

> Mesures de sécurité dans les laboratoires de diagnostic microbiologique médical

*Directive pour l'exécution de l'ordonnance sur l'utilisation confinée
(OUC) lors de l'analyse d'échantillons de matériel clinique*



> Mesures de sécurité dans les laboratoires de diagnostic microbiologique médical

*Directive pour l'exécution de l'ordonnance sur l'utilisation confinée
(OUC) lors de l'analyse d'échantillons de matériel clinique*

2^e édition actualisée, avril 2015; 1^{re} édition 2008

Valeur juridique de cette publication

La présente publication est une aide à l'exécution élaborée par l'OFEV en tant qu'autorité de surveillance. Destinée en premier lieu aux autorités d'exécution, elle concrétise des notions juridiques indéterminées provenant de lois et d'ordonnances et favorise ainsi une application uniforme de la législation. Si les autorités d'exécution en tiennent compte, elles peuvent partir du principe que leurs décisions seront conformes au droit fédéral. D'autres solutions sont aussi licites dans la mesure où elles sont conformes au droit en vigueur. Les aides à l'exécution de l'OFEV (appelées jusqu'à présent aussi directives, instructions, recommandations, manuels, aides pratiques) paraissent dans la collection «L'environnement pratique».

Impressum

Editeur

Office fédéral de l'environnement (OFEV)

L'OFEV est un office du Département fédéral de l'environnement, des transports, de l'énergie et de la communication (DETEC).

Office fédéral de la santé publique (OFSP)

L'OFSP est un office du Département fédéral de l'intérieur (DFI).

Auteurs

Felix Gmünder (Basler&Hofmann)

Thomas Binz, Samuel Roulin, Urs Spahr (OFSP)

avec la collaboration de:

Susanne Biebinger, Carmen Spycher, Martin Gschwind, Barbara Wiesendanger, Karoline Dorsch, Mauro Tonolla, Marisa Dolina, Werner Wunderli, Sabrina Leuenberger

Suivi OFEV

Graziella Mazza, division Sols et biotechnologie

Référence bibliographique

Gmünder F., Binz T., Roulin S., Spahr U. 2015: Mesures de sécurité dans les laboratoires de diagnostic microbiologique médical. Directive pour l'exécution de l'ordonnance sur l'utilisation confinée (OUC) lors de l'analyse d'échantillons de matériel clinique. 2^e édition actualisée, avril 2015; 1^{re} édition 2008. Office fédéral de l'environnement, Berne. L'environnement pratique n 0815: 22 p.

Graphisme, mise en page

Valérie Fries, 3063 Ittigen

Photo couverture

Susanne Biebinger, Kantonales Laboratorium Basel-Stadt

Téléchargement au format PDF

www.bafu.admin.ch/uv-0815-f

Il n'est pas possible de commander une version imprimée.

Cette publication existe aussi en allemand, italien et anglais

© OFEV 2015

> Table des matières

Abstracts	5
Avant-propos	7

1 Introduction	8
1.1 Contenu, but et portée	8
1.2 Champ d'application	9

2 Classification des activités	10
---------------------------------------	-----------

3 Mesures de sécurité	11
3.1 Utilisation d'un poste de sécurité microbiologique (PSM)	11
3.2 Commentaires concernant les différents échantillons de matériel clinique	12
3.2.1 Échantillons de matériel clinique provenant du tractus respiratoire inférieur	14
3.2.2 Cultures de sang	14
3.2.3 Échantillons de sang	15
3.2.4 Frottis cutanés (Anthrax)	15
3.2.5 Selles, frottis rectaux	15
3.2.6 Urine	15
3.2.7 Biopsies, LCR, ponctions	15
3.3 Omission, modification ou remplacement de mesures de sécurité particulières de niveau 3	16

4 Élimination des déchets	18
----------------------------------	-----------

5 Transport	19
--------------------	-----------

Bibliographie	20
Répertoires	21
Glossaire	22

> Abstracts

This implementation guide explains the various safety measures according to the Containment Ordinance (CO) that must be observed when performing analyses of clinical samples. The safety measures are basically derived from the classification of the activities into classes. According to the type of sample and the pathogen in question, the safety measures stipulated by the CO may, however, be substituted or omitted. The present implementation guide is intended to provide guidance for this. It also contains references to the handling of wastes and to transport.

Diese Vollzugshilfe erläutert die verschiedenen Sicherheitsmassnahmen gemäss Einschliessungsverordnung (ESV), die für die Durchführung von Analysen von klinischen Probematerialien einzuhalten sind. Die Sicherheitsmassnahmen leiten sich grundsätzlich von der Zuordnung der Tätigkeiten zu Klassen ab. Je nach Art der Untersuchungsprouben und Krankheitserreger können die gemäss ESV vorgesehenen Sicherheitsmassnahmen jedoch ersetzt oder weggelassen werden. Die vorliegende Vollzugshilfe soll als Anleitung dazu dienen. Weiter verweist sie auf den Umgang mit Abfällen und auf den Transport.

La présente aide à l'exécution énumère les différentes mesures de sécurité qui doivent être prises en vertu de l'ordonnance sur l'utilisation confinée (OUC) lors de l'analyse de matériel clinique. Les mesures de sécurité dépendent des classes de sécurité auxquelles sont attribuées les activités. En fonction du type d'échantillon à analyser et de l'agent pathogène, elles peuvent toutefois être remplacées voire omises. La présente directive doit faciliter la mise en œuvre. Elle contient également des renvois concernant l'élimination des déchets et le transport.

Il presente aiuto all'esecuzione illustra le diverse misure di sicurezza previste dall'ordinanza sull'impiego confinato (OIConf) che devono essere adottate nell'ambito dell'analisi di campioni di materiale clinico. In linea di principio le misure di sicurezza da rispettare sono determinate dalla classe di attività. Tuttavia, in base al tipo di campioni esaminati e ai microrganismi patogeni, le misure di sicurezza previste dall'OIConf possono essere sostituite oppure omesse. Il presente aiuto all'esecuzione fornisce istruzioni al riguardo. Inoltre, contiene indicazioni sulla gestione dei rifiuti e sulle modalità del loro trasporto.

Keywords:

Containment Ordinance (CO), biosafety, safety measures, diagnostics, laboratories

Stichwörter:

Einschliessungsverordnung (ESV), Biosicherheit, Sicherheitsmassnahmen, Diagnostik, Laboratorien

Mots-clés:

ordonnance sur l'utilisation confinée (OUC), sécurité biologique, mesures de sécurité, diagnostic, laboratoires

Parole chiave:

ordinanza sull'impiego confinato (OIConf), sicurezza biologica, misure di sicurezza, diagnostica, laboratori

> Avant-propos

Lors de la mise en œuvre de l'ordonnance sur l'utilisation confinée (OUC) dans le domaine du diagnostic microbiologique médical, la classification des activités et les mesures de sécurité requises suscitent régulièrement des questions. Quelles mesures de sécurité peut-on omettre dans quel cas et pour quels agents pathogènes? La présente aide à l'exécution vise à aider les autorités cantonales et les laboratoires de diagnostic à répondre à ces questions.

L'Office fédéral de la santé publique (OFSP), qui est responsable des questions liées au diagnostic microbiologique médical, a joué le rôle de fer de lance lors de l'élaboration de la présente directive. Il a pu compter sur le soutien et les conseils de l'entreprise Basler & Hofmann, Ingenieure und Planer AG, Zurich. Ont participé aux travaux préparatoires et à la finalisation: l'OFEV, la Commission fédérale d'experts pour la sécurité biologique (CFSB), le groupe intercantonal de services spécialisés dans les domaines de la biotechnologie et du génie génétique qui a pour but l'échange d'expériences (ERFA BIO), la Caisse nationale suisse d'assurance en cas d'accidents (SUVA) ainsi que des experts en diagnostic de laboratoire.

Nous tenons à remercier ici toutes les personnes ayant participé au projet et adressons des remerciements particuliers à l'Office fédéral de la santé publique.

Gérard Poffet
Sous-directeur
Office fédéral de l'environnement (OFEV)

1 > Introduction

1.1 Contenu, but et portée

L'Office fédéral de la santé publique (OFSP) et l'Office fédéral de l'environnement (OFEV) exposent, dans la présente directive, les mesures de sécurité que les exploitants de laboratoires de diagnostic (analyses de matériel clinique, diagnostic microbiologique médical) sont tenus de prendre afin de protéger la population et l'environnement. La présente directive concrétise les dispositions de la loi sur la protection de l'environnement (LPE, RS 814.0), de la loi sur les épidémies (LEp, RS 818.101) et de l'ordonnance sur l'utilisation confinée (OUC RS 814.912). Elle tient en outre compte de l'expérience acquise et de l'état actuel de la technique et des connaissances scientifiques, et sera réactualisée périodiquement.

L'ordonnance sur la protection des travailleurs contre les risques liés aux microorganismes (OPTM, RS 832.321) est applicable. Les mesures de sécurité à prendre conformément à l'OPTM pour l'analyse de matériel clinique se recoupent en grande partie avec les mesures prescrites par l'OUC. L'OPTM décrit toutefois des mesures complémentaires, destinées spécifiquement aux travailleurs (p.ex. mesures relevant de la médecine du travail). L'application de l'OPTM relève de la compétence de la SUVA.

Les groupes cibles auxquels ce document s'adresse sont d'une part les entreprises utilisant des microorganismes pathogènes pour l'être humain en milieu confiné et, d'autre part, les autorités responsables de l'exécution de l'OUC et de l'OPTM.

Il incombe aux entreprises d'étudier et d'évaluer les risques liés à leurs activités avec des microorganismes, ainsi que de la détermination et de l'application des mesures de sécurité nécessaires.

Conformément à l'art. 23 OUC, les cantons surveillent l'observation du devoir de diligence, des obligations liées aux activités en milieu confiné ainsi que des mesures de sécurité. Les entreprises dans lesquelles sont effectuées des activités impliquant des microorganismes de classe 3 ou 4 sont en outre soumises à l'ordonnance sur les accidents majeurs (OPAM, RS 814.012) et doivent prendre des mesures supplémentaires pour prévenir des accidents majeurs. Lors de la construction de nouvelles installations ou de transformations importantes, ou lors de changements du mode d'exploitation d'installations dans lesquelles sont effectuées des activités de classe 3 ou 4, une étude de l'impact sur l'environnement doit en outre être réalisée (OEIE). Les cantons sont en principe responsables de l'exécution de l'OPAM et de l'OEIE.

La présente directive vise à garantir une exécution uniforme de la législation. Des divergences sont admises si les prescriptions du droit en vigueur peuvent être respectées d'une autre manière.

1.2 **Champ d'application**

La présente directive s'applique aux laboratoires de diagnostic microbiologique médical utilisant des microorganismes pathogènes pour l'être humain du groupe 2 (microorganismes présentant un risque faible) et du groupe 3 (microorganismes présentant un risque modéré; classification selon l'annexe 2 OUC). Elle peut être appliquée, par analogie, au diagnostic de microorganismes pathogènes pour les animaux des groupes 2 et 3. Les activités de recherche et l'utilisation de microorganismes pathogènes pour l'être humain du groupe 4 ne font pas l'objet de la présente directive.

2 > Classification des activités

Les risques doivent être préalablement étudiés et évalués pour chaque activité impliquant des organismes pathogènes (art. 5, al.2, OUC). Dans une première étape, les organismes sont classés dans l'un des quatre groupes. Ce classement peut être effectué sur la base de la liste des organismes publiée par l'OFEV (art. 26 OUC) ou selon les critères de l'annexe 2.1 OUC. Dans une deuxième étape, c'est l'activité qui est déterminée, en prenant en compte sa nature, son ampleur et son but (selon les critères de l'annexe 2.2 OUC).

Les analyses portant sur la recherche de microorganismes pathogènes dans le matériel clinique (diagnostic microbiologique médical) sont, en règle générale, attribuées à la classe 2 (annexe 2.2, ch. 2, al. 2, OUC). Des analyses de microorganismes du groupe 1 ou 2 issus de matériel clinique peuvent toutefois être attribuées à la classe 1 lorsque les organismes sont décelés en utilisant une méthode directe ou indirecte sans multiplication, ou alors en produisant un léger enrichissement effectué uniquement dans des récipients fermés (annexe 2.2, ch. 2.2, al. 1, let. b, OUC).

Si des microorganismes pathogènes du groupe 3 sont enrichis à des fins de diagnostic et s'il en résulte un risque accru pour l'être humain, les animaux et l'environnement, l'activité doit alors être attribuée à la classe 3 (annexe 2.2, ch. 2.2, al. 2, OUC). L'enrichissement de micro-organismes pathogènes du groupe 3 à des fins de diagnostic comporte un risque accru, notamment:

- > si l'on utilise des cultures ouvertes de microorganismes transmissibles par voie aérogène (étapes de différenciation en vue du diagnostic définitif);
- > s'il s'agit d'une activité réalisée dans un laboratoire de référence (p.ex. développement de méthodes, typisation de souches, collections et échanges de souches de référence ainsi que l'utilisation de celles-ci);
- > si l'on utilise des échantillons de matériel clinique ou des cultures de microorganismes du groupe 3 pour l'assurance de qualité des analyses ou dans le cadre de validations.

L'ensemencement et la préparation¹ de matériel clinique susceptible de contenir des microorganismes du groupe 3 transmissibles par voie aérogène² font partie des activités de classe 2.

¹ Cf. Index, Définitions

² P. ex. pour le diagnostic de bactéries, de champignons ou de virus du groupe 3. En font notamment partie: *Brucella sp.*, *Bacillus anthracis*, *Burkholderia mallei* et *B. pseudomallei*, *Francisella tularensis*, le complexe *Mycobacterium tuberculosis*, *Yersinia pestis*, *Coxiella burnetii*, *Histoplasma capsulatum*, *Coccidioides immitis*, *Chlamydia psittaci* et certains espèces de *Rickettsia*, ainsi que les virus du SRAS et du monkeypox (orthopoxvirus simien).

3 > Mesures de sécurité

Lors de l'utilisation de microorganismes pathogènes dans des laboratoires de diagnostic, il y a lieu de respecter dans tous les cas les mesures de sécurité générales (annexe 4, ch. 1, OUC). Les principaux aspects des mesures de sécurité générales concernent:

- > le respect des principes des bonnes pratiques microbiologiques (annexe 3, ch. 1, OPTM et annexe 4, chiffre 1, lettre e, OUC);
- > la désignation d'un responsable de la sécurité biologique³;
- > le respect d'un concept de sécurité⁴;
- > l'engagement de suffisamment de personnel ayant une formation adéquate en matière de sécurité.

La classe des activités détermine les mesures de sécurité particulières qu'il y a lieu de respecter pour un niveau de sécurité donné (annexe 4, ch. 1, OUC).

A côté de la classification des activités, l'étude et l'évaluation des risques servent également à déterminer les mesures de sécurité qui sont nécessaires pour des organismes et des activités spécifiques, ainsi que celles pouvant être omises, remplacées ou modifiées, conformément à l'art. 12, al. 3, let. a, OUC, si l'office fédéral compétent l'autorise. L'élément déterminant consiste dans la preuve que la sécurité de l'être humain, des animaux et de l'environnement est garantie. Les chapitres ci-après exposent les conditions dans lesquelles des mesures de sécurité particulières de niveaux 2 et 3 peuvent être omises, remplacées ou modifiées, avec une justification ainsi qu'une autorisation de l'OFSP.

3.1 Utilisation d'un poste de sécurité microbiologique (PSM)

Selon l'OUC, la propagation d'aérosols doit être réduite autant que possible lors des activités de classe 2 et empêchée lors des activités de classes supérieures, en adoptant des mesures de sécurité appropriées (annexe 4, ch. 2.1., tableau, mesure de sécurité 22, OUC).

Une protection contre les aérosols est assurée, entre autres, par l'utilisation d'un PSM. Celui-ci fait partie intégrante de l'équipement standard des laboratoires de niveau 2 ou supérieur, et est prescrit par l'OUC pour les activités de classe 2 ou supérieure (annexe 4, ch. 2.1., tableau, mesure de sécurité 21, OUC).

L'utilisation d'un PSM est en principe obligatoire pour toute étape de travail susceptible de produire des aérosols. Pour des activités de classe 2, le PSM peut être remplacé

³ Cf. OFEFP (2005). Directives. Responsables de la sécurité biologique (www.bafu.admin.ch/publikationen/publikation/00597/index.html?lang=fr)

⁴ Cf. OFEV (2008). Programme de sécurité de l'entreprise au sens de l'ordonnance sur l'utilisation confinée (OUC). Directive pour l'exécution de l'OUC: www.bafu.admin.ch/uv-0817-f

ou omis dans des cas dûment justifiés. La décision dépend de l'étude et de l'évaluation des risques liés à l'activité ou à l'étape de travail spécifique. Dans ce cadre, on tiendra compte, entre autres, de l'effet de protection du PSM ainsi que de critères liés au risque d'infection (potentiel de production d'aérosols ou de gouttelettes dans le cadre de l'activité, modes de transmission, concentration et dose infectieuse des organismes, etc.). Le requérant doit dans tous les cas fournir une justification détaillée expliquant pourquoi il est possible d'omettre le PSM et pourquoi les éventuelles mesures de remplacement sont suffisantes pour garantir la sécurité humaine, animale et environnementale.

On peut renoncer à un poste de sécurité microbiologique si la présence de microorganismes du groupe 3 dans les échantillons ou les cultures n'est pas suspectée et s'il a pu être démontré, au moyen d'une étude et d'une évaluation des risques, que toute infection des travailleurs par des aérosols produits dans les conditions de laboratoire, en l'état actuel des connaissances, peut être exclue.

La Directive pour l'emploi d'un poste de sécurité microbiologique lors de l'utilisation de microorganismes pathogènes pour l'homme⁵ fournit des informations complémentaires en la matière.

3.2 **Commentaires concernant les différents échantillons de matériel clinique**

Ce chapitre traite de l'utilisation du PSM par rapport aux échantillons de matériel clinique, aux processus de préparation et aux activités dans le cadre du diagnostic microbiologique. Le tableau 1 présente une récapitulation des critères d'utilisation d'un poste de sécurité microbiologique dans les laboratoires de niveau 2, ainsi que les activités complémentaires à effectuer dans les laboratoires de niveau 3 (voir chapitre 3.3).

⁵ Cf. OFEV (2008) Directive pour l'emploi d'un poste de sécurité microbiologique lors de l'utilisation de microorganismes pathogènes pour l'homme: www.bafu.admin.ch/uv-0816-f

Tab. 1 > Utilisation d'un poste de sécurité microbiologique pour différents types d'échantillons de matériel clinique et divers processus de préparation et activités effectués dans des laboratoires de diagnostic médical (bactériologie, parasitologie, mycologie, virologie), ainsi qu'activités devant être effectuées dans un laboratoire de niveau 3

On tiendra également compte des commentaires des chapitres 3.2.1 à 3.2.7.

Nature des échantillons de matériel clinique	Microorganismes possibles du groupe 3 et 3** ⁶	Utilisation du PSM dans un laboratoire de niveau 2	Autres étapes de travail devant être effectuées dans un laboratoire de niveau 3 en utilisant un PSM
Tout matériel provenant du tractus respiratoire inférieur: expectorations, lavages bronchiques, etc.	Complexe <i>M. tuberculosis</i> , <i>F. tularensis</i> , <i>B. pseudomallei</i> , <i>Y. pestis</i> , champignons dimorphes mais aussi p. ex. virus du SRAS	Requise lors de l'utilisation de cultures et de tubes à essais ouverts, p. ex., pour la réalisation de préparations microscopiques	Utilisation de cultures de microorganismes du groupe 3 pour une identification plus poussée, des tests de résistance, etc.
Cultures de sang	<i>Brucella sp.</i> , <i>B. mallei</i> , <i>F. tularensis</i> , <i>Y. pestis</i> ou <i>N. meningitidis</i> (groupe 2)	Requise en cas d'utilisation de cultures de sang avec croissance pour un examen microscopique ou une première différenciation	Utilisation de cultures de microorganismes du groupe 3 pour une identification plus poussée, des tests de résistance, etc.
Echantillons de sang	p. ex. VIH, VHB, VHC	Recommandée ⁷ en cas d'utilisation d'éprouvettes ouvertes	Utilisation de cultures de cellules avec virus du groupe 3.
Frottis cutanés	<i>B. anthracis</i>	Requise pour la lecture de plaques avec suspicion d'anthrax	Utilisation de cultures de microorganismes du groupe 3 pour une identification plus poussée, des tests de résistance, etc.
Selles, frottis rectaux	<i>S. dysenteriae</i> , <i>S. typhi</i> , ECEH	Recommandée ⁷ pour l'utilisation de cultures pour l'identification plus précise (caractérisation), tests de résistance, etc.	-
Urine	Complexe <i>M. tuberculosis</i> , <i>F. tularensis</i> , <i>B. pseudomallei</i> , champignons dimorphes	Requise en cas d'utilisation d'éprouvettes ouvertes. Non requise pour le diagnostic d'une infection normale des voies urinaires.	Utilisation de cultures de microorganismes du groupe 3 pour une identification plus poussée, des tests de résistance, etc.
Matériel, tel que biopsies, LCR, ponctions, etc.	<i>M. tuberculosis</i> Complexe, <i>F. tularensis</i> , <i>Y. pestis</i> , <i>N. meningitidis</i> (groupe 2), champignons dimorphes	Requise	Utilisation de cultures de microorganismes du groupe 3 pour une identification plus poussée, des tests de résistance, etc.

⁶ Pour les microorganismes du groupe 3 marqués «**», on ne doit normalement pas s'attendre à une infection par voie aérogène.

⁷ Si l'on renonce à un PSM, il y a lieu de montrer, au moyen d'une étude et d'une évaluation des risques, qu'une infection des travailleurs peut être exclue.

3.2.1 Echantillons de matériel clinique provenant du tractus respiratoire inférieur

Tout matériel provenant du tractus respiratoire inférieur tel qu'expectorations, lavages bronchiques, etc., doit être manipulé dans un poste de sécurité de classe 2 lorsque la présence de microorganismes du groupe 3 transmissibles par voie aérogène est suspectée. Cela comprend notamment les opérations suivantes:

- > ouverture des tubes à essais;
- > répartition des échantillons de matériel clinique pour la bactériologie normale et la mycobactériologie;
- > frottis directs pour examens microscopiques (p. ex., colorations Gram et/ou de Ziehl-Neelsen) ou prélèvement d'aliquotes pour la mise en évidence en biologie moléculaire;
- > Les lames porte-objet fixées à la chaleur peuvent être colorées et examinées au microscope hors du poste de sécurité. Suivant la durée de la fixation par la chaleur et du procédé de coloration, les lames sont toutefois toujours considérées comme du matériel infectieux et doivent être inactivées avant d'être éliminées (les colorants phénoliques inactivent les mycobactéries);
- > préparation des échantillons de matériel clinique (liquéfaction et centrifugation) pour des cultures primaires et des frottis pour la microscopie;
- > mise en place de cultures primaires;
- > réalisation de frottis sur lames porte-objet pour examen microscopique ou prélèvement d'aliquotes pour la mise en évidence en biologie moléculaire à partir d'enrichissements (cultures).

La centrifugation n'est autorisée hors du poste de sécurité que si elle s'effectue dans des récipients incassables à fermeture étanche en utilisant une centrifugeuse sécurisée (fermeture étanche à l'air du rotor ou des différentes nacelles)⁸.

Les cultures primaires avec croissance peuvent être ouvertes dans le poste de sécurité microbiologique des laboratoires de niveau 2 pour la microscopie (mise en évidence de bâtonnets acido-résistants) ou pour le prélèvement d'aliquotes pour la mise en évidence en biologie moléculaire. Ces cultures doivent être transmises à un laboratoire de niveau 3 pour une identification plus poussée ainsi que pour les tests de résistance.

3.2.2 Cultures de sang

Si l'on constate une croissance dans une culture de sang et si l'on suspecte la présence de microorganismes du groupe 3 pouvant être transmis par voie aérogène ou de *Neisseria meningitidis* (groupe 2), les étapes ultérieures en vue d'identifier les microorganismes doivent être effectuées dans le poste de sécurité. Il faut faire particulièrement attention notamment lors de la mise en place de préparations microscopiques et des tests de la catalase (production d'aérosols lors de la formation de mousse). Les étapes finales de l'identification (différenciation, sérotypisation) de microorganismes du groupe 3 pouvant être transmis par voie aérogène doivent être effectuées en respectant les mesures de sécurité de niveau 3.

⁸ Cf. OFEV (2008) Directive pour l'emploi d'un poste de sécurité microbiologique lors de l'utilisation de microorganismes pathogènes pour l'homme: www.bafu.admin.ch/uv-0816-f

3.2.3 Echantillons de sang

Les échantillons de sang avec suspicion de présence de virus du groupe 3** (p. ex., VIH, VHB, VHC) ne pouvant pas être transmis par voie aérogène devraient être ouverts dans un PSM. En cas de préparation sur une paillasse, on prendra les mesures nécessaires pour assurer la protection des travailleurs. L'utilisation de cultures de cellules contenant des virus du groupe 3 exige, en règle générale, le respect des mesures de sécurité de niveau 3. Dans certains cas, les mesures de sécurité de niveau 2 peuvent s'avérer suffisantes (p. ex., mini-cultures pour tests de résistance phénotypiques de virus ne pouvant pas être transmis par voie aérogène). Ces cultures doivent toutefois également être préparées dans un PSM.

3.2.4 Frottis cutanés (Anthrax)

Les échantillons de matériel clinique peuvent être ensemencés (cultures primaires), ou étalés (microscopie), sur une paillasse. La lecture des cultures doit s'effectuer dans le poste de sécurité. Toute utilisation ultérieure de cultures pour lesquelles il existe une suspicion d'anthrax doit s'effectuer en respectant les mesures de sécurité de niveau 3.

3.2.5 Selles, frottis rectaux

Les agents pathogènes du groupe 3 susceptibles d'être décelés dans les selles ne sont pas transmissibles par voie aérogène (excepté en cas de suspicion de *M. tuberculosis*). La transmission se fait par contact (éclaboussures, toucher, etc.). La mise en culture primaire peut être effectuée sur une paillasse.

3.2.6 Urine

Pour la mise en évidence de bâtonnets acido-résistants ou d'autres microorganismes du groupe 3, les prescriptions qui s'appliquent sont les mêmes que celles pour les échantillons de matériel clinique provenant du tractus respiratoire inférieur. En l'absence de suspicion, p. ex., de tuberculose (en d'autres termes, en cas de simple infection des voies urinaires), la manipulation des échantillons de matériel clinique ainsi que toutes les étapes ultérieures de l'analyse peuvent être effectuées sur une paillasse.

3.2.7 Biopsies, LCR, ponctions

Ces échantillons de matériel clinique peuvent contenir des microorganismes transmissibles par voie aérogène des groupes 3 ou 2 (*N. meningitidis*) et doivent être manipulés dans un poste de sécurité.

3.3 Omission, modification ou remplacement de mesures de sécurité particulières de niveau 3

Certaines mesures de sécurité particulières au sens de l'annexe 4, ch. 2.1, OUC peuvent être omises, remplacées ou modifiées si l'office fédéral autorise, sur requête, ces dérogations. Le tableau 2 ci-après présente et commente les mesures de sécurité de niveau 3 dans l'optique de leur omission, de leur remplacement ou de leur modification dans les laboratoires de diagnostic microbiologique médical.

Tab. 2 > Commentaires concernant les mesures de sécurité particulières dans l'optique de leur omission, de leur remplacement ou de leur modification dans des laboratoires de diagnostic microbiologique médical

La numérotation correspond à celle de l'annexe 4, ch. 2.1, tableau, OUC.

Bâtiments

4	Accès à la zone de travail à travers un sas (local séparé)	<p>Description/But: L'accès doit se faire par un local séparé de la zone de niveau 3. Le côté extérieur (propre) du sas doit être séparé du côté intérieur par un banc, p. ex., ou tout au moins par une frontière visuelle (ligne au sol). On ne peut ouvrir qu'une seule porte du sas à la fois. En cas d'urgence, le verrouillage des deux côtés peut être débloqué de l'intérieur ou de l'extérieur. Les vêtements de protection, les chaussures et les surchaussures portés dans la zone de niveau 3 ne doivent pas être portés à l'extérieur de cette zone. Ils doivent être décontaminés avant de quitter la zone de niveau 3.</p> <p>Conditions requises pour la modification, le remplacement ou l'omission de la mesure de sécurité: La suppression d'un véritable sas peut être autorisée si l'on n'utilise pas de microorganismes du groupe 3 transmissibles par voie aérogène et que l'on peut accéder au laboratoire en traversant un local de niveau 2 non utilisé. Il est aussi possible de délimiter une zone du laboratoire qui sera réservée pour changer de vêtements.</p>
5	Douches dans le sas	<p>Description/But: Dans les laboratoires de diagnostic microbiologique médical, l'utilisation systématique d'une douche en quittant le laboratoire de niveau de sécurité 3 n'est pas une pratique courante. Des possibilités de décontamination locale doivent par contre être disponibles. Les douches destinées à la protection en cas d'incident chimique ou d'incendie ne sont pas appropriées à une décontamination biologique, car elles ne possèdent pas de pouvoir désinfectant. En outre, l'aérosolisation des microorganismes présents augmente le risque d'infection encouru par le travailleur. Si une telle douche d'urgence doit être utilisée en cas d'incidents, les effluents produits doivent alors être récoltés afin d'être inactivés avant leur élimination définitive dans le système de canalisation usuel (voir mesure de sécurité n° 30).</p> <p>Conditions requises pour la modification, le remplacement ou l'omission de la mesure de sécurité: Selon le cas, il est possible de renoncer à cette mesure en effectuant une analyse de risques sans avoir à demander une autorisation auprès de l'office fédéral compétent. Cela concerne en particulier des activités au cours desquelles, p. ex., seuls des microorganismes pathogènes humains sont manipulés, car les aérosols produits par la douche pourraient alors augmenter le risque d'infection pour les travailleurs. Des mesures de remplacement correspondantes doivent toutefois être disponibles. En particulier, des possibilités de décontamination de parties du corps contaminées doivent être mises à disposition (voir mesure de sécurité n° 6), par exemple, un évier de rinçage doté d'un récipient de récupération et pouvant être équipé de surcroît d'un tuyau de douche mobile. Une telle station de décontamination se trouve de préférence dans la zone de travail de niveau 3.</p>
7	Fenêtre de sécurité ou autre installation permettant d'observer la zone de travail	<p>Description/But: Toute la zone de travail dans la zone contrôlée doit pouvoir être observée de l'extérieur ou, alternativement, pouvoir être surveillée au moyen d'une caméra vidéo.</p> <p>Conditions requises pour la modification, le remplacement ou l'omission de la mesure de sécurité: L'omission d'une fenêtre de sécurité ou d'une vidéosurveillance peut être autorisée, p. ex., si les conditions architecturales ne permettent en aucun cas cette installation. Dans ces cas, l'installation d'un dispositif d'homme mort (alarme automatique se déclenchant en cas d'absence de mouvement) constitue la mesure de remplacement minimale.</p>

11	Zone de travail rendue étanche, de manière à permettre les fumigations	<p>Description/But: La fumigation de la zone de travail doit garantir que celle-ci puisse être décontaminée efficacement.</p> <p>Conditions requises pour la modification, le remplacement ou l'omission de la mesure de sécurité: Le nettoyage des zones contaminées (en particulier lorsque des germes vivants ont été renversés) peut être effectué par d'autres méthodes d'inactivation efficaces et validées. Pour la durée nécessaire à la fumigation, la zone de travail peut être rendue étanche à l'aide de ruban adhésif ou de mastic d'étanchéité et les canaux d'aération peuvent être fermés par des clapets. Cela vaut en particulier lors de l'utilisation de microorganismes transmissibles par voie aérogène.</p>
12	Pression atmosphérique de la zone de travail inférieure à celle de l'environnement immédiat	<p>Description/But: En règle générale, la dépression par rapport à l'environnement est de 20 à 50 Pa. Elle peut augmenter en cascade du sas jusqu'à l'intérieur des locaux de la zone de niveau 3. La planification de l'aération doit être réalisée par un spécialiste. Il existe en principe deux méthodes reconnues pour maintenir la dépression: le contrôle actif (avec des portes de sas étanches) et des systèmes à débit contrôlé (avec des portes de sas non étanches et un courant d'air dirigé vers la zone contrôlée).</p> <p>Conditions pour la modification, le remplacement ou l'omission de la mesure de sécurité: L'omission de cette mesure peut être autorisée si l'on n'utilise pas de microorganismes du groupe 3 transmissibles par voie aérogène.</p>
14	Air sortant filtré par un filtre HEPA	<p>Description/But: L'air sortant doit être filtré à travers des filtres à très haute efficacité pour les matières en suspension dans l'air (HEPA). Pour le travail avec des bactéries, un filtre de classe H12 suffit; un filtre de classe H14 est nécessaire pour le travail avec des virus. Les préfiltres (F9) prolongent la durée de vie des filtres. Les stations de filtration se trouvent de préférence dans la zone contrôlée (à l'intérieur ou à l'extérieur de la zone de travail).</p> <p>Conditions requises pour la modification, le remplacement ou l'omission de la mesure de sécurité: L'omission de cette mesure peut être autorisée si l'on n'utilise pas de microorganismes du groupe 3 transmissibles par voie aérogène.</p>

Equipement

20	Zone de travail disposant de son propre équipement complet	<p>Description/But: Tous les équipements et les appareils nécessaires pour les étapes de travail et les activités de classe 3 se trouvent dans la zone contrôlée. Seules les étapes de travail des classes 1 et 2 ou qui ne sont pas soumises à l'OUC et à l'OPTM peuvent être effectuées hors de la zone de niveau 3.</p> <p>Conditions pour la modification, le remplacement ou l'omission de la mesure de sécurité: L'omission peut être autorisée si les équipements et les appareils correspondants sont inactivés ou décontaminés au moyen de méthodes validées avant d'être sortis par le sas.</p>
23	Autoclave	<p>Description/But: Pour les activités de classe 3, l'autoclave peut être omis si les cultures ainsi que d'autres déchets contaminés peuvent être inactivés sur place au moyen d'autres méthodes dont l'efficacité est avérée et comparable. Dans ce cas, une autorisation de l'office fédéral compétent est nécessaire. Un emplacement différent de l'autoclave peut également être demandé (en dehors de la zone de travail mais à l'intérieur du bâtiment).</p> <p>Conditions pour la modification, le remplacement ou l'omission de la mesure de sécurité: Le transport sécurisé des déchets de la zone de travail à l'autoclave doit être garanti, ou alors la méthode alternative d'inactivation doit être validée et produire un effet équivalent à une inactivation par autoclavage.</p>

Organisation du travail

30	Inactivation des microorganismes dans les effluents des éviers, des canalisations et des douches	<p>Description/But: Tous les effluents, de même que le condensat des autoclaves, doivent être inactivés avant d'être évacués de la zone contrôlée. Entrent en ligne de compte, en particulier, des procédés thermiques ou chimiques. Cette mesure garantit qu'aucun germe vivant ne parvienne dans les canalisations par le biais des eaux usées. Il faut se désinfecter les mains avant de les laver. Des instructions à ce sujet doivent être apposées au-dessus du lavabo.</p> <p>Conditions requises pour la modification, le remplacement ou l'omission de la mesure de sécurité: L'omission de cette mesure ne peut être autorisée que si l'on empêche, par des mesures organisationnelles appropriées ou d'autres mesures de remplacement, toute contamination des eaux usées. Le cas échéant, il y a lieu de découpler le lavabo du système d'écoulement des eaux usées et d'installer un bac de rétention.</p>
----	--	---

4 > Elimination des déchets

L'élimination des déchets est réglée dans le tableau de l'annexe 4, ch. 2.1, OUC, à la mesure de sécurité 33 (Inactivation des microorganismes). Les déchets produits par des activités de classe 2 doivent en principe être inactivés à l'intérieur du bâtiment sauf si, conformément à la mesure de sécurité 23, un autoclave peut être utilisé à l'extérieur du bâtiment pour procéder à l'inactivation. Le matériel, les cadavres d'animaux et les échantillons de diagnostics contaminés utilisés pour des activités de classe 2 peuvent être éliminés sans autorisation comme déchets spéciaux. Dans des cas exceptionnels dûment justifiés et avec l'autorisation de l'office fédéral compétent, les cultures solides peuvent être éliminées comme déchets spéciaux. Il faut alors apporter la preuve qu'une chaîne d'élimination opérationnelle est disponible. Il est également nécessaire de présenter une explication justifiant que cette forme d'élimination, dans le cas précis, est au moins aussi sûre qu'une inactivation sur place. Les cultures liquides issues d'activités de classe 2 doivent quant à elles être inactivées systématiquement sur place.

Les déchets produits par des activités de classe 3 doivent en général être inactivés dans la zone de travail. Si les déchets doivent être traités ailleurs, l'entreprise nécessite une autorisation de l'office fédéral compétent. Toutefois, l'inactivation a lieu dans tous les cas à l'intérieur du bâtiment (voir le tableau dans l'annexe 4, ch. 2.1, mesure de sécurité 23).

L'autoclavage est considéré comme la méthode de référence pour inactiver des déchets. En général, les autres méthodes d'inactivation sont autorisées si elles peuvent être considérées comme équivalentes et si elles ont été validées. La non utilisation d'un autoclave pour des activités de classe 2 doit avoir été autorisée au préalable par l'office fédéral compétent.

En outre, la prise de position de la Commission fédérale d'experts pour la sécurité biologique (CFSB) concernant l'élimination des déchets dans les laboratoires de diagnostic micro- biologique médical doit être prise en compte. Après inactivation des déchets contaminés selon l'annexe 4, ch. 2.1, tableau, OUC, on appliquera les dispositions correspondantes de l'ordonnance sur les mouvements de déchets spéciaux (ODS).

5 > Transport

Si des échantillons de matériel clinique ou des cultures sont envoyés à d'autres laboratoires pour analyses complémentaires, on appliquera les dispositions nationales et internationales en matière de transport (SDR, ADR, OCS, OACI) pour ce qui concerne l'emballage, l'étiquetage, les documents de suivi et les mesures de sécurité (voir art. 15 OUC). L'exécution est du ressort de l'Office fédéral des routes et de l'Office fédéral des transports. En ce qui concerne le transport d'échantillons de matériel clinique et de cultures à l'intérieur du laboratoire (dans le même bâtiment ou sur le site), le concept de sécurité doit garantir un niveau de sécurité approprié.

> Bibliographie

CDC et NIH 1999: Biosafety in Microbiological and Biomedical Laboratories, 4th edition U.S. Department of Health and Human Services Public Health Service, Center for Disease Control and Prevention and National Institutes of Health, Washington.

CFSB 2009: Recommandation de la CFSB pour le traitement et élimination des déchets produits en milieu confiné, 2009 (actualisé septembre 2014 (http://www.efbs.admin.ch/fileadmin/efbs-dateien/dokumentation/empfehlungen/Empfehlungen_2014/Abfall_EFBS_F.pdf)).

Droit fédéral. Loi fédérale du 18 décembre 1970 sur la lutte contre les maladies transmissibles de l'homme, LEp, RS 818.101.

Droit fédéral. Loi fédérale du 7 octobre 1983 sur la protection de l'environnement, LPE, RS 814.01.

Droit fédéral. Ordonnance du 15 juin 2001 sur les conseillers à la sécurité pour le transport de marchandises dangereuses par route, par rail ou par voie navigable, OCS, RS 741.622.

Droit fédéral. Ordonnance du 29 novembre 2002 relative au transport des marchandises dangereuse par la route, SDR, RS 741.621.

Droit fédéral. Ordonnance du 19 octobre 1988 relative à l'étude de l'impact sur l'environnement, OEIE, RS 814.011.

Droit fédéral. Ordonnance du 22 juin 2005 sur les mouvements de déchets, OMoD, RS 814.610.

Droit fédéral. Ordonnance du 09 mai 2012 sur l'utilisation des organismes en milieu confiné. Ordonnance sur l'utilisation confinée, OUC, RS 814.912.

Droit fédéral. Ordonnance du 25 août 1999 sur la protection des travailleurs contre les risques liés aux microorganismes, OPTM, RS 832.321.

Droit fédéral. Ordonnance du 27 février 1991 sur la protection contre les accidents majeurs, OPAM, RS 814.012.

Fleming D.O., Hunt D.L. (ed.) 2000: Biological Safety: Principles and Practices, 3rd ed. Washington, DC: ASM Press.

Gillespie S.H., Pearson R.D. (ed.) 2001: Clinical Parasitology. John Wiley & Sons, Chichester.

Mandell G.L., Bennett J.E., Dolin R. 2005: Principles and Practise of Infectious Diseases, Churchill-Livingstone.

Murray P.R., Baron E.J., Pfaller M.A., Tenover F.C., Tenover R.H. (ed.) 1999: Manual of Clinical Microbiology. ASM Press, Washington D.C.

OFEFP 2005: Directives. Responsables de la sécurité biologique (www.bafu.admin.ch/publikationen/publikation/00597/index.html?lang=fr).

OFEV 2008: Directive pour l'emploi d'un poste de sécurité microbiologique lors de l'utilisation de microorganismes pathogènes pour l'homme (www.bafu.admin.ch/uv-0816-f).

OFEV 2008: Programme de sécurité de l'entreprise au sens de l'ordonnance sur l'utilisation confinée (OUC). Directive pour l'exécution de l'OUC (www.bafu.admin.ch/uv-0817-f).

Organisation mondiale de la Santé 2005: Guidance on regulations for the Transport of Infectious Substances.

Organisation mondiale de la Santé 2004: Manuel de sécurité biologique en laboratoire, Genève, 3^{ème} édition.

Public Health Agency of Canada 2004: Laboratory Biosafety Guidelines, Ottawa.

Sewell D.L. 1996: Laboratory-associated infections and biosafety. Clin. Microbial. Rev. 8:389-405.

Specter S., Hodinka R.L., Young S.A. (Ed.) 2000: Clinical Virology Manual. ASM Press, Washington D.C.

SUVA, Caisse nationale suisse d'assurance en cas d'accident 2003: Prévention des maladies professionnelles dans les laboratoires de microbiologie diagnostique, Lucerne, numéro de commande 2869/27f.

Zuckerman A.J., Banatvala J.E., Pattison J.R. (Ed.) 2000: Clinical Virology. John Wiley & Sons, Chichester.

> Répertoires

Abréviations

ADR

Accord européen relatif au transport international des marchandises dangereuses par route

ECEH

Escherichia coli entérohémorragique

ERFA-Bio

Groupe d'échange intercantonal des services spécialisés en biotechnologie et en génie génétique

F9

Filtre à poussières fines de classe 9 (classe de préfiltres pour filtres de matières en suspension)

H12

Filtre pour matières en suspension de classe 12 pour bactéries et champignons

H14

Filtre pour matières en suspension de classe 14 pour virus

HEPA

High Efficiency Particulate Air Filter, filtre à particules à haute efficacité

LPE

Loi sur la protection de l'environnement, RS 814.01

OACI

Organisation de l'aviation civile internationale

OCS

Ordonnance sur les conseillers à la sécurité, RS 741.622

OEIE

Ordonnance relative à l'étude de l'impact sur l'environnement, RS 814.011

OPEFP

Office fédéral de l'environnement, des forêts et du paysage (devenu l'OFEV)

OFEV

Office fédéral de l'environnement

OFSP

Office fédéral de la santé publique

OMoD

Ordonnance sur les mouvements de déchets, RS 814.610

OPAM

Ordonnance sur la protection contre les accidents majeurs, RS 814.012

OPTM

Ordonnance sur la protection des travailleurs contre les risques liés aux microorganismes, RS 832.321

OUC

Ordonnance sur l'utilisation des organismes en milieu confiné, RS 814.912

Pa

Pascal (unité de pression)

PSM

Poste de sécurité microbiologique

RS

Recueil systématique

SDR

Ordonnance relative au transport des marchandises dangereuses par route, RS 741621

SRAS

Syndrome Respiratoire Aigu Sévère

Tableaux

Tab. 1

Utilisation d'un poste de sécurité microbiologique pour différents types d'échantillons de matériel clinique et divers processus de préparation et activités effectués dans des laboratoires de diagnostic médical (bactériologie, parasitologie, mycologie, virologie), ainsi qu'activités devant être effectuées dans un laboratoire de niveau 3

13

Tab. 2

Commentaires concernant les mesures de sécurité particulières dans l'optique de leur omission, de leur remplacement ou de leur modification dans des laboratoires de diagnostic microbiologique médical

16

> Glossaire

Cultures ouvertes

Cultures sans couvercle étanche aux gaz (p. ex. boîtes de Pétri dont le couvercle n'est pas scellé, cultures en gélose inclinée, cultures de cellules avec bouchon à vis desserré ou ouvert)

Ensemencement

Étalement d'échantillons de matériel clinique traités ou non sur des plaques de gélose ou inoculation de cultures liquides ou de cultures de cellules

Enrichissement

Multiplication par des méthodes de culture. L'enrichissement par centrifugation mentionné sous 3.2.1 n'en fait pas partie.

Préparation

Traitement d'échantillons de matériel clinique pour l'ensemencement sur des milieux de gélose, l'inoculation de cultures liquides ou de cultures de cellules ou l'étalement sur des lames porte-objets pour des examens microscopiques. Voir l'exemple de la préparation des échantillons de matériel clinique pour le diagnostic de la tuberculose donné sous 3.2.1.