement qui réduisent au minimum les risques pour les travailleurs et l'environnement. Il faut noter que le travail à grande échelle n'est pas nécessairement plus dangereux que le travail à l'échelle du laboratoire <sup>(1)</sup>. En fait, il est souvent moins inquiétant car la plupart des opérations sont réalisées en systèmes fermés, ce qui réduit la probabilité d'exposition de l'opérateur et du milieu aux matières infectieuses en question <sup>(2)</sup>. Ce fait a été bien démontré dans le cas de nombreux agents hautement infectieux utilisés pour produire des vaccins <sup>(3)</sup>.

Bien qu'il existe de nombreuses voies d'exposition aux pathogènes et à leurs produits en cours de fermentation, l'inhalation d'aérosols est vraisemblablement la plus importante en raison de la nature de bon nombre de processus de fermentation <sup>(4)</sup>. De plus, l'importance des volumes en cause constitue en soi un danger à cause de la dissémination potentielle de grandes quantités de pathogènes dans le laboratoire ou dans l'environnement <sup>(1)</sup>. En conséquence, il est essentiel que les laboratoires où s'effectuent des fermentations à grande échelle possèdent sur place l'équipement de confinement approprié (tant sur les plans physique qu'opérationnel), et qu'ils soient dotés de plans d'urgence détaillés pour réduire au minimum l'exposition au pathogène si jamais le processus de fermentation fonctionnait mal.

### 2. Portée

Les procédés à grande échelle sont ceux qui mettent en jeu des fermenteurs et des appareils qui ne peuvent être déplacés facilement et stérilisés en autoclave (il faut donc les stériliser *in situ*). Toutefois, comme on l'a vu à la section 3 « Évaluation des risques » du chapitre 2, les volumes qui correspondent à une « grande échelle » et qui, par conséquent, nécessitent un traitement particulier, sont déterminés à la lumière d'une évaluation détaillée des risques associés aux travaux et aux micro-organismes en cause. Le volume de 10 litres utilisé comme limite entre petite échelle (laboratoire) et grande échelle est donc donné uniquement à titre indicatif.

Ce chapitre présente en détail les exigences techniques pour les travaux à grande échelle sur des micro-organismes de NC 1 à 3 (pour un micro-organisme donné, sa production à grande échelle nécessite un niveau de confinement plus élevé que son utilisation à petite échelle, comme il est expliqué aux chapitres 3 et 4). La production à grande échelle et le traitement d'agents de NC 3 peut présenter de graves risques pour les personnes qui travaillent à l'intérieur ou près du laboratoire, les animaux gardés à l'intérieur ou près du laboratoire, ou le milieu environnant. Aucune exigence spécifique n'a été définie pour les recherches à grande échelle ou la production

de micro-organismes viables de NC 4. Ces exigences seront établies au cas par cas en consultation avec le Bureau de sécurité des laboratoires, Direction générale de la santé de la population et de la santé publique, Santé Canada, téléphone : (613) 957-1779, télécopieur : (613) 941-0596.

### **3. Pratiques opérationnelles et exigences physiques**

Les conditions de confinement énumérées ci-dessous sont les exigences minimales pour les zones de production à grande échelle et elles doivent être appliquées en plus de celles qui correspondent au niveau de confinement du laboratoire (voir le chapitre 3 pour les exigences opérationnelles des travaux de laboratoire à l'échelle courante et le chapitre 4 pour les exigences physiques des travaux à grande échelle).

#### **3.1 NC 1 à grande échelle**

1. Les déversements et les accidents qui entraînent l'exposition à des micro-organismes doivent être signalés immédiatement au directeur et à l'agent de sécurité biologique du centre; une surveillance et des soins médicaux devront être assurés au besoin; les faits et les renseignements pertinents doivent être consignés par écrit.
2. Les cultures de micro-organismes viables doivent être conservées en système fermé ou dans un autre équipement de confinement primaire (p. ex. enceinte de sécurité biologique) conçu pour réduire le risque de libération d'aérosols.
3. Les milieux de culture liquides (sauf ceux qui sont permis au point 4) ne doivent pas être retirés d'un système fermé ou d'un autre équipement de confinement primaire sans que les micro-organismes aient d'abord été inactivés selon une méthode validée; on entend par méthode d'inactivation validée une méthode qui s'est révélée efficace contre le micro-organisme en cause.
4. Le prélèvement d'échantillons, l'ajout de substances et le transfert de milieux de culture liquides entre deux systèmes fermés doivent être réalisés de manière à réduire au minimum la formation d'aérosols ou la contamination des surfaces exposées.
5. Les appareils de traitement, les systèmes fermés et les autres dispositifs de confinement primaire doivent être fournis avec les traitements (p. ex. filtres HEPA, filtres dont l'efficacité équivaut à celle des HEPA, incinération ou élimination des gaz par des désinfectants chimiques) pour éviter la dissémination des micro-organismes en cause.
6. Il ne faut jamais ouvrir un système fermé ou un autre dispositif de confinement primaire contenant des micro-organismes viables, pour l'entretien ou toute autre raison, sans avoir

d'abord inactivé les micro-organismes viables au moyen d'une méthode validée; une méthode d'inactivation validée est une méthode qui s'est révélée efficace contre le micro-organisme en cause.

7. Les installations doivent être conçues pour prévenir la dissémination d'importantes quantités de micro-organismes viables dans les égouts sanitaires (p. ex. pose d'un couvercle ou surélévation des drains de plancher).
8. Plans d'urgence : les procédures d'urgence doivent comprendre la description de l'équipement nécessaire pour intervenir en cas de déversement ou de dissémination accidentelle de micro-organismes (c.-à-d. équipement de protection individuelle, désinfectants). Cet équipement doit être accessible et bien entretenu; le personnel doit avoir reçu une formation sur les procédures d'urgence en cas de déversement ou de dissémination accidentelle de micro-organismes; la formation doit être documentée; les documents décrivant les procédures d'urgence doivent être accessibles rapidement.

### **3.2 NC 2 à grande échelle**

1. Voir le point 1 de NC 1 à grande échelle.
2. Les cultures de micro-organismes viables doivent être conservées dans un système fermé (p. ex. dispositifs en système fermé utilisés pour la propagation et la culture de micro-organismes) ou un autre dispositif de confinement primaire (p. ex. une enceinte de sécurité biologique de catégorie III contenant une centrifugeuse utilisée pour les milieux de culture liquides) visant à réduire le risque de production d'aérosols.
3. Les milieux de culture liquides (sauf ceux qui sont permis au point 4) ne doivent pas être retirés d'un système fermé ou d'un autre équipement de confinement primaire sans que les micro-organismes aient d'abord été inactivés selon une méthode validée; une méthode d'inactivation validée est une méthode qui s'est révélée efficace contre le micro-organisme en cause.
  - 4a. Voir le point 4, NC 1 à grande échelle.
  - 4b. Les milieux de culture liquides qui renferment des micro-organismes viables qui constituent le produit final peuvent être retirés du dispositif de confinement primaire par l'intermédiaire de systèmes fermés pour l'analyse d'échantillons, le traitement subséquent ou le traitement final.

- 5.-8. Voir les points 5 à 8, NC 1 à grande échelle.
9. Les joints d'étanchéité de l'équipement utilisé dans le procédé et les autres dispositifs mécaniques qui y sont directement associés doivent être conçus et installés de manière à empêcher toute fuite ou être complètement contenus dans des boîtiers ventilés, dont l'air est évacué dans des filtres HEPA ou des filtres d'efficacité équivalente ou au moyen d'une technique de traitement équivalente.
10. L'équipement utilisé dans le procédé doit contenir des capteurs (ou l'équivalent) afin de surveiller l'intégrité du confinement au cours des opérations et de signaler des conditions anormales menant à la perte du confinement.
11. La capacité de confinement de l'équipement utilisé dans le procédé doit être vérifiée avant son utilisation et après toute modification apportée au système qui est susceptible de modifier les caractéristiques de confinement de l'équipement; les méthodes de vérification et les critères d'acceptation doivent être appropriés, compte tenu de la conception de l'équipement et du système fermé; toutes les données relatives à cette vérification doivent être consignées.
12. Des panneaux de mise en garde décrivant la nature des dangers (p. ex. nom de l'agent, niveau de confinement) associés aux agents utilisés doivent être apposés à l'entrée de la zone de traitement, et des étiquettes, sur chaque élément de l'équipement de traitement et de confinement primaire servant à contenir des micro-organismes viables.
13. Les exigences concernant l'équipement de protection individuelle doivent être affichées à l'entrée.
14. Pendant la production, seul le personnel autorisé doit avoir accès à la zone de traitement.

### **3.3 NC 3 à grande échelle**

- 1.-14. Mêmes que pour NC 2 grande échelle.
15. L'équipement de protection individuelle doit comprendre l'enlèvement de tous les vêtements de ville et le port de vêtements réservés à la zone de traitement (pantalons, chaussures, bas, couvre-chef, gants) ou le recouvrement complet des vêtements de ville par des vêtements appropriés (combinaisons, couvre-chaussures, couvre-chef, gants); les vêtements lavables doivent être retirés à la sortie, puis décontaminés et lavés chaque fois;

les vêtements jetables doivent être retirés à la sortie, décontaminés et jetés [ils ne sont pas réutilisables]; la protection respiratoire doit être appropriée, selon le micro-organisme en cause.

16. Des étiquettes de mise en garde décrivant la nature du danger (p. ex. nom de l'agent, niveau de confinement) associé aux agents utilisés doivent être apposées sur chaque pièce d'équipement de traitement et de confinement primaire servant à contenir des micro-organismes viables; cette identification doit être utilisée dans tous les dossiers ayant trait aux antécédents de l'équipement (p. ex. vérification, utilisation, entretien).
17. Il faut prévoir le matériel nécessaire dans la zone de traitement pour contenir le volume complet des liquides utilisés (p. ex. l'équipement doit être installé dans une cuvette de retenue).

## Références

1. Grinsted J. *Risk assessment and contained use of genetically modified organisms*. In: Tzotzos GT. *Genetically modified organisms: a guide to biosafety*. Wallingford, UK: Centre for Agriculture and Biosciences (CAB) International, 1995; 17-35.
2. Cipriano ML. *Biosafety considerations for large-scale production of microorganisms*. In: Fleming DO, Hunt DL. *Biological safety principles and practices*. Washington, D.C.: ASM Press, 2000; 541-55.
3. Collins CH. *Safety in microbiology: an overview*. In: Collins CH, Beale AJ. *Safety in industrial microbiology and biotechnology*. Oxford, UK: Butterworth-Heinemann Ltd, 1992; 1-5.
4. Brunius NGF. In: Collins CH, Beale AJ. *Safety in industrial microbiology and biotechnology*. Oxford, UK: Butterworth-Heinemann Ltd., 1992; 239-42.

## Chapitre 7 Animaux de laboratoire

### 1. Exigences générales

Travailler avec des animaux pose des risques particuliers, notamment l'exposition à des agents infectieux (naturels ou produits en laboratoire), morsures et égratignures, coups et lésions par écrasement, allergies et problèmes physiques (bruit, température). En plus d'éviter la propagation des agents infectieux au personnel du laboratoire, il faut tenir compte, dans le choix de l'équipement et l'élaboration des pratiques pour les animaleries, du risque de contamination croisée entre animaux et d'infection accidentelle des animaux par des parasites (on parle aussi de « barrières »). Les locaux où se fait le travail avec des animaux, petits ou gros, doivent être aménagés et utilisés conformément aux *Normes sur le confinement des installations vétérinaires*, publiées par l'Agence canadienne d'inspection des aliments, et au *Manuel sur le soin et l'utilisation des animaux d'expérimentation*, du Conseil canadien de la protection des animaux<sup>(1,2)</sup>. Idéalement, l'animalerie doit être située dans une unité distincte. Si elle est contiguë au laboratoire, elle doit être séparée des lieux où s'effectuent les autres activités du laboratoire, ce qui permet l'isolement et les mesures de décontamination voulus. Comme les protocoles généraux ne peuvent prévoir les conditions spécifiques de toutes les expériences, il faut élaborer pour chaque projet des protocoles spécifiques d'entrée et de sortie pour le personnel scientifique, les soigneurs, les animaux, les échantillons biologiques, l'équipement, la nourriture et les excréments et déchets.

Les animaleries pour petits animaux doivent être conçues de manière qu'elles soient faciles à nettoyer et à désinfecter et contenir un minimum d'appareils et d'équipement intégrés. Une petite aire de préparation, une zone d'entreposage et un évier pour le lavage des mains suffisent habituellement. L'aménagement des lieux doit également faciliter le recours aux cages de confinement et aux équipements de soutien pour les interventions sur les animaux, le lavage des cages, l'élimination des déchets et l'entreposage des aliments et de la litière. Les installations animalières ont récemment profité d'avancées technologiques et comportent désormais des systèmes assurant un contrôle fin des facteurs environnementaux comme la température, le renouvellement d'air et l'humidité. Les cages et les systèmes d'élimination des litières sont décrits ailleurs<sup>(3)</sup>.

Sur cinq personnes qui travaillent auprès d'animaux de laboratoire comme des rongeurs, des cobayes et des lapins, au moins une finit par développer des allergies<sup>(4)</sup>. Les réactions allergiques résultent de contacts avec le poil ou la fourrure, la litière ou les excréments des animaux. La réaction peut se manifester dès le premier contact ou après une série d'expositions à l'allergène. Les symptômes varient d'une éruption cutanée bénigne à une crise d'asthme grave. L'exposition à ces allergènes peut être réduite au minimum par des mesures d'ingénierie, la ventilation, le recours à des isolateurs et à des systèmes de confinement, et le port de dispositifs de protection respiratoire et d'autres pièces d'équipement de protection individuelle.



Les gros animaux exigent des dispositifs de confinement particuliers, notamment à cause de la grande quantité de micro-organismes infectieux qui peuvent se trouver dans l'enclos d'un animal. Dans un laboratoire, l'enceinte de sécurité biologique constitue un dispositif de confinement primaire, mais un box pour gros animaux sert à la fois de barrière primaire et secondaire. Le personnel doit donc veiller à porter les vêtements et l'équipement de protection appropriés avant d'entrer dans un box contaminé par de grandes quantités d'excréments infectieux. Des drains de plancher reliés à un système de stérilisation des effluents sont utilisés aux niveaux de confinement 3 et 4 et servent à éliminer et traiter les excréments animaux infectieux. Le personnel doit également veiller à éviter les lésions graves (p. ex. écrasement) que peuvent causer de gros animaux. Des moyens physiques, des dispositifs de contention et des barrières de métal doivent être prévus et utilisés. Le soigneur doit connaître les caractéristiques générales de l'animal, notamment son caractère, ses instincts et ses particularités physiques.

## **2. Primates non humains**

Travailler avec des primates non humains présente des dangers particuliers liés aux pathogènes naturels et aux animaux mêmes. Leurs longues canines et leurs puissantes mâchoires peuvent infliger des lacérations graves et douloureuses. Leurs ongles acérés, tant aux mains qu'aux pieds, peuvent facilement causer des égratignures et des abrasions. Ce sont des animaux généralement très agités, bruyants et destructeurs. Il faut tenir compte de ces caractéristiques dans la conception des locaux destinés à ces animaux.

Les micro-organismes auxquels sont exposées les personnes qui s'occupent de primates non humains sont notamment *Salmonella*, *Shigella*, *Campylobacter*, le virus de l'hépatite A, le bacille de la tuberculose, le virus d'immunodéficience simienne, et surtout *Cercopithecine herpesvirus 1*, également connu sous le nom d'herpèsvirus B. Il s'agit d'un virus enzootique présent chez presque 70 % des macaques en captivité, notamment chez les singes Rhésus et les macaques cynomolgus<sup>(5)</sup>. Bien que le virus provoque des lésions buccales visibles chez son hôte simien naturel, l'excrétion asymptomatique du virus par la muqueuse buccale et la région urogénitale, ainsi que sa présence dans le liquide conjonctival peuvent passer inaperçues. Au moins 50 cas d'infection ayant provoqué soit une maladie grave soit la mort ont été signalés chez l'humain<sup>(6)</sup>. Sauf pour un cas de transmission entre deux personnes, toutes les infections se sont déclarées chez des personnes exposées à des primates non humains ou à des tissus de primates non humains. La transmission à l'humain s'effectuerait surtout par suite d'une exposition à la salive contaminée de primate non humain, par des morsures et des égratignures; un décès est survenu à la suite d'une exposition mucocutanée sans lésion<sup>(5)</sup>. Il faut consulter les lignes directrices concernant le travail avec les macaques, la prévention de l'infection par l'herpèsvirus B et le traitement de ces infections chez l'humain<sup>(5,7-9)</sup>. Le risque d'exposition à des agents pathogènes peut également être réduit au moyen d'un programme adéquat de surveillance de la santé des

animaux, axé sur la détection et le traitement des animaux malades. Les soigneurs devraient participer à un programme de surveillance médico-sanitaire.

Toute personne qui s'occupe de primates non humains doit avoir reçu une formation sur les méthodes de contention et le choix des vêtements de protection permettant de prévenir les morsures, les égratignures et l'exposition aux éclaboussures. Ces méthodes comprennent l'utilisation de cages équipées de mécanismes de compression, si possible, et de boîtes de transfert, de chutes, de tunnels et de mécanismes de confinement pour les animaux logés en groupes. Les bords et les angles des cages et des autres éléments d'équipement doivent être lisses, ce qui permet d'éviter les égratignures et autres blessures. On pourra aussi recourir à la contention chimique pour sortir un animal d'une cage, surtout s'il s'agit de macaques ou d'autres gros primates non humains. Le conditionnement comportemental peut également être efficace en association avec d'autres méthodes. Les soigneurs doivent porter des gants de cuir renforcé pleine longueur et une blouse ou une combinaison à manches longues pour éviter les égratignures. Tout soigneur ou toute personne qui entre dans une animalerie où sont gardés des primates non humains doit porter des dispositifs de protection contre l'exposition des muqueuses aux aérosols et aux éclaboussures (p. ex. masque de chirurgie, écran facial, lunettes anti-éclaboussures). Tout vêtement réutilisable qui est entré en contact avec un primate non humain doit être décontaminé avant d'être lavé. Les soigneurs doivent savoir qu'il faut désinfecter immédiatement et soigneusement toute morsure, égratignure ou abrasion et signaler l'incident sans tarder. Il faut également prévoir des procédures à suivre après l'exposition<sup>(9)</sup>.

Les installations hébergeant des primates non humains doivent être conformes aux *Normes sur le confinement des installations vétérinaires*, concernant les installations de confinement pour petits animaux<sup>(1)</sup>. À moins d'être ou d'avoir été infectés par des micro-organismes exigeant un niveau de confinement plus élevé, les primates non humains peuvent être gardés dans des animaleries NC 2 et le personnel doit appliquer les pratiques et les précautions particulières décrites ci-dessus concernant le travail avec ces animaux. Le *Manuel sur le soin et l'utilisation des animaux d'expérimentation* fournit également de l'information sur les conditions d'hébergement et de manipulation des primates non humains<sup>(2)</sup>. D'autres sources présentent des renseignements supplémentaires à ce sujet<sup>(10)</sup>. Voici les exigences générales relatives à l'hébergement des primates non humains :

1. Il faut prendre en compte les besoins comportementaux, émotifs et sociaux des primates de laboratoire dans la planification de leur hébergement.
2. Le nom et le numéro de téléphone de soigneurs de primates expérimentés, ainsi que de la personne responsable, doivent être accessibles partout dans le centre.

3. Les animaleries doivent comporter un vestibule ou un autre dispositif de sorte qu'il y ait toujours deux portes entre la cage de l'animal et le corridor de l'immeuble; il faut également faire en sorte que le personnel puisse *voir* toutes les cages présentes dans la pièce avant d'ouvrir la porte pour s'assurer qu'aucun animal ne s'est échappé.
4. Tout élément d'éclairage, d'électricité ou de plomberie présent dans l'animalerie où sont logés des primates non humains doit être muni d'une grille de protection ou d'un autre dispositif empêchant les animaux d'y avoir accès.
5. À cause des mesures d'hygiène qui doivent être appliquées tous les jours dans les animaleries, le plancher doit être fait d'un matériau antidérapant et le personnel doit porter des chaussures dont les semelles adhèrent bien au sol mouillé. Les murs et les plafonds doivent également être recouverts d'un fini résistant aux produits de nettoyage et de désinfection.
6. Il faut prévoir des douches et des vestiaires pour le personnel qui est en contact fréquent avec les animaux.
7. Les animaleries et les cages doivent être tenues verrouillées en tout temps. Seules les personnes autorisées doivent y avoir accès. Les verrous de sécurité et les dispositifs de fermeture doivent être conçus de manière à résister à l'intelligence, à l'ingéniosité, à la persistance ainsi qu'au caractère destructeur de la plupart des primates non humains.
8. Avant chaque déplacement entre des salles animalières, les articles d'équipement (p. ex. chariots, balances, contenants et pelles de nourriture, gants) doivent être désinfectés selon les méthodes correspondant au niveau de confinement.
9. Les cages doivent être suffisamment robustes pour résister aux primates non humains et elles doivent être tenues en bonne condition.
10. Les cages doivent être munies d'un dispositif de compression qui facilite l'immobilisation et l'examen de l'animal. Les contenants de transfert et autres accessoires spéciaux de contention peuvent être utilisés en toute sécurité pour retenir l'animal pendant le nettoyage de sa cage ou son déplacement d'une pièce à une autre.
11. Lorsqu'il y a plus d'un animal dans la même cage, il faut tenir compte de facteurs comme la compatibilité entre individus et la dynamique collective de l'espèce en cause pour réduire au minimum les risques de combats.

12. Les animaux infectés par des agents NC 4 doivent être gardés dans un dispositif de confinement partiel (p. ex. cages placées dans un enclos dont l'air est traité par un filtre HEPA).
13. Il faut mettre en place un programme de contrôle des insectes et des animaux nuisibles pour prévenir, contenir ou éliminer les indésirables tels que blattes, mouches et rongeurs, souvent attirés par les comportements peu hygiéniques des primates non humains.

### **3. Installations biomédicales utilisant des moutons**

La fièvre Q est une zoonose causée par un organisme à rickettsies appelé *Coxiella burnetii*. Les bovins, les moutons et les chèvres sont les réservoirs les plus courants de *C. burnetii*, et un grand nombre de micro-organismes (jusqu'à 10<sup>9</sup> par gramme de tissu) peuvent se trouver dans le placenta, les tissus expulsés lors de la mise bas et le liquide amniotique d'animaux infectés<sup>(11)</sup>. L'exposition à des moutons naturellement infectés, souvent asymptomatiques, et aux matières qu'ils expulsent lors de la mise bas constituent un risque professionnel documenté dans les installations biomédicales utilisant les moutons comme animaux d'expérience<sup>(11-15)</sup>. Des éclosions de fièvre Q en établissement se produisent non seulement chez les chercheurs qui se trouvent en contact direct avec des moutons, mais aussi chez les membres du personnel chargé du nettoyage et de l'entretien, les secrétaires et d'autres personnes travaillant dans le même immeuble, mais n'ayant pas de contact direct avec les animaux. Par conséquent, Santé Canada — après avoir consulté des spécialistes en la matière, y compris ceux du milieu médical qui utilisent des moutons dans le cadre de leurs expériences — a élaboré les *Lignes directrices relatives aux installations biomédicales dans lesquelles on utilise des moutons comme animaux d'expérience*. Ces lignes directrices peuvent être consultées sur le site Web du Bureau de sécurité des laboratoires au [www.hc-sc.gc.ca/hpb/lcdc/biosafety](http://www.hc-sc.gc.ca/hpb/lcdc/biosafety). Les pratiques opérationnelles et les exigences physiques pour les centres où les expériences portent sur des animaux gravides ou ayant mis bas récemment sont décrites ci-dessous. Pour réduire davantage le risque, il est également souhaitable que les centres se procurent les moutons uniquement auprès de fournisseurs ayant instauré un programme bien documenté de surveillance de la fièvre Q.

#### **3.1 Pratiques opérationnelles**

1. Il faut rédiger un manuel de procédures détaillé exposant les règles de sécurité et de confinement (p. ex. protocoles d'entrée et de sortie des personnes, des animaux, du matériel, des échantillons et des déchets) pour les locaux où sont gardés les moutons, et suivre ces procédures. Les protocoles généraux doivent être complétés par des protocoles particuliers pour chacun des projets en cours. Il faut également rédiger des procédures d'urgence relatives à l'entrée et à la sortie, à une panne du système de traitement de l'air, à un incendie, à la fuite d'un animal et à d'autres situations d'urgence.

2. Le personnel, y compris les soigneurs d'animaux et le personnel d'entretien, doit recevoir une formation sur les risques liés à leur travail, les précautions à prendre pour éviter toute exposition à l'agent de la fièvre Q, les pratiques servant à prévenir la dissémination d'agents infectieux hors du centre, les protocoles opérationnels du projet en cours et les procédures d'urgence. Les membres du personnel doivent montrer qu'ils ont compris la formation reçue. La formation doit être confirmée par des documents signés par l'employé et son superviseur.
3. Le personnel qui travaille avec ou à proximité des moutons et des produits ovins (litière, excréments, matières rejetées à la naissance et animaux ou tissus animaux) doivent participer à un programme de santé et de sécurité au travail.
4. Seules les personnes satisfaisant aux conditions d'admission fixées (y compris les exigences en matière de surveillance médicale énoncées dans le programme de santé et de sécurité au travail du centre) peuvent entrer dans le local réservé aux moutons, à moins que ce lieu n'ait été désinfecté comme il se doit. Son accès doit être réservé au personnel autorisé. Au besoin, des membres du personnel d'entretien et de service peuvent y entrer à d'autres conditions (p. ex. sans décontamination), s'ils sont accompagnés de membres du personnel du centre ayant reçu la formation voulue et s'ils utilisent un équipement de protection individuelle.
5. Tous les accidents, les expositions manifestes ou potentielles à des matières infectieuses, les manquements aux règles de confinement, les séroconversions, les cas soupçonnés de fièvre Q et les autres situations dangereuses doivent être immédiatement signalés au superviseur du centre. Ces incidents doivent être consignés par écrit.
6. Les chercheurs qui travaillent auprès de moutons doivent adopter de bonnes pratiques microbiologiques et évaluer les risques associés à leurs travaux afin de réduire au minimum les contacts avec des agents infectieux, la production d'aérosols infectieux et les possibilités d'exposition pour le personnel et l'environnement.
7. Le personnel qui travaille dans la zone de confinement doit avoir des connaissances générales sur les caractéristiques opérationnelles et techniques du centre (p. ex. gradients de pression d'air, schémas d'écoulement de l'air et signaux d'alarme déclenchés en cas de panne du système de traitement de l'air).
8. Il faut mettre au point un système pour que le personnel circule exclusivement des zones les moins contaminées (les plus propres) vers les zones les plus contaminées (les plus

souillées). Sinon, il faut mettre en place des procédures de fonctionnement (p. ex. barrières de désinfection ou de décontamination) pour prévenir la contamination des zones propres du centre.

9. Le personnel qui entre dans l'installation réservée aux moutons doit porter des vêtements protecteurs (c.-à-d. des uniformes) conçus pour cet endroit. D'autres vêtements protecteurs peuvent aussi comprendre une blouse sans ouverture sur le devant ou une blouse enveloppante (portefeuille), une combinaison, des gants et des bottes ou des couvre-chaussures jetables. Les vêtements extérieurs doivent être imperméables. Aucun de ces vêtements ne doit être porté à l'extérieur de la zone désignée et tous doivent être décontaminés avant d'être nettoyés ou jetés.
10. Les employés non vaccinés et ceux dont l'immunité à la fièvre Q n'est pas confirmée doivent utiliser un respirateur muni d'un filtre N-95 lorsqu'ils assistent à la parturition de brebis ou à des interventions chirurgicales pouvant générer des aérosols infectieux.
11. À l'issue d'une intervention à risque élevé (p. ex. parturition de brebis ou chirurgie), le personnel qui quitte la zone doit prendre une douche à l'endroit indiqué avant de se rendre ailleurs, surtout si les vêtements de base sont souillés de matières potentiellement infectieuses. Il n'est pas nécessaire de prendre une douche à la sortie de zones à faible risque s'il n'y a pas eu de contact direct avec les moutons (p. ex. lecture de fiches de données) à condition que des protocoles soient mis en place afin d'empêcher la contamination de ces zones.
12. Les articles potentiellement contaminés (y compris les documents et notes) qu'il faut sortir des locaux où sont gardés les moutons et des aires de chirurgie doivent être décontaminés. Sinon, ils peuvent être mis dans des sacs doublés ou des contenants imperméables pour être traités dans une zone de décontamination centrale. La surface extérieure des sacs, récipients ou contenants de transport dans lesquels se trouvent des articles devant faire l'objet d'analyses (p. ex. échantillons de tissus animaux) doit être désinfectée à la sortie de l'installation. Les articles provenant des zones à faible risque qui ne sont pas en contact direct avec les moutons (c.-à-d. fiches de données) peuvent être retirés sans subir de décontamination, à condition qu'ils aient été manipulés de manière à éviter toute contamination.
13. À la fin de l'expérience, tout le matériel qui reste dans l'animalerie (p. ex. nourriture, litière) doit être enlevé et décontaminé.

14. Les carcasses et les tissus d'animaux doivent être incinérés ou traités au moyen d'une nouvelle technique dont l'efficacité est établie (p. ex. autoclave à tissus).
15. Les articles potentiellement contaminés qu'il faut sortir de l'installation ainsi que les surfaces des locaux de chirurgie ou des laboratoires peuvent être décontaminés à l'aide d'une dilution 1:100 d'eau de Javel fraîchement préparée, d'une solution de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 5 % ou d'une dilution 1:100 de Lysol®<sup>(3)</sup>.
16. À la fin d'une expérience, les zones où ont été gardées des brebis parturientes doivent être nettoyées et décontaminées (lorsque c'est réalisable et pas nécessairement à la fin d'une expérience pratiquée sur seulement un mouton parmi ceux qui se trouvent dans l'installation) au moyen d'une dilution 1:100 d'eau de Javel fraîchement préparée, d'une solution de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> à 5 % ou d'une dilution 1:100 de Lysol®<sup>(3)</sup>. Ces endroits peuvent également être décontaminés par vaporisation d'un désinfectant liquide à base de formaldéhyde ou par fumigation de paraformaldéhyde.
17. Le personnel doit procéder périodiquement à des essais de fumée (à l'aide d'un dispositif fumigène) afin de s'assurer que l'air circule correctement. Les résultats doivent être consignés.
18. Les gardes d'eau des drains de sol et des autres siphons de drainage doivent être entretenus (soit par une utilisation régulière, soit par le remplissage des siphons dans les zones non utilisées).
19. Les moutons ne doivent jamais transiter par les zones réservées aux patients. Lorsqu'il faut faire passer les moutons par des corridors ou d'autres zones qui ne leur sont pas spécialement destinées, il faut les placer dans des chariots de confinement.
20. Il faut appliquer un programme efficace de dératisation et de contrôle des insectes.

### **3.2 Exigences physiques**

1. Le local réservé aux moutons doit être situé loin des zones de grande circulation.
2. L'entrée réservée aux animaux doit être éloignée des entrées publiques.
3. L'entrée du local réservé aux moutons doit être indiquée par une signalisation appropriée (c.-à-d. identification du risque biologique, nom et numéro de téléphone de la personne-ressource et exigences d'admission particulières).

4. Les zones de bureaux doivent être situées à l'extérieur du local réservé aux moutons. Il est permis d'y réserver, pour les chercheurs et les soigneurs d'animaux, des zones pour la gestion des documents administratifs, mais celles-ci doivent être éloignées des animaleries et des aires de chirurgie.
5. Le sas à deux portes situé à l'entrée/la sortie des animaleries et des aires de chirurgie doit comprendre un endroit aménagé pour revêtir les vêtements protecteurs nécessaires pour le travail auprès des moutons. Il faut mettre en place un protocole afin d'empêcher que les deux portes du sas s'ouvrent en même temps ou, mieux, de munir ces portes d'un système d'interverrouillage. Comme mesure de contrôle de l'accès, la porte extérieure doit être munie d'une serrure à clé, d'un lecteur de carte par proximité ou d'un lecteur de carte magnétique.
6. La zone doit être conçue de manière qu'il soit aisé de la nettoyer et de la désinfecter. Les surfaces intérieures (revêtements de sol, murs, plafonds) doivent être imperméables aux liquides et aux produits chimiques; les ouvertures dans la barrière de confinement doivent être scellées pour que le nettoyage et la décontamination de cette zone soient facilités.
7. Même si la présence de fenêtres n'est pas recommandée, toute fenêtre doit être résistante au bris et fermée hermétiquement.
8. À proximité de la porte de sortie, il faut installer, pour le lavage des mains, un évier muni de robinets automatiques ou actionnés par le genou ou le pied.
9. La pression d'air à l'intérieur du local réservé aux moutons doit être inférieure à celle des corridors et des locaux adjacents. Des dispositifs de surveillance visuels doivent être installés à l'entrée du local réservé aux moutons pour confirmer que l'air circule effectivement vers l'intérieur.
10. L'air de l'installation animalière ne doit jamais recirculer dans d'autres parties de l'immeuble, sauf s'il a été traité au moyen d'un filtre HEPA.
11. Les conduits d'extraction de l'air doivent être scellés lorsque les locaux réservés aux moutons ne sont pas séparés physiquement des autres zones du bâtiment (c.-à-d. lorsqu'un conduit d'air potentiellement contaminé traverse des zones occupées).
12. L'air provenant d'un local où sont gardés des moutons et qui n'est pas physiquement séparé du reste de l'immeuble doit être traité par filtre HEPA. La filtration de l'air vicié



doit s'effectuer le plus près possible de la source afin de réduire le plus possible la longueur du conduit potentiellement contaminé. Sinon, il faut utiliser des conduits scellés.

13. Il faut prévoir un système de contrôle de la ventilation lorsque les locaux où sont gardés les moutons ne sont pas physiquement séparés du reste de l'immeuble (p. ex. ventilateur d'extraction redondant et registre d'isolation pour empêcher le soufflage d'air menant à une pression soutenue et le refoulement de l'air contaminé). De même, il faut installer un système d'alarme pour avertir le personnel de toute panne du système de ventilation.
14. Avant d'entreprendre toute activité, il faut vérifier les éléments critiques du confinement (efficacité des filtres HEPA, intégrité du périmètre de confinement, systèmes de contrôle du CVCA et alarmes connexes) et leurs paramètres de fonctionnement. Il faut aussi effectuer une deuxième vérification, selon l'expérience. Il faut consigner par écrit toutes les vérifications effectuées et leurs résultats.

## Références

1. Fry S., *Normes sur le confinement des installations vétérinaires*. Agence canadienne d'inspection des aliments. Ottawa : Approvisionnements et Services. Publication d'Agriculture et Agroalimentaire n° 1921/F, 2001.
2. Conseil canadien de protection des animaux. *Manuel sur le soin et l'utilisation des animaux d'expérimentation*. Ottawa (Ontario) CCPA, 1984.
3. Hessler JR, Broderson JR, King CS. 1999. *Small animal research facilities and equipment*. In: Richmond JY, McKinney RW. *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*. Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 1999;191-218.
4. Phipatanakul W, Wood RA. *Allergens of animal and biological systems*. In: Fleming DO, Hunt DL. *Biological safety principles and practices*. Washington, DC: ASM Press, 2000; 249-59.
5. Centers for Disease Control. *Fatal Cercopithecine herpesvirus 1 (B virus) infection following a mucocutaneous exposure and interim recommendations for worker protection*. MMWR 1998;47:1073-6-1083.
6. Richmond JY, McKinney RW. *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*. Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 1999.
7. Centers for Disease Control. *Guidelines for the prevention of herpesvirus simiae (B virus) infection in monkey handlers*. MMWR 1987;36:680-2-687-9.
8. Centers for Disease Control. *Update: Ebola-related filovirus infection in non-human primates and interim guidelines for handling nonhuman primates during transit and quarantine*. MMWR 1990;39:22-4-29-30.

9. Holmes GP, Chapman LE, Stewart JA *et al.* *Guidelines for the prevention and treatment of B-virus infections in exposed persons.* Clin Infect Dis 1995 20:421-39.
10. Bennet BT, Abee CR, Henrickson R. *Nonhuman primates in biomedical research.* San Diego, California: Academic Press, 1995.
11. Bernard KW, Parham GL, Winkler WG, Hlemick CG. *Q fever control measures: recommendations for research facilities using sheep.* Infect Control 1982;xx:461-65.
12. CDC. 1979. *Q fever at a university research center — California.* MMWR 1979;xx:xx-xx.
13. Simor AE, Brunton JL, Salit IE, Vellend H, Ford-Jones L, Spence LP. *Q fever: hazard from sheep used in research.* Can Med Assoc J 1984;1013-16.
14. Spinelli JS, Ascher MS, Brooks DL, Lewis HA, Morrish RH, Rose L, Ruppner R. 1981. *Q fever crisis in San Francisco: controlling a sheep zoonosis in a lab animal facility.* Lab Anim 1981;xx:24-27.
15. Ruppner R, Brooks DL, Morrish RH, Spinelli J, Franti CE, Behymer DE. 1982. *Q fever hazards from sheep and goats used in research.* Archives 1982;103-10.

## Chapitre 8 Lignes directrices relatives aux risques particuliers

### 1. ADN recombinant et manipulations génétiques

Depuis des années, on modifie les espèces et les organismes par sélection naturelle, croisement, conjugaison et transformation. À ces méthodes se sont ajoutées de nouvelles techniques beaucoup plus efficaces, dont l'une des plus connues est la recombinaison de l'ADN. Certaines des techniques les plus récentes consistent à produire des plantes et des animaux transgéniques; le clonage du gène d'une toxine microbienne ou d'un autre gène de virulence dans un vecteur d'expression ou dans un hôte qui peut l'exprimer; la production de clones viraux infectieux complets, y compris la reconstruction de virions infectieux à partir d'un gène hybride recombinant (génie génétique inverse).

La crainte suscitée au départ par les risques possibles posés par des organismes produits ou modifiés par ces techniques a incité des pays comme le Canada, les États-Unis et la Grande-Bretagne à élaborer des lignes directrices très rigoureuses en matière de biosécurité. L'expérience a rapidement estompé ces craintes et montré que la plupart des travaux de recombinaison de l'ADN ne posent aucun risque spécifique en matière de sécurité biologique<sup>(1)</sup>.

Certains documents expliquent comment évaluer les risques associés à la recherche sur l'ADN recombinant<sup>(2,3)</sup>, mais ils sont nécessairement très généraux. Pour déterminer le niveau de confinement d'un organisme recombinant, il faut tenir compte entre autres des facteurs suivants : (1) le niveau de confinement de l'organisme receveur; (2) le niveau de confinement de l'organisme donneur; (3) la capacité de répllication de l'organisme recombinant; (4) la capacité de la protéine de l'organisme donneur à s'incorporer dans la particule recombinante; et (5) les facteurs pathogènes potentiels associés à la protéine de l'organisme donneur. Il faut évaluer chaque cas individuellement. Il est irréaliste de tenter de définir à l'avance tous les organismes recombinants qui peuvent être créés ou utilisés en laboratoire. Les demandes spécifiques portant sur l'ADN recombinant et les manipulations génétiques doivent être traitées au cas par cas en consultation avec le Bureau de sécurité des laboratoires, qu'on peut joindre par téléphone au (613) 957-1779.

Dans la très grande majorité des cas, le risque de voir apparaître un danger par suite des manipulations génétiques est extrêmement faible, car la source d'ADN, le vecteur et l'hôte sont tous sans danger. Toutefois, certaines manipulations génétiques laissent entrevoir un risque important. En général, si aucun composant de la manipulation génétique ne présente de danger connu et si leur combinaison n'en laisse raisonnablement prévoir aucun, aucune restriction biologique n'est alors nécessaire. Par contre, si un des composants de la manipulation génétique est dangereux, il faudrait, toujours de manière générale, prendre comme point de départ le niveau de confinement correspondant au danger connu. Son niveau de confinement pourrait être relevé ou diminué à la lumière des considérations suivantes : la nature du gène transféré, l'expression du gène

dans l'organisme recombinant, le confinement biologique offert par le système hôte-vecteur, les interactions prévues entre le gène transféré et le système hôte-vecteur et d'autres facteurs du même ordre. Dans tous les travaux où l'on utilise des gènes codant des produits dangereux, on devrait avoir recours à des systèmes hôte-vecteur dont la capacité de survie à l'extérieur du laboratoire est faible; l'utilisation de tels systèmes réduit le niveau de confinement nécessaire.

Voici quelques exemples :

1. Un pseudotype viral recombinant de la stomatite vésiculaire qui exprime une autre glycoprotéine virale serait de niveau 2, car le virus ne peut se répliquer.
2. Un virus recombinant de la stomatite vésiculaire qui exprime une autre glycoprotéine virale serait au moins du niveau du virus de la stomatite vésiculaire, car le virus peut se répliquer et son tropisme pourrait avoir été modifié.
3. Un virus recombinant de la vaccine exprimant une autre glycoprotéine virale serait au même niveau de confinement que la souche sauvage du virus, car la protéine ne sera pas incorporée dans la particule virale, et il est peu vraisemblable que la manipulation modifie les propriétés biologiques du virus recombinant.

## **2. Manipulation des lignées cellulaires en laboratoire**

Les lignées cellulaires (cultures de cellules) sont souvent utilisées dans les laboratoires de microbiologie à des fins diagnostiques, et dans l'industrie pour la production de produits pharmaceutiques. Depuis les années 1960, on dénombre 24 cas d'infections contractées en laboratoire par suite de la manipulation de cultures de cellules primaires<sup>(4)</sup>. Les lignées cellulaires ne posent en elles-mêmes aucun risque pour les personnes qui les manipulent en laboratoire<sup>(5)</sup>. Cependant, vu qu'elles peuvent renfermer des micro-organismes pathogènes — soit naturellement, soit par suite d'une contamination, transformation ou recombinaison — il faut évaluer le niveau de risque associé à chaque lignée<sup>(6)</sup>. Les lignées cellulaires peuvent être contaminées par des bactéries, des champignons, des mycoplasmes, des virus ou des prions.

### **2.1 Évaluation des risques**

#### **2.1.1 Lignées de cellules non recombinantes**

Chaque nouvelle lignée cellulaire utilisée en laboratoire doit faire l'objet d'une évaluation détaillée des risques, qui permettra d'établir le niveau de précautions à prendre. Cette évaluation des risques doit porter notamment sur les éléments suivants :

1. source de la lignée cellulaire : plus la lignée est proche de l'humain du point de vue phylogénétique, plus le risque est élevé (par ordre décroissant de risque : autologue humain, hétérologue humain, primate, autre mammifère, oiseau, invertébré<sup>(7)</sup>)

2. tissu source : donne une indication des contaminants possibles et des virus latents (oncogènes)
3. type de lignée cellulaire : par ordre décroissant de risque -- culture de cellules primaires, culture de cellules en continu, cultures de cellules très bien caractérisées.
4. quantité de cellules par culture
5. population source du spécimen d'où provient la lignée cellulaire.

#### 2.1.2 *Lignées de cellules recombinantes* (en plus des critères ci-dessus)

5. propriétés de la lignée cellulaire hôte (dans le cas des hybridomes, il faut prendre en compte les propriétés de chacune des cellules de départ)
6. vecteur utilisé pour la transformation (peut faire resserrer les exigences relatives au niveau de confinement)
7. transfert de séquences virales (peut entraîner le relèvement des exigences relatives au niveau du confinement)
8. transfert de facteurs de virulence (peut entraîner le relèvement des exigences relatives au niveau du confinement)
9. activation de virus endogènes (peut entraîner le relèvement des exigences relatives au niveau du confinement)
10. produit de gène recombinant (peut entraîner le relèvement des exigences relatives au niveau du confinement)
11. présence de virus auxiliaire (peut entraîner le relèvement des exigences relatives au niveau du confinement)

Lorsque toute l'information pertinente sur la lignée cellulaire a été obtenue, y compris les dangers associés au milieu qui sera utilisé pour la culture de cellule, il est possible d'évaluer les risques posés par la manipulation d'une lignée cellulaire donnée. Celle-ci devra alors être manipulée selon le niveau de confinement correspondant au degré de risque déterminé par l'évaluation.

## 2.2 ***Dangers : Contamination par des agents infectieux***

### 2.2.1 *Bactéries et champignons*

La contamination des lignées cellulaires par des bactéries ou des champignons est facile à déceler lorsqu'on cultive les cellules dans un milieu sans antibiotique, car les contaminants se multiplient beaucoup plus rapidement que les cellules<sup>(6)</sup>.

### 2.2.2 *Virus*

Contrairement aux bactéries et aux champignons, les virus sont plus difficiles à déceler. Ils présentent donc un danger non négligeable pour les personnes qui manipulent des lignées de cellulaires primaires. Un cas d'infection par le hantavirus contractée en laboratoire a pu être lié à la

manipulation de matériel provenant d'une tumeur de rat<sup>(8)</sup>. En raison de la diversité des risques associés aux lignées cellulaires, l'Organisation mondiale de la santé a proposé une classification des lignées cellulaires reposant sur la probabilité de chaque lignée de renfermer des virus pathogènes pour l'humain<sup>(9)</sup> :

**Faible probabilité** : lignées cellulaires dérivées de tissus d'oiseaux et d'invertébrés

**Probabilité moyenne** : cellules de mammifère qui ne proviennent pas du sang, p. ex. fibroblastes et cellules épithéliales

**Forte probabilité** : cellules du sang et de la moelle osseuse dérivées de primates humains ou non humains; cellules hypophysaires humaines, cellules caprines et ovines, surtout d'origine neurale, et cellules d'hybridomes provenant d'au moins un partenaire de fusion primate humain ou non humain.

Il y a aussi les oncogènes viraux et cellulaires, le plus connu étant le virus de la leucémie humaine à cellules T (HTLV-I), qui est un virus oncogène pour l'humain; il transforme les cellules normales en cellules malignes<sup>(7)</sup>.

- Les lignées cellulaires renfermant des contaminants viraux connus ou potentiels doivent être manipulées au niveau de confinement correspondant à l'agent qui pose le risque le plus élevé.

Les dangers biologiques associées aux lignées de cellules de primates doivent également être pris en compte dans la détermination du niveau de confinement requis. Les lignées cellulaires primaires dérivées de macaques peuvent contenir des herpèsvirus simiens (*Cercopithecine herpesvirus*, également connu sous le nom d'herpèsvirus B). Par conséquent, on doit appliquer le niveau de confinement approprié aux travaux effectués sur les tissus provenant de macaque :

- Tissus ou liquides organiques : niveau de confinement 2
- Matériel contenant ou pouvant contenir un herpèsvirus simien : niveau de confinement 3
- Diagnostic primaire *in vitro* : niveau de confinement 3
- Toute culture (propagation) du virus : niveau de confinement 4.

### 2.2.3 Prions

On estime que la particule infectieuse composée uniquement de protéines, le prion, est responsable des encéphalopathies spongiformes transmissibles, comme l'encéphalopathie spongiforme bovine (ESB)<sup>(10,11)</sup>.

- Les cultures de cellules provenant de bovins qui sont ou peuvent être infectés par l'agent de l'ESB doivent être manipulées dans un laboratoire NC 3 pour pathogènes animaux non indigènes.
- Le diagnostic primaire *in vitro* de cultures de cellules provenant de bovins qui sont ou peuvent être infectés par l'ESB doit être effectué dans un laboratoire NC 2 selon des protocoles NC 3.

#### 2.2.4 *Mycoplasmes*

Bien que les mycoplasmes soient une source fréquente de contamination de cultures cellulaires, aucune infection contractée en laboratoire n'a encore pu être liée à des cultures contaminées par les mycoplasmes. Toutefois, à cause de la présence des produits de mycoplasmes qui exercent une action biologique, de la stabilité des antigènes de mycoplasme<sup>(7)</sup> et du fait qu'un certain nombre de ces micro-organismes sont pathogènes pour l'humain, ils sont considérés comme dangereux dans les cultures cellulaires.

- Les lignées cellulaires contaminées par des mycoplasmes doivent être manipulées au niveau de confinement correspondant au contaminant qui présente le risque le plus élevé.

#### 2.2.5 *Parasites*

Les lignées cellulaires primaires préparées extemporanément sont plus exposées à la contamination par des parasites lorsqu'elles dérivent d'un spécimen que l'on sait ou présume infecté par un parasite pour l'humain. Le cycle de vie des parasites comporte de nombreux stades et leur caractère infectieux varie. Ce facteur doit être pris en compte dans l'établissement du niveau de confinement.

- Lorsqu'on ne connaît pas le stade du cycle de vie d'un parasite qui contamine la lignée cellulaire avec laquelle on travaille, il faut effectuer la manipulation selon le niveau de confinement correspondant au contaminant qui présente le risque le plus élevé.

### 3. **Expression de virus latents**

L'un des principaux dangers associés à la manipulation des cultures de cellules est l'expression de virus latents. Des séquences virales endogènes ont été détectées dans diverses lignées cellulaires dérivées de mammifères, y compris l'humain<sup>(6)</sup>. Il arrive que les cellules soient cultivées dans des conditions autres que celles de l'organisme (pH, concentration sérique, température, suppléments au milieu de culture, coculture). Ces traitements peuvent modifier l'expression des oncogènes ou des protéines de la surface des cellules, faire exprimer des virus latents ou provoquer des interactions entre segments de génome recombinants<sup>(7)</sup>.

- Les manipulations qui peuvent modifier le comportement « normal » des lignées cellulaires et le rendre plus « dangereux » doivent être effectuées selon le niveau de confinement correspondant à la situation qui présente le plus de danger.

#### **4. Expériences sur ses propres cellules**

Les techniques ou les expériences effectuées sur des cellules humaines provenant de la personne qui effectue la manipulation (cellules humaines autologues) sont interdites. De telles expériences exposent la personne à un risque élevé, puisque les mécanismes de protection immunitaires qui lui permettent normalement de détruire toute cellule étrangère se trouvent court-circuités<sup>(6,7)</sup>.

### **Toxines microbiennes**

#### **1. Introduction**

Les toxines biologiques englobent toute substance toxique produite par les micro-organismes, les plantes ou les animaux, par exemple, les métabolites d'organismes vivants, les produits de dégradation d'organismes morts et les substances rendues toxiques par l'activité métabolique de micro-organismes. Elles peuvent avoir des effets toxiques aussi bien aigus qu'à long terme<sup>(12, 13)</sup>. Les présentes *Lignes directrices* portent spécifiquement sur les endotoxines produites par les micro-organismes, surtout les bactéries mais aussi les champignons.

Les lignes directrices sur les toxines ont été ajoutées à la 3<sup>e</sup> édition des *Lignes directrices* à l'intention du nombre croissant de laboratoires où s'effectuent des travaux sur des toxines d'origine bactérienne. Il existe beaucoup d'information et de règlements sur les problèmes de sécurité biologique et de sécurité chimique, mais très peu sur les toxines. L'une des raisons de cette lacune est que les toxines ne cadrent dans aucune des deux catégories tout en possédant des caractéristiques de l'une et de l'autre<sup>(13)</sup>.

Contrairement aux pathogènes, les toxines ne se répliquent pas et ne sont pas transmissibles. Elles peuvent toutefois produire les effets pathologiques de maladies infectieuses et en sont l'un des principaux facteurs de virulence<sup>(12,13)</sup>.

La plupart des toxines exercent leur effet toxique à des concentrations infinitésimales. On ne dispose encore d'aucune limite d'exposition à court terme, de limite maximale ou de moyenne pondérée dans le temps à leur sujet, et les données toxicologiques sont souvent restreintes. Il n'y a pas encore de détecteur environnemental pour les toxines<sup>(13)</sup>. Il existe toutefois des différences importantes qui permettent de distinguer les toxines des produits chimiques dangereux. Les toxines sont généralement des substances non volatiles qui n'exercent pas d'effets sur le derme (à l'exception de certaines mycotoxines). Par conséquent, elles présentent surtout un danger si elles



sont en aérosol, ingérées ou injectées à travers la peau<sup>(12,13)</sup>. En appliquant les programmes de sécurité biologique et chimique en plus de pratiques visant une exposition nulle, on peut réduire les risques associés à la manipulation de toxines biologiques. Il faut prendre des précautions supplémentaires lorsqu'on travaille avec plusieurs toxines, à cause des risques d'interactions entre toxines susceptibles d'entraîner des effets combinés synergiques, nuls, antagonistes ou infraliminaires<sup>(14-16)</sup>.

## **2. Pratiques de sécurité**

Puisque la transmission et les voies d'administration des toxines ressemblent à celles des micro-organismes, les politiques et pratiques correspondant aux NC 2 et NC 3 conviennent bien à la situation. Les pratiques opérationnelles décrites au chapitre 3 et les exigences physiques énumérées au chapitre 4 doivent être appliquées là où c'est nécessaire.

En plus, il faut adopter les pratiques suivantes :

1. Élaborer un protocole de sécurité qui porte sur chaque toxine avec laquelle les employés sont appelés à travailler. Le protocole doit comprendre les éléments suivants :
  - a. mode opératoire normalisé englobant tous les aspects du travail avec les toxines, notamment : les manipulations de base et les protocoles d'expérience; leur acquisition, leur distribution et leur conservation; les techniques de décontamination, de détoxification et d'élimination.
  - b. liste de tous les dangers associés à leur utilisation normale et à ceux qui pourraient résulter d'un déversement ou d'un autre type d'accident.
  - c. politiques et pratiques de nature à réduire au minimum les risques, notamment les exigences relatives aux installations, aux vêtements et à l'équipement de protection individuelle et à la conduite à tenir en cas d'exposition accidentelle ou de déversement.
  - d. programme médical comprenant un plan de surveillance médicale, l'administration des premiers soins et la détermination de toute condition ou exclusion particulière concernant le travail avec la toxine (p. ex. vaccination).
  - e. formation documentée sur la toxine, offerte à toutes les personnes qui sont appelées à travailler avec cette toxine.
  
2. Le contrôle des stocks doit être fait soigneusement et régulièrement. Les toxines doivent être gardées sous clé (armoires, casiers, congélateurs) et être accessibles uniquement au personnel autorisé.

3. Les toxines doivent être transportées dans des contenants secondaires à l'épreuve des déversements et des fuites.
4. La préparation et la manipulation de solutions mères de toxines, la manutention de contenants primaires de toxines en poudre ainsi que toute autre opération à risque élevé doivent être effectuées sous une hotte à produits chimiques, dans une enceinte de sécurité biologique ou dans une boîte à gants (de préférence, une enceinte de sécurité biologique de catégorie 3 ou une boîte à gants) approuvée par l'agent de sécurité biologique. L'air évacué doit passer par un filtre HEPA; les filtres au charbon peuvent également être nécessaires en présence de substances volatiles. L'inspection de l'écoulement de l'air et du travail dans la zone réservée doit être faite.
5. Dans la mesure du possible, il faut travailler avec des quantités de toxines inférieures à la dose létale pour l'humain. Pour toute opération à risque élevé, il faut prévoir sur place deux personnes qualifiées à ce titre. Les activités à risque élevé comprennent entre autres : tout travail avec une quantité de toxine supérieure à la dose létale pour l'humain; la production intentionnelle d'aérosols; tout travail avec des toxines en poudre ou lyophilisées; et la création de contenants primaires. Les deux personnes doivent bien connaître toutes les opérations à effectuer, les signes et symptômes d'une exposition, les mesures d'urgence et les premiers soins; elles doivent rester en contact visuel pour pouvoir prêter assistance le plus rapidement possible en cas d'accident ou d'incident<sup>(12,13,17-19)</sup>.
6. Aux entrées du laboratoire, il faut apposer un panneau indiquant que des opérations sur des toxines sont en cours, limitant l'accès au personnel autorisé et décrivant toute condition d'accès particulière.
7. Avant leur retrait de la zone de confinement, les contenants primaires doivent être décontaminés et placés dans des contenants secondaires non contaminés.
8. Les vêtements de protection individuelle doivent être décontaminés avant d'être mis aux rebus ou lavés; si la décontamination est impossible, ils doivent être traités comme des déchets dangereux.
9. L'intérieur du dispositif de confinement (hotte, enceinte, boîte) doit être décontaminé à intervalles réguliers; des signes indiquant la présence de toxines doivent être apposés sur les enceintes qui n'ont pas été décontaminées.
10. Le personnel du laboratoire doit porter des tabliers jetables à manches longues qui couvrent tout le corps et des gants appropriés.

11. Avant d'enfiler les gants, il faut les inspecter et les gonfler pour détecter toute fuite; il faut aussi choisir soigneusement le matériau des gants. Pour les travaux avec des toxines en poudre, il faut que le matériau génère le moins d'électricité statique possible (donc, pas de latex). Les gants et les surfaces peuvent être humidifiés pour réduire l'électricité statique; le matériau des gants doit également être imperméable à la toxine et à tout diluant utilisé<sup>(12,13,17-19)</sup>.
12. Lorsque le travail s'effectue sous une hotte ou dans une enceinte ouverte, il faut porter un écran facial et un respirateur.
13. Les douches déluge et les douches oculaires doivent être accessibles dans les laboratoires où il y a des toxines; si le travail porte sur des toxines facilement absorbées par les yeux, il faut installer des douches oculaires près de chaque zone de travail.

### **3. Décontamination**

1. Les techniques de décontamination (p. ex. autoclave, désinfectants chimiques) doivent être évaluées pour chaque toxine. Il faut consulter la littérature la plus récente à ce sujet, car les méthodes varient énormément selon la toxine en cause. La concentration des solutions de décontamination doit être vérifiée régulièrement, car bon nombre des agents les plus souvent utilisés se dénaturent rapidement. Lorsque les travaux portent à la fois sur des micro-organismes et les toxines qu'ils produisent, il faut veiller à ce que l'agent infectieux et sa toxine soient tous deux neutralisés.
2. Pour la plupart des toxines protéiques, une solution d'hypochlorite de sodium, seul ou avec de l'hydroxyde de sodium, est un décontaminant efficace. Pour les surfaces, on emploiera une solution d'hypochlorite de sodium à 0,5 %. Pour les déchets solides et liquides, on peut utiliser une solution composée d'hypochlorite de sodium à 2,5 % et d'hydroxyde de sodium 0,25 N. Les déchets doivent tremper dans cette solution ou y être mélangés dans un rapport 1:1 pendant 16 heures et 8 heures respectivement<sup>(13)</sup>. Dans ce cas aussi, il faut remarquer que, pour chaque toxine, la méthode idéale peut différer; il convient donc de se renseigner au préalable.

## **Mycobactéries**

### **1. Introduction**

Dans la présente édition des *Lignes directrices en matière de biosécurité en laboratoire*, nous avons ajouté une section portant expressément sur la manipulation de *Mycobacterium tuberculosis* et de *Mycobacterium bovis* pour répondre aux demandes d'un nombre croissant de professionnels de la biosécurité. *M. tuberculosis* et *M. bovis* présentent des dangers connus pour le personnel de laboratoire, et la fréquence de tuberculose chez ces employés est trois fois plus élevée que chez ceux qui ne travaillent pas avec cette mycobactérie<sup>(17)</sup>. Bien que l'exposition à des aérosols infectieux représente le principal danger associé au travail, des lésions tuberculeuses sont survenues par suite d'inoculations accidentelles<sup>(20)</sup>. La litière de souris et de cobayes infectés dans le cadre d'expériences est aussi une source d'aérosols infectieux<sup>(17)</sup>.

Une évaluation des risques permettant de déterminer les techniques susceptibles de générer des aérosols infectieux permettra d'établir les précautions qui s'imposent pour la manipulation d'expectorations, d'autres spécimens cliniques et de cultures contenant *M. tuberculosis*. Les risques associés aux manipulations comme la préparation de frottis et de cultures primaires à partir d'échantillons cliniques ne sont pas les mêmes que ceux qu'entraînent la réalisation d'antibiogrammes et l'identification de cultures pures de *M. tuberculosis*. Par exemple, le bacille tuberculeux peut survivre dans un frottis fixé à la chaleur, mais il ne se transforme pas facilement en aérosol lorsqu'il est séché sur lame<sup>(21)</sup>. Par conséquent, la fixation des frottis doit être réalisée dans une enceinte de sécurité biologique, de préférence sur un plateau chauffant plutôt qu'à la flamme. Les frottis fixés peuvent ensuite être retirés de l'enceinte en toute sécurité pour la coloration résistante à l'acide. Lorsque la présence de bactéries viables n'est plus nécessaire, la préparation des frottis peut être faite sans danger à découvert sur la paillasse après avoir traité les échantillons à l'aide d'un volume égal de solution d'hypochlorite de sodium à 5 % pendant 15 minutes<sup>(17)</sup>. Vu le risque accru de production d'aérosol résultant de la manipulation de mycobactéries en suspension dans un milieu liquide, en particulier s'il contient des agents dispersants, l'ouverture des tubes, le pipetage, le transfert et la sonification du milieu de culture doivent être effectués dans une enceinte de sécurité biologique.

Les exigences et les recommandations relatives à la manipulation de spécimens d'expectorations par rapport à celle de cultures pures de *M. tuberculosis* ont été revues. Elles prévoient désormais une détermination stratifiée du niveau de confinement, en fonction du type de techniques utilisées (voir la description ci-dessous). Une stratification détaillée des tâches reposant sur le risque de propagation de la tuberculose par aérosol est décrite ailleurs<sup>(22)</sup>. Les laboratoires qui ne travaillent que sur des frottis de bacilles résistants à l'acide et qui font des inoculations, mais qui n'effectuent pas la propagation de ces micro-organismes, sont traités distinctement de ceux qui isolent et identifient les micro-organismes. Ainsi, dans un laboratoire NC 2, on peut manipuler des bacilles tuberculeux pour les colorer, les transférer et les incubés, puis les envoyer à un laboratoire NC 3 lorsqu'il y a propagation des bacilles. Les méthodes radiométriques utilisées pour l'isolement, l'identification et la détermination de la sensibilité ont également été incluses dans cette démarche.

Les mycobactéries autres que *M. tuberculosis* et *M. bovis* peuvent être manipulées en toute sécurité au niveau de confinement 2.

## **2. Niveaux de confinement stratifiés**

Il est recommandé que les activités suivantes soient effectuées dans un laboratoire doté des caractéristiques physiques NC 2 mais avec des pratiques opérationnelles NC 3 :

1. manipulation d'échantillons cliniques\* (p. ex. digestion et décontamination d'expectorations)
2. préparation de frottis et de cultures primaires à partir d'échantillons cliniques\*
3. fixation des frottis\*
4. coloration des frottis
5. lecture de lames de frottis et de cultures cellulaires dans des récipients fermés (p. ex. tubes et plaques)
6. centrifugation d'échantillons cliniques dans des godets ou rotors de sécurité scellés, qui sont ouverts et refermés dans une enceinte de sécurité biologique
7. inoculation de flacons pour utilisation dans un appareil automatisé\*.

Les activités marquées d'une astérisque\* doivent être effectuées dans une enceinte de sécurité biologique certifiée, située à l'écart des zones de circulation et des autres postes de travail du laboratoire. Le transport et le déplacement de frottis et de cultures (p. ex. tubes et plaques) à l'intérieur du laboratoire représentent un danger reconnu. Les frottis et cultures doivent toujours être transportés dans un contenant fermé approprié, de préférence sur un chariot de laboratoire muni de rebords ou de barres de retenues. Il faut également élaborer des mesures d'urgence en cas de déversement, de bris de tubes ou de plaques ou de tout autre accident pouvant survenir en cours de déplacement.

Le chargement, le déchargement et le transport de flacons à destination et en provenance des appareils de détection présentent aussi un danger reconnu. Il faut appliquer les mesures décrites ci-dessus. Les fioles avec revêtement de sécurité ainsi qu'un tapis de caoutchouc installé au sol autour de l'instrument sont recommandés pour réduire le risque de bris advenant la chute d'un flacon.

Il est recommandé que les activités suivantes soient effectuées dans un laboratoire doté des caractéristiques physiques NC 3 avec des pratiques opérationnelles NC 3 :

1. identification, différenciation, antibiogrammes et autres manipulations de cultures pures
2. études animales
3. travaux de recherche

Veillez noter que le terme « manipulation » correspond entre autres à l'ouverture des contenants et non pas au transfert ou à la lecture de récipients fermés. Sauf si la bactérie a été inactivée au préalable, des aérosols infectieux peuvent se former au cours de la préparation de suspensions, avant l'examen à l'aide d'une sonde, et au cours de la lyse des cellules par sonification.

### **3. Mesures de sécurité**

#### **3.1 *Vêtements de protection***

Toute personne qui travaille dans une enceinte de sécurité biologique en laboratoire de niveau 2 pour la tuberculose doit porter des gants et un sarrau ou une blouse de laboratoire (couvrant les parties du corps qui pénètrent dans l'enceinte, et dont le devant est fait d'une seule pièce et les poignets s'insèrent dans les gants. Ces articles ne doivent pas être portés à l'extérieur de la zone immédiate de travail. À ce niveau de confinement, le port du respirateur n'est pas obligatoire.

Avant d'entrer dans un laboratoire de niveau 3 pour la tuberculose pour leur travail, les employés doivent ôter leurs vêtements de ville et revêtir des vêtements de laboratoire, ce qui comprend notamment bas, souliers et couvre-chef appropriés. Le port de vêtements de protection qui recouvrent complètement les vêtements de ville est une autre solution acceptable. Advenant une exposition manifeste ou soupçonnée, il faut faire décontaminer tous les vêtements, y compris les vêtements de ville. Il est préférable de ne pas porter de bijoux en laboratoire, mais cette question doit prendre en compte les considérations individuelles et les sensibilités culturelles. Pour le travail effectué dans une enceinte de sécurité biologique, le personnel doit enfiler une deuxième série de vêtements de protection, comprenant gants, chemises à devant uni et à poignets qu'il faut insérer dans les gants, ou une protection équivalente, et utiliser un respirateur (au moins N95) (voir 3.2 Appareils de protection respiratoire). Ces vêtements ne doivent pas être portés à l'extérieur de la zone immédiate de travail.

#### **3.2 *Protection respiratoire***

Dans un laboratoire NC 3 pour la tuberculose, il faut porter un respirateur pour tout travail effectué dans l'enceinte de sécurité biologique ou dans la même pièce qu'un autre employé qui travaille dans l'enceinte de sécurité biologique. Le respirateur recommandé est le N95, et il est offert dans une variété de tailles et de modèles qui assurent le confort de l'utilisateur. Ce respirateur doit être jeté après usage. Les respirateurs à adduction d'air filtré à pression positive intermittente sont recommandés pour des applications spécifiques, notamment le travail avec les animaux et le nettoyage de déversements. Les respirateurs doivent être bien ajustés et un programme de formation doit être instauré conformément à la norme Z94.4-93.5 de l'Association canadienne de normalisation intitulée *Choix, entretien et utilisation des respirateurs*<sup>(23)</sup>.

### 3.3 *Douche*

À la sortie d'un laboratoire NC 3 pour la tuberculose, les employés qui ont porté les vêtements de protection couvrant tout le corps ne sont pas tenus de se doucher. La douche doit être prise s'il y a exposition présumée (dans certaines situations, c'est exclu, p. ex. déversement à côté du vestiaire « contaminé » ou de la douche), et il faut que les protocoles soient établis en fonction des besoins de chaque laboratoire. La manipulation d'autres micro-organismes peut exiger la prise d'une douche à la sortie, c.-à-d. dans les laboratoires de confinement multifonctionnels.

## 4. *Désinfection*

Les phénols sont largement utilisés dans les laboratoires où le personnel travaille avec des mycobactéries. Leur efficacité varie grandement. Il est recommandé que tout nouveau produit à base de phénol soit mis à l'épreuve au laboratoire avant d'être utilisé systématiquement (voir ci-dessous).

Le chlore, l'iode et l'éthanol (contact de 10 minutes), le glutaraldéhyde (contact de 20 minutes), le formaldéhyde et le peroxyde d'hydrogène sont tous des désinfectants efficaces contre les mycobactéries<sup>24,25</sup>. Les composés d'ammonium quaternaire sont généralement inefficaces à ce titre, mais ce sont de bons nettoyeurs pour les tâches générales.

L'efficacité des techniques de désinfection varie selon divers facteurs, notamment la présence de matière organique, la température, l'humidité relative, la concentration du désinfectant et la durée du contact. Chacun de ces paramètres doit être soigneusement évalué et déterminé selon les propriétés du désinfectant et la technique de désinfection en cause.

Voici un protocole simple pour évaluer l'efficacité d'un désinfectant :

1. appliquer sur une surface dure (petit disque en verre ou en acier inoxydable) 10 µl de la suspension à évaluer dont le titre est élevé;
2. faire sécher à la température de la pièce dans des conditions stériles;
3. appliquer le désinfectant sur la surface contaminée (bien couvrir toute la surface contaminée); comme témoin, appliquer une solution non toxique sur une deuxième surface contaminée;
4. laisser le désinfectant ou la solution témoin non toxique agir pendant la durée voulue (au moins une minute);
5. dès la fin de la période de contact, immerger le disque dans une solution non toxique (volume suffisant pour neutraliser le désinfectant par dilution; si nécessaire, utiliser une solution neutralisante spécifique) pour stopper l'action du désinfectant et éluer tout micro-organisme viable du disque;

6. faire des dilutions successives de l'éluat, puis déterminer le titre de la bactérie par numération ou dosage sur plaque;
7. comparer la croissance sur la plaque témoin et la plaque désinfectée; déterminer la réduction du titre et l'efficacité du désinfectant testé.

(Variante : la suspension de bactéries évaluée peut être incorporée à une matière organique (p. ex. un échantillon d'expectoration); le contact peut être plus long dans le cas des désinfectants pour instruments qui agissent par trempage; on peut utiliser diverses surfaces d'application.)

## **Lignes directrices de confinement pour les travaux avec des arthropodes**

### **1. Introduction**

Différents types d'arthropodes peuvent se trouver dans un laboratoire à des fins de recherche. Il peut s'agir d'arthropodes ramassés dans la nature ou provenant d'un insectarium. Certains peuvent avoir été modifiés génétiquement ou contenir des microbes modifiés. Il est important de confiner ces arthropodes, car s'ils sont infectés par un pathogène pour l'humain, ils présentent un danger pour quiconque entre en contact avec eux. Même non infectés, les arthropodes peuvent également présenter un risque pour la collectivité s'ils sont des vecteurs potentiels de pathogènes circulant dans la région où ils se trouvent en liberté. La création de vecteurs exotiques dans une région donnée peut également entraîner des cycles de transmission de nouvelles maladies ou de nouveaux problèmes d'insectes nuisibles. Il demeure donc important d'établir des lignes directrices pour le confinement des arthropodes qui peuvent transmettre des pathogènes dangereux pour la santé publique. Ces lignes directrices doivent porter sur tous les stades du cycle de vie des organismes suivants : insectes (diptères - moustiques, mouches tsé-tsé, simulies [mouches noires], phlébotomes, moucheron; hémiptères - réduves; anoploures - poux; siphonaptères - puces); et arachnides (acariens - tiques et autres). Il importe de noter que bon nombre d'arthropodes comme les drosophiles, les blattes, les lépidoptères et les coléoptères sont utilisés dans diverses études entomologiques ou à des fins éducatives et ne sont pas visés par les présentes *Lignes directrices*.

Les risques associés à la recherche sur les vecteurs dans les laboratoires comprennent les effets directs comme les morsures, les infestations et la myiase, ainsi que la morbidité et la mortalité dues aux pathogènes transmis. La morbidité et la mortalité sont les principaux éléments servant à déterminer le niveau de confinement nécessaire. Les facteurs à considérer sont notamment le niveau de confinement du pathogène à l'étude, l'état naturel de l'infection de l'arthropode par ce pathogène, sa mobilité et sa longévité, son potentiel reproducteur et les facteurs épidémiologiques influant sur la transmission du pathogène par l'arthropode à l'endroit proposé ou dans la région à risque. Il existe des lignes directrices sur l'aménagement et l'exploitation des insectariums



(installations d'élevage d'insectes) et sur le travail avec des vecteurs arthropodes<sup>(26-33)</sup>. Vous trouverez ci-dessous des orientations générales et des éléments à prendre en considération relativement à la sécurité biologique.

## **2. Niveaux de confinement des arthropodes**

Le niveau de confinement d'un arthropode infecté doit toujours correspondre au moins à celui du pathogène qu'il héberge. Par exemple, pour la manipulation d'arthropodes infectés ou présumément infectés par une substance imposant le niveau de confinement 2, il faut appliquer le niveau de confinement 2; de même, les niveaux de confinement 3 ou 4 doivent être appliqués dans les cas des arthropodes qui sont ou peuvent être infectés par des agents infectieux imposant un niveau de confinement 3 ou 4. Des arthropodes non infectés qui sont exotiques pour la région où se situe le laboratoire doivent être manipulés en NC 2, au minimum. Certaines circonstances entraîneront un niveau de confinement plus élevé (p. ex. les répercussions potentielles sur la santé animale de la dispersion accidentelle d'un vecteur de zoonose; l'importation d'un arthropode exotique étroitement apparenté à une espèce endémique). Les arthropodes génétiquement modifiés imposent un NC 2. Pour le travail avec des arthropodes non infectés qui ne sont pas exotiques pour la région où se situe le laboratoire ou avec des arthropodes infectés par un organisme non pathogène, aucun niveau de confinement n'est prescrit.

## **3. Installations de confinement des arthropodes**

Les insectariums doivent être conçus et aménagés de manière à empêcher les arthropodes de s'échapper. Voici les recommandations générales à ce titre (en plus des exigences physiques et opérationnelles s'appliquant au niveau de confinement requis) :

1. L'entrée dans l'insectarium doit se faire par un vestibule ou une antichambre formant une série de barrières successives.
2. Les portes doivent s'ouvrir vers l'intérieur afin de repousser les éventuels « fuyards » dans la pièce.
3. Des barrières supplémentaires (p. ex. moustiquaires à fermetures éclair) peuvent être installées dans les ouvertures de porte.
4. Les surfaces (p. ex. revêtements de sol, murs et plafonds), à l'exclusion des rayonnages et des plans de travail, doivent être de couleur claire pour que tout fuyard soit rapidement repéré et tué.
5. Les murs, les revêtements de sol et les plafonds doivent être dépourvus de joints ou scellés, de manière à en faciliter le nettoyage et la désinfection; les revêtements de finition

doivent être résistants à l'humidité élevée et à la désinfection; il faut éviter de mettre des paillassons au sol, car ils peuvent constituer des microhabitats favorisant la reproduction des insectes.

6. Les ouvertures (p. ex. conduits, tuyauterie, appliques d'éclairage), les espaces autour des portes, les entrées vers l'intérieur de tous les caissons climatiques, réfrigérateurs, etc. doivent être scellés ou munis de moustiquaires suffisamment fins pour empêcher les arthropodes de s'échapper.
7. Les systèmes de drainage doivent être modifiés de manière à empêcher la reproduction des arthropodes (p. ex. par des filtres ou des pièges biocides).
8. Les pièces d'équipement et les fournitures à l'intérieur de l'insectarium doivent être restreints au strict minimum pour éviter de fournir des « cachettes » aux arthropodes qui se seraient échappés.
9. Si différentes espèces sont hébergées dans l'insectarium, elles doivent être logées dans des zones distinctes, séparées par des moustiquaires.
10. Les spécimens qui sont ou peuvent être (attrapés dans la nature) infectés doivent être mis dans une cage double.
11. L'intégrité de tous les moustiquaires, cages et contenants de transport doit être vérifiée toutes les semaines (trous ou usure).

#### **4. Manipulations des arthropodes**

Les manipulations d'arthropodes doivent être effectuées uniquement dans les dispositifs correspondant au niveau de confinement requis par le vecteur ou le pathogène (p. ex. cages munies de moustiquaires et ouvertures pour gants, boîtes à gants, enceintes de sécurité biologique). Pour manipuler en toute sécurité et efficacité les moustiques et les autres arthropodes volants, il faut les anesthésier au préalable au moyen de techniques appropriées (p. ex. refroidissement au réfrigérateur ou exposition au gaz carbonique). Pour manipuler les arthropodes anesthésiés, il est recommandé de les placer sur une table réfrigérante et d'utiliser des pinces ou des aspirateurs mécaniques. Au cours de la manipulation, il faut tenir en permanence un compte des arthropodes utilisés. Il faut tenir des dossiers exacts tout au cours de l'expérience pour que tous les arthropodes soient bien comptabilisés. Les personnes qui travaillent avec les arthropodes doivent participer à un programme de surveillance médico-sanitaire; toute morsure ou piqûre d'arthropode et toute exposition potentielle à des substances infectieuses doit être prise en charge immédiatement.

## 5. Plan d'action en cas de fuite d'arthropodes

Tout arthropode qui s'est échappé doit être immédiatement détruit au moyen d'un tue-mouches ou capturé par aspiration mécanique. Il ne faut pas utiliser un dispositif d'aspiration par la bouche ou les tuer à main nue, puisque ces méthodes peuvent exposer l'humain aux pathogènes. S'il y a fuite à l'intérieur d'un caisson climatique, une hausse suffisante de la température permettra de tuer tous les arthropodes. Dans l'insectarium, on peut installer divers pièges à insectes (rayons ultraviolets, ruban adhésif, etc.) et utiliser des insecticides pour capturer et tuer tout arthropode en liberté. Lorsque l'insectarium héberge des mouches, on peut aussi utiliser des pièges d'oviposition pour s'assurer que les mouches qui se sont échappées ne se reproduisent pas. Aucune source d'eau ou de nourriture à l'air libre qui n'est pas surveillée ne doit être accessible aux mouches en liberté. L'insectarium doit être tenu en bon ordre et nettoyé à fond toutes les semaines. Un plan d'action spécifique doit être instauré en cas de fuite accidentelle d'arthropodes infectés ou exotiques.

## 6. Vérification de l'intégrité du système

Avant de placer des arthropodes infectés dans un endroit donné, on recommande de vérifier l'efficacité des barrières physiques installées pour les empêcher de s'échapper. La vérification de l'intégrité de ces barrières doit être effectuée en libérant un certain nombre d'arthropodes exempts de pathogènes à l'intérieur de la zone de confinement et en suivant leurs déplacements (pièges à insectes). Idéalement, l'intégrité du confinement doit être vérifiée pour chacune des espèces d'arthropode utilisées, et pour différents types d'arthropodes de la même espèce.

## Références

1. Santé Canada. *Lignes directrices en matière de biosécurité en laboratoire*, 2<sup>e</sup> édition. Ottawa : Approvisionnement et Services Canada, Ottawa, 1996.
2. National Institutes of Health. *Guidelines for research involving recombinant DNA molecules*. Federal Register (with subsequent amendments) 59 Federal Register 34496. July 5, 1995.
3. National Institutes of Health. *NIH guidelines for research involving recombinant DNA molecules*. 66 Federal Register 1146. January 2001.
4. Davidson WL, Hummeler K. B virus infection in man. *Ann NY Acad Sci* 1961;85:970-79.
5. National Research Council. *Safe handling of infectious agents*. In: *Biosafety in the laboratory: prudent practices for the handling and disposal of infectious materials*. Washington, DC: National Academy Press, 1989; 13-33.

6. Frommer W. *Safe biotechnology (5): recommendations for safe work with animal and human cell cultures concerning potential human pathogens*. Appl Microbiol Biotech 1993;39:141-141.
7. Doblhoff-Dier O, Stacey G. *Cell lines: applications and biosafety*. In: Fleming DO, Hunt DL. *Biological safety principles and practices*. Washington, DC: ASM Press, 2000; 221-39.
8. Lloyd G, Jones N. *Infection of laboratory workers with hantavirus acquired from immunocytomas propagated in laboratory rats*. J Infect 1986;12:117-25.
9. Organisation mondiale de la santé. *Manuel de sécurité biologique en laboratoire*. Genève OMS, 1997.
10. Griffith JS. *Self-replication and scrapie*. Nature 1967;xx:1043-44.
11. Prusiner SB. *Novel proteinaceous infectious particles cause scrapie*. Science 1982;1365-144.
12. American Industrial Hygiene Association. *Biosafety reference manual*. Fairfax, VA: AIHA, 1995.
13. Johnson B, Mastnjak R, Resnick G. *Safety and health considerations for working with biological toxins*. In: Styger EJ. *Anthology of biosafety II. Facility design considerations*. Mundelein, IL: American Biological Safety Association, 2000; 88-113.
14. Koshinsky HA, Khachatourians GG. *Trichothecene synergism, additivity and antagonism: the significance of the maximally quiescent ratio*. Natural Toxins 1992;1:38-47.
15. Koshinsky HA, Khachatourians GG. *Other forms of mycotoxicoses: the effects of mycotoxin combinations*. In Hui YH, editor in chief. *Handbook of foodborne diseases*, volume 2. New York, NY: Marcel Dekker Inc., 1994; 463-520.
16. Koshinsky HA, Woytowich AL, Khachatourians GG. *Mycotoxicoses: the effects of interactions with mycotoxins*. In: Hui YH, Smith RA, Spoerke DG, eds. *Foodborne disease handbook, volume 3: Plant toxicants*. New York, NY: Marcel Dekker Inc., 1999; 627-52.

17. Richmond JY, McKinney RW. *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*. Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 1999.
18. *Biological defense safety program, technical safety requirements*. Title 32. Code of Federal Regulations Part 627, 1992.
19. *Biological defense safety program, technical safety requirements*. Title 32. Code of Federal Regulations Part 626, 1992.
20. Collins CH, Kennedy DA. *Laboratory-acquired infections*. In: *Laboratory-acquired infections: history, incidence, causes and preventions*. Oxford, UK: Butterworth-Heinemann, 1999; 1-37.
21. Allen BW. Survival of tubercle bacilli in heat-fixed sputum smears. *J Clin Pathol* 1981;34:719-22.
22. Gilchrist MJR, Fleming DO. *Biosafety precautions for Mycobacterium tuberculosis and other airborne pathogens*. In: Fleming DO, Hunt DL. *Biological safety principles and practices*. Washington, DC: ASM Press, 2000; 209-19.
23. Association canadienne de normalisation. *Choix, utilisation et entretien des respirateurs* . A94.4-93. Etobicoke (Ontario) Association canadienne de normalisation, 1993.
24. Vesley D, Lauer JL, Hawley RJ. *Decontamination, sterilization, disinfection and antisepsis*. In: Fleming DO, Hunt DL. *Biological safety principles and practices*. Washington, DC: ASM Press, 2000; 383-402.
25. Best M et al. *Efficacies of selected disinfectants against Mycobacterium tuberculosis*. *J Clin Microbiol* 1990;28:2234-39.
26. *Arthropod containment guidelines*. Draft version 2.3. American Committee of Medical Entomology, 2001. URL:  
<http://klab.agsci.colostate.edu/~mbenedic/ACGdocuments/ACGdraftv23.pdf>
27. Cosgrove JB, Wood RJ, Petric D, Evans DT, Abbott HR. *A convenient mosquito membrane feeding system*. *J Am Mosquito Control Assoc* 1994;10:434-36.

28. Gerberg EJ, Bernard DR, Ward RA. *Manual for mosquito rearing and experimental techniques*. American Mosquito Control Association Inc. Bulletin 5 (revised). Lake Charles, LA: American Mosquito Control Association, 1994.
29. Hastriter MW, Robinson DM, Cavanaugh DC. *An improved apparatus for safely feeding fleas (*Siphonaptera*) in plague studies*. J Med Entomol 1982;17:387-88.
30. Higgs S, Beaty BJ. *Rearing and containment of mosquito vectors*. In Beaty BJ, Marquardt WC, eds. *The biology of disease vectors*. Niwot, CO: University Press of Colorado, 1996; 595-606.
31. Hunt GJ, Tabachnick WJ. *Handling small arbovirus vectors safely during biosafety level 3 containment: *Culicoides variipennis sonorensis* (Diptera: Ceratopogonidae) and exotic bluetongue viruses*. J Med Entomol 1996;33:271-77.
32. Jones LD, Davies CR, Steele GM, Nuttall PA. *The rearing and maintenance of ixodid and argasid ticks in the laboratory*. Animal Technology 1988;39:99-106.
33. Shroyer DA. *A mechanical aspirator for safe transfer of arbovirus-infected mosquitoes within containment chambers*. J Am Mosquito Control Assoc 1989;5:269-71.

## Chapitre 9 Décontamination

### 1. Introduction

Malgré le principe de biosécurité selon lequel toute substance contaminée doit être décontaminée avant d'être éliminée ou mise aux rebuts, la confusion demeure au sujet de certains termes de base et de l'efficacité de différentes techniques. La décontamination comprend à la fois la stérilisation (destruction complète de tous les micro-organismes, y compris les spores bactériens) et la désinfection (destruction de certains types de micro-organismes). Plusieurs auteurs ont dressé des listes des divers décontaminants, de leur efficacité contre différentes catégories de micro-organismes, de leurs principales caractéristiques et de leur application la plus indiquée dans les laboratoires, tant en recherche qu'en clinique<sup>1-4</sup>. Il appartient à chaque employé de laboratoire d'utiliser ces décontaminants d'une manière efficace avant de mettre une substance contaminée aux rebuts; d'enlever le matériel, l'équipement et les échantillons des zones de confinement; de faire laver les vêtements; de décontaminer les surfaces et les locaux; de nettoyer les déversements de matières infectieuses. Ces pratiques constituent une barrière de confinement primordiale. En effet, tout manquement aux règles de la décontamination peut entraîner une exposition à des agents infectieux ou la dissémination involontaire d'agents infectieux hors de la zone de confinement. Il y a eu des cas d'infection à *M. tuberculosis* chez des employés, par suite d'une exposition à des déchets contaminés<sup>5</sup>, ainsi que des cas d'infections à *C. burnetii* chez les employés d'une buanderie commerciale, présumément attribuables à une mauvaise décontamination préalable des sarraus et chemises de laboratoire<sup>6,7</sup>.

La plupart des provinces et territoires canadiens ont élaboré des lignes directrices ou des règlements relatifs au traitement des déchets biomédicaux, ou sont en voie de le faire. Les techniques de traitement utilisées dans chaque laboratoire sont dictées par les normes en vigueur dans chaque province et territoire. Le Conseil canadien des ministres de l'environnement (CCME) a également établi des normes nationales minimales pour la définition, la manutention, le traitement et l'élimination des déchets biomédicaux<sup>8</sup>. Les présentes lignes directrices visent à promouvoir l'uniformité des pratiques et à fixer des normes nationales minimum concernant la prise en charge des déchets biomédicaux au Canada. Il faut également consulter les organismes de réglementation provinciaux, territoriaux et municipaux, qui peuvent avoir des exigences plus strictes.

Tel qu'indiqué dans les exigences opérationnelles décrites ailleurs dans le présent document, toute matière contaminée doit être décontaminée avant d'être mise aux rebuts ou nettoyée. La méthode sera choisie en fonction de la nature de la matière en cause, par exemple, milieux de culture, solutions mères, spécimens cliniques, appareils et articles de laboratoire, objets pointus et tranchants, vêtements de protection et tout autre article qui a été en contact avec des matières infectieuses. Les paillasses et les plans de travail doivent être décontaminés après tout déversement de matière potentiellement infectieuse et à la fin du quart de travail. Les locaux de

laboratoire et les gros appareils peuvent également devoir être décontaminés (c.-à-d. avant tout entretien, réparation, déménagement ou réaffectation). Pour chaque technique, il faut élaborer par écrit un protocole spécifique. Les employés doivent avoir suivi une formation sur toutes les techniques de décontamination liées à leurs tâches et connaître les facteurs qui influent sur l'efficacité de chacune d'elles (voir ci-dessous).

## **2. Autoclaves**

Dans un laboratoire, les déchets infectieux (boîtes de Pétri, pipettes, tubes de culture, verrerie, etc.) peuvent être décontaminés efficacement dans un autoclave à vapeur directe ou un autoclave à extraction d'air. Dans les autoclaves à extraction d'air, l'air est extrait de la charge au moyen d'une pompe à vide (sauf pour les cycles liquides) avant que la vapeur saturée ne pénètre dans la charge, ce qui permet d'éviter que l'air soit piégé pendant la pénétration de la vapeur par gravité.

L'efficacité de la décontamination par la vapeur dépend des divers facteurs qui influent sur la température à laquelle le matériel est soumis et de la durée du contact. Une attention particulière doit être portée à l'emballage, ainsi qu'aux dimensions des contenants et à leur distribution à l'intérieur de l'autoclave. Les contenants doivent avoir une bonne perméabilité à la vapeur et être disposés dans la chambre de manière que la vapeur circule librement autour d'eux. S'ils sont trop rapprochés les uns des autres, la vapeur ne pénétrera pas bien. De la même façon, l'empilage des contenants et la surcharge de l'autoclave sont déconseillés, car ils peuvent compromettre la décontamination.

Par ailleurs, il faut établir des paramètres de fonctionnement efficaces pour les autoclaves en déterminant les charges standard et la durée de traitement, au moyen de thermocouples et d'indicateurs biologiques placés au centre de la charge (l'endroit le plus difficile à décontaminer). Les indicateurs biologiques servent également pour la vérification régulière (p. ex. toutes les semaines, selon la fréquence d'utilisation) du procédé de stérilisation. Un indicateur biologique est une population normalisée de spores bactériens servant à indiquer si les conditions de stérilisation de la charge sont adéquates. Il doit être choisi en fonction de l'usage prévu (p. ex. charge sèche ou liquide, système autonome, méthode enzymatique rapide). Les indicateurs chimiques sont destinés à être utilisés de concert avec les indicateurs biologiques et les paramètres physiques (c.-à-d. pression et température). Ils fournissent des données instantanées sur le résultat de chaque cycle de stérilisation, mais ne doivent toutefois pas être utilisés comme seuls indicateurs de la stérilité. Favero présente une bonne synthèse des différents types d'indicateurs biologiques, chimiques et physiques, ainsi que de leur utilité<sup>9</sup>. Les résultats donnés par les indicateurs biologiques doivent être consignés par écrit et conservés.

## **3. Désinfection chimique**

Les désinfectants chimiques servent à décontaminer les surfaces et l'équipement qui ne peuvent être autoclavés, les contenants de spécimens et autres articles retirés de la zone de confinement, les



déversements de matières infectieuses, les laboratoires, les enclos des animaux et autres locaux, ainsi que divers autres articles qui ne peuvent être soumis à des températures élevées. Le choix du désinfectant dépend de la résistance du micro-organisme visé. Les plus sensibles sont les bactéries végétatives, les champignons et les virus à enveloppe<sup>2,3</sup>. Les mycobactéries et les virus sans enveloppe sont moyennement résistants, tandis que les spores bactériens et les kystes de protozoaires sont généralement les plus résistants à la désinfection chimique<sup>2,4</sup>. Il faut également prendre en compte la faisabilité de la technique, la stabilité des matières, la compatibilité du désinfectant avec les matières, ainsi que les risques pour la santé humaine, comme l'indiquent Vesley et ses collaborateurs<sup>1</sup>.

Il existe habituellement des différences flagrantes entre l'activité des désinfectants selon qu'ils sont utilisés en laboratoire ou dans des conditions contrôlées qui servent à produire des données sur l'efficacité en vue de l'homologation des produits. Les protocoles officiels utilisés pour évaluer l'activité des désinfectants font actuellement l'objet d'un examen<sup>10</sup>. L'efficacité d'une technique de désinfection peut varier en fonction de la présence de matière organique, de la température, de l'humidité relative, de la concentration de désinfectant et de la durée de contact<sup>2,4</sup>. Par exemple, la présence de matières organiques (p. ex. sang, sérum, expectorations) atténue l'effet des hypochlorites, car une réaction entre le désinfectant et la matière organique diminue la concentration effective de désinfectant<sup>4</sup>. Dans certains cas, il peut être avantageux pour les laboratoires d'effectuer leur propre évaluation des désinfectants dans des conditions déterminées. L'une des principales méthodes d'évaluation consiste à contaminer volontairement une surface, à l'immerger dans une dilution appropriée du désinfectant, à neutraliser le désinfectant par dilution et à déterminer dans quelle mesure les micro-organismes ont été détruits<sup>11</sup>. On peut utiliser un protocole similaire pour vérifier l'efficacité des désinfectants utilisés dans les réceptacles à déchets : on ajoute un inoculum au désinfectant et, après une période de temps déterminée, on neutralise le désinfectant par dilution et on prélève un certain volume de la solution pour déterminer la quantité de micro-organismes survivants<sup>11</sup>.

Choisir un désinfectant peut être une tâche fastidieuse à cause du grand nombre de produits sur le marché. Il existe de plus en plus de nouveaux produits et moyens de désinfection<sup>12</sup>. Il n'en demeure pas moins que les ingrédients actifs des désinfectants appartiennent à un nombre relativement restreint de classes de produits chimiques (p. ex. hypochlorites, composés d'ammonium quaternaire, phénols, iode et ses dérivés, alcools). Il suffit de connaître les propriétés et les limites de chacune de ces classes pour choisir un produit en fonction de son efficacité relative.

#### **4. Décontamination gazeuse des locaux**

La décontamination des locaux par fumigation n'est généralement nécessaire qu'aux niveaux de confinement 3 et 4, dans des circonstances particulières (p. ex. après un déversement ou la

dissémination accidentelle de matières infectieuses, pour le déplacement d'un gros appareil hors de la zone de confinement, avant l'entretien d'un appareil ou d'un système contaminé, avant la vérification des systèmes de contrôle du CVCA). Vu les dangers posés par l'exposition à des produits chimiques dangereux (formaldéhyde), la décontamination gazeuse doit être effectuée uniquement par du personnel ayant reçu la formation appropriée. Cette intervention est assujettie à la règle du travail en binôme (pas de personne seule), et les deux personnes doivent être formées en conséquence et habituées à utiliser un respirateur autonome. Le protocole recommandé consiste en la dépolymérisation du paraformaldéhyde dans une pièce scellée de manière à obtenir une concentration du produit dans l'air de 0,3 g/pied cube<sup>(1)</sup>. Après au moins 6 heures, le formaldéhyde est neutralisé par du carbonate d'ammonium, et la pièce est ventilée et aérée<sup>(1)</sup>. Il faut ensuite mesurer, dans le local et ses environs, la concentration de formaldéhyde et de carbonate d'ammonium dans l'air. Lorsque les concentrations se situent sous les limites d'exposition, le personnel peut y entrer sans porter l'équipement de protection. La décontamination est efficace à une température minimale de 21 °C et à une humidité relative de 70 %<sup>(1)</sup>. Il faut utiliser les indicateurs biologiques pour déterminer l'efficacité de la technique de décontamination gazeuse<sup>(13)</sup>.

La vaporisation de peroxyde d'hydrogène a été proposée comme moyen de désinfection plus sécuritaire que la fumigation de formaldéhyde. Cette technique consiste à vaporiser une solution de peroxyde d'hydrogène à 30 % de manière à obtenir environ 1200 ppm. Le peroxyde se dégrade en oxygène et en eau, qui sont non toxiques. Cette technique non destructive a été utilisée avec succès pour la décontamination d'articles de laboratoire (p. ex. téléphone, appareil-photo, ordinateur, pipette, perceuse électrique) devant sortir d'une zone de confinement<sup>14</sup>. Cette technique pourra avoir des applications commerciales dans la mesure où certains problèmes seront résolus, notamment la taille encombrante de la génératrice de vapeur de peroxyde d'hydrogène, qui est telle qu'il est impossible de décontaminer certains endroits exigus (p. ex. sas, petites pièces).

## **5. Systèmes de traitement des effluents liquides**

Les effluents liquides des laboratoires NC 4 (et les laboratoires NC 3 où sont manipulés des zoopathogènes non indigènes) doivent être traités. Ce traitement assure la décontamination des effluents liquides provenant des éviers, des douches, des enceintes d'autoclaves et des autres drains. Ces systèmes représentent en fait une intervention secondaire, puisqu'aucun micro-organisme infectieux ne doit être versé directement dans un drain sans traitement préalable (c.-à-d. ajout de désinfectant chimique). Les paramètres de décontamination (c.-à-d. durée et température, dans le cas des systèmes à la chaleur) doivent être définis en fonction des micro-organismes visés. La température et la pression internes des citernes d'effluents et la durée de la décontamination doivent être consignés pendant tout le cycle. Les systèmes de décontamination faisant appel à des produits chimiques peuvent être utiles et commodes à petite échelle pour de plus faibles volumes d'effluents liquides. À la sortie du système de traitement, les liquides décontaminés doivent être conformes à tous les règlements applicables (p. ex. règlements

municipaux concernant la température, la teneur en certains produits chimiques et métaux, en solides en suspension, en huiles et en graisses, ainsi que la demande biochimique en oxygène).

## **6. Irradiation**

L'irradiation gamma (p. ex.  $^{60}\text{Co}$ ) peut servir à décontaminer les matériaux thermosensibles. C'est une méthode efficace pour les produits chimiques et les solvants qui doivent sortir de la zone de confinement. L'efficacité de cette technique dépend de la pénétration des rayons dans les articles à décontaminer et, par conséquent, de la densité des substances à traiter ainsi que de la puissance de la source d'irradiation<sup>(2)</sup>.

L'irradiation aux micro-ondes n'est pas largement utilisée pour la décontamination dans les locaux de confinement. Comme pour la stérilisation à l'autoclave (vapeur), la chaleur est le principal agent d'élimination des micro-organismes viables. Les facteurs qui influent sur le traitement par les micro-ondes sont notamment la fréquence et la longueur des ondes utilisées, la durée de l'exposition et la teneur en humidité du matériel à décontaminer<sup>(15,16)</sup>.

Les rayons ultraviolets (UV) ne peuvent être la seule méthode de décontamination dans les cas qui nous intéressent, car leur pénétration est limitée et ils sont efficaces surtout contre les microbes non protégés, sur des surfaces exposées ou dans l'air<sup>(1)</sup>. Les rayons UV peuvent réduire efficacement la contamination de l'air et des surfaces, dans la mesure où les lampes sont bien nettoyées et entretenues et que l'intensité de leur émission est vérifiée.

## **7. Incinération**

L'incinération est la méthode classique de décontamination des déchets biomédicaux organiques, humains et animaux. Dans la plupart des cas, les matières à décontaminer doivent être emballées et transportées à l'extérieur des laboratoires conformément à la législation en vigueur dans la province ou le territoire. Les matières sortant des zones de confinement doivent d'abord être traitées à la barrière de confinement, de préférence par autoclavage. Pour être efficace, l'incinération doit répondre à certaines exigences, notamment en ce qui concerne l'équipement utilisé, la durée, la température, la turbulence et l'air requis pour obtenir une oxydation complète, ainsi que le remplissage de l'appareil. Les incinérateurs modernes se composent de deux chambres. La température de la première doit être d'au moins 800 °C et celle de la seconde, d'au moins 1000 °C<sup>(2,15)</sup>. Les charges très humides peuvent abaisser la température de traitement. Il n'existe aucune norme concernant la teneur microbienne des produits évacués par la cheminée, mais il y en a sur leur teneur en particules et en certains contaminants chimiques<sup>(8)</sup>. Il faut consulter les organismes de réglementation provinciaux ou territoriaux au sujet du fonctionnement des incinérateurs et de leurs émissions.

## **8. Nouvelles technologies**

Les inquiétudes associées à la pollution de l'air ont incité bon nombre d'organismes de réglementation à instaurer des normes plus strictes pour les incinérateurs, ce qui a provoqué l'apparition d'un grand nombre d'options de rechange pour le traitement des déchets. La plupart de ces systèmes ont recours à l'une ou l'autre des méthodes suivantes : chauffage par micro-ondes, ondes radio, huile chaude, eau chaude, vapeur ou gaz surchauffés; exposition à des produits chimiques comme les hypochlorites, le dioxyde de chlore ou l'hydroxyde de sodium; exposition à des produits chimiques chauffés; et irradiation<sup>(15,16)</sup>. Bon nombre de ces techniques ont été résumées, avec leurs avantages et leurs inconvénients<sup>(15,16)</sup>. Un procédé modifié d'équarrissage s'est révélé efficace pour décontaminer les carcasses d'animaux<sup>(17)</sup>. Les nouvelles technologies doivent être homologuées par les autorités de la province ou le territoire, et les laboratoires doivent les consulter avant de se procurer de nouveaux produits ou d'utiliser de nouvelles méthodes de décontamination.

## Références

1. Vesley D, Lauer JL, Hawley RJ. *Decontamination, sterilization, disinfection and antisepsis*. In: Fleming DO, Hunt DL. *Biological safety principles and practices*. Washington, DC: ASM Press, 2000; 383-402.
2. Dychdala GR, Gottardi W, Block SS, Wickramanayake GB, Larson EL, Morton HE, O'Connor DO, Rubino JR, Merianos JJ, Lopes JA, Denton GW, Rossmore HW, May OW, Opperman RA, Gitlitz MH, Beiter CB, Yeager CC. 1991. *Part III: disinfectants and antiseptics (section A: by chemical type)*. In: Block SS. *Disinfection, sterilization and preservation*. Malvern, PA: Lea & Febiger, 1991; 131-364.
3. Hugo WB, Russell AD. *Types of antimicrobial agents*. In: Russell AD, Hugo WB, Ayliffe GA J. *Disinfection, preservation and sterilization*. Oxford, UK: Blackwell Science Ltd, 1999; 5-94.
4. Russell AD. *Factors influencing the efficacy of antimicrobial agents*. In: Russell AD, Hugo WB, Ayliffe GA J. *Disinfection, preservation and sterilization*. Oxford, UK: Blackwell Science Ltd., 1999; 95-123.
5. Weber AM, Boudreau UV, Mortimer VD. A tuberculosis outbreak among medical waste workers. *J Am Biolog Safety Assoc* 2000;570-88.
6. Collins CH, Kennedy DA. *Laboratory-acquired infections*. In: *Laboratory-acquired infections: history, incidence, causes and preventions*. Oxford, UK Butterworth-Heinemann, 1999; 1-37.
7. Richmond JY, McKinney RW. *Biosafety in microbiological and biomedical laboratories*. Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 1999.

8. Conseil canadien des ministres de l'environnement. *Lignes directrices sur la gestion des déchets biomédicaux au Canada*. Toronto (Ontario) Association canadienne de normalisation. CCME EPC-WM-42E, 1992.
9. Favero MS. Developing indicators for monitoring sterilization. In: Rutala WA Disinfection, sterilization and antisepsis in health care. Washington, DC: Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology Inc., 1998; 119-32.
10. Sattar SA. *Microbicidal testing of germicides: an update*. In: Rutala WA. *Disinfection, sterilization and antisepsis in health care*. Washington, D.C.: Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology Inc., 1998; 225-240.
11. Best M, et al. *Efficacies of selected disinfectants against Mycobacterium tuberculosis*. J Clin Microbiol 1990;28, 2234-39.
12. Springthorpe MS. New chemical germicides. In: In: Rutala WA Disinfection, sterilization and antisepsis in health care. Washington, DC: Association for Professionals in Infection Control and Epidemiology Inc., 1998; 273-80.
13. Abraham G, LeBlanc Smith PM, Nguyen S. *The effectiveness of gaseous formaldehyde decontamination assessed by biological monitors*. J Am Biolog Safety Assoc 1997;2:30-38.
14. Best M. *Efficacy of vaporized hydrogen peroxide against exotic animal viruses*. Appl Environ Microbiol 1997;63:3916-18.
15. Salkin IF, Krisiunas E, Thumber WL. *Medical and infectious waste management*. In: Richmond JY. *Anthology of biosafety II: facility design considerations*. Mundelein, IL: American Biological Safety Association, 2000; 140-60.
16. Turnber WL. *Biohazardous waste: risk assessment, policy and management*. New York, NY: John Wiley & Sons Inc., 1996.
17. Thompson L, Best M, Langevin P. *Biological efficacy testing of liquid effluent and tissue/carcass sterilization systems*. Mundelein, IL: American Biological Safety Association, 1998.

**1. Introduction**

Bien entretenues et utilisées à bon escient de concert avec de bonnes pratiques de laboratoire, les enceintes de sécurité biologique (ESB) procurent un confinement primaire efficace pour le travail avec des agents pathogènes pour l'humain. Dans les laboratoires NC 2, les enceintes de sécurité biologique sont utilisées pour les opérations qui présentent un risque de production d'aérosols infectieux et pour les travaux avec des concentrations élevées ou des volumes importants de matières infectieuses. Aux niveaux de confinement 3 et 4, toutes les manipulations de matières infectieuses effectuées dans des contenants ouverts doivent se faire dans une enceinte de sécurité biologique. Tout employé qui travaille dans une ESB doit avoir reçu la formation appropriée pour savoir bien l'utiliser et il doit connaître les différents types d'enceintes ainsi que leur fonctionnement. On trouve dans la littérature de l'information détaillée sur le choix, le rôle et l'utilisation des enceintes de sécurité biologique<sup>(1-3)</sup>.

**2. Catégories d'enceintes de sécurité biologique**

Il existe trois catégories d'enceintes de sécurité biologique : I, II et III. Le choix d'une enceinte repose sur une évaluation attentive des activités qui y seront effectuées. Les hottes à flux laminaire horizontal, ou postes de travail purifié, qui dirigent l'air vers l'utilisateur, ne sont pas des enceintes de sécurité biologique et ne doivent pas servir aux manipulations de matières infectieuses, toxiques ou sensibilisantes. Seules les enceintes conformes à la norme numéro 49 de la National Sanitation Foundation (NSF) (norme indépendante traitant de la conception, de la fabrication et de la vérification des enceintes de sécurité biologique) et portant le sceau NSF 49 doivent être achetées<sup>(4)</sup>.

Dans une enceinte de catégorie I, l'air est détourné de l'utilisateur sans être remis en circulation et est finalement évacué par un filtre HEPA. L'enceinte de catégorie I (figure 1) protège bien l'utilisateur, mais n'apporte aucune protection contre la contamination du matériel (le produit) qui y est placé.

L'enceinte de catégorie II protège le personnel, le produit et l'environnement, respectivement en assurant l'écoulement de l'air de l'extérieur vers l'intérieur et en filtrant l'air d'arrivée et l'air évacué (HEPA). Ces enceintes sont conçues pour la manipulation de micro-organismes dans les laboratoires de NC 2, 3 et 4. On en trouve deux types, A et B, selon leur construction, la vitesse et l'écoulement de l'air et les systèmes d'évacuation<sup>(4)</sup>. Dans les enceintes de type A (figure 2), l'air peut être remis en circulation dans le laboratoire ou dirigé vers l'extérieur de l'immeuble par un raccord consistant en une petite ouverture pratiquée autour du boîtier du filtre d'évacuation, tandis que l'équilibre de l'air à l'intérieur de l'enceinte n'est pas perturbé par les fluctuations du système

d'évacuation de l'immeuble. Le raccord doit être conçu de manière que l'enceinte puisse être certifiée (c.-à-d. qu'il permette un accès pour la vérification du filtre HEPA par balayage).

Les enceintes de catégorie II type B servent pour la manipulation de petites quantités de produits chimiques utilisés dans le cadre de travaux avec des micro-organismes dans les laboratoires NC 2, 3 ou 4. Dans les enceintes de type B1, 30 % de l'air est remis en circulation. Elles conviennent pour la manipulation de quantités infimes de produits chimiques, mais il faut veiller à ce qu'il n'y ait aucune production de vapeurs à l'intérieur de l'enceinte. La figure 3 illustre une enceinte de type B2, dans laquelle l'air n'est pas remis en circulation : il est entièrement évacué. Elles conviennent pour l'utilisation de petites quantités de produits chimiques volatiles et de radionucléides. Ces enceintes doivent être raccordées par une jonction rigide, étanche (raccordement direct) à un réseau d'évacuation indépendant (de préférence). Les conduits d'évacuation doivent être conçus de manière que l'ESB puisse être certifiée. Il faut installer une alarme sonore signalant toute défaillance du débit d'air dans le système d'évacuation de l'immeuble. L'enceinte doit également être interreliée avec le système d'évacuation d'air de l'immeuble pour éviter la création de pression dans l'enceinte advenant une panne du ventilateur d'extraction de l'immeuble.

Les enceintes de catégorie III (figure 4) sont entièrement closes et étanches aux gaz. L'air qui entre passe par un filtre HEPA, tout comme l'air évacué. L'utilisateur doit enfiler les manchons pour effectuer ses manipulations à l'intérieur de l'enceinte, qui est tenue sous pression négative. L'air en est évacué par un système extérieur distinct. Les enceintes de catégorie III assurent la protection de l'utilisateur et du produit. Elles sont conçues pour les manipulations de pathogènes NC 4 et offrent une solution de rechange aux combinaisons à pression positive que doivent revêtir les employés qui travaillent dans un laboratoire à confinement maximal. Les batteries d'enceintes composées de plusieurs enceintes de catégorie III (p. ex. pour les centrifugeuses, les cages, les incubateurs et les réfrigérateurs) reliées par des dispositifs de transfert doivent être construites sur mesure. Des indications spécifiques concernant les exigences particulières pour la construction, l'installation, l'homologation et l'utilisation de batteries d'enceintes de catégorie III ont été publiées<sup>(5,6)</sup>.

### **3. Installation et homologation**

Le rideau d'air circulant à l'avant de l'enceinte est très sensible et peut être facilement perturbé par le déplacement d'air (circulation de personnes parallèlement à l'enceinte), fenêtre ouverte, diffuseurs d'alimentation en air ou appareil contenant un ventilateur (comme une pompe à vide ou une centrifugeuse). Les enceintes de sécurité biologique doivent être installées conformément aux exigences décrites dans la norme de l'Association canadienne de normalisation intitulée *Biological Containment Cabinets (Class I and II): Installation and Field Testing*<sup>(7)</sup>. Elles doivent être installées à l'écart des zones de grande circulation, des portes, des conduits de soufflage et d'extraction d'air qui peuvent perturber l'écoulement de l'air. Il faut prévoir un dégagement d'au

moins 40 cm entre la sortie d'évacuation sur le dessus de l'enceinte et tout obstacle situé au-dessus de l'enceinte. Autant que possible, il faut prévoir un dégagement de 30 cm de chaque côté de l'enceinte afin d'assurer l'accès pour l'entretien. Dans le cas des enceintes raccordées à un conduit d'évacuation, les ventilateurs d'extraction doivent être installés à l'extrémité du réseau de conduits; toute perturbation dans l'écoulement de l'air évacué devrait déclencher une alarme perceptible par l'utilisateur. Pour éviter la mise en pression de l'enceinte, il faut prévoir un système d'interverrouillage pour interdire le fonctionnement du ventilateur d'extraction dès que le débit d'évacuation devient insuffisant; il faudra peut-être également installer un dispositif antirefoulement pour éviter que l'air ne s'écoule à rebours à travers le filtre HEPA.

Le fonctionnement continu des ESB contribue à réduire la concentration de poussières et d'autres particules en suspension dans l'air du laboratoire. Si les enceintes ne sont utilisées qu'au besoin pour des raisons d'économie d'énergie, il faudra envisager d'installer un dispositif pour équilibrer l'air ambiant dans le laboratoire. Dans certains cas, l'air évacué par les ESB reliées à des conduits d'évacuation est pris en compte dans les calculs d'équilibre du volume d'air extrait de la pièce; dans ces cas, les enceintes doivent fonctionner en permanence.

L'utilisation de brûleurs au gaz à l'intérieur des ESB n'est généralement pas recommandée. Les flammes nues à l'intérieur de l'ESB créent de la turbulence, perturbent l'écoulement d'air et peuvent endommager le filtre HEPA<sup>(1)</sup>. Lorsqu'il n'existe aucune autre solution de rechange (boucle stérile jetable, micro-incinérateur) on pourra utiliser des micro-brûleurs avec flamme pilote fonctionnant sur demande à un simple toucher.

Avant d'utiliser une enceinte de sécurité biologique, il faut s'assurer qu'elle fonctionne correctement. Cette vérification doit également être faite tous les ans et après toute réparation ou déplacement, conformément aux tests décrits dans la norme CSA Z316.3-95. Le déplacement d'une enceinte peut endommager le filtre HEPA et ses joints d'étanchéité. Les tests portent notamment sur la vitesse de l'air poussé vers le bas, la vitesse de l'air dans la zone frontale de l'enceinte, l'intégrité du ou des filtres HEPA (détection de fuites) et les schémas d'écoulement de l'air (fumée). Les mesures et les tests effectués sur l'équipement doivent être étalonnés et conformes à la norme de l'ACNOR. Une copie du rapport d'homologation doit être remise à l'utilisateur et conservée. Une étiquette indiquant la date d'homologation, la date de la prochaine homologation, la norme en vertu de laquelle les tests ont été faits et le nom de la personne qui a accordé l'homologation doit être apposée à l'extérieur de l'enceinte. Les tests sur place doivent être effectués par une personne qualifiée qui possède l'expérience appropriée. Le programme d'accréditation de la NSF pour les certificateurs d'enceintes de sécurité biologique fournit la liste des personnes qui ont passé les examens écrits et pratiques administrés par la fondation et qui, par conséquent, sont habilitées à certifier les enceintes<sup>(8)</sup>. Autant que possible, il faudrait recourir aux services de personnes agréées par la NSF.



#### **4. Utilisation de l'enceinte**

##### **Avant de travailler dans une enceinte :**

1. Éteignez les lampes UV si nécessaire et assurez-vous que le volet à guillotine se trouve dans la position appropriée.
2. Allumez le fluorescent et le ventilateur de l'enceinte si ce n'est pas déjà fait.
3. Assurez-vous que rien n'obstrue les grilles d'arrivée et d'évacuation de l'air, et vérifiez les jauges à pression (indiquent la charge du filtre HEPA; si vous ne savez pas quelles sont les valeurs acceptables, demandez à la personne responsable de l'homologation).
4. Si l'enceinte est munie d'une alarme, assurez-vous qu'elle fonctionne et mettez-la en fonction (interrupteur à « on »).
5. Vérifiez l'écoulement de l'air en tenant un papier mouchoir au centre, sous le panneau transparent : le papier doit être attiré vers l'intérieur.
6. Désinfectez les surfaces intérieures avec un désinfectant non corrosif approprié.
7. Assemblez tout le matériel dont vous avez besoin pour votre travail et placez-le dans l'enceinte; veillez à ne pas obstruer les grilles d'air; vous pouvez recouvrir la surface de travail d'un papier absorbant doublé de plastique; séparez les articles « propres » des articles contaminés.
8. Attendez 5 minutes, le temps que les contaminants aériens soient éliminés de la zone de travail.

##### **Pour travailler dans l'enceinte :**

1. Enfilez les vêtements et les gants de protection appropriés.
2. Travaillez le plus loin possible au fond de la zone de travail.
3. Évitez de déplacer votre matériel ou de trop bouger les mains et les bras pendant que vous travaillez dans l'enceinte; lorsque vous entrez ou sortez vos bras de l'enceinte, allez-y d'un seul mouvement, sans aller-retour; ensuite, laissez l'écoulement de l'air se rétablir avant de commencer à travailler.
4. Placez le matériel dont vous ne vous servez plus ou qui est contaminé au fond de l'enceinte; ne jetez rien dans des contenants situés à l'extérieur de l'enceinte.
5. N'utilisez pas de flamme nue à l'intérieur de l'enceinte.
6. S'il arrive un déversement pendant que vous travaillez dans l'enceinte, décontaminez la surface de tous les objets qui s'y trouvent; désinfectez la zone de travail à l'intérieur de l'enceinte sans éteindre le ventilateur.

##### **Après avoir terminé le travail dans l'enceinte :**

1. Laissez le ventilateur de l'enceinte fonctionner pendant 5 minutes sans activité.

2. Désinfectez la surface de tous les objets qui ont été en contact avec du matériel contaminé avant de les sortir de l'enceinte.
3. Refermez les contenants avant de les sortir de l'enceinte.
4. Retirez vos gants et jetez-les de la manière appropriée; lavez-vous les mains.
5. Enfilez des gants propres pour retirer le reste du matériel de l'enceinte et placez-le immédiatement dans un sac à déchets dangereux, pour stérilisation à l'autoclave, à l'incubateur ou autre.
6. Utilisez de l'éthanol à 70 % ou tout autre désinfectant non corrosif approprié pour désinfecter les surfaces intérieures de l'enceinte; périodiquement, retirez la surface de travail et désinfectez le dessous; périodiquement, essuyez la surface de la lampe UV avec un papier imbibé d'éthanol.
7. Éteignez le fluorescent et le ventilateur de l'enceinte si nécessaire (dans certaines enceintes, il faut laisser le ventilateur fonctionner en permanence; en cas de doute, informez-vous auprès de la personne responsable de l'homologation de l'enceinte, de l'agent de sécurité biologique ou du personnel d'entretien de l'immeuble).
8. Allumez la lampe UV s'il y a lieu (ne l'allumez pas si quelqu'un travaille à proximité); la lampe UV doit être vérifiée, car elle doit émettre une longueur d'onde qui élimine les microbes (demandez à la personne responsable de l'homologation de l'enceinte de faire cette vérification).

## Références

1. Centers for Disease Control and Prevention. Primary containment for biohazards: selection, installation and use of biological safety cabinets. Washington, DC: U.S. Government Printing Office, 2000.
2. Kruse RH, Puckett WH, Richardson JH. Biological safety cabinetry. *Clin Microbiol Rev* 1991;4:207-41.
3. Stuart DG. Primary barriers: biological safety cabinets, fume hoods, and glove boxes. In: Fleming DO, Hunt DL. *Biological safety principles and practices*. Washington, DC: ASM Press, 2000; 313-30.
4. NSF International. *Class II (laminar flow) biohazard cabinetry. Standard 49*. Ann Arbor, Michigan: NSF International, 1992.
5. Stuart DG, Hilliard J, Kenkel R, Kelley J, Richmond J. *Role of the class III cabinet in achieving BSL-4*. In: Richmond JY. *Anthology of biosafety I: perspective on laboratory design*. Mundelein, IL: American Biological Safety Association, 1999; 149-60.
6. National Cancer Institute Office of Research Safety and the Special Committee of Safety and Health Experts. *Laboratory safety monograph, a supplement to NIH guidelines for recombinant DNA research*. Bethesda, MD: NIH, 1979.

7. Association canadienne de normalisation. *Biological containment cabinets class I and II: installation and field testing. Z316.3-95*. Etobicoke (Ontario) Association canadienne de normalisation, 1995.
8. NSF International. *NSF listings — field certifier accreditation*. Ann Arbor, Michigan: NSF International, 2000.

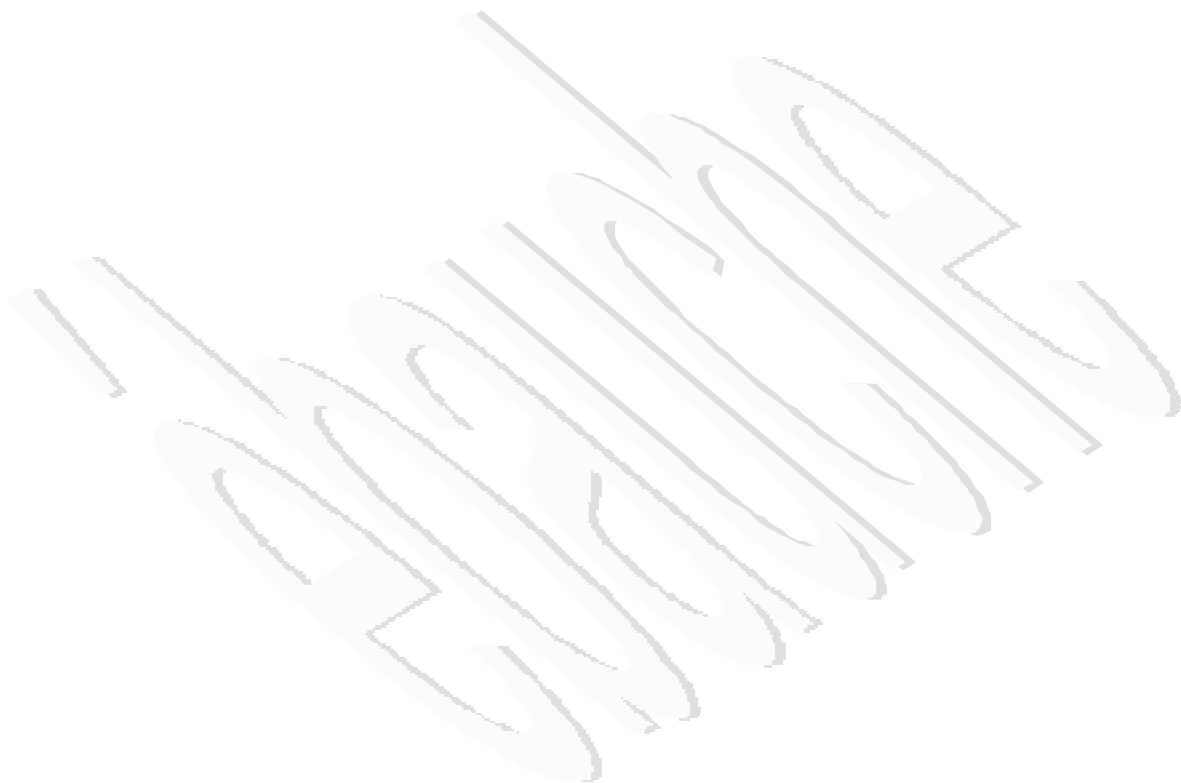


Figure 1.  
Class I Biological Safety Cabinet.

A. front opening, B. sash, C. exhaust HEPA filter, D. exhaust plenum

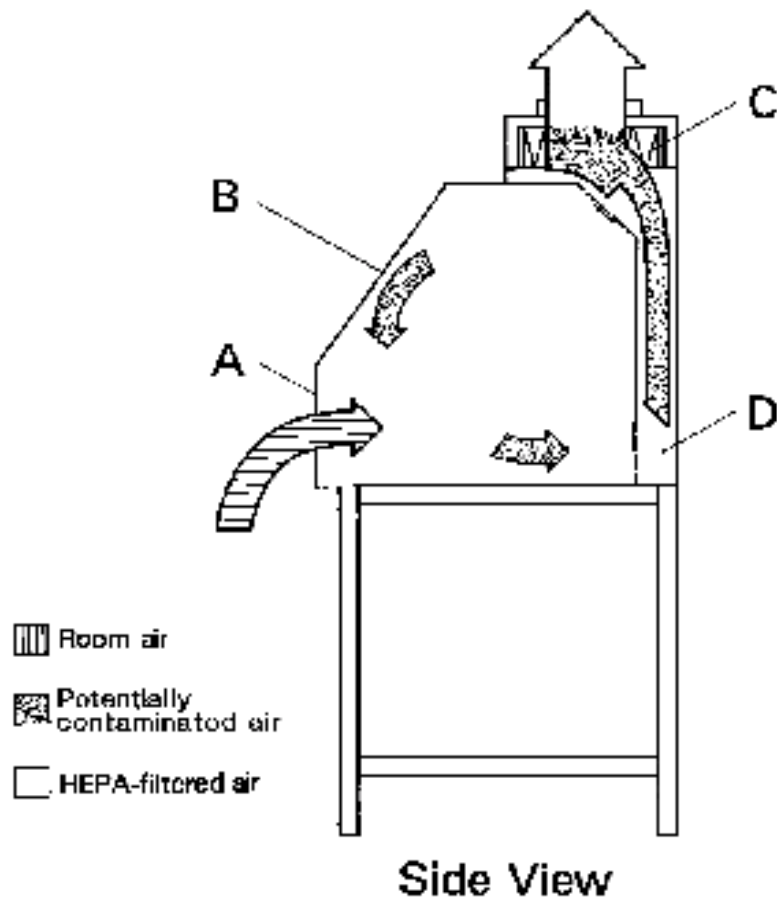


Figure 1. Enceinte de sécurité biologique de catégorie 1

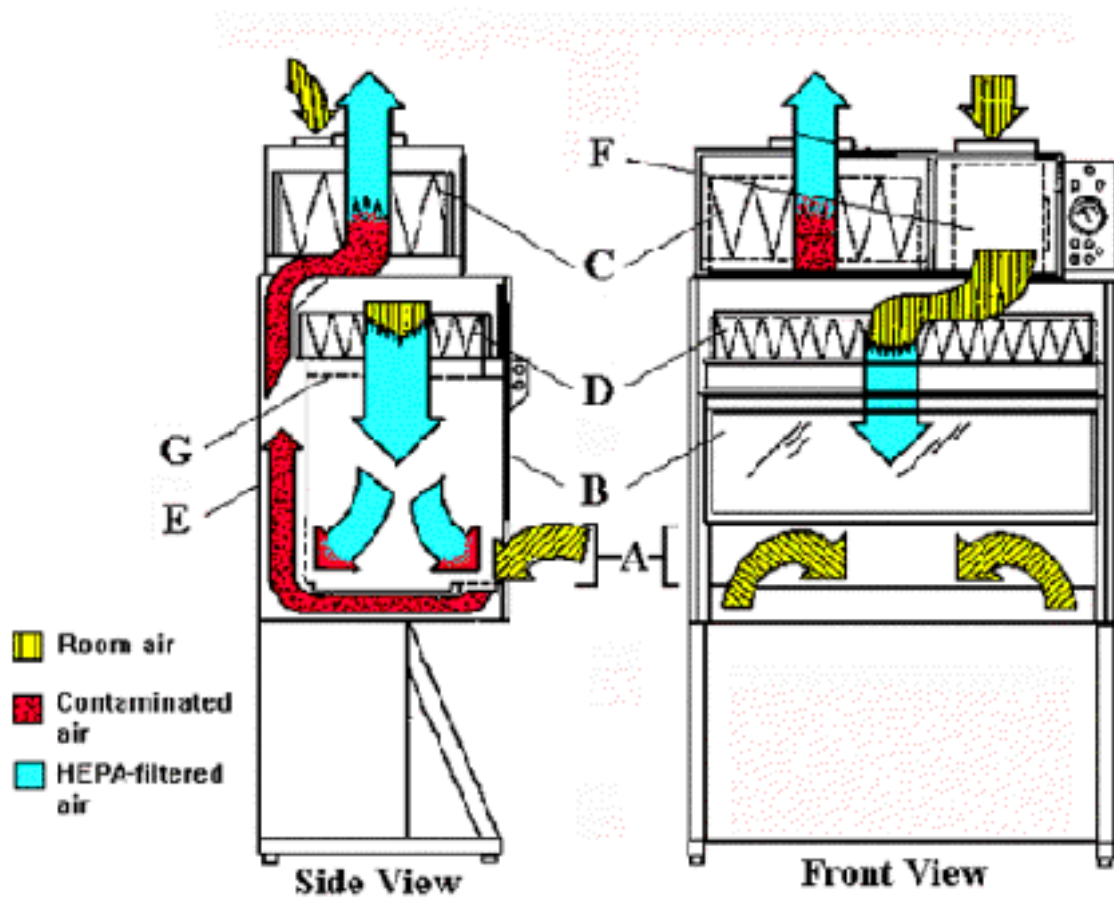
- A. ouverture frontale
- B. volet à guillotine
- C. filtre HEPA d'évacuation
- D. plénum d'évacuation

Air ambiant  
Air potentiellement contaminé  
Air filtré HEPA  
**Vue latérale**

Source : Référence numéro 1. Reproduction autorisée par le CDC



Figure 2. Enceinte de sécurité biologique de catégorie II



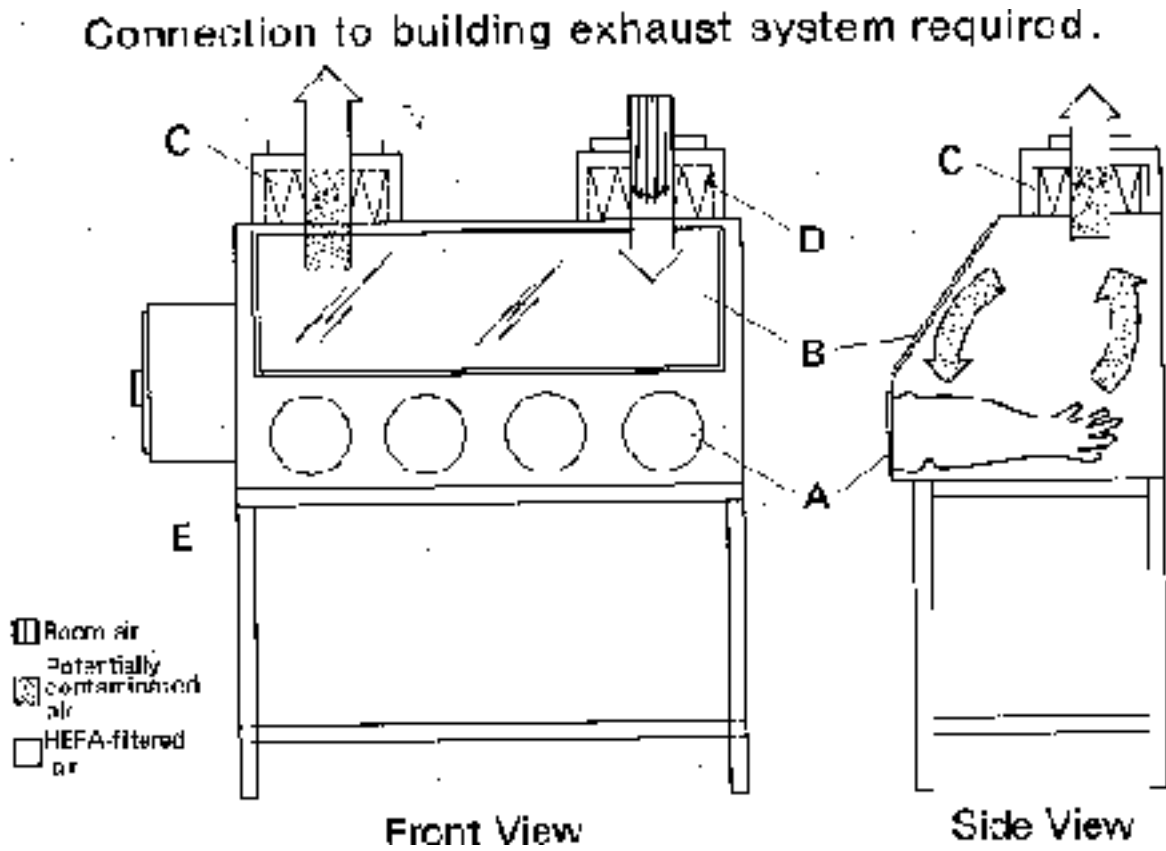
Air ambiant  
Air contamin e  
Air filtr e HEPA

**Vue latérale**

**Vue frontale**

Source : R eference numéro 1. Reproduction autorisée par les CDC

Figure 3. Enceinte de sécurité biologique de catégorie III



L'enceinte doit être raccordée au système d'évacuation de l'air de l'immeuble.

Air ambiant

Air potentiellement contaminé

Air filtré HEPA

**Vue frontale**

**Vue latérale**

Source : Référence numéro 1. Reproduction autorisée par les CDC

**1. Importation et transfert de pathogènes pour l'humain**

Le *Règlement sur l'importation des anthropopathogènes* (DORS/94-558) (RIA) s'applique aux établissements qui veulent importer des pathogènes pour l'humain au Canada ou en envoyer ailleurs au pays. Ce règlement a été élaboré pour veiller à ce que les établissements possèdent le niveau de confinement approprié pour les pathogènes visés. Tout laboratoire qui veut importer un anthropopathogène imposant un niveau de confinement 2, 3 ou 4 doit obtenir au préalable un permis valide de Santé Canada. Les pathogènes imposant un niveau de confinement 1 ne sont pas assujettis au RIA. Par conséquent, il n'est pas nécessaire de détenir un permis pour en importer. Les formulaires de demande de permis d'importation d'anthropopathogènes peuvent être obtenues auprès du Bureau de sécurité des laboratoires au (613) 957-1779. Elles peuvent également être téléchargées du site Web du Bureau <http://www.hc-sc.gc.ca/hpb/lcdc/biosafety>, où vous trouverez également le RIA et une liste des questions les plus souvent posées (FAQ).

Les demandeurs qui veulent importer et expédier des anthropopathogènes doivent avoir les installations conformes aux exigences opérationnelles et physiques requises pour les laboratoires de confinement, décrites dans les présentes *Lignes directrices*. Pour importer des pathogènes imposant un niveau de confinement 3 ou 4, il faut que Santé Canada ait homologué les installations avant que le permis puisse être demandé. Les exigences relatives à l'homologation d'un laboratoire de confinement sont décrites au chapitre 5. Pour importer des pathogènes qui nécessitent un niveau de confinement 2, il faut effectuer une inspection de ses propres installations pour s'assurer qu'elles répondent aux normes strictes de Santé Canada; les installations peuvent être visitées par un inspecteur de Santé Canada n'importe quand. De plus, vous trouverez sur le site Web du Bureau de la sécurité des laboratoires (voir l'adresse ci-dessus) une liste dynamique des pathogènes pour l'humain précisant le niveau de confinement requis dans chaque cas. Cette liste est régulièrement mise à jour, et les niveaux de confinement prescrits sont ré-évalués en continu à la lumière des nouvelles données sur la biosécurité.

Bon nombre d'agents sont pathogènes à la fois pour les humains et les animaux. Les zoopathogènes sont réglementés par l'Agence canadienne d'inspection des aliments (ACIA) (voir la section 4, « Importation de zoopathogènes » dans le présent chapitre). Pour importer des agents qui sont pathogènes à la fois pour les humains et les animaux, il faut détenir un permis d'importation émis par l'ACIA en plus du permis de Santé Canada. Il incombe à l'importateur de veiller à posséder tous les permis d'importation requis avant d'importer quelque pathogène que ce soit au Canada.



## 2. Exportation de pathogènes

Pour exporter bon nombre de pathogènes et l'équipement connexe, il faut un permis. Le Canada a signé la *Convention sur les armes biologiques et à toxines* de 1972. Cette accord international renforce l'objectif de non-prolifération des armes biologiques et à toxines en interdisant la mise au point, la production, l'accumulation ou l'acquisition d'armes bactériologiques (biologiques) et à toxines, et en favorisant leur destruction. Le ministère des Affaires étrangères et du Commerce international du Canada contrôle actuellement certains agents toxiques et biologiques, ainsi que l'équipement, les composants, les matériaux et la technologie qui s'y rattachent : en vertu de cette convention internationale. Ces éléments sont énumérés à l'article 2007 de la Liste des marchandises d'exportation contrôlée (<http://www.dfait-maeci.gc.ca/~eicb/export/contente.htm>) on peut s'adresser à la Division du contrôle des exportations, au ministère des Affaires étrangères et du Commerce international du Canada, par téléphone au (613) 996-2387, par courrier à B.P. 481, Succursale A, Ottawa (Ontario) K1N 9K6, ou par messenger à la Tour C, 4<sup>e</sup> étage, Édifice L.B. Pearson, 125, promenade Sussex, Ottawa (Ontario) K1A 0G2.

## 3. Transport

Le transport de substances infectieuses représente un aspect important du fonctionnement des laboratoires, tant en recherche que pour le diagnostic. Les échantillons doivent être acheminés par voie terrestre ou par voie aérienne ailleurs au pays à des collaborateurs de recherche ou à des laboratoires pour un diagnostic primaire. Bien qu'il n'y ait encore jamais eu de cas de maladie attribuable à une substance infectieuse disséminée lors de son transport<sup>(1)</sup>, il arrive que les véhicules servant au transport de substances infectieuses soient impliqués dans des accidents<sup>2</sup>. Par conséquent, il importe que ces substances soient emballées et transportées selon des méthodes éprouvées et approuvées.

Le transport de substance infectieuses au pays est assujéti au *Règlement sur le transport des matières dangereuses* (DORS/85-77), régi par Transports Canada. Transports Canada définit les exigences concernant l'étiquetage et l'emballage des substances ainsi que les documents requis pour l'expédition de ces matières, y compris les spécimens à des fins diagnostiques, à l'intérieur du Canada. En vertu de ce règlement, toute personne qui transporte une substance infectieuse doit avoir reçu la formation appropriée relative au transport des matières dangereuses (substances infectieuses). De plus, les personnes qui expédient des matières correspondant au groupe de risque 4 doivent avoir prévu un plan d'intervention d'urgence pour réagir à toute situation d'urgence liée au transport de telles matières susceptible de survenir au Canada. Pour plus d'information à ce sujet, veuillez communiquer avec Transports Canada, Normes relatives aux marchandises dangereuses, par téléphone au (613) 990-1059, par courrier à Place de Ville, Tour C, 330 rue Sparks, 4<sup>e</sup> étage, Ottawa (Ontario) K1A 0N8, ou consultez son site Web <http://www.tc.gc.ca/fr/recherche.htm>.

Le transport aérien de substances infectieuses entre pays est réglementé par l'Organisation de l'aviation civile internationale (OACI)<sup>3</sup>. La plupart des transporteurs internationaux (tant pour les passagers que pour le cargo et le courrier) étant membres de l'OACI, tout envoi de substances infectieuses par avion sera vraisemblablement assujéti aux règlements de cette organisation. Ce règlement définit les exigences concernant l'étiquetage et l'emballage des substances ainsi que les documents requis pour leur expédition par avion. Il exige également que toute personne qui transporte une substance infectieuse ait reçu la formation pertinente. Les exigences de l'OACI s'inspirent des recommandations des Nations Unies sur le transport des marchandises dangereuses. Pour obtenir plus d'information sur ces exigences, on peut s'adresser à l'OACI par téléphone au (514) 954-8219, par courrier à OACI, Bureau des relations extérieures et de l'information du public, 999 rue Université, Montréal (Québec) H3C 5H7, ou consulter son site Web <http://www.icao.int>.

#### **4. Importation, transfert et confinement de zoopathogènes**

La *Loi sur la santé des animaux* de 1990 et son règlement confèrent à l'Agence canadienne d'inspection des aliments les pouvoirs nécessaires pour contrôler l'usage des agents importés qui sont des zoopathogènes ou des pathogènes associés à des maladies des animaux à déclaration obligatoire. Ces agents comprennent les matières d'origine animale qui peuvent contenir un pathogène. Pour en savoir davantage à ce sujet, on peut consulter la *Loi sur la santé des animaux* et son règlement.

Le permis est obligatoire pour l'importation de tout zoopathogène au Canada. Dans le cas des agents qui sont pathogènes à la fois pour les humains et les animaux, il faut détenir des permis d'importation et de Santé Canada et de l'ACIA. Si un agent est importé au Canada en vertu d'un permis qui en restreint la distribution, il faut obtenir une autre autorisation de l'ACIA avant de l'expédier ailleurs au pays.

L'ACIA détermine également les conditions dans lesquelles les zoopathogènes doivent être conservés et manipulés. Il faut tenir compte non seulement du risque pour la santé humaine mais aussi du niveau de confinement requis pour éviter toute dissémination du pathogène dans l'environnement où il peut risquer de contaminer une espèce animale indigène. La publication de l'ACIA, *Normes sur le confinement des installations vétérinaires*, décrit les exigences minimales en matière d'aménagement, d'installations physiques et de pratiques opérationnelles auxquelles doivent se conformer les laboratoires et installations vétérinaires du Canada qui importent et manipulent des zoopathogènes. Les laboratoires qui font une demande en vue d'importer de tels pathogènes doivent d'abord montrer qu'ils répondent à ces exigences pour que l'ACIA leur délivre le permis.

Les zoopathogènes contrôlés par l'ACIA, y compris les agents qui sont pathogènes à la fois pour les humains et les animaux, figurent dans une base de données de la section Confinement des biorisques et sécurité de l'ACIA. Il s'agit d'une liste dynamique qui est mise à jour en permanence de manière à comprendre tout nouveau pathogène devant être soumis à des restrictions. Les zoopathogènes considérés comme non indigènes au Canada font partie de cette liste et sont strictement réglementés. L'ACIA doit être consultée au sujet de l'importation, de l'utilisation et de la distribution de chaque pathogène animal.

Pour toute information au sujet d'un pathogène animal :

Confinement des biorisques et sécurité  
Agence canadienne d'inspection des aliments  
59, promenade Camelot  
Ottawa (Ontario) K1A 0Y9  
Téléphone : (613) 225-2342 poste 4256  
Télécopieur : (613) 228-6129  
<http://www.inspection.gc.ca/francais/lab/convet/convetf.shtml>

Veillez noter qu'il faut également détenir un permis de l'ACIA pour importer des pathogènes pour les végétaux, en vertu de la *Loi sur la protection des végétaux* et de son règlement. Pour plus de renseignements, veuillez-vous adresser à la Division de la Protection et de la production des végétaux, Bureau des permis, 59 promenade Camelot, Ottawa (Ontario) K1A 0Y9, téléphone : (613) 228-2342, poste 4334 ou 4333, télécopieur : (613) 228-6605.

## Références

1. OMS. *Guide sur la sécurité du transport des matières infectieuses et des échantillons de diagnostic*. Division des Maladies émergentes et autres Maladies transmissibles - surveillance et lutte WHO/EMC/97.3. Genève, 1997.
2. Transports Canada. *Statistiques 1999*. Centre canadien d'urgence transport (CANUTEC), 2000.
3. Organisation de l'aviation civile internationale. *Instructions techniques pour la sécurité du transport aérien des marchandises dangereuses. 2001-2002*. Doc9284-AN/905, 2000.